

Avances en maduración y poscosecha de frutas y hortalizas

EDITORES:

ESTHER ARIAS

SARA REMÓN

ROSA ORIA





Servicio de
Publicaciones
Universidad Zaragoza

© Esther Arias Álvarez, Sara Remón Oliver, Rosa Oria Almudí
1ª edición. Zaragoza, 2022
Edita: Servicio de Publicaciones. Universidad de Zaragoza
ISBN: 978-84-18321-41-2

ÍNDICE

SESIÓN 1. SATISFACIENDO LAS NECESIDADES DEL CONSUMIDOR: PRODUCTOS HORTOFRUTÍCOLAS MÁS SALUDABLES, SEGUROS Y APETECIBLES

	P. 8
Efecto de fotoperiodos con luces LED del espectro visible durante la germinación de col roja para estimular la biosíntesis de sus compuestos bioactivos.....	P. 9
Estudio comparativo de propiedades funcionales de variedades comerciales y autóctonas de manzana (Malus domestica Borkh).....	P. 14
Evaluación fisicoquímica y sensorial de variedades de manzano locales procedentes de zonas de montaña.....	P. 18
Desarrollo de un test ELISA para la determinación del potencial alergénico en manzanas.....	P. 25
Sensory attributes and consumers' willingness to pay for apple cultivars grown at different altitudes	P. 35
Elección de plásticos para el envasado en IV Gama de broccoli.....	P. 39
Influencia de las condiciones de cultivo mediterráneas en la calidad del fruto de tomate.....	P. 43
Recuperación de variedades tradicionales de tomate de alta calidad de fruto para su cultivo en condiciones de la cuenca mediterránea.....	P. 51
Explorando el contenido de ácidos grasos de variedades de pecano.....	P. 61
Caracterización funcional de variedades de alcachofa obtenidas vegetativamente y por semillas.....	P. 67
Incremento en la producción del cultivo de naranja sanguina y en la calidad del fruto mediante tratamientos con espermidina	P. 71
Calidad del fruto y compuestos bioactivos de 17 accesiones de manzana tras su conservación en frío	P. 76
Actividad respiratoria de tallos de borraja (Borago officinalis L.) mínimamente procesados	P. 83
Análisis de los parámetros de calidad de arándanos procedentes de diferentes puntos de venta	P. 87
Tratamiento postcosecha con aceite esencial de tomillo en uva 'Crimson'	P. 92
Calidad organoléptica y nutricional de la borraja (Borago officinalis L.) mínimamente procesada y envasada con film biodegradables	P. 99

ÍNDICE

SESIÓN 2: ASPECTOS FISIOLÓGICOS DE LA MADURACIÓN Y SU IMPLICACIÓN EN POSTCOSECHA P. 103

Efecto de la madurez y almacenamiento en atmósfera controlada en la composición y propiedades alergénicas de diferentes variedades de manzana	P. 104
Evolución de las propiedades fisicoquímicas y bioactivas de cereza y ciruela a lo largo de su maduración	P. 114
La aplicación precosecha de jasmonato de metilo incrementa la calidad del pimiento verde en la recolección y durante la conservación	P. 123
Evaluación de nuevos cultivares de ciruelas de tipo japonés con potencialidad para mercados de ultramar	P. 129
Efecto de la aplicación precosecha de melatonina y ácido oxálico sobre la calidad estándar y bioactiva de cereza en poscosecha	P. 133
Efeito das práticas culturais e do método de conservação na qualidade organoléptica da maçã de Alcobaça	P. 136
Efeito do excesso de rega e fertilização azotada na qualidade e conservação da "Maçã de Alcobaça"	P. 145
Evaluación de la calidad y perfil de ácidos orgánicos de cultivares de ciruela japonesa tratados vía foliar con ácido oxálico.....	P.152
Evolución de la maduración en el árbol de la naranja sanguina: parámetros externos e internos	P. 157
Efecto de los tratamientos de limoneros con ácido γ -aminobutírico en el rendimiento del cultivo y en la calidad del fruto ..	P. 162
Influencia del estado de maduración sobre el desarrollo fúngico del higo para secado.....	P. 168
¿Es posible modular la fisiología y los compuestos bioactivos de los frutos mediante tratamientos innovadores en precosecha?.....	P. 174
Calidad de la granada: influencia de la recolección.....	P. 179
Estudio de daños por frío en dos variedades nuevas de granada en el sudeste Español	P. 184
¿Qué efecto sobre la calidad y vida útil tiene acelerar el desarrollo del limón en variedades tempranas?	P. 189
Efecto de la combinación de métodos de eliminación de etileno sobre la actividad antioxidante del albaricoque y el melocotón	P. 194
Efecto de atrapadores de etileno y temperatura sobre la conservación postcosecha y gasto energético en pera de variedad 'Ercolini'	P.200

ÍNDICE

Implementación de tecnología no destructiva para la determinación del momento óptimo de recolección de ciruela 'Reina Claudia'	P. 206
Interacción entre tolerancia al daño por frío, azúcares y ácidos orgánicos de seis variedades de granada	P. 214
Los tratamientos precosecha con melatonina incrementan la calidad y los sistemas antioxidantes en cerezas y retrasan su maduración postcosecha	P. 219
Efecto del jasmonato de metilo sobre la conservación de bananas cv. Cavendish almacenadas a temperaturas subóptimas	P. 224

SESIÓN 3: ESTRATEGIAS PARA REDUCIR LAS PÉRDIDAS POSTCOSECHA POR ALTERACIONES FISIOLÓGICAS, PATOLÓGICAS Y DAÑOS MECÁNICOS

P. 229

Efecto sobre la calidad y la incidencia de picado amargo de una fertirrigación con sulfato cálcico en manzana Golden Delicious	P. 230
Susceptibilidad a patologías postcosecha y su relación con la anatomía de la cutícula en una colección de variedades locales de melocotón	P. 235
Agentes de biocontrol y bioestimulantes como alternativa al uso de fungicidas de síntesis química en el cultivo de cerezo	P. 241
Aceites esenciales y extractos naturales de plantas como ingredientes antifúngicos de recubrimientos comestibles a base de pectina para controlar la podredumbre verde y mantener la calidad poscosecha de naranjas 'Valencia'	P. 247
Optimización de técnicas de fenotipado para la susceptibilidad/tolerancia a <i>Penicillium expansum</i> en accesiones de manzana conservadas en frío	P. 251
Desarrollo de recubrimientos comestibles con aditivos alimentarios antifúngicos para el control de <i>Penicillium</i> spp. y la conservación de mandarina 'Orri'	P. 257
Efecto de la aplicación precosecha de melatonina y ácido oxálico sobre la calidad estándar y bioactiva de cereza en postcosecha	P. 261
Evaluación de la calidad y perfil de ácidos orgánicos de cultivares de ciruela japonesa tratados vía foliar con ácido oxálico....	P. 266
The use edible nanocoatings to increase storage time in "Rohde" orange	P. 271
Control de podredumbre ácida inducida por <i>Geotrichum citri-aurantii</i> en limones mediante timol encapsulado	P. 278

ÍNDICE

Efecto del tratamiento de cerezos con GABA sobre la calidad de la cereza en la recolección y durante la conservación	P. 283
Calidad del fruto y daños por frío en la colección de melocotonero de la Estación Experimental de Aula Dei-CSIC	P. 288
Los tratamientos precosecha con putrescina reducen el agrietado y mejoran la calidad de las cerezas (<i>Prunus avium</i> L.)	P. 292
Innovaciones tecnológicas y agronómicas en la cereza de Aragón para alcanzar mercados lejanos	P. 297
Ácidos grasos de membrana y osmoprotectores: respuesta diferencial a baja temperatura y alto CO ₂ en tejidos de uva de mesa	P.303
Estrategias precosecha para reducir mermas de producción en el melocotón tardío de Aragón	P. 311
Efecto de la aplicación precosecha de carvacrol sobre la calidad y conservación poscosecha de limón ecológico	P. 318

SESIÓN 4: NUEVAS TECNOLOGÍAS POSTCOSECHA. SOSTENIBILIDAD Y ECONOMÍA CIRCULAR

Aprovechamiento de subproductos ricos en flavonoides de pieles de naranjas para mejorar la calidad de germinados de tatsoi	P. 326
Application of edible coating to increase storage time in red-fleshed kiwifruit (<i>Actinidia chinensis</i> var. <i>chinensis</i>)	P. 330
Determination of the temperature effect on storability on yellow kiwifruit using destructive and nondestructive methods.....	P. 336
Monitorización y control del higienizante ácido peracético (PAA) para el agua de lavado de frutas y hortalizas	P. 343
Recubrimientos comestibles formulados con sales GRAS para controlar la antracnosis y mantener la calidad de frutos cítricos frigoconservados	P. 349
Prospectivas y perspectivas de la Agroalimentación y la Tecnología Postrecolección en España	P. 353
Aprovechamiento de las vainas de la nuez pecana (<i>Carya illinoensis</i> Koch) como fuente de compuestos bioactivos	P. 358
Evaluación de las variedades de alcachofa 'Lorca' y 'Green Queen': aptitud para comercialización en fresco o procesado en cuarta gama.....	P. 365
Capacidad antioxidante y actividad antifúngica de extractos de piel de granada (<i>Punica granatum</i> L.) variedades 'Shani-Yonay' y 'Emek'	P. 371

ÍNDICE

The use of average calibration model's predictions for the assessment of 'Jintao' kiwifruit quality attributes	P. 377
Propiedades antibióticas del hidrolato de <i>Satureja montana</i> L. en bacterias de interés clínico	P. 385
Efecto de la aplicación de alil isotiocianato (AITC) procedente de semilla de mostaza negra en cereza Burlat envasada	P. 391
Efecto in vivo del alil isotiocianato (AITC) procedente de semilla de mostaza negra sobre <i>Monillinia laxa</i> en cultivares de ciruela	P. 397

SESIÓN 5: LOS DAÑOS POR FRÍO: UN PROBLEMA AÚN POR RESOLVER

P.403

Impacto del ácido oxálico y melatonina sobre la incidencia de daños por frío en almacenamientos prolongados de ciruela japonesa	P. 404
El tratamiento prerecolección con jasmonato de metilo reduce daños por frío y mantiene la calidad en la granada ...	P. 412
Aplicación de tratamientos postcosecha con melatonina para incrementar la calidad y reducir daños por frío en calabacín (<i>Cucurbita pepo</i> L.)	P. 418
Evaluación de la aptitud al secado de las variedades de higuera 'Zidi' y 'Conadria'	P. 423



POST
2022
ZARAGOZA



SESIÓN

1

Satisfaciendo las necesidades del consumidor: productos hortofrutícolas más saludables, seguros y apetecibles

Efecto de fotoperiodos con luces LED del espectro visible durante la germinación de col roja para estimular la biosíntesis de sus compuestos bioactivos.

N. Castillejo^{1,2}, A. Htit¹, P.A. Gómez², G. Pennisi³, F. Artés^{1,2}, J.A. Fernández^{1,2}, F. Orsini³, F. Artés-Hernández^{1,2*}

¹ Departamento de Ingeniería Agronómica. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica - ETSIA. Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48. 30203, Cartagena, Murcia, España.

² Instituto de Biotecnología Vegetal - IBV. Universidad Politécnica de Cartagena. Campus muralla del mar. 30202, Cartagena, Murcia, España.

³ Department of Agricultural and Food Sciences. Universidad de Bologna. Viale Fanin, 44, 40127 Bologna, Italia.

*fr.artes-hdez@upct.es

Resumen

Los germinados de crucíferas tienen efectos muy beneficiosos frente a diversas enfermedades debido a su alto contenido en compuestos bioactivos. En este trabajo se germinaron semillas de col roja durante 3 días a 20°C en oscuridad, seguidos de 6 días a 20°C bajo un fotoperiodo de luz/oscuridad (16/8 h) con diversas luces LED del espectro visible (azul + rojo -B+R- y azul + rojo + rojo lejano -B+R+FR-) o con luz fluorescente convencional (FL). Como control (CTRL), se germinaron y mantuvieron los 9 días en oscuridad a 20°C. Se evaluó la longitud del hipocótilo, el peso, la capacidad antioxidante total (CAT), los polifenoles totales y la vitamina C. La longitud del hipocótilo se inhibió tras la iluminación, mostrando los germinados CTRL un incremento del 76% respecto a la luz FL. La CAT de los germinados bajo luz FL y luces LED B+R+FR y B+R se incrementó un 66, 118 y 141% en comparación a la del CTRL. Los fotoperiodos de FL y luces LED (B+R y B+R+FR) incrementaron el contenido de vitamina C respecto al CTRL un 18, 31 y 36% respectivamente. El contenido de polifenoles totales bajo fotoperiodos de luces FL, B+R y B+R+FR aumentó un 24, 33 y 36% respecto al CTRL. Como conclusión, se ha observado que la germinación bajo fotoperiodos con luces LED del espectro visible indujo una mayor acumulación de compuestos bioactivos en relación con la oscuridad, e incluso mejor que la iluminación convencional. Permiten un mejor manejo y control del espectro de radiación, con una mayor vida útil, alta intensidad lumínica con reducido tamaño y menor consumo energético.

Palabras clave: *Brassica oleracea* var. capitata, compuestos fitoquímicos, germinados de semillas, antioxidantes.

INTRODUCCIÓN

La col lombarda pertenece a la familia *Brassicaceae* y destaca por su alto contenido en compuestos bioactivos tienen efectos contra diversas enfermedades (Moreno et al.,

2006). Estos efectos beneficiosos son atribuidos principalmente a los glucosinolatos y concretamente a aquellos compuestos obtenidos a partir de su hidrólisis como son los isotiocianatos (Okarter y Liu, 2010) y también a los compuestos fenólicos debido a su protección contra el estrés oxidativo de las células. En los primeros estadios de desarrollo de la col, conocido como germinados, se encuentra una mayor cantidad de estos compuestos. La luz (intensidad y fotoperiodo) es uno de los factores más importantes para el crecimiento y desarrollo de las plantas (Artés-Hernández et al., 2022). En comparación a los sistemas de iluminación convencionales, las luces LED (Light Emitting Diode) ofrecen una serie de ventajas como son el manejo y control sobre el espectro de radiación, producción de alta intensidad lumínica con bajos niveles de energía calorífica, mayor vida útil y un reducido tamaño que les permite una facilidad de manejo (Artés-Hernández et al., 2022). Además, la calidad de la luz puede tener efectos significativos en la síntesis de metabolitos secundarios (Ahn et al., 2015). Por tanto, el objetivo de este trabajo fue la germinación de semillas de col lombarda bajo dos tratamientos de luz LED combinando azul, rojo y rojo lejano y convencional con fluorescente, así como un control en oscuridad. Se evaluó el efecto de dichos tratamientos sobre los principales aspectos morfológicos y compuestos bioactivos de los germinados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las semillas de col lombarda se germinaron en bandejas bajo un fotoperiodo de luz/oscuridad de 16/8 h a 20/25°C y se regaron diariamente durante 9 días, permaneciendo los 3 primeros días en oscuridad. Las lámparas LED (Flytech s.r.l., Belluno, Italia) estaban compuestas por diodos rojos -R- (669 nm), azules -B- (465 nm) y rojo lejano -FR- (734 nm). Los tratamientos de luz LED fueron combinación de rojo y azul con una relación R:B de 3 (B+R) y la misma combinación rojo y azul pero con una adición del 15% de rojo lejano (B+R+FR). El tratamiento convencional fue aplicado con luces fluorescentes (FL) y en todos los tratamientos de iluminación se aplicó una densidad de flujo de fotones fotosintéticos (PPFD) de $148 \pm 6 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Los germinados crecidos en oscuridad fueron el control. Longitud media del hipocótilo de los germinados de col se midió utilizando el software ImageJ (Wayne Rasband, Maryland, USA) y se expresaron en cm. Para el análisis de la capacidad antioxidante total (por el método FRAP) y compuestos fenólicos totales se utilizó germinados liofilizados y fueron analizados por espectrofotometría (Castillejo et al., 2021). El contenido de vitamina C se calculó como la suma de ácido ascórbico y ácido dehidroascórbico de acuerdo con el método desarrollado por Zapata y Dufour (1992).

El diseño estadístico del experimento fue unifactorial (tratamiento lumínico) sometándose a un análisis de varianza (ANOVA) usando el Statgraphics Plus software (vs. 5.1, Statpoint Technologies Inc, Warrenton, USA). La significación estadística se evaluó a nivel $P \leq 0,05$ y se usó test de rango múltiple de Tukey para comparar medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se observa que los germinados de col de 9 días en oscuridad mostraron una mayor longitud del hipocótilo con respecto a los crecidos bajo diferentes combinaciones de luces. Esta inhibición del crecimiento tras la aplicación de la luz se debe a la etiolación de estos al recibir el estímulo lumínico. De esta manera, también se observa que el peso medio de un germinado de 9 días fue mayor en aquellos germinados en

oscuridad. Sin embargo, en la Figura 1 se observa como los germinados de col crecidos bajo los tratamientos FL, B+R y B+R+FR tuvieron un 24, 33 y 36%, respectivamente más de compuestos fenólicos comparado con el control en oscuridad. La capacidad antioxidante total también fue mayor en los germinados bajo B+R y B+R+FR, mostrando un incremento de 45 y 31%, respectivamente con respecto a los germinados FL. Del mismo modo, el contenido en vitamina C se vio estimulado, observándose un incremento de 18, 31 y 36% tras la aplicación de los estreses lumínicos FL, B+R, B+R+FR, respectivamente. El incremento de compuestos fenólicos se debe al mecanismo de defensa que desencadena la planta tras recibir dichos estreses lumínicos y los compuestos antioxidantes ralentizan las reacciones de oxidación en las células (Martínez-Zamora et al., 2021).

CONCLUSIONES

Los germinados de col lombarda crecidos en oscuridad mostraron una mayor longitud y mayor peso. Sin embargo, el crecimiento bajo diferentes fotoperiodos de luz del espectro visible permitió incrementar su contenido en compuestos bioactivos. En conclusión, germinar bajo una iluminación con luces LED del espectro visible es una buena alternativa para potenciar la síntesis de los principales compuestos bioactivos.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la financiación al Proyecto de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia nº 20849/PI/18, de la convocatoria de subvenciones para el desarrollo de la investigación científica y técnica por grupos competitivos, del Programa Regional de Fomento de la Investigación Científica y Técnica (Plan de Actuación 2018) de la Fundación Séneca-Agencia de Ciencia y Tecnología de la Región de Murcia (España). N. Castillejo ha recibido una beca predoctoral (FPU16/04763) del Ministerio de Educación. El contrato de L. Martínez-Zamora ha sido cofinanciado por el Fondo Social Europeo (FSE) y la Iniciativa Europea para la Juventud (IEJ) de la Fundación Séneca (21322/PDGI/19).

REFERENCIAS

- Ahn, S.Y., Kim, S.A. and Yun, H.K. (2015). Inhibition of *Botrytis cinerea* and accumulation of stilbene compounds by light emitting diodes of grapevine leaves and differential expression of defense-related genes. *European Journal of Plant Pathology/European Foundation for Plant Pathology* 143(4): 753–765.
- Artés-Hernández, F., Castillejo, N. and Martínez-Zamora, L. (2022). UV and Visible Spectrum LED Lighting as Abiotic Elicitors of Bioactive Compounds in Sprouts, Microgreens, and Baby Leaves—A Comprehensive Review including Their Mode of Action. *Foods* 11(3): 265.
- Castillejo, N., Martínez-Zamora, L., Gómez, P.A., Pennisi, G., Crepaldi, A., Fernández, J.A., Orsini, F. and Artés-Hernández, F. (2021). Postharvest LED lighting: effect of Red, Blue and Far Red on quality of minimally processed broccoli sprouts. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 101(1): 44-53.

Martínez-Zamora, L., Castillejo N. and Artés-Hernández F. (2021). Postharvest UV-B and UV-C radiation enhanced the biosynthesis of glucosinolates and isothiocyanates in Brassicaceae sprouts. *Postharvest Biology and Technology* 181: 111650.

Moreno, D.A., Pérez-Balibrea, S. and García-Viguera, C. (2006). Phytochemical quality and bioactivity of edible sprouts. *Natural Product Communications* 1: 1037–1048.

Okarter, N. and Liu, R. (2010). Health benefits of whole grain phytochemicals. *Critical reviews in food science and nutrition* 50: 193–208.

Zapata, S. and Dufour, J.P. (1992). Ascorbic, dehydroascorbic and isoascorbic and simultaneous determinations by reverse phase ion interaction HPLC. *Journal of Food Science*, 57: 506–511.

TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Longitud media del hipocótilo (cm) de germinados de col lombarda cosechados a los 9 días de germinación.

	Oscuridad	FL	B+R	B+R+FR
Long. Hipocótilo (cm)	1,96±0,41 ^A	0,48±0,15 ^B	0,42±0,06 ^B	0,43±0,08 ^B
Peso por germinado (mg)	53,1±2,4 ^A	23,7±2,8 ^C	29,8±2,6 ^{BC}	32,6±2,3 ^B

Diferentes letras mayúsculas denotan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos lumínicos.

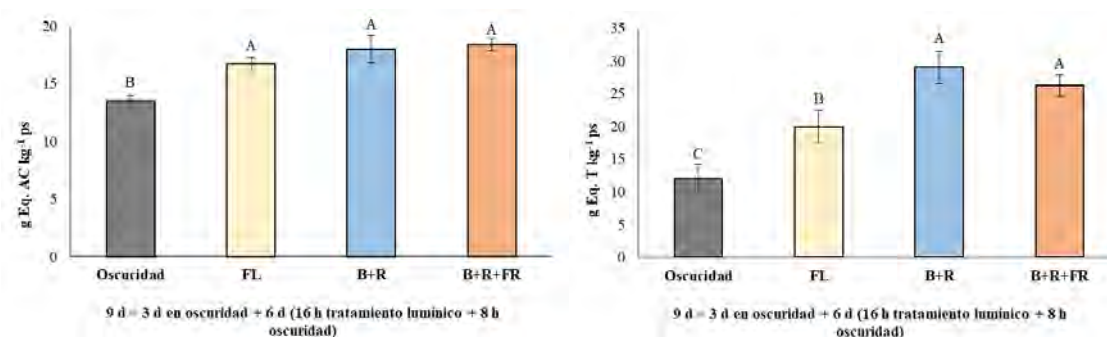


Figura 1. Contenido de fenoles totales (izquierda) y capacidad antioxidante (derecha) de germinados de col lombarda cosechados a los 9 días de germinación. Diferentes letras mayúsculas denotan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos lumínicos.

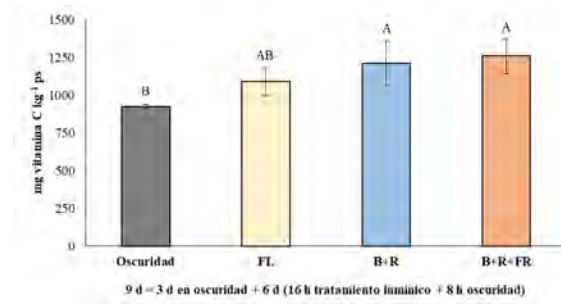


Figura 2. Contenido de vitamina C (mg kg^{-1}) de germinados de col lombarda cosechados a los 9 días de germinación. Diferentes letras mayúsculas denotan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos lumínicos.

Estudio comparativo de propiedades funcionales de variedades comerciales y autóctonas de manzana (*Malus domestica* Borkh)

A. Millán-Laleona ¹, S. Núñez ¹, F. Les ^{1,2}, F. J. Bielsa ³, P. Errea ^{2,3}, V. López ^{1,2}

1 Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad San Jorge, Villanueva de Gállego (Zaragoza)

2 Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2, CITA-Universidad de Zaragoza, 50830 Zaragoza

3 Departamento de Ciencia Vegetal, Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza

Resumen

La manzana es una fruta de gran interés agrícola y económico en Europa siendo además muy apreciada por su valor nutricional y su asociación con beneficios para la salud. La mayor cantidad de manzana que se consume en España corresponde a variedades comerciales e importadas perdiéndose algunos genotipos autóctonos bien adaptados a nuestro clima y geografía. El objetivo de este trabajo es comparar la actividad antioxidante, antiglicante y la cantidad de polifenoles totales de pulpa de diferentes variedades autóctonas procedentes de Aragón frente a otras comerciales. Los frutos estudiados corresponden a 3 variedades comerciales (Pinova, Royal Gala y Verde Doncella) y 5 variedades locales procedentes de zonas de montaña. La extracción de compuestos bioactivos se realizó empleando metanol. Para un primer cribado de polifenoles totales se empleó el método Folin; la actividad antioxidante se determinó mediante el ensayo del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazina (DPPH) y las propiedades antiglicantes mediante la inhibición de la formación de productos finales de glicación avanzada (AGEs) con albúmina sérica bovina. Los resultados muestran que las variedades comerciales son muy similares en cuanto actividades antioxidante y antiglicante, y cantidad de polifenoles. Con respecto a las variedades locales, la mayor parte de las muestras mostraron mejor actividad antioxidante y antiglicante que las comerciales, destacando MA 299 por su alto contenido en polifenoles y mayor actividad antioxidante y antiglicante. Por tanto, se concluye que las variedades autóctonas presentan en general interesantes perfiles de actividad antioxidante y antiglicante así como de contenido en polifenoles totales revelándose como una fuente nutricional de compuestos bioactivos para la salud que merece la pena ser explorada.

Palabras clave: antioxidante; antiglicante; polifenoles; compuestos bioactivos; alimentos funcionales

INTRODUCCIÓN

El consumo de frutas en general y manzanas en particular, ha sufrido recientemente una importante regresión a pesar de ser un alimento con grandes beneficios para la salud. Son una gran fuente de fibra, vitaminas, minerales y otros componentes fitoquímicos. Además, algunos estudios sugieren que su consumo produce una disminución en el riesgo

de padecer algunos tipos cáncer, enfermedades cardiovasculares y diabetes, lo que podría estar relacionado con la presencia de polifenoles y otros fitoquímicos que se encuentran de forma natural presentes en la fruta. Los polifenoles presentan propiedades antioxidantes y antiglicantes evitando el estrés oxidativo y el envejecimiento celular asociado a muchas patologías. En el caso de la manzana, *Malus domestica* Borkh (Rosaceae), existe una gran cantidad de variedades comerciales con diferencias fenotípicas que afectan a diferentes parámetros organolépticos; sin embargo, la diversidad genética dentro de variedades comerciales es pobre, lo que genera que sus cultivos no se adapten completamente a climas templados. Las tendencias de consumo actuales están ligadas a la fruta importada, provocando la pérdida progresiva de variedades locales en detrimento de las comerciales.

Este trabajo presenta como principal objetivo comparar las capacidades antioxidantes, antiglicantes y la cantidad de polifenoles de variedades comerciales de manzana frente a variedades locales de Aragón para dar un valor añadido a genotipos de proximidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

En primer lugar, se realizaron liofilizaciones y extracciones del material vegetal (pulpa de manzana) empleando como disolvente de extracción metanol mediante la aplicación de ultrasonidos durante 20 minutos. Para la obtención de la cantidad de polifenoles totales de las muestras se empleó el método Folin-Ciocalteu. Se realizó una mezcla de cada uno de los extractos con reactivo folin-ciocalteu, carbonato de sodio y agua. Tras 30 minutos de incubación a temperatura ambiente se mide la absorbancia a 760 nm. Los resultados están expresados en mg/L en equivalentes de ácido gálico interpolando los resultados de la absorbancia con una recta patrón. Se empleó la neutralización de los radicales de 2,2-difenil-1-picrilhidrazina (DPPH) como un método antioxidante a 515nm tras 30 minutos de incubación en oscuridad en placas de 96 pocillos (López et al., 2007). La determinación de la actividad antiglicante fue testada mediante la inhibición de los productos finales de glicación avanzada (AGEs) por el método de albúmina sérica bovina (BSA). Fue medida en placas de 96 pocillos de fondo negro según el método de Spinola et al. (2017) mediante fluorescencia. Como sustancia de referencia se utilizó quercetina.

Los resultados han sido presentados como valores medios y de error estándar de la media (SEM) de al menos tres experimentos independientes. Para el análisis se usó GraphPad Prism v.7.0. Los valores de IC50 fueron obtenidos por regresión no lineal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con respecto al contenido de polifenoles destacan las similitudes entre sí obtenidas para las variedades comerciales de Pinova, Royal Gala y Verde Doncella. Por encima de estos valores se encuentran las variedades MA299, MA190 Y MA117 (Tabla 1). Tanto en el método DPPH como en la formación de AGEs se observa una mayor capacidad antioxidante de los extractos de variedades autóctonas frente a variedades comerciales (Figura 1). Se destaca el papel de MA299 y MA117 convirtiéndose en variedades de interés

para proseguir el estudio en cuanto a efectos bioactivos y propiedades beneficiosas para la salud.

CONCLUSIONES

Los perfiles de actividad antioxidante, antiglicante y contenido en polifenoles de las variedades autóctonas son, en la mayoría de los casos, de mayor interés que los mostrados por las variedades comerciales.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto APPLECUT (ref. PID2019-108081RR-C21), financiado por la convocatoria 2019 del Ministerio de Ciencia e Innovación orientada a retos de la sociedad. Al Gobierno de Aragón por la financiación del grupo Phyto-Pharm (ref. B44_20D).

REFERENCIAS

López et al., 2007. In vitro antioxidant and anti-rhizopus activities of Lamiaceae herbal extracts. *Plant Foods Hum Nutr.* 2007 Dec;62(4):151-5

Spinola et al. (2017). Evaluation of Asteraceae herbal extracts in the management of diabetes and obesity. Contribution of caffeoylquinic acids on the inhibition of digestive enzymes activity and formation of advanced glycation end-products (in vitro). *Phytochemistry.* 2017 Nov;143:29-35.

Tabla 1. Tabla 1. Polifenoles totales medidos por el método Folin y datos de IC50 (en µg/mL) de actividad antioxidante (método DPPH) y actividad antiglicante (método BSA)

Muestra	Mg polifenoles/g extracto	Actividad antioxidante (IC ₅₀ medida por método DPPH)	Actividad antiglicante (IC ₅₀ medida por método BSA)
V.Doncella	9,5	578,0	1143,5
Pinova	10,7	605,8	1379,6
Royal Gala	SIN DATOS	580,7	1186,5
MA 116	6,0	1101,7	SIN EFECTO
MA 117	21,4	43,4	215,1
MA 141	15,8	141,4	420,0
MA 145	9,0	218,8	316,7
MA 146	12,2	184,9	443,1
MA 190	29,9	414,0	1087,6
MA 299	36,7	23,5	245,3

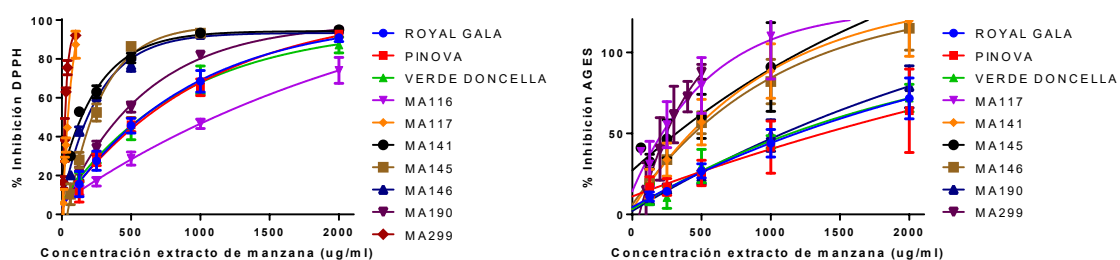


Figura 1. Actividad antioxidante (izquierda) y antiglicante (derecha) de extractos obtenidos de pulpa de variedades comerciales y autóctonas de manzanas.

Evaluación fisicoquímica y sensorial de variedades de manzano locales procedentes de zonas de montaña

J. Gonzalez^{1,2}, C.M. Cantín^{2,3}, P. Irisarri^{1,2}, L. Castel^{1,2}, P. Errea^{1,2*}

¹Departamento de Ciencia Vegetal, CITA, Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza

²Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Zaragoza.

³Estación Experimental de Aula Dei-CSIC, Avda. Montañana 1005, 50059 Zaragoza

Resumen

A lo largo de muchas décadas, la agricultura desarrollada en zonas montañosas desempeñó un importante papel social y económico, produciendo diversos recursos que abastecían una alta densidad de población y generaron una amplia diversidad de material vegetal de calidad entre los que se encuentra una gran diversidad de genotipos de manzano. Sin embargo, la gran mayoría no han sido explorados y podrían ser la base de obtención de productos alimentarios de calidad y valor diferencial con interés tanto para consumidores como para la industria.

Con el objetivo de conocer el potencial de estas variedades locales, se han analizado 21 accesiones de manzana de los Pirineos y 7 variedades comerciales, en términos de diversidad genética, contenido fenólico, azúcares, acidez total y perfil sensorial.

Las relaciones genéticas analizadas mostraron una gran variabilidad dando lugar a 5 subgrupos cada uno vinculado con una muestra de referencia diferente. El análisis de los caracteres relacionados con la calidad del fruto mostró un rango muy amplio de variabilidad para la harinosidad, acidez, amargor y astringencia, el contenido de azúcares y el contenido fenólico, observándose una mayor variabilidad entre las accesiones locales que entre las de referencia. Algunos de los caracteres analizados mostraron diferencias significativas al comparar distintos subgrupos genéticos. El conocimiento de las características organolépticas y nutraceuticas de estas variedades permitirá su utilización como parentales en los programas actuales de mejora y a su vez promover el valor intrínseco de los productos locales de calidad.

Palabras clave: germoplasma local, fenoles totales, azúcares, perfil sensorial, calidad de fruto.

INTRODUCCIÓN

La diversidad genética de los cultivares de manzana representa un recurso natural único e invaluable (Vardenzande et al., 2017). El uso masivo de unos pocos cultivares comerciales ha reducido drásticamente la diversidad genética de las variedades locales de manzana, y se han perdido muchas variedades tradicionales interesantes y bien adaptadas con muchos atributos deseables. En las zonas montañosas de Aragón, la selección efectuada por agricultores en sus huertos familiares, ha dado lugar a una gran diversidad de material vegetal frutal de calidad que constituye un interesante patrimonio genético. La variabilidad genética contenida en este germoplasma, sugiere que pueden existir diferencias interesantes

en la composición física y química y las propiedades nutricionales de la fruta, lo que podría incrementar el valor de estas accesiones locales.

La composición química de las manzanas es muy compleja. Entre los constituyentes más importantes se encuentran los compuestos fenólicos, azúcares y los ácidos orgánicos (Lanzerstofer et al., 2014). La concentración de compuestos fenólicos está estrechamente asociada con las propiedades nutricionales y sensoriales de los frutos, y junto con azúcares y ácidos orgánicos, contribuyen de manera importante al sabor de la fruta y también a su estabilidad, color, nutrición, aceptabilidad y cualidades de conservación.

Los principales objetivos de este trabajo fueron caracterizar selecciones locales de manzana recuperadas en zonas montañosas mediante el estudio de su diversidad genética, y el análisis del contenido en compuestos fenólicos, azúcares, ácidos orgánicos, sólidos solubles totales, así como el estudio de los atributos sensoriales, con el fin de poner en valor este material local único, especialmente en lo que se refiere a su composición química.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron 21 accesiones de manzana locales (*Malus domestica* Borkh) y 7 variedades comerciales. Estas accesiones pertenecen a la colección de germoplasma del CITA y fueron recuperadas en localidades pirenaicas de Aragón sobre árboles viejos y huertos familiares abandonados. Estos árboles se propagaron vegetativamente y se establecieron en colecciones ubicadas en Bescós de la Garcipollera (Huesca, Aragón) a una altitud de 900 m. Los frutos de manzana se recolectaron entre agosto y octubre en el período de maduración de cada cultivar. Se seleccionaron quince frutos de cada accesión para su análisis.

La caracterización genética se llevó a cabo mediante análisis de microsatélites según el procedimiento de extracción de ADN, PCR e identificación varietal descrito por Pina et al. (2014). Se usaron 13 marcadores SSR (excepto para las muestras MA 379 y MA 381 que se utilizaron 8 de los marcadores). Las relaciones genéticas se han estudiado utilizando un dendrograma construido en el software R (R Core Team, 2017) siguiendo el método UPGMA.

El contenido en fenoles totales se realizó mediante el método Folin – Ciocalteu. Para ello, se mezclaron 2 g de piel o 5 g de pulpa con 10 mL de una mezcla de metanol y agua (80:20 v/v) y NaF 2mM. Se trituró en ultraturrax, se centrifugó a 9500 rpm durante 10 minutos en refrigeración y se filtró. El precipitado se volvió extraer y los extractos se enrasaron a 25 mL. A 0.5 mL de ese extracto se le añadieron 0.5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu. Tras 5 minutos, se añadieron 0.5 mL de solución Na₂CO₃ al 7.5 % (p/v) y 7 mL de agua, y tras reposar 1h se centrifugó. La absorbancia se determinó a 760 nm en un espectrofotómetro. La curva patrón se preparó con ácido gálico en agua. El contenido de fenoles se expresó en mg de gálico por 100 gramos de piel o pulpa.

El contenido de sólidos solubles (SSC) se determinó a partir del zumo de la muestras de al menos 10 frutos, utilizando un refractómetro (Pocket Refractometer Pal-1) y expresado en °Brix. El contenido de ácido y el pH se determinaron a 20 °C, utilizando un pHmetro calibrado con tampones pH 4 y pH 7 medidos con un modelo 760 Basic Titrimo. 25 mL del zumo filtrado se llevó al valorímetro (760-Sample Change). El contenido de azúcares (sacarosa, glucosa, fructosa y sorbitol) se determinó mediante cromatografía

líquida de alta resolución (HPLC – ICP). Se diluyó 1 mL del zumo con agua Milli-Q a 25 mL, se filtraron a través de un filtro activado con difluoruro de polivinilideno y metanol con un filtro de 0,45 µm. Luego, 20 µl de la muestra tratada se inyectó en el HPLC. La separación se realizó con una columna de 10 µm, a 90 °C, utilizando como fase móvil una solución de 50 mg/L Na₂Ca EDTA a un flujo de 0,44 mL/min.

El análisis sensorial de cada accesión, tras un periodo de conservación de 11 semanas a 0.5°C, lo llevó a cabo un panelista del panel entrenado de catadores de manzana del CITA. Las muestras se mantuvieron durante un día a 20°C previamente al análisis sensorial y cada muestra se codificó mediante un número aleatorio de 3 dígitos. El análisis sensorial se compuso de 12 caracteres relacionados con el aspecto del fruto (forma; color de fondo; patrón, tono, intensidad y cantidad de chapa; tamaño de las lenticelas; color, cantidad, zona y textura de russet; color de la pulpa), y 13 caracteres relacionados con el flavor y la textura del fruto (grasosidad, grosor, dureza y sabor de la piel, firmeza, jugosidad, crocancia, harinosidad, astringencia, dulzor, acidez, amargor y aroma). Los caracteres cualitativos se fenotiparon mediante el uso de escalas categóricas, mientras que los caracteres cuantitativos se fenotiparon mediante una escala numérica del 1 al 9.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El agrupamiento UPGMA reveló una división en 5 subgrupos (Fig.1). En los que podemos ver la separación de las distintas variedades comerciales usadas de referencia. Los grupos más numerosos agrupan las variedades de referencia ‘Golden Supreme’, ‘Reineta’ y ‘Granny Smith’, las más antiguas y con orígenes diferentes. Sin embargo, tienen menos número de accesiones los grupos que se asocian a ‘Gala’ y a ‘Pinova’ siendo variedades de más reciente introducción. Solo dos muestras, la ‘MA 379’ y ‘MA 381’ resultaron ser genéticamente idénticas, identificando las demás como genotipos únicos.

El análisis sensorial de las variedades y accesiones analizadas mostró una gran variabilidad en todos los atributos evaluados, especialmente en las accesiones, permitiendo agrupar las muestras en dos grandes grupos definidos por la intensidad del atributo ‘harinosidad’ (Fig. 2). Todas las variedades comerciales, excepto ‘Reineta’, mostraron baja harinosidad. Se obtuvieron diferencias significativas para algunos atributos sensoriales según los 5 subgrupos genéticos observados. Así, el subgrupo 3 mostró una acidez mayor que los subgrupos 4 y 5, así como una mayor cantidad de russet que los grupos 2 y 4. El subgrupo genético 4 mostró el mayor contenido de glucosa y fructosa, siendo significativamente mayor a los contenidos del subgrupo 3.

El contenido de azúcares mostró valores con amplios rangos de variabilidad, como en el caso de la glucosa o la fructosa, donde los valores variaron desde las $7,91 \pm 1,90$ a los $44,15 \pm 1,77$ g/K muestra fresca (Fig. 3) para la glucosa, y entre $42,91 \pm 0,59$ y $101,60 \pm 0,50$ g/K para la fructosa. Las variedades comerciales mostraron más rango de variabilidad respecto a las comerciales en los contenidos de sacarosa, glucosa y fructosa. En cuanto al análisis de caracteres físico-químicos (Fig. 4) la mayor variabilidad se observó en el contenido de acidez, dando valores más elevados en las variedades locales, y en el índice SSC/TA, con valores muy diferentes respecto a las variedades comerciales.

Los valores de fenoles totales en piel oscilaron entre $169,8 \pm 33,6$ y $963,3 \pm 15,6$ mg de ácido gálico por 100g de peso seco en las variedades ‘MA 225’ y ‘MA 379’, respectivamente (Fig. 5), mientras que los valores de fenoles totales en pulpa oscilaron

entre 45,1±4,6 y 665,1±43,5 mg ácido gálico por 100g de peso seco en las variedades ‘Gala Must’ y ‘MA 117’, respectivamente. En general, el contenido en fenoles totales en la piel fue más elevado que en la pulpa para cada una de las variedades, aunque en las variedades comerciales ‘Fuji’, ‘Gala’ y ‘Gala Must’ esta diferencia fue especialmente notable debido al reducido contenido en fenoles de la pulpa. El subgrupo genético 4 mostró un contenido de fenoles totales en piel mayor significativamente que el resto de subgrupos, y una cantidad superior de fenoles en pulpa que el grupo 1.

CONCLUSIONES

La gran variabilidad observada en los caracteres relacionados con la calidad organoléptica y nutracéutica del fruto, el contenido en azúcares y acidez y la composición fenólica entre las accesiones recuperadas en localidades pirenaicas de Aragón, demuestran su valor como fuente de variabilidad e introducción de nuevos caracteres en los programas de mejora actuales. Los subgrupos genéticos identificados muestran diferencias significativas en cuanto a la calidad de fruto y su contenido en azúcares y compuestos fenólicos, lo que demuestra la gran importancia del perfil genético en estos atributos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha financiado con los proyectos A12_20R y A22_20R del Gobierno de Aragón.

REFERENCIAS

Lanzerstorfer, P., Wruss, J., Huemer, S., Steininger, A., Müller, U., Himmelsbach, M., 2014: Bioanalytical characterization of apple juice from 88 grafted and nongrafted apple varieties grown in upper Austria. *J. Agric. Food Chem.* 62(5), 1047-1056.

Pina, A., Urrestarazu, J., Errea, P., 2014. Analysis of the genetic diversity of local apple cultivars from mountainous areas from Aragon (Northeastern Spain). *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 174, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.04.037>

R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria; Available online: <https://www.R-project.org>.

Vanderzande, S., Micheletti, D., Troggio, M., Davey, M.W., Keulemans, J., 2017: Genetic diversity, population structure, and linkage disequilibrium of elite and local apple accessions from Belgium using the IRSC array. *Tree Genet. Genomes* 13(6). DOI: 10.1007/s11295-017-1206-0

FIGURAS

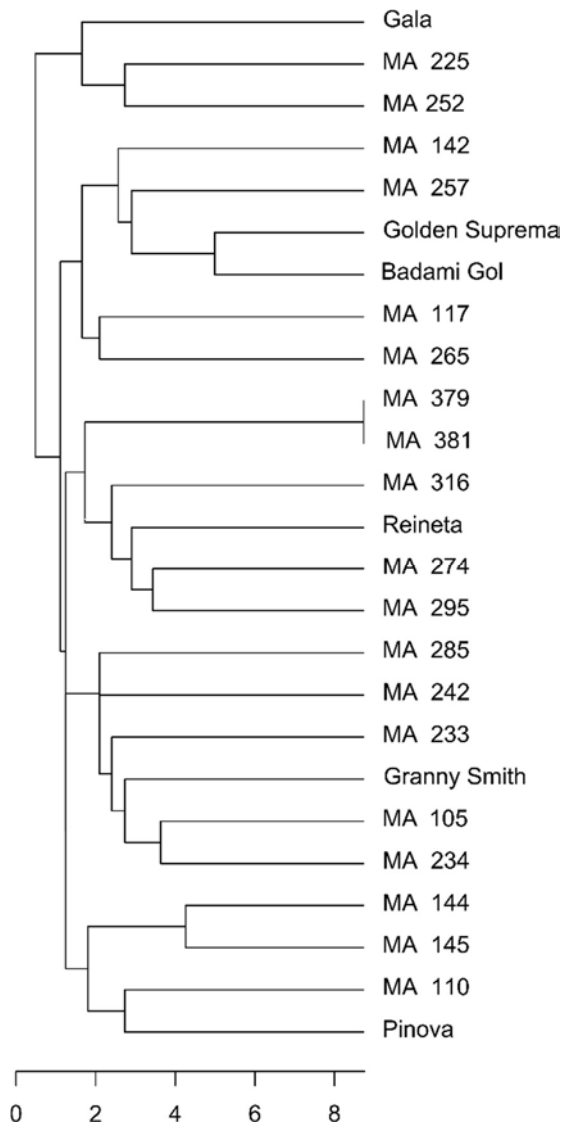


Figura 1. Dendrograma UPGMA que representa las relaciones genéticas entre las accesiones de manzanas locales únicas prospectadas en zonas montañosas de Aragón y los cultivares de referencia.

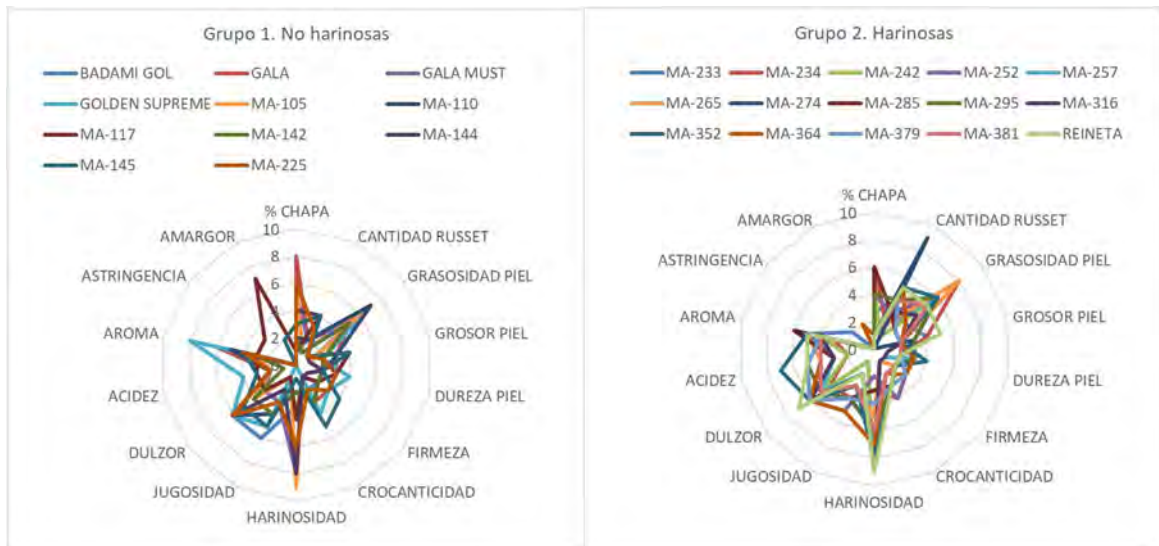


Figura 2. Variedades de referencia y accesiones de manzanas locales únicas prospectadas en zonas montañosas de Aragón agrupadas según sus perfiles sensoriales.

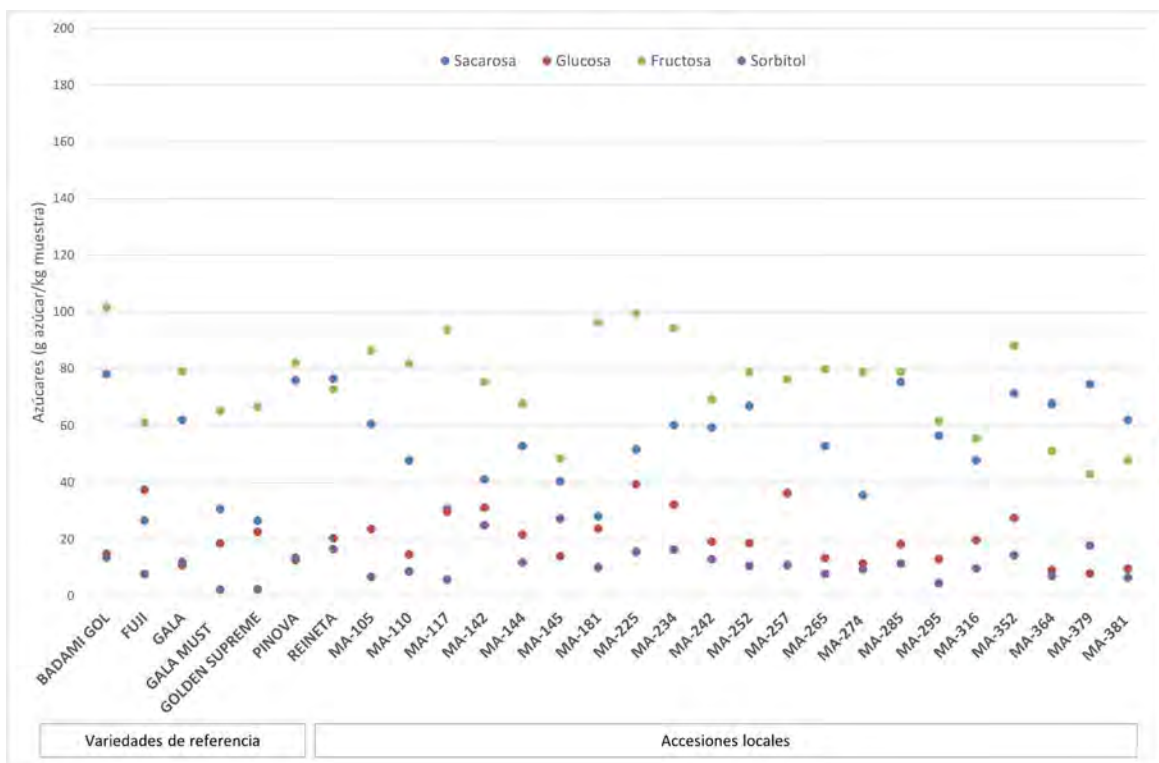


Figura 3. Contenido de azúcares sacarosa, glucosa, fructosa y sorbitol, expresados en g/kg de muestra en 7 variedades de referencia y 21 accesiones de manzanas locales únicas prospectadas en zonas montañosas de Aragón.

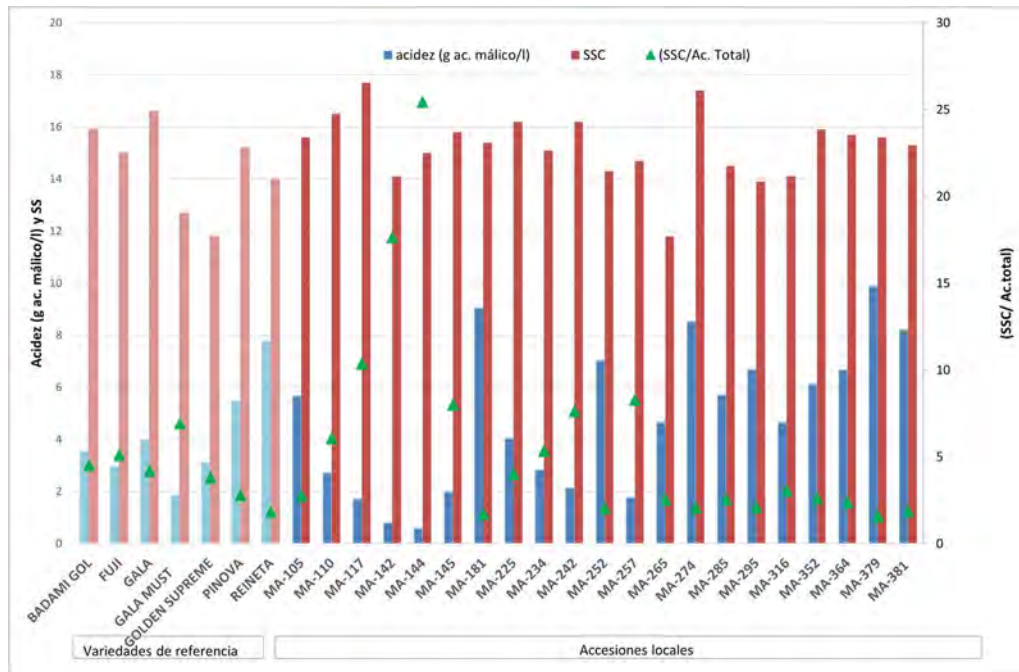


Figura 4. Contenido en acidez (TA, g ac. málico/l), sólidos solubles totales (SSC, ° Brix) e índice de madurez (SSC/TA) en 7 variedades de referencia y 21 accesiones de manzanas locales únicas prospectadas en zonas montañosas de Aragón.

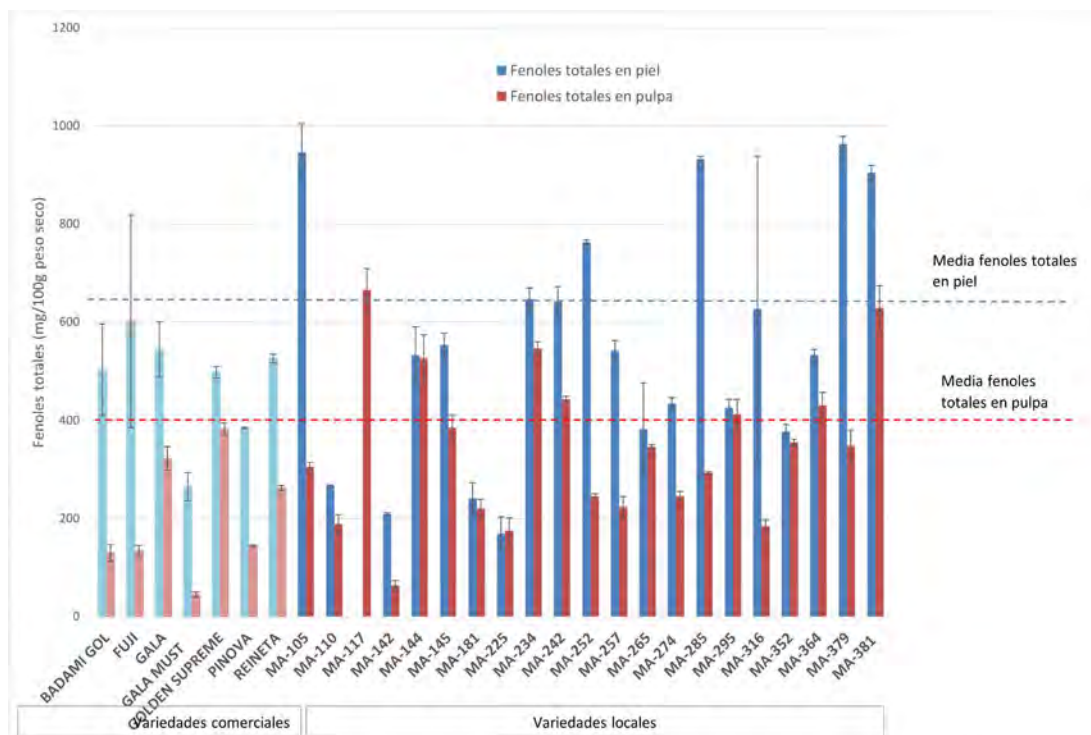


Figura 5. Contenido en fenoles (mg de ácido gálico por 100g de peso seco) en piel y en pulpa en 7 variedades de referencia y 21 accesiones de manzanas locales únicas prospectadas en zonas montañosas de Aragón.

Desarrollo de un test ELISA para la determinación del potencial alergénico en manzanas

A.P. Tobajas, L. Rodrigo, E. Arias, A. Civera, C. Esteban, M.D. Pérez*

Tecnología de los alimentos. Facultad de Veterinaria. Miguel Servet 177. 50013, Zaragoza
Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2) (Universidad de Zaragoza-CITA).
atobajas@unizar.es

Resumen

La manzana (*Malus domestica*) es la fruta más cultivada en Europa. Su consumo puede causar reacciones alérgicas en individuos susceptibles, siendo las más severas las inducidas por la proteína Mal d 3, presente principalmente en la piel. El objetivo de este trabajo ha sido desarrollar un test ELISA sandwich para la determinación de Mal d 3. El test desarrollado se ha aplicado para determinar la concentración de dicha proteína en la piel de cuatro variedades de manzana ('Granny Smith', 'Golden Delicious', 'Opal' y 'Rockit') recolectadas en diferentes grados de madurez y conservadas durante 3 y 5 meses en atmósfera controlada (AC). Para ello, la Mal d 3 se purificó mediante técnicas cromatográficas y de ultrafiltración y se inoculó en conejos para obtener antisueros. Los anticuerpos específicos se aislaron por inmunoafinidad, utilizando Mal d 3 insolubilizada en una matriz cromatográfica, y se conjugaron con fosfatasa alcalina. En todas las muestras, se determinó también el contenido en sólidos solubles y la acidez titulable de la pulpa, indicativos del grado de madurez, así como el contenido en proteína y perfil proteico de la piel. El test ELISA desarrollado tiene un límite de detección de 0,9 ng/ml y un rango lineal entre 1,2 y 50 ng/ml. La concentración de Mal d 3 de la piel de las manzanas recogidas en el grado de madurez definido como el óptimo varió entre 4,4 µg/g ('Rockit') y 13,0 µg/g ('Granny Smith'). Las manzanas recolectadas una semana antes o después del momento óptimo de recolección y las conservadas en AC mostraron concentraciones con tendencias diferentes según la variedad, observándose a los cinco meses una disminución de Mal d 3 en la variedad 'Granny Smith' y un aumento en las variedades 'Golden Delicious' y 'Opal'. Por otra parte, se ha determinado la correlación entre todos los parámetros estudiados.

Palabras clave: ELISA, Mal d 3, alérgenos, frutas, rosáceas.

INTRODUCCIÓN

Las frutas son parte integral de una dieta equilibrada por sus efectos beneficios para la salud humana, sin embargo, también son uno de los principales alimentos que causan alergias, siendo en nuestro país, la causa más frecuente (44,7 % del total de alergias alimentarias) y las frutas rosáceas, entre ellas la manzana, las principales implicadas (59,4% de las inducidas por frutas) (SEAIC, 2015). La proteína Mal d 3, perteneciente a la familia LTP (Lipid Transfer Proteins) es la más alergénica de la manzana e induce con frecuencia reacciones sistémicas graves y choque anafiláctico. El contenido de proteínas alergénicas presentes en la fruta depende de la variedad, así como de factores agronómicos, madurez de la fruta y condiciones de almacenamiento postcosecha (Hassan y Venkatesh, 2015).

El objetivo principal de este estudio ha sido desarrollar una técnica ELISA para determinar la concentración de Mal d 3 y aplicar esta técnica para determinar su concentración en diferentes variedades de manzana, recolectadas en diferentes grados de madurez y conservadas varios meses en atmósfera controlada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las manzanas de las variedades ‘Golden Delicious’, ‘Granny Smith’, ‘Rockit’ y ‘Opal’ se recolectaron de cinco árboles seleccionados al azar en una finca situada en La Almunia de Doña Godina (Zaragoza). De cada árbol se recogieron 10-15 manzanas de diferentes zonas, las cuales se separaron en 3 lotes de 15 manzanas cada uno. Las manzanas se recogieron en el grado óptimo de madurez comercial, así como una semana antes y una semana después del mismo. Además, las muestras recolectadas en el óptimo de madurez se almacenaron en ULO (Ultra Low Oxygen,) y a 0-1 °C durante cinco meses. Todos los análisis se realizaron por triplicado para cada lote de manzanas.

Las proteínas de la piel de las manzanas se extrajeron en una relación 2:1 (p/v) con tampón fosfato sódico pH 5,6 con EDTA 2mM, DIECA 10 mM y PVP al 2 %. La purificación de la proteína Mal d 3 se llevó a cabo a partir de los extractos obtenidos mediante cromatografía de intercambio catiónico en gel SP-Sepharose y filtración en gel Sephadex G-50 (Tobajas et al., 2020). La pureza se determinó por SDS-electroforesis en condiciones reductoras.

La proteína Mal d 3 purificada se inoculó en conejos para obtener antisueros. Los anticuerpos específicos se purificaron mediante inmunoadsorción, utilizando Mal d 3 insolubilizada en una matriz cromatográfica. La conjugación de los anticuerpos específicos con la enzima fosfatasa alcalina se realizó utilizando un kit comercial (Abcam, Cambridge, Reino Unido).

La técnica ELISA sandwich se ha desarrollado utilizando los anticuerpos anti-Mal d 3 sin conjugar como reactivo de captura y con los conjugados como reactivo de detección. Para ello, los pocillos de las placas se tapizaron con anticuerpos purificados anti-Mal d 3 (10 µg/ml) y después se bloquearon con ovoalbúmina al 3 % (p/v). Tras el lavado, los pocillos se incubaron con 100 ml/pocillo de los estándares de Mal d 3 o las muestras durante 30 min. Tras realizar otro lavado, los pocillos se incubaron con anticuerpos anti-Mal d 3 marcados con fosfatasa alcalina. Finalmente, los pocillos se lavaron y se incubaron con un sustrato comercial de la fosfatasa alcalina y tras 30 minutos a temperatura ambiente, la reacción se detuvo añadiendo NaOH 2N. La absorbancia de los pocillos se midió a 405 nm.

El análisis del contenido en sólidos solubles totales (SST) se realizó en un refractómetro digital y la determinación de la acidez titulable se llevó a cabo mediante valoración con NaOH 0,1 N utilizando un titulador automático. La concentración de proteína de los extractos se cuantificó mediante la técnica colorimétrica de Bradford, utilizando albúmina sérica bovina como patrón. El perfil proteico se determinó mediante SDS-electroforesis en condiciones reductoras y la tinción de los mismos se realizó con Azul de Coomassie y con plata. La concentración de Mal d 3 se determinó mediante la técnica ELISA sandwich desarrollada.

El análisis estadístico de los resultados se realizó con el programa GraphPad Prism 8, aplicando un análisis de varianza (ANOVA) con una prueba post hoc de Tukey ($P \leq$

0,05). La relación entre los parámetros se determinó mediante la correlación de Pearson con el programa Excel 2016.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Desarrollo de la técnica ELISA para determinar Mal d 3. La curva de calibración obtenida en la técnica de ELISA sandwich para la determinación de Mal d 3 en las condiciones optimizadas se muestran en las Figura 1. El mejor ajuste se obtuvo al representar la absorbancia a 405 nm de los estándares frente a la concentración de Mal d 3 mediante una curva polinomial de segundo grado. El rango lineal de concentraciones fue entre 1,2 y 50 ng/ml. Los límites de detección y cuantificación de la técnica optimizada, han sido de 0,9 y 2 ng/ml, respectivamente.

Contenido en SST y grado de acidez de la pulpa. La concentración de SST de las variedades de manzana en los diferentes grados de madurez y tiempos de almacenamiento se muestra en la Figura 2. La variedad ‘Rockit’ es la que presentó en el óptimo de madurez el mayor contenido en SST (15,9 °Brix) y la ‘Granny Smith’ el más bajo (10,3 °Brix). Este parámetro se vio poco afectado durante el periodo de recolección y experimenta un pequeño aumento durante el almacenamiento, salvo en la variedad ‘Golden Delicious’, que disminuyó ligeramente. Respecto a la acidez titulable en el grado óptimo de madurez (Figura 3), ‘Granny Smith’ fue la variedad más ácida, con 6,3 g ácido málico/Kg, valor que es del orden del 40-50% mayor que el de las otras variedades. La acidez no se vio afectada de forma significativa por el grado de madurez y el tiempo de almacenamiento, salvo en la variedad ‘Opal’ que disminuyó un 40% a los 5 meses de almacenamiento.

Concentración de proteína total y perfil proteico de la piel. La concentración de proteína de la piel de las diferentes variedades de manzana recolectadas en diferentes grados de madurez y tiempos de almacenamiento se muestra en la Figura 4. En el óptimo de madurez comercial, la variedad ‘Granny Smith’ fue la que presentó la menor concentración de proteína (49,2 µg/g) y la variedad ‘Golden Delicious’ la mayor concentración (108,2 µg/g). Las variedades ‘Rockit’ y ‘Opal’ presentaron una concentración intermedia, de 69,8 y 56,6 µg/g, respectivamente. Durante la maduración, en la variedad ‘Granny Smith’ se observó una disminución de proteína mientras que en la variedad ‘Opal’ se observó la tendencia contraria. Durante el almacenamiento, todas las variedades mostraron un aumento gradual y marcado del contenido proteico como se indica en el trabajo de Sancho et al. (2006), siendo la relación entre la concentración a los 5 meses respecto al grado de madurez óptimo de 2,3, 4,9, 4,1 y 7,6 para las variedades ‘Granny Smith’, ‘Golden Delicious’, ‘Rockit’ y ‘Opal’, respectivamente. El análisis por SDS-electroforesis de los extractos de piel de las cuatro variedades de manzana mostró un perfil similar, con proteínas entre 10 y 90 kDa, aunque con bandas de diferente intensidad según la variedad (Figura 5). Además, en todas las muestras analizadas se visualizó claramente la banda correspondiente a la proteína Mal d 3.

Concentración de proteína Mal d 3 de la piel. Las variedades ‘Granny Smith’ y ‘Golden Delicious’ son las que presentaron en el óptimo de madurez una mayor concentración de Mal d 3 (aproximadamente 13 µg/g), y la variedad ‘Rockit’ el menor contenido (4,4 µg/g) (Figura 6). Las variedades ‘Granny Smith’, ‘Rockit’ y ‘Opal’ mostraron una disminución de la concentración de Mal d 3 al aumentar el grado de madurez, mientras que en la variedad ‘Golden Delicious’ la menor concentración

correspondió al grado óptimo de madurez. Durante el almacenamiento, se observaron pequeñas diferencias en la concentración de Mal d 3. Así, a los 5 meses la variedad ‘Granny Smith’ es la única que experimentó una disminución significativa de la concentración con respecto al grado de madurez óptimo, del orden de 1,5 veces, lo que concuerda con los resultados obtenidos para las variedades Cox y Gala (Sancho et al., 2006), mientras que las variedades ‘Golden Delicious’ y ‘Opal’ experimentaron un incremento significativo, de 1,2 y 1,4 veces, respectivamente. Por el contrario, la variedad ‘Rockit’ presentó una concentración similar a los 5 meses que en el óptimo de madurez.

La correlación entre los parámetros determinados ha sido en general moderada o baja, y con valores diferentes según las variedades, por lo que no es posible establecer una tendencia en el comportamiento de los mismos.

CONCLUSIONES

La técnica de ELISA tipo sándwich desarrollada para la determinación de Mal d 3 presenta una alta sensibilidad, siendo capaz de detectar 0,9 ng/ml.

La concentración de proteína de la piel de manzana en el óptimo de madurez comercial varía entre 49 µg/g (‘Granny Smith’) y 108 µg/g (‘Golden Delicious’). Las manzanas recolectadas antes o después del óptimo muestran concentraciones con tendencias diferentes según la variedad, mientras que en todas las variedades se produce un aumento gradual y marcado de proteína durante el almacenamiento, sobre todo en la variedad ‘Opal’.

La concentración de Mal d 3 de la piel de manzana en el óptimo de madurez comercial varía entre 4,4 µg/g (‘Rockit’) y 13,0 µg/g (‘Granny Smith’). Las manzanas recolectadas una semana antes o después del óptimo de madurez y las almacenadas en refrigeración en atmósfera controlada muestran concentraciones con tendencias diferentes según la variedad, observándose a los cinco meses una disminución en la variedad ‘Granny Smith’ y un aumento en las variedades ‘Golden Delicious’ y ‘Opal’.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado gracias a la financiación obtenida por el Gobierno de Aragón (Grupos consolidados A20_20R y A22_20R) y al contrato predoctoral del Gobierno de Aragón obtenido por Ana Pilar Tobajas.

REFERENCIAS

- Hassan, A. K. and Venkatesh, Y. P. (2015). An overview of fruit allergy and the causative allergens. *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.*, 47(6), 180-187.
- Sancho, A. I., Foxall, R., Rigby, N. M., et al. (2006). Maturity and storage influence on the apple (*Malus domestica*) allergen Mal d 3, a nonspecific lipid transfer protein. *J. Agric. Food Chem.*, 54(14), 5098-5104.
- Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC) (2015). *Alergológica 2015*. Madrid: SEAIC. Disponible en: <https://n9.cl/qqvxv> [Consultado 15-05-2022].
- Tobajas, A. P., Agulló-García, A., Cubero, J. L., et al. (2020). Effect of high pressure and pulsed electric field on denaturation and allergenicity of Pru p 3 protein from peach. *Food Chem.*, 126745.

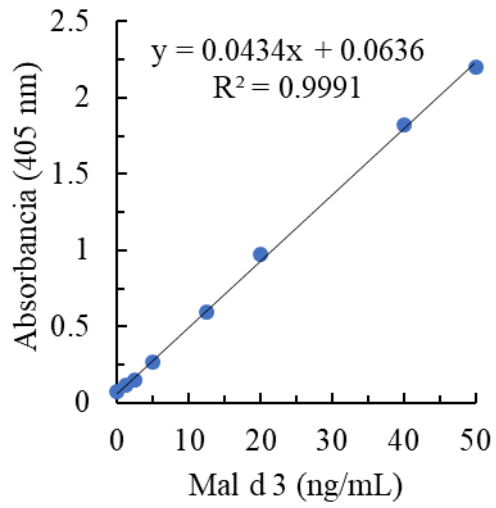


Fig. 1 Curva de calibración obtenida con la técnica de ELISA sandwich para la determinación de la proteína Mal d 3.

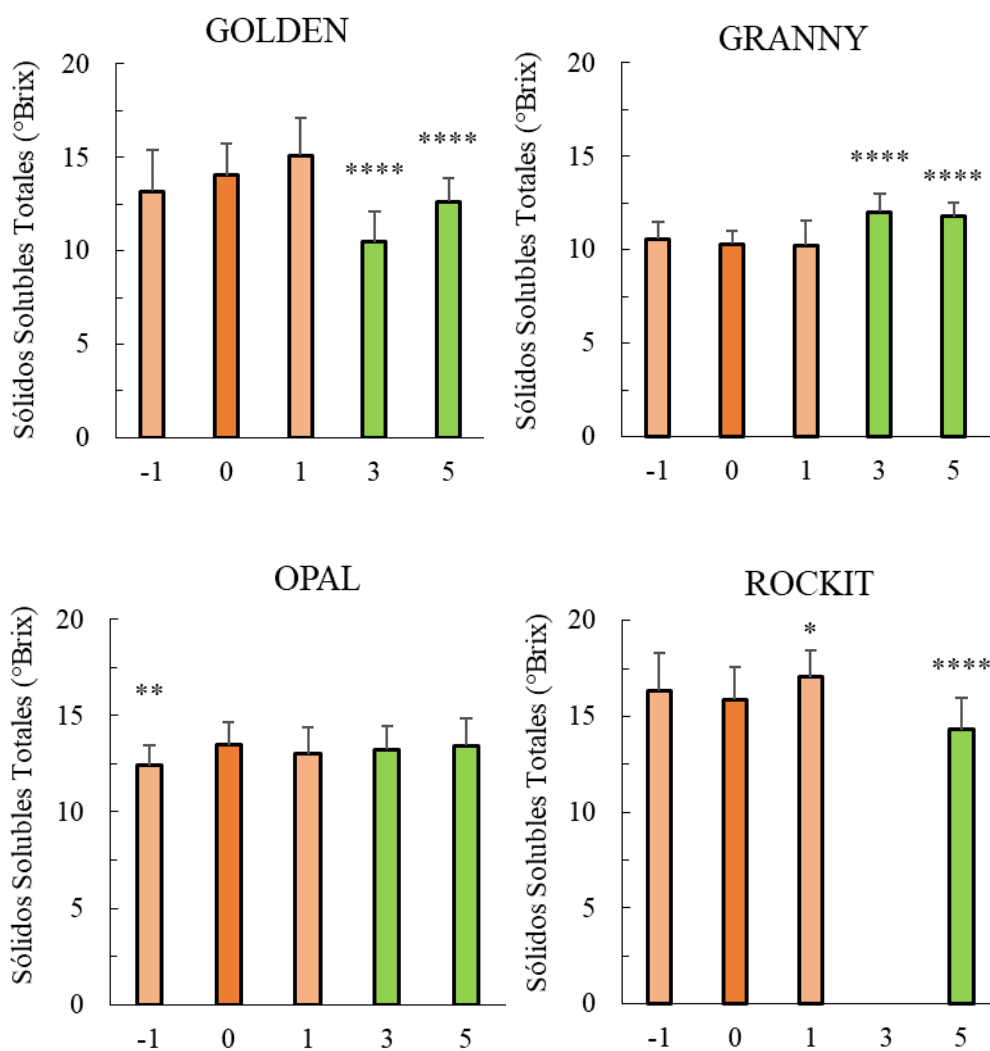


Fig. 2. Concentración de sólidos solubles totales (°Brix) de las diferentes variedades de manzana en los distintos grados de madurez comercial y durante el almacenamiento en refrigeración en atmósfera controlada. Los números del eje de abscisas corresponden al grado de madurez (0, óptimo; -1 y 1, una semana antes o después del óptimo) y al tiempo de almacenamiento (3, 3 meses; 5, 5 meses). Los asteriscos indican diferencias significativas con respecto al grado de madurez óptimo (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$; **** $P \leq 0,0001$).

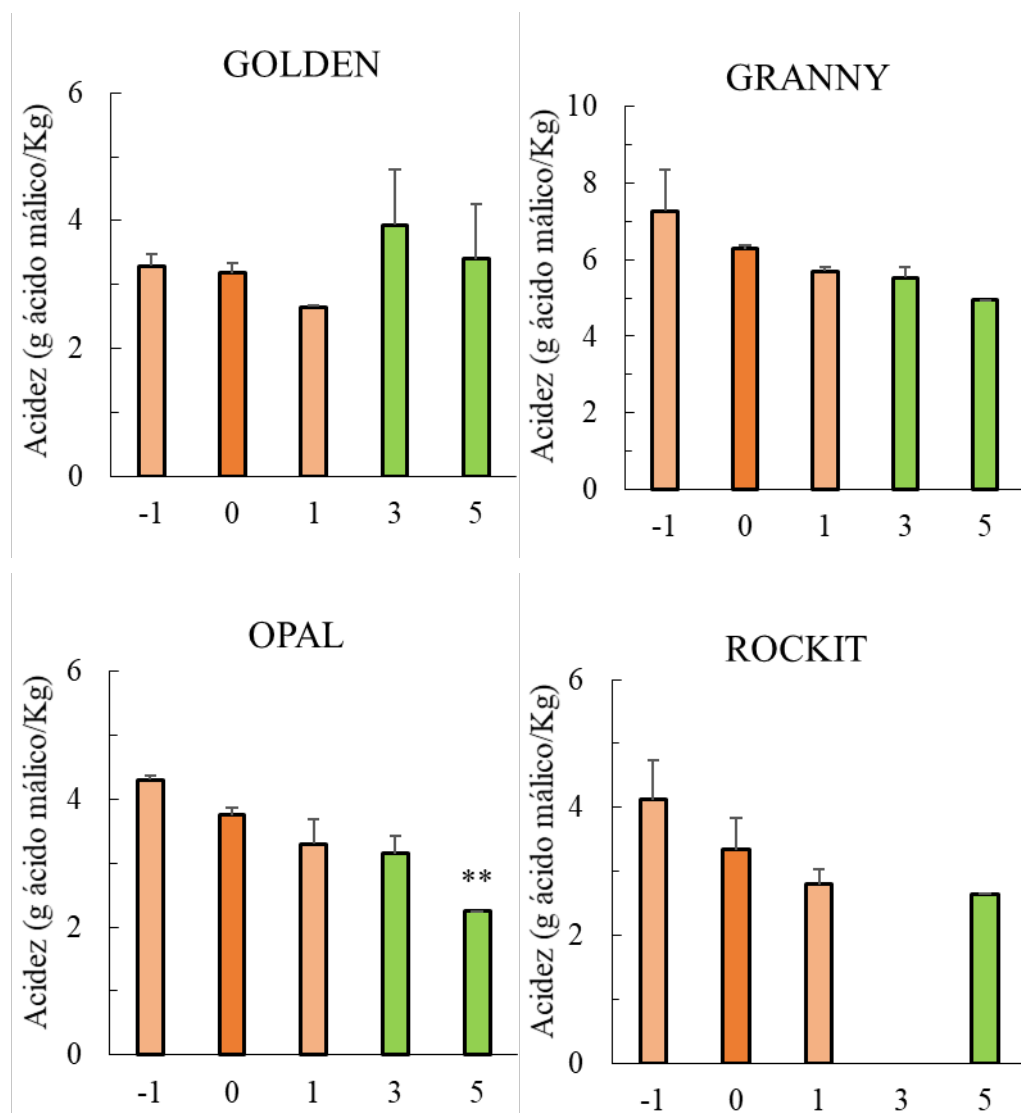


Fig. 3. Valores de acidez titulable (g ácido málico/kg) de las diferentes variedades de manzana en los distintos grados de madurez comercial y durante el almacenamiento en refrigeración en atmósfera controlada. Los números del eje de abscisas corresponden al grado de madurez (0, óptimo; -1 y 1, una semana antes o después del óptimo) y al tiempo de almacenamiento (3, 3 meses; 5, 5 meses). Los asteriscos indican diferencias significativas con respecto al grado de madurez óptimo (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$).

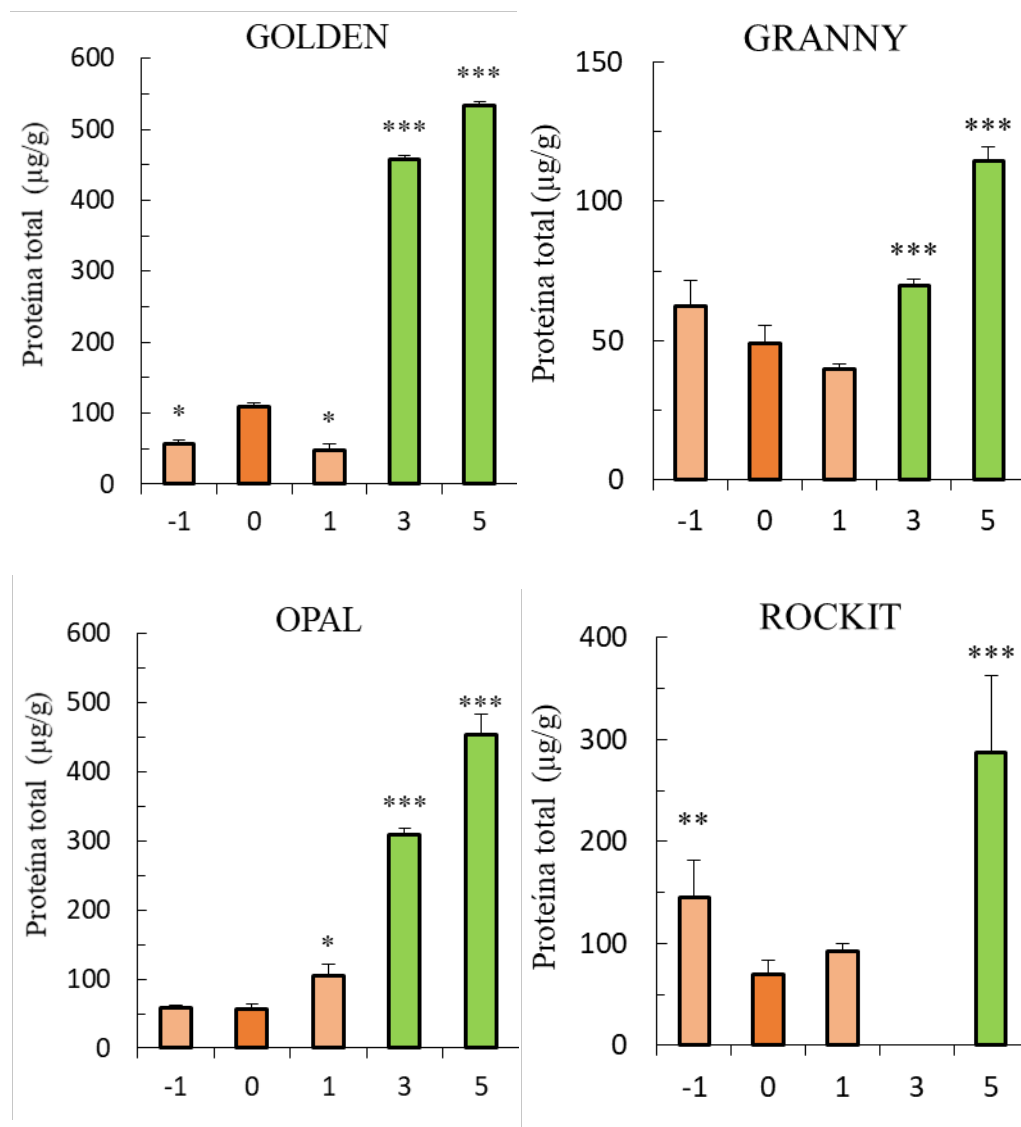


Fig. 4. Concentración de proteína total ($\mu\text{g/g}$) en extractos de piel de las diferentes variedades de manzana en diferentes en los distintos grados de madurez comercial y durante el almacenamiento en refrigeración en atmósfera controlada. Los números del eje de abscisas corresponden al grado de madurez (0, óptimo; -1 y 1, una semana antes o después del óptimo) y al tiempo de almacenamiento (3, 3 meses; 5, 5 meses). Los asteriscos indican diferencias significativas con respecto al grado de madurez óptimo (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

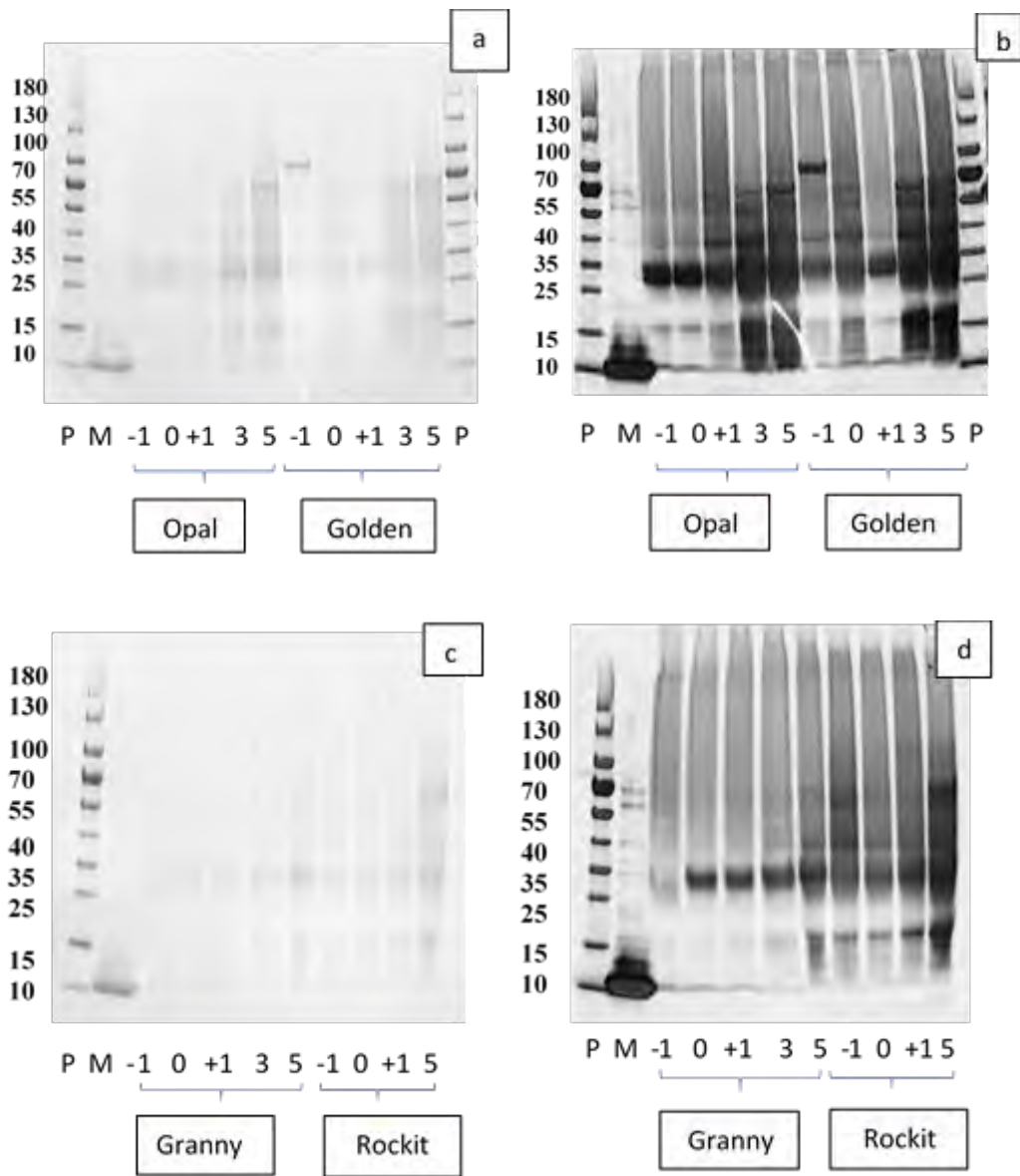


Fig. 5. SDS-Electroforesis en gel de poliacrilamida 4-20 % en condiciones reductoras de extractos de piel de diferentes variedades de manzana en distintos grados de madurez y tiempos de almacenamiento postcosecha. Tinción con azul de Coomasie (a,c). Tinción con plata (b,d). (P) Patrón de pesos moleculares, (M) Mal d 3. Los números corresponden al grado de madurez (0, óptimo; -1 y +1, una semana antes o después del óptimo) y al tiempo de almacenamiento en meses en refrigeración y atmósfera controlada (3, 3 meses; 5, 5 meses).

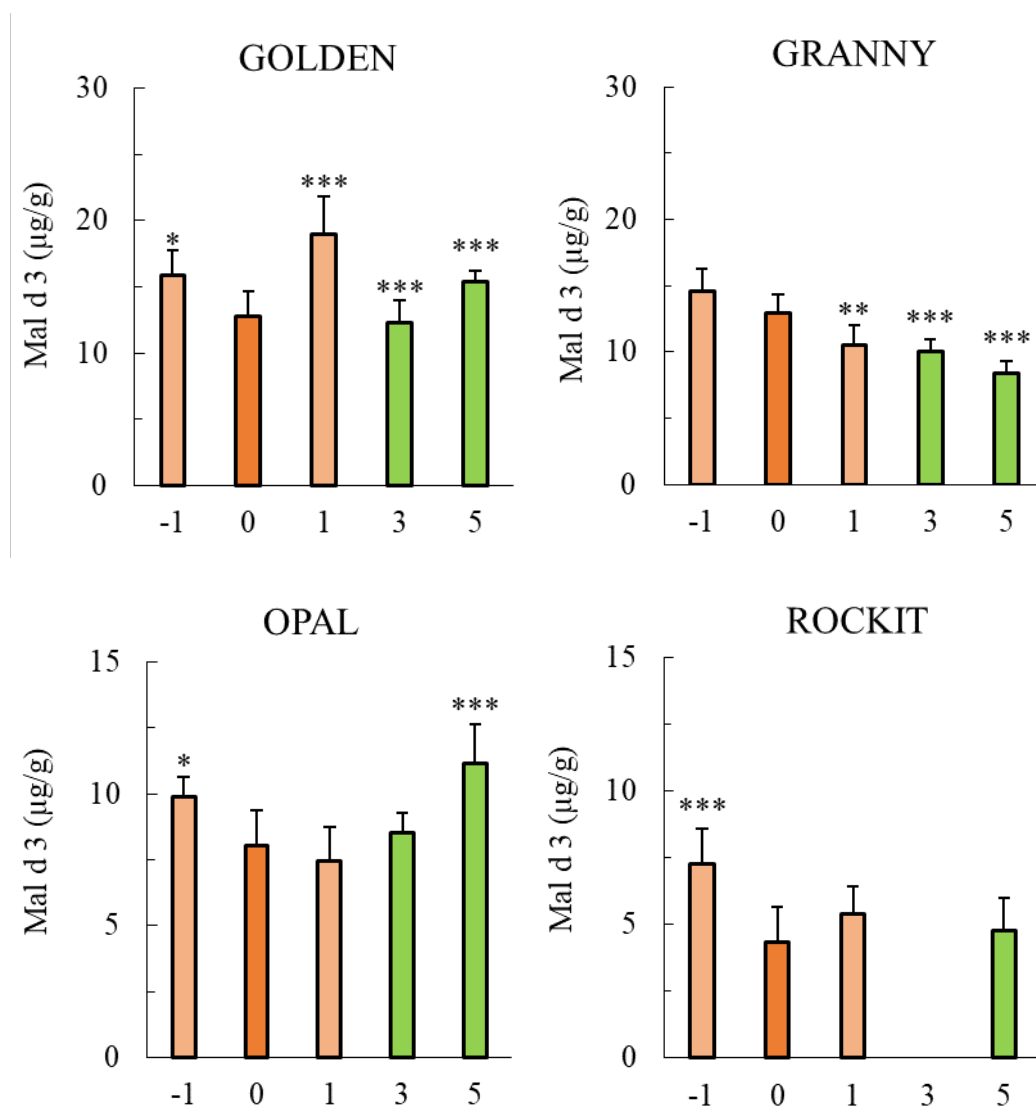


Fig. 6. Concentración de Mal d 3 determinadas en extractos de piel de manzana de las diferentes variedades en los distintos grados de madurez comercial y durante el almacenamiento en refrigeración en atmósfera controlada. Los números del eje de abscisas corresponden al grado de madurez (0, óptimo; -1 y 1, una semana antes o después del óptimo) y al tiempo de almacenamiento (3, 3 meses; 5, 5 meses). Los asteriscos indican diferencias significativas con respecto al grado de madurez óptimo (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$).

Sensory attributes and consumers' willingness to pay for apple cultivars grown at different altitudes

C.M. Cantín^{a,b*} and A. Gracia^{b,c}

^a Estación Experimental de Aula Dei (EEAD-CSIC), Avda. Montañana 1005, 50059 Zaragoza.

^b Unidad de Economía Agroalimentaria. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), Avda. Montañana, 930, 50059 Zaragoza.

^c Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Zaragoza.

*Email: cmcantin@eead.csic.es

Resumen

Previous studies on the consumers' acceptance of apple cultivars state that their sensory properties have a large influence on consumers' willingness to pay (WTP). Following this evidence, our objective was to study the effect of sensory properties in consumers' WTP for apples in Spain. Two apple' cultivars ('Golden Delicious' and 'Reineta') grown at two different altitudes (higher and lower) were investigated. A total of 195 apple consumers participated in the experiment conducted in Zaragoza (Spain). The experiment consisted of two steps. First, participants were asked to rate four sensory attributes (firmness, juiciness, mealiness and sweetness) for the four apple samples. Second, participants should indicate their maximum WTP for each apple. Finally, socio-demographic, fruit and apple consumption and purchase habits information was collected. Results indicated that the WTP for 'Golden D.' was higher than for 'Reineta' and, higher for the apples grown in high altitude than for the ones grown in low altitude. The only sensory property that did not influence the WTP for the four apples was mealiness. Juiciness and sweetness positively influenced the WTP for all the apples except for 'Golden D.' grown in low altitude where no effect was detected. Firmness negatively influence the WTP for 'Golden D.' and positively for 'Reineta' but only for the one cultivated in low altitude. These findings indicate that sweeter and juicer apples might be marketed with higher prices and that higher firmness is only appreciated in some specific cases.

Keywords: Aragon, preferences, tasting.

INTRODUCTION

Previous studies on the consumers' acceptance of apple cultivars conclude that sensory quality (flavour, taste and texture) is one of the most important factors influencing the decision to buy apples, being even more important than price (Bonany et al., 2003). Other studies state that consumers are willing to pay premium prices for apple cultivars that are perceived superior in textural (e.g., firmness) and in flavour (e.g., sweetness) characteristics (Hong et al 2018). Then, the consumers' sensory evaluation and the willingness to pay for apples are related and, this relationship has been studied in several papers (Gallardo et al. 2017; Hong 2018; among others). Following them, our objective was to study the effect of apples sensory properties in consumers' WTP for apples in Spain. Two apple cultivars ('Golden Delicious' and 'Reineta') grown at two different altitudes (higher and lower) were investigated. Combining data from an experimental auction with

a sensory evaluation of untrained consumers, the present study aims to: *i*) test whether the WTPs and the sensory properties differs among apple cultivars at two growing altitudes; *ii*) measure the effect of sensory properties (firmness, juiciness, mealiness and sweetness) and consumers' socio-demographic characteristics on the WTPs for the four apples.

MATERIAL AND METHODS

Products, participants, and experiment description

Two apple cultivars, a widespread ('Golden Delicious') and a local ('Reineta') apple, were selected, both produced in two different growing altitudes. For the lower altitude, apples cultivated in a valley site (Ebro valley, Zaragoza, ca. 300 m a.s.l.) and for the higher altitude, apples cultivated in a hilly site (Manubles valley, Moros, ca. 800 m a.s.l.) were studied. The apples were kept in the cold storage (1.5 °C under normal atmosphere and 80% relative humidity (RH)) until the evaluations (4 and 6 weeks of cold storage for 'Reineta' and 'Golden D.', respectively).

Participants were recruited by the research team with the help of consumer's associations and public institutions in different locations (universities, town hall learning centers, community activity centers, etc.) in Zaragoza (middle-sized town in the Northeast of Spain close to the two growing sites). The target population was primary food shoppers of the household who consume apples at home and older than 18 years.

The experiment was conducted in 20 working sessions of around 10 participants, reaching a total of 195 participants. Each session lasted approximately 1 h and were carried out either in the morning, mid-day, afternoon, or evening. The experiment protocol was approved by the Ethical Committee of CITA. All participants voluntarily joined the experiment and before, they received information on the nature of the experiment and signed an informed consent form of participation. To keep the anonymity, each participant was assigned an identification number. The experiment was conducted from October to November 2019, when the apples were in season.

The working sessions consisted of three tasks: consumer evaluation test, the experimental auction, and the completion of a brief questionnaire. First, each participant received two apple slices of the same cultivar ('Golden D. '), one for each growing site (hilly and valley) with some information about the cultivars and the growing attitude. They were asked to rate four sensory attributes (firmness, juiciness, mealiness and sweetness) using a 9-point hedonic scale (1 = dislike extremely; 9 = like extremely). The descriptors were developed by consensus by the authors considering their experience and previous literature on sensory analysis of apple. After, participants were asked for the maximum price they would be willing to pay for each of them. In a second round, the other two slices from the second cultivar ('Reineta') were also rated for the same descriptors, and the maximum price they would be willing to pay was also asked. Finally, a questionnaire gathering information on socio-demographic characteristics and fruit and apple purchase and consumption habits was completed.

Statistical analyses

First, paired t-tests were performed to analyse whether differences in WTP and sensory attributes scores between growing sites (hilly and valley) exist for the two apples cultivars. Second, the WTP for each of the four apple was related with the sensory attribute's evaluations and the consumers' socio-demographic characteristics and a Tobit

model was specified and estimated (Greene, 2008). This model was chosen because, as observed in table 1, often participants give zero values for the WTPs.

RESULTS AND DISCUSSION

Around 60 percent of the respondents were women with an average age of 51 years. Regarding education, 47% of the respondents had a university degree and around 26% of them had primary or secondary studies, respectively. The average family size was 3 members and 70% of households had not kids younger than 18.

The WTPs for ‘Golden D.’ was higher than for ‘Reineta’ and, statistically higher for the apples cultivated in the hilly than in the valley (Table 1). The results of the t-tests showed significant differences on all the sensory attributes (firmness, juiciness, mealiness, sweetness) between apples grown at the hilly and at the valley for both cultivars, except for the juiciness in ‘Reineta’ cultivar. In the case of ‘Golden D.’, consumers reported a higher firmness, juiciness, and sweetness on the hilly fruit than on the valley, while the contrary happened for mealiness. In the case of the local cultivar ‘Reineta’, consumers scored firmness lower for the fruit grown in the hilly, while the contrary happened for the rest of sensory attributes, except for juiciness, where no statistically differences were found.

According to the Tobit model, mealiness is the only sensory property that did not influenced the WTP for the four apple samples (Table 2). Juiciness and sweetness positively influenced the WTP for all the apples except for ‘Golden D’ grown in the valley, where no effect of these attributes in the WTP was detected. Firmness negatively influenced the WTP for ‘Golden D.’ cultivar, whereas it had a positive influence in the case of ‘Reineta’ grown in the valley.

Higher educated consumers were more willing to pay for ‘Golden D.’ cultivated in the hilly and older consumers for ‘Golden D.’ in the valley. In addition, consumers with higher income level were more willing to pay for both ‘Reineta’ apples while females were less willing to pay for the ‘Reineta’ cultivated in the valley.

Our results corroborate previous studies stating that the effect of sensory attributes in the WTPs differs across apple cultivars (Gallardo et al., 2016; Hong et al., 2018). However, previous findings on the effect of sensory attributes on the WTPs were the same for some of the attributes but different for other compared to our findings.

REFERENCES

- Bonany, J., Buehler, A., Carbó, J., Codarin, S., Donati, F., Echeverria, G., ... and Schoorl, F. (2013). Consumer eating quality acceptance of new apple varieties in different European countries. *Food Qual Preference*. 30(2): 250-259.
- Gallardo, R. K., Hanrahan, I., Yue, C., McCracken, V. A., Luby, J., McFerson, J. R., ... and Carrillo-Rodriguez, L. (2018). Combining sensory evaluations and experimental auctions to assess consumers’ preferences for fresh fruit quality characteristics. *Agribusiness*, 34(2): 407-425.
- Greene, W.H. 2008. *Econometric Analysis*, 6th ed. Upper Saddle River, NJ: Pearson-Prentice Hall.
- Hong, Y. A., Gallardo, R. K., Silva, M., and Orozco, J. F. (2018). College Students’ Preferences and Willingness to Pay for Fresh Apple Varieties in Peru. *J. Food Distrib. Res.* 49: 38-56.

TABLES

Table 1. Summary statistics and pairwise comparisons of WTPs and sensory attributes evaluations by apple cultivar and growing attitude.

WTP	Golden D.			Reineta		
	Hilly	Valley	t-test	Hilly	Valley	t-test
Mean	2.10	1.65	9.05***	1.62	1.42	3.18***
Standard deviation	0.69	0.63		0.98	0.85	
Minimum-Maximum	0-4	0-4.3		0-4	0-4	
% of zero bids	0.51	3.1		16.4	16.4	
Firmness						
Mean	7.34	6.06	8.18***	4.67	6.36	-8.18***
Standard deviation	0.12	0.13		0.18	0.16	
Juiciness						
Mean	7.43	6.08	9.27***	5.71	5.48	1.21
Standard deviation	0.11	0.12		0.16	0.15	
Mealiness						
Mean	3.70	4.73	-5.97***	6.61	4.69	9.71***
Standard deviation	0.15	0.16		0.16	0.17	
Sweetness						
Mean	6.47	6.18	1.72*	4.77	3.69	5.92***
Standard deviation	0.14	0.14		0.18	0.16	

***, **, and * denote statistical significance at 1%, 5%, and 10% significance levels.

Table 2. Effects of sensory attributes evaluations and consumers' socio-demographic characteristics in WTPs for the apples: estimations of the Tobit model.

	Golden Hilly	Golden Valley	Reineta Hilly	Reineta Valley
Constant	1.3715 (3.66)***	1.5904 (3.98)***	0.1181 (0.22)	0.4702 (1.05)
Sensory attributes				
Firmness	-0.0711 (-2.30)**	-0.0835 (-1.94)**	0.0462 (1.37)	0.0688 (1.98)**
Juiciness	0.0826 (2.46)**	0.0203 (0.49)	0.1139 (2.43)**	0.0762 (1.79)*
Mealiness	-0.0283 (-1.22)	-0.0212 (-1.17)	-0.0396 (-1.10)	-0.0389 (-1.29)
Sweetness	0.0889 (3.29)***	0.0161 (0.66)	0.1277 (3.63)***	0.0985 (3.37)***
Socio-demographics				
Years (continuous)	-0.0028 (-0.81)	0.0060 (1.85)*	0.0013 (0.24)	0.0023 (0.56)
Female (dummy)	0.0500 (0.53)	0.0486 (0.50)	-0.1632 (-1.18)	-0.3665 (-2.75)***
High income (dummy)	0.0265 (0.15)	0.1296 (0.70)	0.4568 (1.67)*	0.5137 (1.98)**
Education (1 to 3)	0.1239 (1.77)*	0.0659 (0.96)	0.0911 (0.86)	-0.0348 (0.86)

Note: t-ratios are in parenthesis; ***, **, and * denote statistical significance at 1%, 5%, and 10% significance levels, respectively.

Elección de plásticos para el envasado en IV Gama de brócoli

M.F. Fernández-León¹, I. Romero Moreno¹, A.M. Fernández-León²

¹Departamento de Farmacia Galénica y Tecnología Alimentaria, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Madrid.

²Área de Fruticultura Mediterránea, Instituto de Investigaciones Agrarias Finca La Orden - Valdesequera, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, Guadajira, Badajoz.

Email: mariafef@ucm.es

Resumen

El objetivo de este trabajo fue el envasado IV Gama de floretes de brócoli ‘Calabrese’ usando para ello distintos plásticos, alguno de ellos microperforados, en combinación con distintas atmósferas modificadas, para determinar las diferencias en su calidad organoléptica a lo largo del almacenamiento en refrigeración.

Los plásticos usados para el embolsado fueron Polietileno (PE), Polipropileno Orientado (OPP) y Polipropileno Orientado+Polielileno (OPP+PE) y los parámetros analizados en dicho ensayo fueron color y apariencia externa, olor, composición de la atmósfera, pérdida de peso y estado de los tallos. De estos plásticos utilizados fue el OPP+PE el que mejor mantuvo las características organolépticas de los floretes de brócoli durante todo el almacenamiento en refrigeración, excepto para el olor.

Palabras clave: ‘Calabrese’, atmósfera modificada, calidad organoléptica

INTRODUCCIÓN

En la actualidad los consumidores de frutas y hortalizas demandan productos preparados, ‘listos para comer’ o ‘ready to eat’, siendo cada vez más exigentes en la selección, dando mucha importancia a la calidad y a la seguridad alimentaria. Existe un interés por la vida sana, saludable, por lo que las industrias agroalimentarias se preocupan por adaptarse a estas demandas, innovando en la elección de productos saludables.

Estos productos de calidad deben estar envasados en diferentes recipientes y distintos materiales para proteger a los alimentos de los contaminantes exteriores, ofrecer seguridad microbiológica, alargar la vida de los mismos ya sean frescos, elaborados, congelados, etc. y favorecer el transporte y el almacenamiento en los supermercados. Por estos motivos la elección del material de envasado es fundamental para la industria alimentaria, ya sean plásticos para embolsado, latas para las conservas, botellas, etc.

Los alimentos de IV Gama están constituidos por hortalizas, verduras y frutas que buscan preservar sus características naturales y frescas. Se encuentran lavadas, troceadas y envasadas en una atmósfera que protege al alimento con el propósito de poder alargar sus óptimas condiciones. La investigación en este tipo de alimentos es muy importante para ofrecer al consumidor productos cada vez más similares a uno fresco y con todas las garantías de seguridad alimentaria.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las pellas de brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) de la variedad ‘Calabrese’ fueron cultivadas en campos de cultivo en Murcia acorde a las técnicas agrarias correspondientes, realizándose la recolección en estado de madurez comercial. Dichas muestras fueron rápidamente transportadas en refrigeración a la empresa “*Florette La Mancha*” donde se seleccionaron, cortaron los tallos dejando solo los floretes de brócoli de unos 3 cm de tallo y un diámetro de los floretes de 6 cm. Que posteriormente fueron lavados en agua hipoclorada y centrifugados para reducir el contenido en agua.

El ensayo experimental consistió en embolsar los floretes de brócoli en 3 plásticos diferentes. En primer lugar se utilizó Polipropileno Orientado (OPP) de 35 μm de grosor microperforado, otro fabricado con Polietileno (PE) también microperforado de 25 μm de grosor y por último un plástico formado por una combinación de Polipropileno Orientado de 30 μm de grosor junto con Polietileno 25 μm , en este caso sin microperforar (OPP+PE). Todos los plásticos fueron proporcionados por la empresa “*Florette La Mancha*”.

Con ambos plásticos microperforados se hicieron un total de 42 bolsas, 21 de ellas con una atmósfera modificada inicial con un contenido bajo en O_2 por la adición de N_2 y las otras 21 bolsas sin adicción de este gas.

Por otro lado, se embolsaron 21 bolsas en el plástico sin microperforar formado por OPP+PE con la adición de N_2 donde se obtuvieron unos valores de O_2 por debajo del 1% (Figura 1).

Las bolsas fueron todas de 20 x 22 cm y en ellas se envasaron aproximadamente 125 g de brócoli.

El brócoli se puede deteriorar rápidamente después de la cosecha, por lo que las bajas temperaturas entre 0 y 4°C son esenciales para mantener su calidad (Cantwell y Suslow, 1999). Además, la luz puede afectar a la calidad y pérdida de peso del brócoli en almacenamiento (Sanz et al., 2008) por lo que en este ensayo experimental el brócoli ya embolsado se almacenó a 3°C y en condiciones de oscuridad.

Los días 0, 3, 6, 10, 15, 20, 30 de almacenamiento se realizaron las comprobaciones de grado de color y apariencia externa, composición de la atmósfera, estado del tallo, olor y porcentaje de pérdida de peso.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio estuvieron en concordancia con los obtenidos por estudios anteriores, tales como los de Artés (2006) y Fernández-León et al. (2013). En la Figura 1 se observa que las muestras de brócoli embolsadas en los plásticos microperforados de PE (con y sin N_2) y OPP (con y sin N_2) presentaron al principio del almacenamiento en refrigeración (primera semana) buen color, apariencia general y estado del tallo, a partir de la segunda semana dichas muestras estuvieron por debajo del límite de comercialización (valor 3) e incluso, al final del almacenamiento (aproximadamente 1 mes) algunas muestras estuvieron por debajo del límite de comestibilidad (valor 2).

El plástico combinado OPP+PE (con inyección inicial de N₂) mantuvo en buen estado la apariencia externa, color y tallo del brócoli envasado, encontrándose todas las muestras por encima del límite de comercialización durante todo el almacenamiento en refrigeración.

La composición de la atmósfera, dentro de la bolsa con brócoli, evolucionó de forma estadísticamente muy similar en los plásticos microperforados usados (PE y OPP) con o sin adición de N₂ a los 3 días de almacenamiento en refrigeración.

La atmósfera creada en las bolsas, con brócoli, de OPP+PE con N₂ no presentó cambios significativos a lo largo del almacenamiento en refrigeración.

Con respecto al olor, fueron las muestras de brócoli embolsadas con OPP+PE con N₂ las que presentaron peor olor, es decir, un olor que no era el característico de este vegetal fresco, a lo largo del almacenamiento en refrigeración.

Con el plástico OPP+PE con N₂ fue con el que se produjeron menores pérdidas de peso del brócoli a los 30 días de almacenamiento en refrigeración.

CONCLUSIONES

Por lo tanto, el plástico OPP+PE con N₂ fue con el que mejor se mantuvieron las cualidades organolépticas analizadas del brócoli envasado, excepto para el olor. Cabría pensar en probar este plástico con microperforaciones y/o con una menor inyección de N₂ para conseguir un porcentaje mayor de O₂ y evitar desarrollo de olores poco característicos.

AGRADECIMIENTOS

A “*Florette La Mancha S.L.*” por el suministro de muestras, material e instalaciones para la realización de este estudio.

REFERENCIAS

- Artés Calero, F. 2006. El envasado en atmósfera modificada mejora la calidad de consumo de los productos hortofrutícolas intactos y mínimamente procesados en fresco. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 7: 61-85
- Cantwell, M. and Suslow, T. (1997). Broccoli: recommendations for maintaining postharvest quality. Page: <http://postharvest.ucdavis.edu/pfvegetable/Broccoli/>
- Fernández-León, M.F., Fernández-León, A.M., Lozano, M., Ayuso, M.C., Amodio, M.L., Colelli, G. and González-Gómez, D. (2013). Retention of quality and functional values of broccoli ‘Parthenon’ stored in modified atmosphere packaging. *Food Control* 31: 302-313.
- Sanz, S., Olarte, C., Ayala, F. and Echávarri, J.F. (2008). The response to lighting of minimally processed chard: Influence on its shelf life. *J. Sci. Food Agric.* 88: 1622-1631

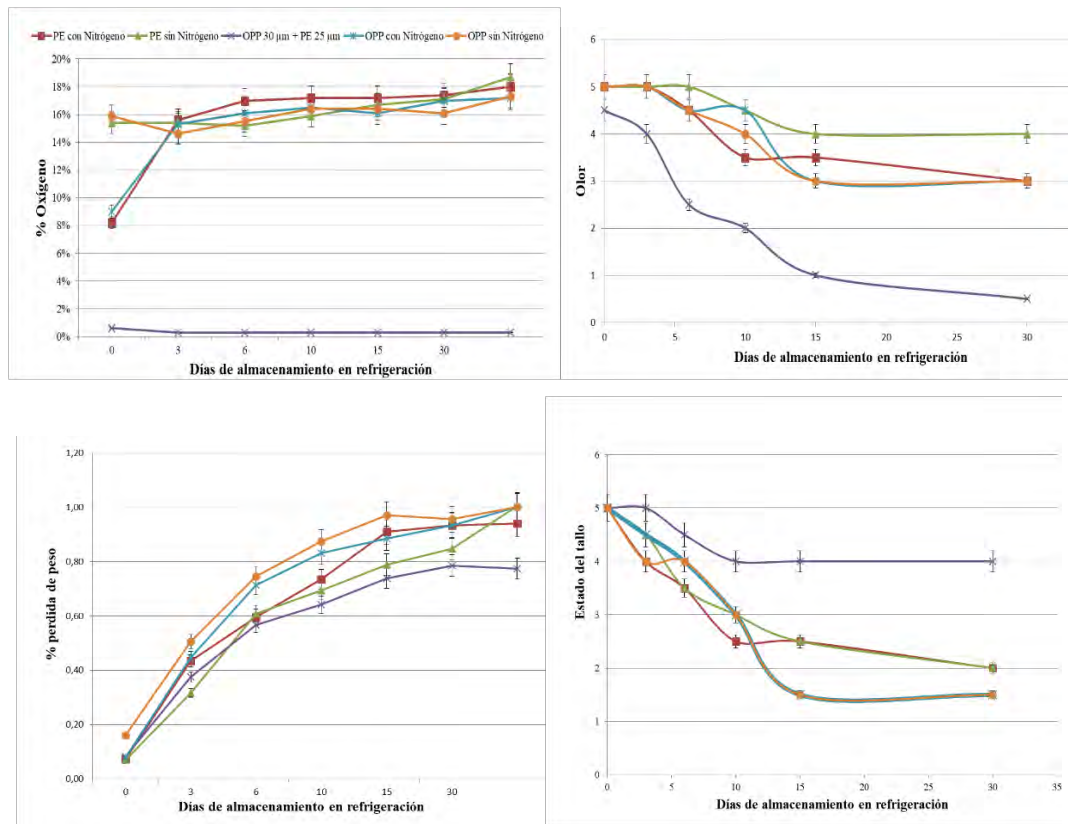


Fig. 1. Porcentaje de oxígeno y pérdida de peso, así como la evaluación del olor y estado del tallo de los floretes de brócoli, envasados en los distintos plásticos a lo largo del almacenamiento en refrigeración.

Influencia de las condiciones de cultivo mediterráneas en la calidad del fruto de tomate

F.B. Flores^{1*}, M.C. Bolarín¹, J.M. Egea-Fernández², S.L. Rivero Meza³, I.L. Massaretto³, I. Egea¹

¹Grupo de Estrés Abiótico, Producción y Calidad, CEBAS-CSIC, Apto. de Correos 164, 30100 Espinardo-Murcia, España, *e-mail: borjaflores@cebas.csic.es

²Departamento de Biología Vegetal, Universidad de Murcia, Campus Universitario Espinardo, Murcia, España

³Departamento de Ciência dos Alimentos e Nutrição Experimental, Food Research Center (FoRC-CEPID), Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

Resumen

El tomate (*Solanum lycopersicum*) es la especie hortícola de mayor producción mundial después de la patata y es un alimento funcional de enorme importancia a nivel mundial por su elevado consumo *per capita* y su composición nutricional: bajo aporte calórico y elevado contenido en fitonutrientes antioxidantes como los carotenoides. Una estrategia de gran interés agronómico consiste en aumentar la calidad del fruto mediante el cultivo de las plantas en condiciones de estrés abiótico, condiciones predominantes en la cuenca mediterránea y que pueden inducir un efecto positivo en la calidad del fruto. Sin embargo, los efectos del estrés abiótico sobre la calidad son muy variables y ocasionalmente contradictorios. Con el objetivo de dilucidar si es posible aumentar la calidad del fruto de tomate cuando el cultivo se realiza en condiciones de estrés, se ha cultivado la variedad comercial MoneyMaker durante dos años consecutivos en dos invernaderos, uno con condiciones ambientales semi-controladas y otro no controladas o naturales con altas temperaturas, en cultivo de primavera-verano y de otoño-invierno, haciendo uso de aguas salinas o no para el riego, con diferentes concentraciones de NaCl. El resultado más destacable obtenido es la mejora de la calidad debido a la salinidad en cultivo de otoño-invierno, reflejado en la acumulación de carotenoides, independientemente de las condiciones de cultivo, naturales o semi-controladas. Sin embargo, en cultivo de primavera-verano influyen las condiciones de cultivo del invernadero, y sólo aumenta la calidad físico-química, mientras que el contenido en carotenoides se ve negativamente afectado por las tan altas temperaturas (>40 °C) que se alcanzan en el invernadero de condiciones naturales.

Palabras clave: *Solanum lycopersicum*, temperatura, salinidad, calidad físico-química, carotenoides.

INTRODUCCION

Hoy en día la producción agrícola se enfrenta a un doble desafío: ofrecer productos de mejor calidad, en particular en lo que respecta al contenido de fitonutrientes, para una

población mundial en constante crecimiento, llevando a cabo el cultivo en condiciones adversas debido al cambio climático, donde se prevé una mayor duración, frecuencia e intensidad de las altas temperaturas y menores precipitaciones (IPCC 2022), que junto a la creciente urbanización y demanda de agua para consumo humano, servicios e industria obliga a la agricultura a roturar suelos y usar aguas de baja calidad con alto contenido en sales (Massaretto et al., 2018). Estas condiciones de cultivo en salinidad y con estrés por calor son propias de zonas áridas y semiáridas como la cuenca mediterránea, donde se encuentran cuatro de los diez países que son los mayores productores mundiales de tomate (Turquía, Egipto, España e Italia, FAOSTAT 2020). El tomate (*Solanum lycopersicum*) es la segunda especie hortícola en producción mundial después de la patata, y la segunda en términos de rendimiento después del pepino (FAOSTAT, 2020). Es una fuente principal de fitonutrientes para la dieta humana debido a su alto consumo *per cápita* a nivel mundial (Bergougnoux, 2014; Liu et al., 2015). Una estrategia de gran interés agronómico consiste en el cultivo en condiciones de estrés abiótico por el efecto positivo que induce en determinados aspectos de la calidad de fruto (Fanciullino et al., 2014; Toscano et al., 2019).

El objetivo de este trabajo consiste en dilucidar los cambios en parámetros estándar de calidad de fruto de una variedad comercial de tomate (cv Moneymaker) en diferentes condiciones de cultivo de invernadero (estación del año, tipo de invernadero y nivel salino solución de fertirrigación), causantes de estrés abiótico, fundamentalmente debido a la temperatura y la salinidad, con el fin de identificar aquellas condiciones que repercuten más positivamente en dicha calidad.

MATERIAL Y METODOS

Se cultivaron 12 plantas de tomate *Solanum lycopersicum* L. cv Moneymaker en cada condición salina (0, 50 y/o 100 mM NaCl). Se ha seleccionado este cultivar comercial por su mecanismo representativo de tomate cultivado en salinidad (Martínez-Rodríguez et al., 2008). En cada estación, primavera-verano (V) y otoño-invierno (I), el cultivo se llevó a cabo en dos invernaderos: uno de condiciones medioambientales (temperatura y humedad relativa) no controladas/naturales (NC), sito en la finca experimental del CEBAS en Santomera (Murcia) (38.105°N, 1.035°O), y otro de condiciones semi-controladas (SC) sito en el campus de la Universidad de Murcia en Espinardo (Murcia) (38.019°N, 1.167°O). La germinación de las semillas y el cultivo de las plantas se llevó a cabo en sustrato inerte y con fertirrigación según Meco et al. (2019), aplicando 0, 50 y 100 mM NaCl en la fertirrigación. En la Fig. 1 se presentan los valores promedio \pm DS de la temperatura y humedad relativa máximas y mínimas diarias durante la etapa de desarrollo reproductivo (tras el cuaje del fruto) de las plantas en las distintas campañas e invernaderos, monitorizados mediante sensores-registradores.

Para el análisis de calidad de fruto se recolectó un mínimo de 30 frutos maduros, se pesaron y se distribuyeron en tres réplicas. Se troceó el pericarpio de los frutos de cada réplica; una parte se congeló en nitrógeno líquido y se guardó a -80°C hasta su posterior análisis, y la otra se pesó inmediatamente (peso fresco, PF), se secó en estufa a 80°C hasta

obtener un peso constante (peso seco, PS) (72 h de secado) para calcular el contenido en agua ((PF-PS)/PS), expresado en g H₂O g⁻¹ PS. La determinación del contenido en sólidos solubles totales (SST) y acidez valorable (AV) se llevaron a cabo en el material congelado de acuerdo con Meza et al. (2020), y se calculó el índice de maduración (IM=SST/AV). Los carotenoides totales se analizaron también con material congelado según el método de Nagata y Yamashita (1992). Los resultados se han expresado como media ± ES y se analizaron estadísticamente mediante ANOVA de un factor con un nivel de confianza de $p \leq 0,05$, aplicado a conjuntos de 10 frutos por réplica de una muestra constituida por tres réplicas. Cuando el ANOVA resultó significativo se aplicó el test de Rangos Múltiples de Tukey para comparar los valores medios de cada variable en estudio.

RESULTADOS Y DISCUSION

Respecto a la temperatura mínima no hay diferencias entre los dos invernaderos, y las diferencias se deben a la época de cultivo, alcanzándose valores medios de 8°C en I y de 17°C en V. Sin embargo, las temperaturas máximas difieren según el tipo de invernadero así como la época de cultivo, siendo mayores en el invernadero de condiciones NC, especialmente en el cultivo de V. Así, en esta época los valores medios son de 30°C y 46°C en los invernaderos de condiciones SC y NC, respectivamente. Respecto a la HR, solo se observan diferencias en los valores mínimos y están son debidas al tipo de invernadero, siendo en condiciones SC aproximadamente el doble que en NC, independientemente de la época de cultivo (Fig. 1). En tomate se ha comprobado que el desarrollo vegetativo es menos sensible a incrementos de temperatura. Así, daños estructurales del fotosistema II no se detectan hasta los 38°C, mientras que los efectos en el desarrollo reproductivo empiezan a detectarse sobre los 30°C (Lu et al., 2017; Almeida et al., 2021). En resumen, las plantas desarrolladas en condiciones NC sufren estrés por alcanzarse muy altas temperaturas en V, mientras que en condiciones SC es mucho menor el estrés térmico.

Conseguir mayor calidad y acumulación de metabolitos en el fruto de tomate es un objetivo prioritario dado su alto consumo *per capita* (Hou et al. 2020), y una estrategia para incrementar la calidad que está emergiendo en los últimos años es el cultivo bajo condiciones de estrés abiótico como ya hemos mencionado, pudiendo así incrementarse tanto metabolitos primarios como secundarios. Estos últimos, como los carotenoides, son potentes antioxidantes y el estrés abiótico induce generalmente un estrés oxidativo secundario al cual las plantas tienen que responder. En nuestro estudio, las plantas se cultivaron sin sal (0) y en medio salino, utilizando un nivel moderado y un nivel alto de estrés salino (50 y 100 mM NaCl). El efecto negativo inducido por la salinidad es evidente en el peso del fruto, que experimenta una reducción importante desde 50 mM NaCl, respecto a los frutos desarrollados sin sal (Fig. 2). Esto se debe principalmente a la reducción del contenido de agua de los frutos que se han desarrollado en medio salino, ya que la salinidad provoca un efecto similar a la sequía al reducir la absorción y transporte de agua debido al estrés osmótico (Muñoz-Mayor et al., 2012) (Fig. 2).

Se han analizado los contenidos de sólidos solubles totales (SST) y acidez valorable (AV), y se ha cuantificado el índice de maduración (IM), un carácter importante en la calidad del fruto. Como era esperable, el contenido en SST se incrementa con la salinidad en las diferentes condiciones, aunque los mayores valores se alcanzan en condiciones NC (Fig. 3). Así, los frutos de las plantas cultivadas sin sal en condiciones NC y en V alcanzan

un valor similar a aquellos obtenidos en frutos de plantas cultivadas en condiciones SC con sal, mientras que el máximo valor corresponde a los frutos de plantas cultivadas con 50 mM NaCl en V y en condiciones NC. En estos frutos se observa un aumento incluso mayor en el IM debido sobre todo a este contenido en SST (Fig. 3). Respecto a la AV los mayores valores se alcanzan en los frutos de las plantas cultivadas con 100 mM NaCl en condiciones SC en cultivo de V y en condiciones NC en I. Estos aumentos en AV son los responsables de los menores valores de IM en estos frutos (Fig. 3).

Los cambios metabólicos del fruto de tomate pueden ser diferentes según el tipo de estrés abiótico al que se vea sometida la planta. Así, los estreses salino e hídrico conducen generalmente a un incremento de metabolitos (Meza et al. 2020), mientras que el estrés térmico parece tener un impacto diferente (Hernández et al., 2015). Almeida et al. (2021) observaron que el estrés de calor afectaba negativamente a la acumulación de carotenoides cuando el estrés tenía lugar en estados avanzados del desarrollo del fruto. Esta es la situación en las plantas cultivadas en condiciones NC en V; efectivamente los frutos desarrollados en plantas sin sal el nivel de carotenoides es significativamente menor en V en condiciones NC (Fig. 3). Este mismo efecto se observa en el cultivo con sal, donde los menores valores corresponden a las plantas del cultivo de V, en condiciones SC y NC (Fig. 3). No obstante es interesante señalar que el efecto negativo inducido por el estrés térmico en la acumulación de carotenoides parece compensarse hasta cierto grado con el efecto positivo debido a la salinidad (Massaretto et al., 2018; Meza et al., 2020). El resultado más destacable es la mayor acumulación de carotenoides inducida por la salinidad en cultivo de I, independientemente de las condiciones de cultivo, SC y NC (Fig. 3).

CONCLUSIONES

En este estudio se ha comprobado que es posible aumentar la calidad del fruto de tomate cuando el cultivo se realiza en condiciones de estrés, lo que resulta de gran interés teniendo en cuenta las altas temperaturas alcanzadas en la cuenca mediterránea durante el cultivo de primavera-verano, y el uso frecuente de aguas salinas para el riego debido a la escasez de aguas de buena calidad. En cultivo de primavera-verano, donde predomina el estrés por alta temperatura durante el periodo reproductivo, particularmente en el cultivo en condiciones no controladas, es destacable el aumento de SST e IM, especialmente cuando las plantas se cultivan con niveles moderados de estrés salino, lo que refleja un efecto positivo de ambos estreses en la calidad sensorial del fruto. En cultivo de otoño-invierno se observa un cambio metabólico muy importante y es la marcada acumulación de carotenoides con la salinidad, independientemente de las condiciones de cultivo, semi-controladas o no controladas (naturales) de las plantas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo de investigación forma parte de un proyecto financiado por la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia a través de la convocatoria de Ayudas a proyectos para el desarrollo de investigación científica y técnica por grupos competitivos, incluida en el Programa Regional de Fomento de la Investigación (Plan de Actuación 2019) de la Fundación Séneca, Agencia de Ciencia y Tecnología de la Región de Murcia (Ref. 20845/PI/18). IE agradece la ayuda RyC de la AEI (Ref. RyC2018-023956-I).

REFERENCIAS

- Almeida, J., Perez-Fons, L. and Fraser, P.D. (2021). A transcriptomic, metabolomic and cellular approach to the physiological adaptation of tomato fruit to high temperature. *Plant Cell Environ.* 44:2211-2229.
- Bergougnoux, V. (2014). The history of tomato: from domestication to biopharming. *Biotechnol. Adv.* 32:170–189.
- FAOSTAT (2020). UN Food and Agriculture Organization statistics 2020. <http://www.fao.org/faostat/en>
- Fanciullino, A.L., Bidel, L.P.R., Urban, L. (2014). Carotenoid responses to environmental stimuli: integrating redox and carbon controls into a fruit model. *Plant Cell Env.* 37: 273–289.
- Hernández, V., Hellín, P., Fenoll, J. and Flores, P. (2015). Increased temperature produces changes in the bioactive composition of tomato, depending on its developmental stage. *J. Agric. Food Chem.* 63:2378–2382.
- Hou, X., Zhang, W., Du, T., Kang, S., and Davies, W. J. (2020). Responses of water accumulation and solute metabolism in tomato fruit to water scarcity and implications for main fruit quality variables. *J. Exp. Bot.* 71:1249–1264.
- IPCC, 2022: Climate Change 2022: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [H.-O. Pörtner, D.C. Roberts, M. Tignor, E.S. Poloczanska, K. Mintenbeck, A. Alegría, M. Craig, S. Langsdorf, S. Löschke, V. Möller, A. Okem, B. Rama (eds.)]. Cambridge University Press. In Press. <https://www.ipcc.ch/report/sixth-assessment-report-working-group-ii/>
- Liu, L., Shao, Z., Zhang, M. and Wang, Q. (2015). Regulation of carotenoid metabolism in tomato. *Mol. Plant.* 8:28-39
- Lu, T., Meng, Z., Zhang, G., Qi, M., Sun, Z., Liu, Y., and Li, T. (2017). Sub-high temperature and high light intensity induced irreversible inhibition on photosynthesis system of tomato plant (*Solanum lycopersicum* L.). *Front. Plant Sci.*, 8:365.
- Martínez-Rodríguez, M.M., Estañ, M.T., Moyano, E., García-Abellán, J.O., Flores, F.B., Campos, J.F., Al-Azzawi, M.J., Flowers, T.J. and Bolarin, M.C. (2008). The effectiveness of grafting to improve salt tolerance in tomato when an ‘excluder’ genotype is used as scion. *Environ. Exp. Bot.* 63: 392-401.
- Massaretto, I.L., Albaladejo, I., Purgatto, E., Flores, F.B., Plasencia, F., Egea-Fernández, J.M., Bolarin, M.C. and Egea, I. (2018). Recovering tomato landraces to simultaneously improve fruit yield and nutritional quality against salt stress. *Front. Plant Sci.* 9:1778
- Meco, V., Egea, I., Albaladejo, I., Campos, J.F., Morales, B., Ortíz-Atienza, A., Capel, C., Angosto, T., Bolarin, M.C. and Flores, F.B. (2019). Identification and characterisation

- of the tomato parthenocarpic mutant *high fruit set under stress (hfs)* exhibiting high productivity under heat and salt stress. *Ann. Appl. Biol.* 174:166-178
- Meza, S.L.R., Egea, I., Massaretto, I.L., Morales, B., Purgatto, E., Egea-Fernández, J.M., Bolarin, M.C. and Flores, F.B. (2020). Traditional tomato varieties improve fruit quality without affecting fruit yield under moderate salt stress. *Front. Plant Sci.* 11:587754
- Muñoz-Mayor, A., Pineda, B., García-Abellán, J.O., Antón, T., García-Sogo, B., Sánchez-Bel, P., Flores, F.B., Angosto, T., Pintor-Toro, J.A., Moreno, V. and Bolarín, M.C. (2012). Overexpression of dehydrin *tas14* gene improves the osmotic stress imposed by drought and salinity in tomato. *J. Plant Physiol.* 169:459-468.
- Nagata, M., and Yamashita, I. (1992). Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *J. Japan. Soc. Food Sci. Technol.* 39:925–928
- Toscano, S., Trivellini, A., Cocetta, G., Bulgari, R., Francini, A., Romano, D., and Ferrante, A. (2019). Effect of preharvest abiotic stresses on the accumulation of bioactive compounds in horticultural produce. *Front. Plant Sci.* 10:1212

FIGURAS

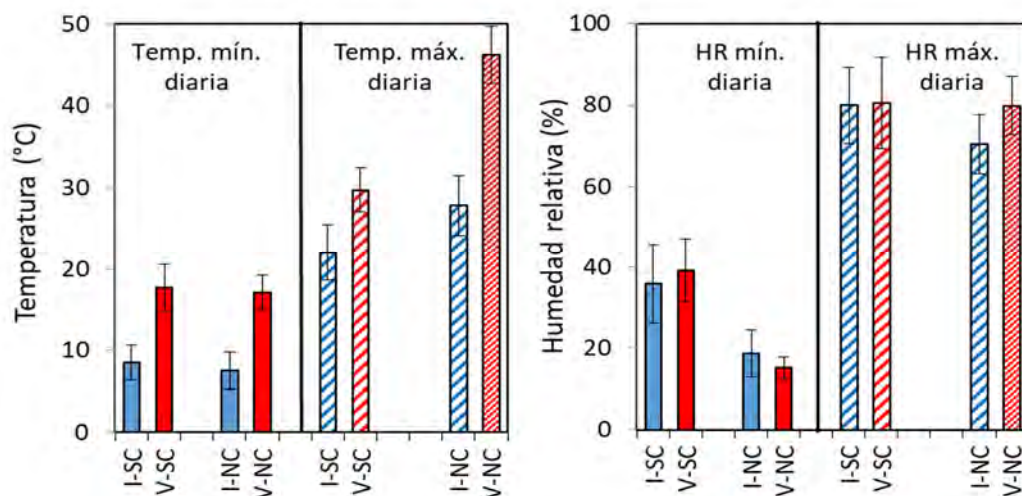


Fig. 1. Valores máximos y mínimos de temperatura y humedad relativa (HR) diarios alcanzados durante el periodo reproductivo en dos invernaderos: uno de condiciones semi-controladas (SC) y otro no-controladas (NC). En ambos invernaderos, el cultivo se realizó en dos épocas diferentes, otoño-invierno (I) y primavera-verano (V). Además, las plantas se cultivaron sin sal (0) y con sal (50 y 100 mM NaCl). Valores como media \pm DS.

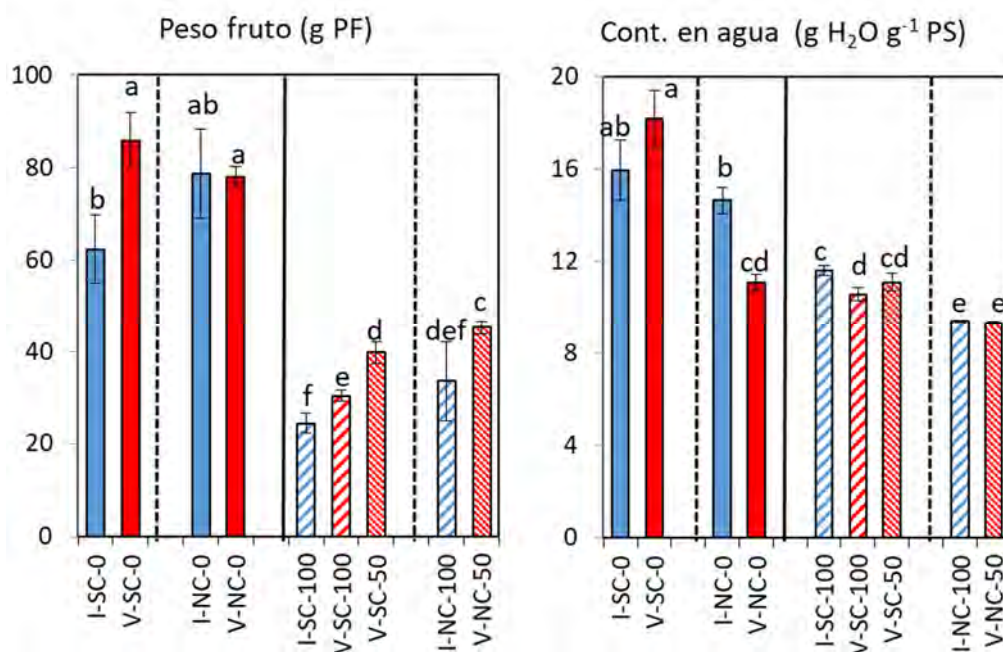


Fig. 2. Peso del fruto (A) y contenido de agua (B) de cv. Moneymaker. Las plantas se cultivaron en dos invernaderos, uno de condiciones semi-controladas (SC) y otro no-controladas (NC), y en dos épocas de cultivo, otoño-invierno (I) y primavera-verano (V). Además, las plantas se cultivaron sin sal (0) y con sal (50 y 100 mM NaCl). Se representan los valores medios \pm ES. Los valores medios que no tienen letras en común son significativamente diferentes según el test de Tukey ($p \leq 0,05$).

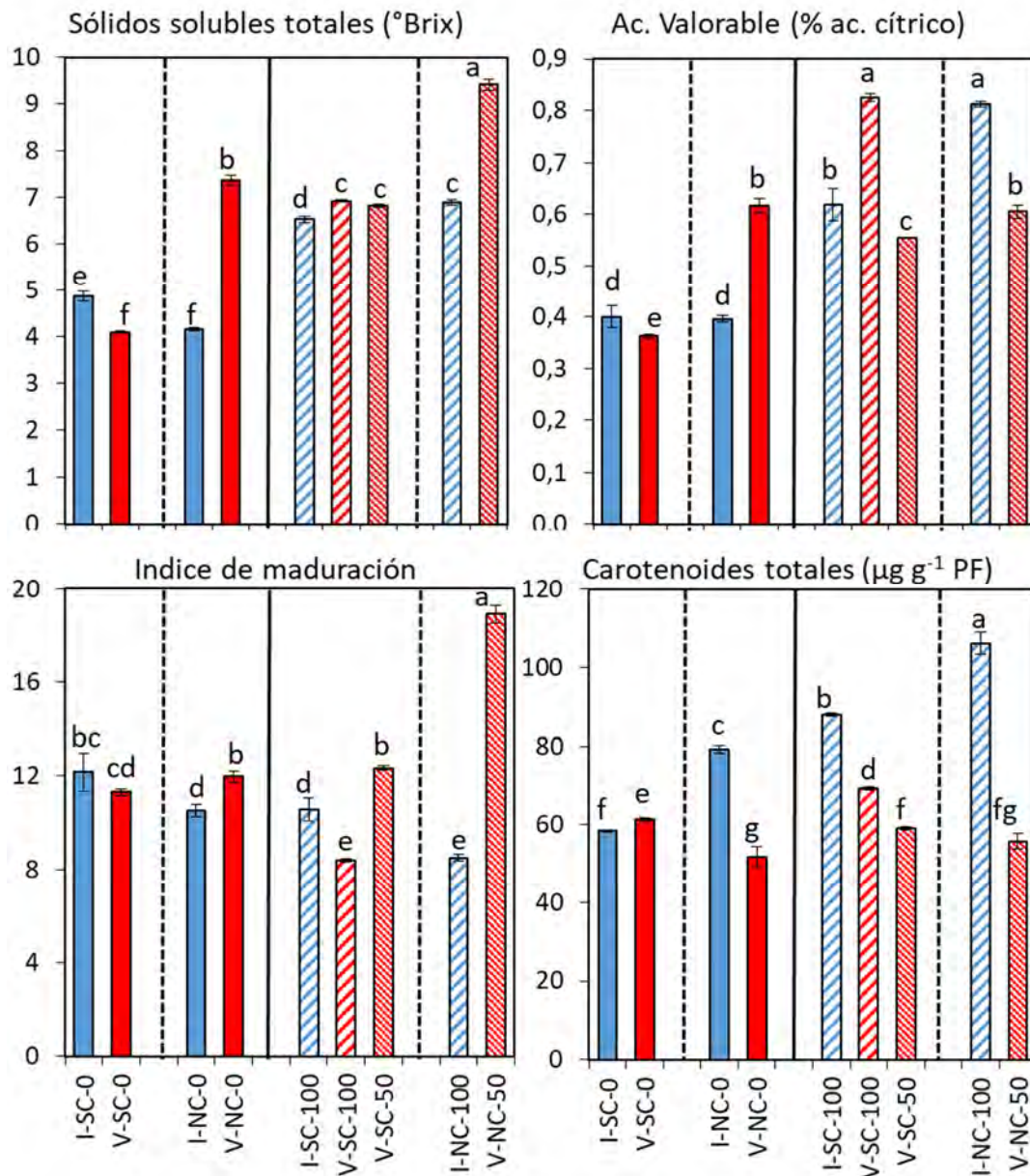


Fig. 3. Contenido en sólidos solubles totales (A), acidez valorable medida como % de ácido cítrico (B), índice de maduración (C), y contenido de carotenoides totales (D) en los frutos de cv. Moneymaker. Las plantas se cultivaron en dos invernaderos, uno de condiciones semi-controladas (SC) y otro no-controladas (NC), y en dos épocas de cultivo, otoño-invierno (I) y primavera-verano (V). Además, las plantas se cultivaron sin sal (0) y con sal (50 y 100 mM NaCl). Se representan los valores medios \pm ES. Los valores medios que no tienen letras en común son significativamente diferentes según el test de Tukey ($p \leq 0,05$).

Recuperación de variedades tradicionales de tomate de alta calidad de fruto para su cultivo en condiciones de la cuenca mediterránea

F.B. Flores^{1*}, M.C. Bolarín¹, J.M. Egea-Fernández², S.L. Rivero Meza³, E. Purgatto³, I. Egea¹

¹Grupo de Estrés Abiótico, Producción y Calidad, CEBAS-CSIC, Campus Universitario Espinardo, Apto. de Correos 164, 30100 Espinardo-Murcia, España, *e-mail: borjaflores@cebas.csic.es

²Departamento de Biología Vegetal, Universidad de Murcia, Campus Universitario Espinardo, Murcia, España

³Departamento de Ciência dos Alimentos e Nutrição Experimental, Food Research Center (FoRC-CEPID), Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

Resumen

La agricultura está enfrentándose a un gran reto debido al cambio climático, y sus efectos serán mayores en zonas áridas y semiáridas, con altas temperaturas y escasez de agua, como es la cuenca mediterránea. Dado el proyectado incremento de la población mundial, los frutos van a ser la principal fuente de vitaminas, minerales y antioxidantes para millones de personas en un futuro próximo. Por consiguiente, un objetivo prioritario es aumentar la calidad del fruto sin que ello suponga reducciones importantes en la producción en condiciones ambientales adversas. El tomate (*Solanum lycopersicum*) es la especie hortícola que suministra mayor cantidad de dichos fitonutrientes a la dieta humana debido a su alto consumo *per capita* en el mundo. Como consecuencia de la erosión genética la recuperación de variedades tradicionales adaptadas a las condiciones semiáridas de la cuenca mediterránea puede ser de gran interés para conseguir una estabilidad del cultivo y simultáneamente una alta calidad de fruto. Con una colección de variedades tradicionales de tomate del Sureste español, registradas en la Red de Agroecología y Ecodesarrollo de la Región de Murcia (RAERM), se ha llevado a cabo durante dos años consecutivos su fenotipado y caracterización en condiciones mediterráneas, con altas temperaturas y utilizando aguas salinas, usando como referencia el cv comercial 'Moneymaker'. Dentro de los grupos evaluados por el color del fruto, incluido rojo oscuro 'negro', rosa y amarillo, y por otras características fenotípicas, se presentan las variedades seleccionadas por incrementar diferentes aspectos de la calidad del fruto, incluyendo mayores contenidos de metabolitos primarios y secundarios como carotenoides.

Palabras clave: Estrés por altas temperaturas, salinidad, tamaño y color del fruto, calidad físico-química, carotenoides.

INTRODUCCION

Los informes del Panel Intergubernamental para el Cambio Climático (IPCC) advierten de una mayor frecuencia, duración e intensidad de fenómenos de sequía, calor y salinidad, este último debido al obligado uso de aguas de peor calidad con mayor contenido

en sales debido a la escasez creciente de recursos hídricos (IPCC 2022). Éstos van a afectar muy negativamente a la producción agrícola, especialmente en zonas áridas y semiáridas (Huang et al., 2016). No obstante, el cultivo de especies hortícolas en condiciones de estrés abiótico puede tener un efecto positivo en determinados aspectos de la calidad de fruto (Fanciullino et al., 2014).

El tomate (*Solanum lycopersicum*) es la especie hortícola de fruto carnoso de mayor importancia agroalimentaria a nivel mundial. Durante los últimos 20 años su producción así como el área dedicada a su cultivo se han duplicado, siendo la séptima especie cultivada más importante a nivel mundial. Desde el punto de vista de la calidad nutricional, el tomate se ha convertido en un alimento funcional de primer orden pues es la especie hortícola que suplementa la mayor cantidad de metabolitos a la dieta humana por su elevado consumo *per cápita* (Bergougnoux, 2014; Cocaliadis et al., 2014). Los efectos beneficiosos para la salud de estos compuestos fitoquímicos han sido ampliamente revisados (Liu et al., 2015). Uno de los mayores retos a los que se enfrenta actualmente la mejora genética del tomate es aumentar su calidad de fruto (Gascuel et al., 2017), aunque un grave problema de la mejora es la erosión genética de la especie (D'Esposito et al., 2017). La necesidad de buscar nuevas fuentes de diversidad genética ha puesto de relieve el interés de las variedades tradicionales, en gran medida inexploradas en lo que respecta a su calidad de fruto y su tolerancia a condiciones medioambientales adversas de cultivo (Gascuel et al., 2017; Massaretto et al., 2018).

Disponemos de una amplia colección de variedades tradicionales de tomate procedentes del Sureste español, conservada y registrada por la Red de Agroecología y Ecodesarrollo de la Región de Murcia (RAERM) (Egea-Fernández et al., 2015). Estas variedades están adaptadas a las adversas condiciones climatológicas y edafológicas de la cuenca mediterránea como es la aridez y el calor. En este trabajo se han caracterizado 21 variedades tradicionales de dicha colección cultivadas en invernadero, en las condiciones naturales del Sureste español durante primavera-verano, con el objetivo de seleccionar aquellas más prometedoras por su calidad de fruto.

MATERIAL Y METODOS

Se han utilizado 21 variedades tradicionales de tomate (*S. lycopersicum* L.) de diversas localidades geográficas del Sureste español, recolectadas y registradas por RAERM (Tabla 1). Como referencia del ensayo se ha utilizado la variedad comercial MoneyMaker (MM) por presentar un mecanismo representativo del tomate cultivado en salinidad (Martínez-Rodríguez et al., 2008). El cultivo se realizó en un invernadero de condiciones naturales, cultivando las plantas en sustrato inerte y fertirrigación según las condiciones de Estañ et al. (2005). A la solución de fertirrigación se añadió NaCl hasta una CE de 4 dS m⁻¹. El cultivo se llevó a cabo en dos campañas sucesivas de verano (2018 y 2019). En la Fig. 1 se presentan los valores máximos diarios de temperatura durante el cultivo en ambas campañas, monitorizados mediante sensores-registradores.

Se cultivaron 6 plantas de cada variedad, y para el análisis de calidad de fruto se recolectó un mínimo de 25 frutos maduros en las variedades de tamaño medio-grande y de 60 en las de fruto pequeño. El total de frutos por variedad se pesaron y distribuyeron en tres réplicas. Se troceó el pericarpio de los frutos de cada réplica; una parte se congeló en nitrógeno líquido y se guardó a -80°C hasta su posterior análisis, y la otra se pesó

inmediatamente (peso fresco, PF), y se secó en estufa a 80°C hasta obtener un peso constante (peso seco, PS) (72 h de secado), para calcular contenido de agua (PF-PS/PS).

Las determinaciones del contenido en sólidos solubles totales (SST), acidez valorable (AV), índice de maduración (IM) y contenido en carotenoides totales se llevaron a cabo en las muestras congeladas, según Massaretto et al. (2018) y Meza et al. (2020). Los resultados se han expresado en valores relativos a la referencia MM cultivada en las mismas condiciones que las variedades tradicionales en ambas campañas (verano de 2018 y de 2019), considerando el valor 100% el promedio de los valores alcanzados en MM. Se ha aplicado el test *t* de Student ($p \leq 0,05$) para hallar diferencias significativas con MM.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las variedades tradicionales de tomate que se han caracterizado para calidad de fruto, en condiciones de cultivo de alta temperatura y salinidad moderada, se han clasificado en tres grupos según el color del fruto (Tabla 1): - Variedades de fruto de color amarillo, de tamaño grande (Ly3) y pequeño tipo ‘bombilla’ (Ly60 y Ly62); - de color rojo oscuro ‘negro’, que destacan por su tamaño grande (Ly28, Ly29, Ly31, Ly32, Ly33 y Ly34); - de color rosado de tamaño pequeño (Ly69), grande (Ly96 y Ly169) o muy grande (Ly37). El cuarto grupo engloba variedades seleccionadas por diferentes características que pueden ser de interés, como su forma de pimiento (Ly97), tipo acostillado o redondo, carnoso en ambos casos (Ly109 y Ly130, respectivamente), menor biomasa vegetativa comparada con el n° de frutos (Ly84) u otra información previa obtenida de agricultores. En la Fig. 2 se presentan fotos representativas de los diferentes tipos de frutos.

Con respecto al tamaño de fruto estimado por peso se observa que las variedades de color negro son más grandes que MM en todos los casos; lo mismo ocurre con las de color rosa (Ly96, Ly37 y Ly169), salvo la clasificada de pequeño tamaño (Ly69), y otras variedades (Ly109 y Ly130), al igual que la variedad amarilla Ly3 (Fig. 3A). Es interesante resaltar que el contenido de agua del fruto en la mayoría de las variedades es igual o superior al de MM (Fig. 3B) y, por tanto, cualquier aumento en los parámetros de calidad no se debe a un efecto de concentración de solutos por deshidratación. Incluso hay variedades con % de agua mayores del 25% respecto a MM. Es en las variedades grandes donde se ha observado un mayor contenido en agua: las variedades negras Ly28, Ly29, Ly31 y Ly34, la variedad rosa Ly169 y otras variedades (Ly109, Ly111 y Ly130).

Respecto al contenido en SST hay que resaltar los mayores valores de todas las variedades amarillas con respecto a MM, mientras que en los otros grupos solamente en algunos casos se ha observado valores significativamente mayores que MM como en el negro Ly33 y en Ly97, esta última seleccionada por la forma del fruto similar a un pimiento (Fig. 4A) (Fig. 2, ilustración Ly97). En cambio, respecto a AV destacan los mayores valores obtenidos para algunas variedades negras (Ly29, Ly32 y Ly33) y en la variedad amarilla de tamaño grande (Ly3). Por el contrario, las variedades rosas o seleccionadas por otras características presentan unos valores de AV más bajos que MM (Fig. 4B).

Estas variaciones en SST y AV repercuten en el IM. Así en las variedades tipo ‘bombilla amarillo’ se observa mayores valores debido al mayor contenido en SST, mientras que en la variedad rosa Ly96 y otras variedades como Ly84, Ly92 y Ly97 estos mayores valores se deben a la menor AV, y en el caso de Ly97 también a un mayor contenido en SST. En el caso particular de la variedad amarilla de tamaño grande (Ly3) el

menor valor de IM se debe a que el incremento de AV es mayor que el de SST. En las variedades negras Ly29 y Ly32 el menor IM se debe a la elevada AV (Fig. 4C).

Si se comparan estos resultados con el contenido en agua de los frutos hay que destacar las variedades amarilla Ly3, negra Ly33 y la de fruto con forma de pimiento Ly97 con contenido en agua similar a MM, que presentan un mayor contenido en SST y AV. Este conjunto de resultados revela que estas variedades experimentan un incremento intrínseco del contenido en azúcares solubles y ácidos orgánicos comparado con MM. Las variedades de tamaño pequeño tipo bombilla amarillo (Ly60 y Ly62) también presentan un mayor contenido en SST pero su contenido en agua es significativamente inferior a MM y por tanto se deben al menos parcialmente a un efecto de concentración de solutos. El efecto contrario, la dilución de solutos, se observa en aquellas variedades con mayores contenidos de agua en fruto como la variedad negra Ly34, rosa Ly169 y las variedades de fruto acostillado y redondo carnosos (Ly109 y Ly130), así como Ly111 tipo redondo de ensalada (Fig. 3B, 4A, 4B y 4C).

Con respecto al contenido en carotenoides totales destacan los bajos valores obtenidos para las variedades de fruto de color amarillo, tal como era de esperar en los frutos de este color donde se bloquea la producción de licopeno, aunque estos podrían tener niveles más altos de otros fitonutrientes. Es interesante destacar las variedades que presentan valores elevados de estos pigmentos comparados con MM: la variedad negra Ly28, la rosa Ly96 y las variedades tipo acostillado y redondo carnosos Ly109 y Ly130. También se observa una tendencia a acumular dichos compuestos antioxidantes en las variedades rosa Ly169 y Tomate Pimiento Ly97. Estos resultados revelan el potencial interés que tienen todas ellas desde el punto de vista de la calidad nutricional (Fig. 5).

CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta las condiciones de altas temperaturas y aguas moderadamente salinas del cultivo, el análisis de estos resultados de calidad de fruto ha permitido una primera selección de variedades prometedoras (i) por su superior contenido intrínseco en metabolitos primarios, azúcares y ácidos orgánicos, tan importantes en la calidad organoléptica (variedad Amarilla Ly3 y negra Ly33); (ii) por su elevado contenido en carotenoides, tan importantes para la calidad nutricional (variedades negra Ly28, rosa Ly96, y tipos acostillado y redondo rojos y carnosos Ly109 y Ly130), y (iii) por su forma de fruto la variedad Tomate Pimiento Ly97, que presenta un mayor contenido en SST y una clara tendencia a acumular carotenoides. Con las variedades seleccionadas se procederá a un análisis de metabolitos primarios (azúcares, ácidos orgánicos y aminoácidos) y secundarios (carotenoides, tocoferoles, polifenoles y compuestos volátiles).

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo de investigación forma parte de un proyecto financiado por la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia a través de la convocatoria de Ayudas a proyectos para el desarrollo de investigación científica y técnica por grupos competitivos, incluida en el Programa Regional de Fomento de la Investigación (Plan de Actuación 2019) de la Fundación Séneca, Agencia de Ciencia y Tecnología de la Región de Murcia (Ref. 20845/PI/18). IE agradece la ayuda RyC de la AEI (Ref. RyC2018-023956-I).

REFERENCIAS

- Bergougnoux, V. (2014). The history of tomato: from domestication to biopharming. *Biotechnol. Adv.* 32:170–189.
- Cocaliadis, M.F., Fernández-Muñoz, R., Pons, C., Orzáez, D. and Granell, A. (2014). Increasing tomato fruit quality by enhancing fruit chloroplast function. A double-edged sword?. *J. Exp. Bot.* 65: 4589–4598.
- D'Esposito, D., Ferriello, F., Dal Molin, A., Diretto, G., Sacco, A., Minio, A., Barone, A., Di Monaco, R., Cavella, S., Tardella, L., Giuliano, G., Dell'donne, M., Fruscianti, L. and Ercolano, M.R. (2017). Unraveling the complexity of transcriptomic, metabolomic and quality environmental response of tomato fruit. *BMC Plant Biol.* 17:66.
- Egea-Fernandez J.M., Egea J.M., Egea I. And Rivera, D. (2015). Recursos Fitogenéticos. En : Cultivos promisorios para enfriar el clima y alimentar al mundo. Una propuesta agroecológica para tierra de íberos. Pp. 13-24. ISBN: 978-84-608-3897-5.
- Estañ, M.T., Martínez-Rodríguez, M.M., Perez-Alfocea, F., Flowers, T.J. and Bolarin, M.C. (2005). Grafting raises the salt tolerance of tomato through limiting the transport of sodium and chloride to the shoot. *J. Exp. Bot.* 56: 703-712.
- Fanciullino, A.L., Bidel, L.P.R., Urban, L. (2014). Carotenoid responses to environmental stimuli: integrating redox and carbon controls into a fruit model. *Plant Cell Env.* 37: 273–289.
- Gascuel, Q., Diretto, G., Monforte, A. J., Fortes, A. M., and Granell, A. (2017). Use of natural diversity and biotechnology to increase the quality and nutritional content of tomato and grape. *Front. Plant Sci.* 8:652.
- Huang, J., Ji, M., Xie, Y., Wang, S., He, Y. and Ran, J. (2016). Global semi-arid climate change over last 60 years. *Clim. Dyn.* 46:1131–1150.
- IPCC, 2022: Climate Change 2022: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [H.-O. Pörtner, D.C. Roberts, M. Tignor, E.S. Poloczanska, K. Mintenbeck, A. Alegría, M. Craig, S. Langsdorf, S. Löschke, V. Möller, A. Okem, B. Rama (eds.)]. Cambridge University Press. In Press. <https://www.ipcc.ch/report/sixth-assessment-report-working-group-ii/>
- Liu, L., Shao, Z., Zhang, M., and Wang, Q. (2015). Regulation of carotenoid metabolism in tomato. *Mol. Plant* 8, 28–39.
- Martínez-Rodríguez, M.M., Estañ, M.T., Moyano, E., García-Abellán, J.O., Flores, F.B., Campos, J.F., Al-Azzawi, M.J., Flowers, T.J. and Bolarin, M.C. (2008). The effectiveness of grafting to improve salt tolerance in tomato when an 'excluder' genotype is used as scion. *Environ. Exp. Bot.* 63: 392-401.
- Massaretto, I.L., Albaladejo, I., Purgatto, E., Flores, F.B., Plasencia, F., Egea-Fernández, J.M., Bolarin, M.C. and Egea, I. (2018). Recovering tomato landraces to simultaneously improve fruit yield and nutritional quality against salt stress. *Front. Plant Sci.* 9:1778.
- Meza, S.L.R., Egea, I., Massaretto, I.L., Morales, B., Purgatto, E., Egea-Fernández, J.M., Bolarin, M.C. and Flores, F.B. (2020). Traditional tomato varieties improve fruit quality without affecting fruit yield under moderate salt stress. *Front. Plant Sci.* 11, 587754.

TABLAS

Tabla 1. Variedades tradicionales de tomate evaluadas en este estudio

Código	Nombre variedad	Origen Geográfico	Registro	Clasificación en grupos
Ly3	Amarillo	Calar de la Santa	2004	FRUTO COLOR AMARILLO
Ly60	Bombilla amarillo aperado	Bullas	2005	
Ly62	Bombilla amarillo 'buenos'	Bullas	2005	
Ly28	Negro	Bajil	2004	FRUTO COLOR ROJO OSCURO 'NEGRO'
Ly29	Negro	Socovos	2004	
Ly31	Negro	Bullas	2004	
Ly32	Negro	Socovos	2004	
Ly33	Negro	Zaen de Arriba	2004	
Ly34	Negro especial	Peralejo-Calasparra	2004	
Ly69	Rosita	Totana		FRUTO COLOR ROSA
Ly96	flor de baladre rosa	Calasparra	2012	
Ly37	Rosado de Bullas	Bullas	2012	
Ly169	Rosado del Calar	El Calar de la Santa	2012	
Ly46	Dulce	Calasparra	2004	OTRAS CARACTERÍSTICAS
Ly84	Muchamiel Aperado	El Gigante (Lorca)	2010	
Ly92	Pera grueso	Guardamar	2012	
Ly97	Tomate Pimiento	Cartagena	2010	
Ly109	Murciano rojo	Beniaján	2012	
Ly111	Redondo de ensalada	Torreagüera	2012	
Ly130	Gordo redondo	Mazarrón	2012	
Ly168	Tomate de Almaciles	Almaciles (Granada)	2012	

FIGURAS

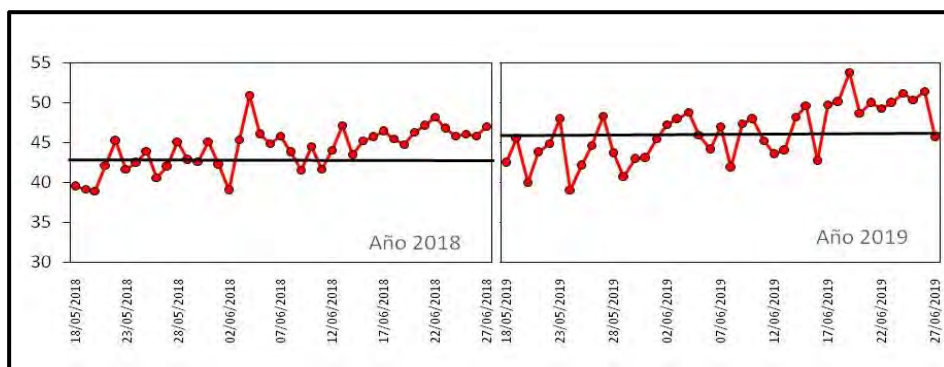


Fig. 1. Temperaturas máximas (°C) en el invernadero durante los dos años de cultivo de variedades tradicionales de tomate, durante la etapa reproductiva. La línea horizontal negra indica el promedio de la temperatura máxima en cada uno de dichos cultivos (verano 2018 y verano 2019), durante la etapa de desarrollo reproductivo de las plantas.

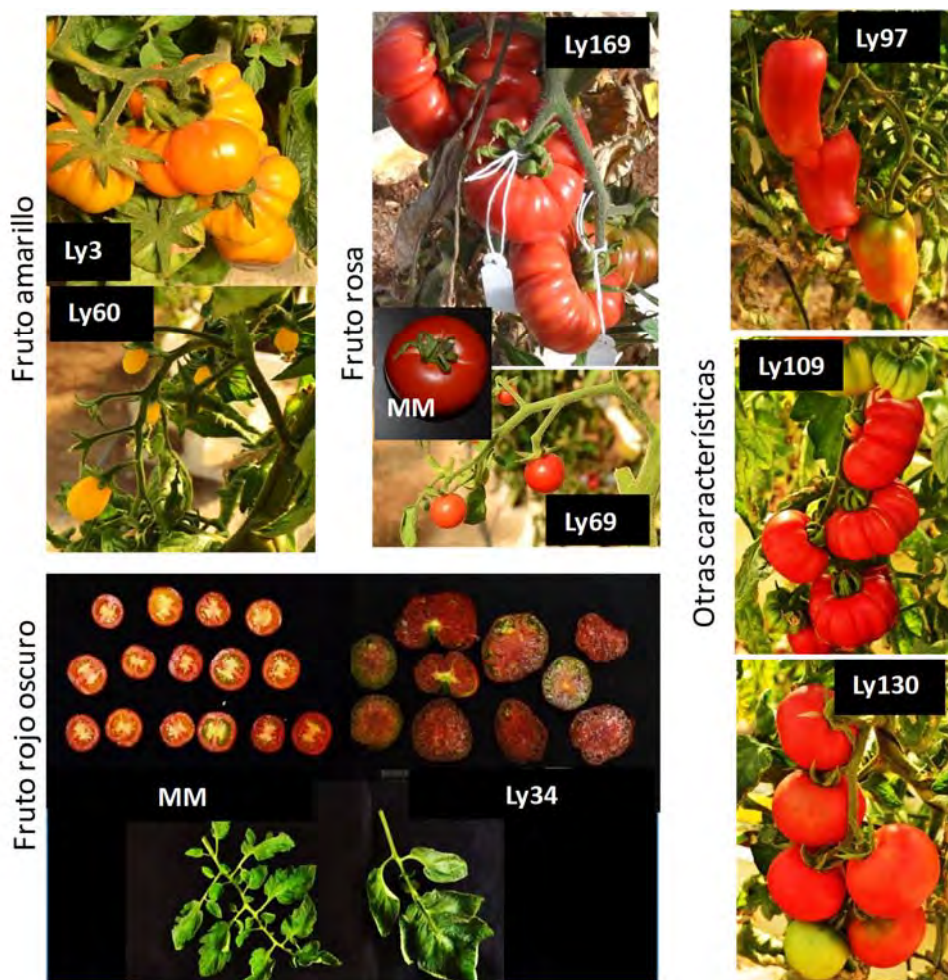


Fig. 2. Fotos representativas de los frutos de los diferentes grupos analizados de variedades tradicionales de tomate. Grupos ordenados en base al color del fruto, amarillo, rojo oscuro 'negro' y rosa, así como otras seleccionadas por otras características. MM, cultivar de referencia (cv Moneymaker).

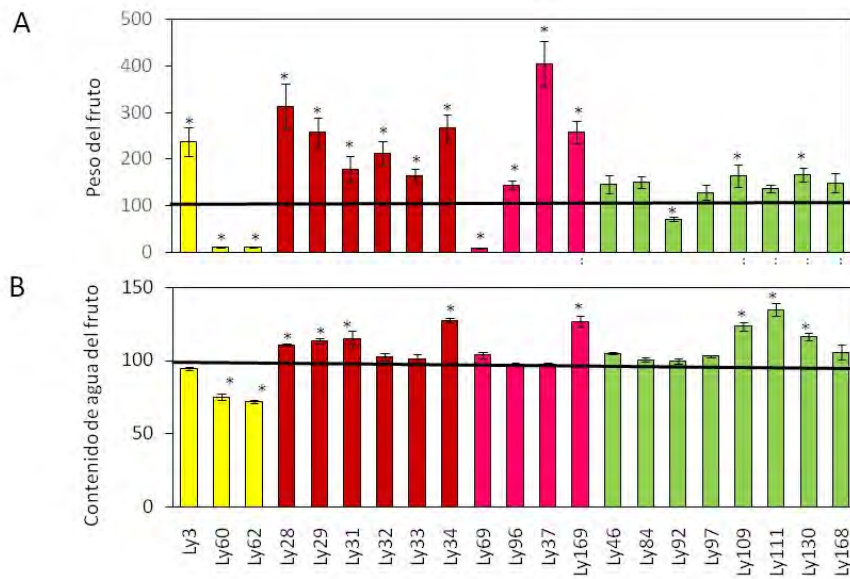


Fig. 3. Peso (A) y contenido de agua del fruto (B) en las variedades tradicionales de tomate agrupadas por el color de los frutos – amarillos, rojos oscuros ‘negros’ y rosas – y por otras características de interés- verde. Se presentan los valores relativos al cultivar de referencia (% respecto a MoneyMaker, MM) como medias \pm SD. Se considera 100% el promedio de los valores determinados en MM que se indica por una barra de color negro. * indica diferencias significativas entre las medias de las variedades tradicionales y la referencia MM determinadas por el test *t* de Student ($P < 0,05$).

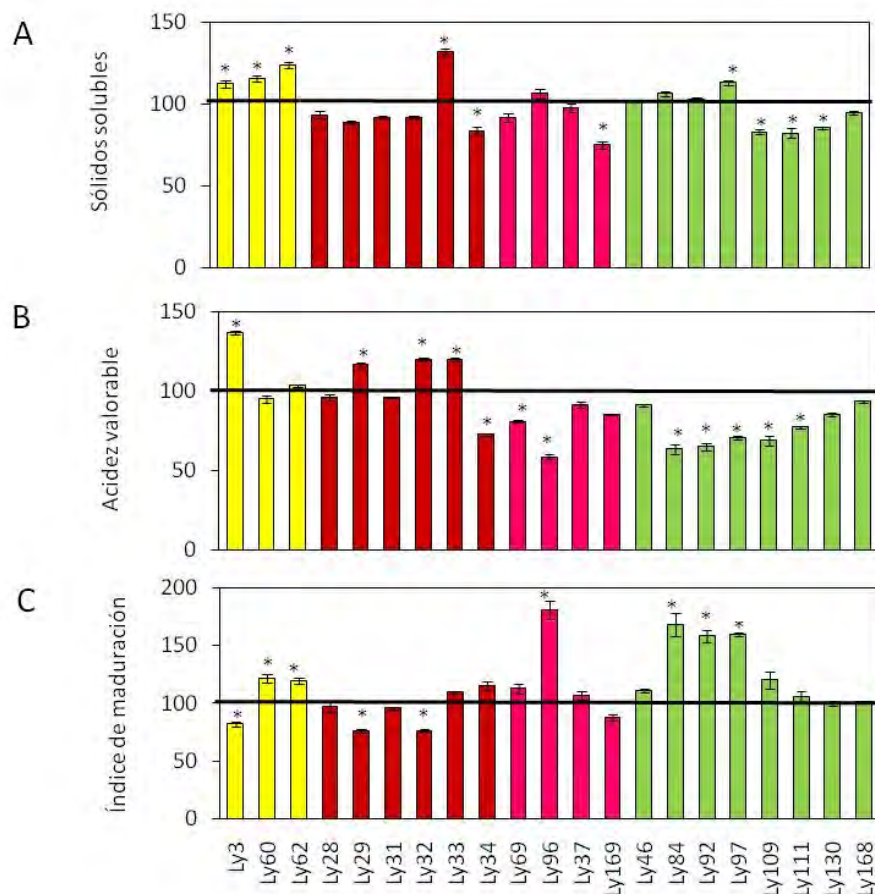


Fig. 4. Contenido en sólidos solubles totales (A), acidez valorable (B) e índice de maduración (C) de frutos maduros de las variedades tradicionales de tomate agrupadas por el color de los frutos – amarillos, rojos oscuros ‘negros’ y rosas – y por otras características - verde. Se presentan los valores relativos al cultivar de referencia (% respecto a Moneymaker, MM) como medias \pm SD. Se considera 100% el promedio de los valores determinados en MM que se indica por una barra de color negro. * indica diferencias significativas entre las medias de las variedades tradicionales y la referencia MM determinadas por el test *t* de Student ($P < 0,05$).

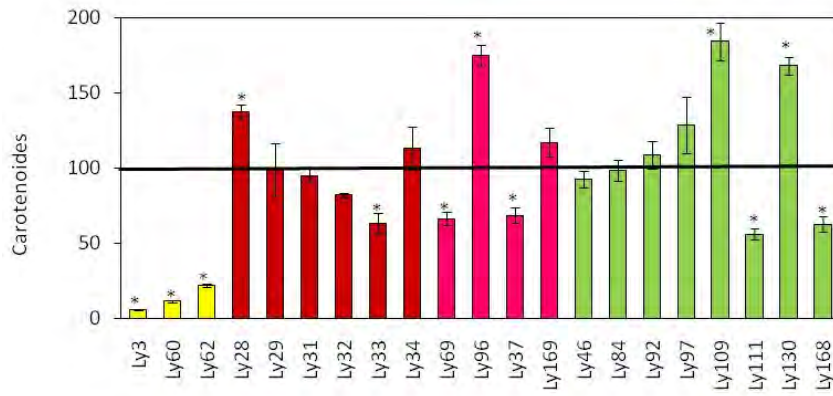


Fig. 5. Contenido en carotenoides totales en frutos maduros de las variedades tradicionales de tomate agrupadas por el color de los frutos – amarillos, rojos oscuros ‘negros’ y rosas – y por otras características - verde. Se presentan los valores relativos al cultivar de referencia (% respecto a MoneyMaker, MM) como medias \pm SD. Se considera 100% el promedio de los valores determinados en MM que se indica por una barra de color negro. * indica diferencias significativas entre las medias de las variedades tradicionales y la referencia MM determinadas por el test *t* de Student ($P < 0,05$).

Explorando el contenido de ácidos grasos de variedades de pecano

A.I. Galván¹, G. Díaz¹, G. Domínguez¹, M.J. Serradilla², A.J. Galán¹, M. López-Corrales¹

¹Centro de Investigación Finca La Orden-Valdesequera (CICYTEX). Departamento de Hortofruticultura. Junta de Extremadura y e-mail: anaisabel.galvan@juntaex.es

²Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura (INTAEX-CICYTEX). Área de Vegetales. Junta de Extremadura

Resumen

El pecanero (*Carya illinoensis* Koch) es una especie perteneciente a la familia Juglandaceae cuyo potencial productivo y de calidad está siendo evaluado por el Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX) como alternativa frutal en las zonas regables de esta región. Además, la nuez pecanera está considerada como un alimento interesante por su alto contenido en grasas y proteínas, además de su bajo porcentaje de carbohidratos. Son frutos con un elevado contenido en ácidos grasos, principalmente oleico y linoleico, si bien estudios recientes han mostrado gran variabilidad en su contenido en función de la variedad, el año y de la zona de cultivo. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar el porcentaje de grasa y el perfil de ácidos grasos de la colección de 20 variedades de pecanero de CICYTEX establecida en 2018. Los resultados obtenidos han mostrado que ‘Churriana-5’ fue la variedad con menor porcentaje medio de grasa (46,06%) y ‘Oconee’ la de mayor (62,42%). Los ácidos grasos mayoritarios en todos los cultivares fueron los insaturados. Las variedades ‘Churriana-5’ y ‘Queen Elizabeth’ presentaron el porcentaje de ácido oleico más bajo con un valor de 42,53% y la variedad Oconee presentó el más alto con 65,40%. El ratio de ácidos oleico/linoleico osciló entre 0,94 en la variedad Queen Elisabeth y 2,61 en la variedad Oconee. Los resultados obtenidos han puesto de manifiesto diferencias en el contenido lipídico y en el perfil de ácidos grasos entre las variedades estudiadas. A pesar de su alto contenido en grasa, la nuez pecana se ha caracterizado por tener un gran contenido de ácidos grasos insaturados con efectos beneficiosos para la salud.

Palabras clave: *Carya illinoensis*, nuez pecana, grasa, ácidos grasos

INTRODUCCIÓN

La nuez pecana (*Carya illinoensis* Koch) perteneciente a la familia Juglandaceae originaria del sur de los Estados Unidos y del norte de México (Poletto et al., 2015). Es una especie de planta arbórea que se cultiva en varios países del mundo. Los frutos secos presentan importantes beneficios para la salud de los consumidores, entre ellos, la prevención de enfermedades cardíacas (Gardea et al., 2011; Atanasov et al., 2018). La composición nutricional de las pecanas se caracteriza principalmente por mostrar un alto contenido graso. Esta grasa es considerada saludable ya que es rica en ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y poliinsaturados (AGPI), y, además, presenta un bajo contenido en ácidos grasos saturados (AGS) (Rivera-Rangel et al., 2018). En la nuez pecana, el principal ácido graso es el ácido oleico (49–76.5%), seguido del ácido linoleico (13–40%)

(Scapinello et al., 2017). Sin embargo, se ha observado una gran variabilidad en la composición de ácidos grasos en función de la variedad, condiciones ambientales y zona de producción (Grauke et al., 2001). Por ello, el objetivo de este estudio fue determinar el porcentaje de grasa bruta y el perfil de ácidos grasos de 20 variedades de pecanero establecidos en el Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX).

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se ha realizado en la colección de pecanero (*Carya illinoensis*) establecida en el año 2010 en la “Finca La Orden-Valdesequera” (Guadajira, Badajoz), perteneciente al Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX). Esta colección cuenta con 20 variedades comerciales. Las recolecciones de todas las variedades estudiadas se realizaron entre septiembre y noviembre de 2018. Una vez recolectadas las pecanas por cultivar, fueron sometidas a un proceso de secado en invernadero durante 4-5 días hasta alcanzar un porcentaje de humedad inferior al 4%, para posteriormente ser almacenadas a 4°C hasta su análisis. Para llevar a cabo el contenido en grasa bruta y el perfil de ácidos grasos se tomaron al azar 3 muestras de 10 g de cada cultivar. Una vez molidas se analizó y se cuantificó el contenido en grasa bruta (GB) según Folch (Folch, Lees y Sloane-Stanley, 1957). El perfil de ácidos grasos fue determinado a partir del extracto etéreo mediante cromatografía de gases (CG-FID).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se observa el porcentaje de grasa bruta de la colección de 20 variedades de pecaneros. El contenido total de grasa bruta de estas 20 variedades osciló entre 46,06% en ‘Churriana-5’ y 62,42% en ‘Oconee’. En relación con el perfil de ácidos grasos, en todas las variedades analizadas, el 99 % de estos corresponden a los ácidos grasos oleico, linoleico, linolénico, palmítico y esteárico (Tabla 2). Además, diferencias en el perfil de ácidos grasos fueron encontradas entre variedades. El ácido oleico mostró el mayor porcentaje respecto al resto de ácidos grasos identificados, oscilando del 42,53% en ‘Churriana-5’ y ‘Queen Elizabeth’ hasta el 65,40% en ‘Oconee’. El segundo ácido graso mayoritario fue el linoleico, obteniendo el mayor porcentaje la variedad Churriana-5 (45,33%) y el porcentaje más bajo en ‘Oconee’ (25,10%). Los resultados obtenidos para los ácidos grasos oleico y linoleico son similares a los obtenidos por otros autores. Oro et al. (2008) obtuvo un valor medio de ácido oleico de 62,5% y de ácido linoleico de 27,5% en las variedades Barton, Shoshone y Shawnee. Además, Wakeling et al. (2001), en las variedades Wichita y Western Schley, obtuvieron valores medios de 55,33% para el ácido oleico y 32,88% para el ácido linoleico. Finalmente, Villarreal-Lozoya et al. (2007) también encontraron rangos de entre 53 y 75% para el ácido oleico y de 15 al 36% para el ácido linoleico en siete variedades producidas en los Estados Unidos. En un porcentaje muy inferior, se encontraron los ácidos palmíticos, el esteárico y el linolénico. El palmítico y el esteárico se tratan de ácidos grasos saturados y se obtuvieron valores medios de 6,64 y 2,03%, respectivamente. El ácido linolénico obtuvo un valor medio de 1,65%, siendo el ácido graso más minoritario en las variedades de nuez pecana estudiadas.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos han puesto de manifiesto las diferencias entre variedades respecto al contenido de grasa bruta y el perfil de ácidos grasos. En la nuez pecana se caracteriza por el predominio de los ácidos grasos insaturados, principalmente por el ácido oleico y el linoleico. Por ello, el consumo de nuez pecana tendría efectos beneficiosos sobre la salud cardiovascular.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación por el proyecto IB20116 y al Gobierno de Extremadura por el Grupo de Investigación GR21198 del “Fondo Europeo de Desarrollo Regional FEDER”. A.I. Galván y A.J. Galán agradecen al Ministerio de Economía, Industria y Competitividad por las becas predoctorales Ref. BES-2017-079830 y Ref. PRE2018-086475

REFERENCIAS

- Atanasov, A.G., Sabharanjak, S.M., Zengin, G., Mollica, A., Szostak, A., Simirgiotis, M., Huminiecki, L., Horbanczuk, O. K., Nabavii, S. M. y Mocan, A. (2018). Pecan nuts: A review of reported bioactivities and health effects. *Trends in Food Science & Technology* 71, 246–257. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.10.019>.
- Folch, J, Lees, M., Sloane-Stanley, G.H. (1956). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 193, 265-275.
- Gardea, A.A., Martínez Téllez, M.A., Yahia, M. (2011). 8 - Pecan (*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch.). *Food Science, Technology and Nutrition*. 143-165, 166e. <https://doi.org/10.1533/9780857092618.143>.
- Grauke, L.J., Thompson, T. E., Storey, J. B., Sistrunk, L. (2001). In Abstracts of the 98th annual international conference of the American society for horticultural science. ASHS. 498.
- Oro, T., Ogliari, P.J., Amboni, R.D.M.C., Barrera-Arellano, D., Block, J.M. (2008). Evaluación de la calidad durante el almacenamiento de nueces Pecán [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] acondicionadas en diferentes envases. *Grasas Aceites*. 59, 132-138
- Poletto, T., Muniz, M.F.B., Poletto, I., Baggiotto, C. (2015). Methods for overcome dormancy of pecan *Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch seeds. *Revista Árvore*. 39, 1111-1118. <https://doi.org/10.1590/0100-67622015000600014>.
- Scapinello, J., Dal Magro, J., Mara Block, J., Di Luccio, M., Vinícius Tres, M., Vladimir Oliveira, J. (2017). Fatty acid profile of pecan nut oils obtained from pressurized n-butane and cold pressing compared with commercial oils. *J. Food Science and Technology-Mysore*, 54, 1-4
- Villarreal-Lozoya, J.E., Lombardini, L., Cisneros-Zevallos, L. (2007). Phytochemical constituents and antioxidant capacity of different pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] cultivars. *Food Chem.* 102, 1241-1249.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.024>

Wakeling, L.T., Mason, R.L., D'arcy, B.R., Caffin, N.A. (2001). Composition of pecan cultivars Wichita and Western Schley [*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch] grown in Australia. *J. Agric. Food Chem.* 49, 1277-1281. <https://doi.org/10.1021/jf000797d>.

TABLAS

Tabla 1. Porcentaje de grasa bruta de las 20 variedades de pecanos estudiadas

Variedad	GB (%)
KIOWA	54,51
MOHAWK	62,16
SIOUX	59,36
SALOPEK	58,28
CHURRIANA-5	46,06
DESIRABLE	52,06
PAWNEE	59,16
QUEEN ELIZABETH	53,83
HOUMA	47,09
SHOSHONE	58,92
CHURRIANA-2	49,04
WICHITA	53,24
BILEM IV	54,92
OSAGE	58,46
CADO	53,26
CAPE FEAR	51,97
STUART	59,88
APACHE	61,55
OCONEE	62,42
CHOCTAW	56,93

Tabla 2. Perfil de ácidos grasos de las 20 variedades de pecanos estudiadas.

Variedad	O/L	Ácido palmítico	Ácido esteárico	Ácido oleico	Ácido linoleico	Ácido linolénico
KIOWA	1,47	6,77	1,76	53,39	36,25	1,84
MOHAWK	2,54	6,09	2,31	64,90	25,54	1,16
SIOUX	1,60	6,67	1,73	55,46	34,63	1,52
SALOPEK	2,01	6,29	2,45	60,01	29,91	1,34
CHURRIANA-5	0,94	7,55	2,08	42,53	45,33	2,52
DESIRABLE	1,58	6,87	1,97	54,90	34,64	1,61
PAWNEE	1,68	6,81	2,59	55,76	33,27	1,57
QUEEN						
ELIZABETH	0,94	7,34	2,46	42,53	45,22	2,45
HOUMA	1,11	7,48	1,62	46,68	42,14	2,09
SHOSHONE	1,40	6,46	2,49	56,57	40,46	1,67
CHURRIANA-2	1,08	6,41	1,86	46,64	43,18	1,90
WICHITA	1,49	6,79	2,02	53,45	35,92	1,82
BILEM IV	1,63	6,25	1,95	56,00	34,35	1,45
OSAGE	2,59	6,06	1,99	65,23	25,21	1,51
CADO	1,24	6,80	1,62	49,72	40,23	1,62
CAPE FEAR	1,47	6,47	1,67	53,59	36,56	1,72
STUART	1,77	6,52	1,86	57,56	32,48	1,57
APACHE	1,71	5,98	2,05	57,22	33,45	1,31
OCONEE	2,61	6,43	1,96	65,40	25,10	1,11
CHOCTAW	2,00	6,75	2,20	59,84	29,90	1,32

Caracterización funcional de variedades de alcachofa obtenidas vegetativamente y por semillas

M.J. Giménez, M.E. García-Pastor, M. Giménez-Berenguer, V. Serna-Escolano, P. J. Zapata

Depto. Tecnología Agroalimentaria. EPSO, Universidad Miguel Hernández. Ctra. Beniel km. 3.2, 03312, Orihuela, Alicante. e-mail: maria.gimenezt@umh.es

Resumen

El cultivo de alcachofa tradicionalmente se ha basado en variedades propagadas vegetativamente, siendo 'Blanca de Tudela' la principal variedad cultivada en España. En los últimos años, se han introducido variedades propagadas por semillas (polinización abierta e híbridas) destinadas, principalmente, al mercado de exportación. La alcachofa presenta un elevado contenido en compuestos fenólicos que le otorga propiedades antioxidantes con efectos beneficiosos para la salud. El perfil cuantitativo y cualitativo de estos compuestos está influenciado por diferentes factores: genotipo, parte de la planta, fecha de recolección, condiciones ambientales, manejo agronómico y poscosecha. El elevado porcentaje de residuos junto con las complejas y laboriosas operaciones requeridas para su procesado disminuye el consumo de alcachofas. La comercialización de alcachofas como producto de IV gama, podría suponer una ventaja reduciendo el tiempo de preparación. Sin embargo, este procesado aumenta la susceptibilidad al pardeamiento enzimático relacionado con la oxidación de compuestos fenólicos. En este trabajo se presentan resultados de investigaciones recientes en las que se han caracterizado diferentes variedades de alcachofa propagadas vegetativamente y por semillas (polinización abierta e híbridas). Se determinó el perfil fenólico y la susceptibilidad al pardeamiento o su comportamiento durante la conservación poscosecha. Además de la variedad, se estudió la influencia de otras variables como el orden del capítulo floral (guías, segundas y terceras), planta, fecha de recolección y estado de desarrollo interno, sobre el contenido fenólico, con el fin de determinar aquellas variedades y tipos de alcachofas con mejor aptitud para su comercialización en fresco o su utilización como producto mínimamente procesado. En conclusión, las alcachofas con mayor contenido fenólico presentaron una mejor calidad durante la poscosecha, mientras que las alcachofas con menor contenido fenólico presentaron menor susceptibilidad al pardeamiento y mejor aptitud para su procesado industrial.

Palabras clave: fenoles, genotipo, pardeamiento enzimático, poscosecha.

INTRODUCCIÓN

La alcachofa (*Cynara scolymus* L.) es una planta herbácea perenne originaria de la región mediterránea cuya producción y consumo se ha extendido a nivel mundial. En los últimos años, ha aumentado la demanda entre los consumidores debido a los efectos beneficiosos para la salud que aporta su consumo, relacionados con su contenido en fibra

y compuestos fenólicos, principalmente ácidos hidroxicinámicos y luteolinas (Lattanzio et al., 2009; Giménez et al., 2021). Sin embargo, el perfil cuantitativo y cualitativo de los compuestos fenólicos está influenciado por el genotipo, parte de la planta, época de recolección, manejo agronómico y condiciones ambientales y poscosecha (Lombardo et al., 2009; 2010; Pandino et al., 2013).

Hasta hace unos años, la producción de alcachofa en España se ha basado casi exclusivamente en la variedad de propagación vegetativa 'Blanca de Tudela' debido a su excelente calidad; sin embargo, presenta mayor precocidad y menor rendimiento que las variedades propagadas por semillas. En las últimas décadas, se han desarrollado nuevas variedades propagadas por semillas, tanto de polinización abierta como híbridas (Mauromicale y Ierna, 2000). Durante el crecimiento de la planta de alcachofa, a partir de la roseta de la parte central, se desarrolla el tallo floral que termina produciendo el capítulo floral (guía). El eje se alarga dando lugar al desarrollo de yemas axilares (segundas y terceras), que dan origen a capítulos secundarios y terciarios de menor tamaño.

Los cambios en el estilo de vida de los consumidores han llevado a una mayor demanda de productos mínimamente procesados, considerados como productos de valor añadido en términos de calidad, conveniencia, valor nutricional y facilidad de preparación. El elevado porcentaje de productos de deshecho (80% de la biomasa) (Lattanzio et al., 2009) junto con las complejas y lentas operaciones de corte, podrían brindar importantes ventajas para la comercialización de alcachofa como producto de IV gama. Sin embargo, la alcachofa cortada presenta una corta vida útil debido principalmente al pardeamiento enzimático causado por la oxidación de los compuestos fenólicos, siendo responsable de dicha oxidación la enzima polifenol oxidasa (PPO) (Cabezas-Serrano et al., 2009). Diferentes estudios han demostrado que el material genético es un factor clave en el contenido fenólico y la actividad enzimática, que determinarán la idoneidad para su procesamiento en IV gama (Pandino et al., 2011; Lombardo et al., 2012).

En este trabajo se presentan resultados de investigaciones recientes realizadas por el grupo de Postrecolección de Frutas y Hortalizas de la Universidad Miguel Hernández, cuyo objetivo ha sido la caracterización funcional de diferentes variedades de alcachofa. Estos resultados permitirán determinar aquellas variedades con menor contenido fenólico y, por tanto, mayor aptitud para su desarrollo como producto de IV gama. Por otro lado, aquellas variedades con mayor contenido fenólico podrían presentar una mayor aptitud para su consumo en fresco dadas sus propiedades antioxidantes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para desarrollar esta línea de investigación, se han realizado diferentes ensayos en los que se han caracterizado ocho variedades de alcachofa. Se realizó una caracterización de la variedad de alcachofa 'Blanca de Tudela' a lo largo de su ciclo productivo respecto al contenido fenólico y actividad antioxidante atendiendo al orden de capítulo floral (alcachofas guía, segundas y terceras), así como el efecto de estas variables en la calidad de la alcachofa durante su almacenamiento en frío. Por otro lado, se caracterizaron variedades de alcachofa propagadas por diferentes métodos: dos variedades de

multiplicación vegetativa ('Blanca de Tudela' y 'Calicó') y seis variedades de propagación mediante semilla, siendo dos variedades de polinización abierta ('Lorca' y 'Tupac') y cuatro híbridas ('Sambo', 'Symphony', 'Madrigal' y 'Olimpo'). Se evaluó la influencia del orden del capítulo floral y el tratamiento con ácido giberélico (GA_3) sobre su contenido fenólico. Una vez seleccionadas las variedades con menor contenido fenólico, se evaluó la influencia del orden del capítulo floral (guías, segundas y terceras), y otras variables como la planta, fecha de recolección y estado de desarrollo interno sobre el contenido fenólico de la variedad 'Lorca', con el fin de determinar, dentro de la misma variedad, aquellas alcachofas con mejor aptitud para su comercialización en fresco o su utilización como producto mínimamente procesado. Se determinaron diferentes parámetros físico-químicos y se identificaron y cuantificaron los fenoles individuales, así como la actividad antioxidante y contenido fenólico total (Giménez et al., 2021; 2022; Giménez-Berenguer et al., 2022).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos para la variedad 'Blanca de Tudela' a lo largo de su ciclo productivo mostraron que la concentración de fenoles totales identificados fue mayor en las alcachofas terceras que en las segundas y guías, debido a una mayor concentración de ácidos hidroxicinámicos y derivados de luteolinas. Por otro lado, se realizaron dos ensayos de almacenamiento poscosecha para alcachofas guías, segundas y terceras recolectadas en invierno y primavera. Tras 21 días de almacenamiento en frío, las alcachofas terceras presentaron las menores pérdidas de peso, firmeza y tasa de respiración, lo cual podría estar relacionado con su mayor contenido en compuestos fenólicos. Por tanto, las alcachofas terceras podrían presentar una mayor aptitud para su almacenamiento refrigerado tras la recolección hasta su consumo, ya que mantuvieron sus propiedades de calidad durante mayor tiempo y presentaron un mayor contenido en compuestos bioactivos (Giménez et al., 2022).

Con respecto al ensayo de variedades, las alcachofas terceras mostraron el mayor contenido en compuestos fenólicos individuales, seguidas por las alcachofas segundas y guías, y este efecto fue dependiente de la variedad. Además, el tratamiento con GA_3 afectó al contenido de estos compuestos bioactivos de diferentes modos. Las alcachofas tratadas con GA_3 mostraron menores concentraciones de ácidos hidroxicinámicos que las alcachofas no tratadas; sin embargo, las alcachofas tratadas con GA_3 presentaron un mayor contenido de derivados de luteolinas. La influencia del tratamiento con GA_3 dependió del orden de alcachofa y de la variedad (Giménez et al., 2021).

Para la caracterización del contenido fenólico en la variedad 'Lorca', además de la influencia del orden de capítulo floral (guías, segundas y terceras), se evaluó la influencia de otras variables como la planta, fecha de recolección y estado de desarrollo interno sobre el contenido en fenoles totales. Las alcachofas terceras y segundas, y aquellas en etapa de desarrollo inicial e intermedias mostraron el mayor contenido fenólico, así como mayor susceptibilidad al pardeamiento tras el corte. Se observó el efecto contrario en las alcachofas guías y en estado avanzado de desarrollo, presentando la menor incidencia de pardeamiento, lo que podría aumentar su uso en productos mínimamente procesados en el mercado (Giménez- Berenguer et al., 2022).

CONCLUSIONES

En conclusión, estos resultados muestran que además de la variedad, el orden de capítulo floral (guías, segundas y terceras), así como el estado de desarrollo interno, influyen directamente en el contenido fenólico en las variedades analizadas. Las alcachofas con mayor contenido fenólico presentaron una mejor calidad durante la poscosecha, mientras que las alcachofas con menor contenido fenólico presentaron menor susceptibilidad al pardeamiento y mejor aptitud para su procesamiento industrial. La revisión de estos resultados podría ser muy útil a nivel comercial para determinar la aptitud tecnológica de los capítulos de cada una de las variedades evaluadas.

REFERENCIAS

- Cabezas-Serrano, A.B., Amodio, M.L., Cornacchia, R., Rinaldi, R., Colelli, G. 2009. Screening quality and browning susceptibility of 5 artichoke cultivars for fresh cut processing. *J. Sci. Food Agric.* 89: 2588-2594.
- Giménez, M.J., Giménez-Berenguer, M., García-Pastor, M.E., Parra, J., Zapata, Castillo, S. 2021. The influence of flower head order and gibberellic acid treatment on the hydroxycinnamic acid and luteolin derivatives content in globe artichoke cultivars. *Foods*, 10(8): 1813.
- Giménez, M.J., Giménez-Berenguer, M., García-Pastor, M.E., Castillo, S., Valverde, J.M., Serrano, M., Valero, D., Zapata, P.J. 2022. Influence of flower head order on phenolic content and quality of globe artichoke at harvest and during twenty-one days of cold storage. *Scientia Horticulturae*, 295: 110846.
- Giménez-Berenguer, M., García-Pastor, M.E., García-Martínez, S., Giménez, M.J., Zapata, P.J. 2022. Evaluation of ‘Lorca’ cultivar aptitude for minimally processed artichoke. *Agronomy*, 12: 515.
- Lattanzio, V., Kroon, P.A., Linsalata, V. and Cardinali, A. 2009. Globe artichoke: A functional food and source of nutraceutical ingredients. *J. Funct. Food.* 2: 131-144.
- Lombardo, S., Pandino, G., Mauromicale, G., Knödler, M., Carle, R. and Schieber, A. 2010. Influence of genotype, harvest time and plant part on polyphenolic composition of globe artichoke [*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori]. *Food Chem.* 119: 1175-1181.
- Lombardo, S., Pandino, G., Ierna, A., Mauromicale, G. 2012. Variation of polyphenols in a germplasm collection of globe artichoke. *Food Res. Int.* 46: 544-551.
- Mauromicale, G., Ierna, A. 2000. Characteristics of heads of seed-grown globe artichoke (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori) as affected by harvest period: Sowing date and gibberellic acid. *Agronomie*, 20: 197-204.
- Pandino, G., Lombardo, S., Mauromicale, G., Williamson, G. 2011. Phenolic acids and flavonoids in leaf and floral stem of cultivated and wild *Cynara cardunculus* L. genotypes. *Food Chem.* 126: 417-422.
- Pandino, G., Lombardo, S., Lo Monaco, A., Mauromicale, G. 2013. Choice of time of harvest influences the polyphenol profile of globe artichoke. *J. Funct. Foods*, 5: 1822-1828.

Incremento en la producción del cultivo de naranja sanguina y en la calidad del fruto mediante tratamientos con espermidina

J. Puente-Moreno¹, M.E. García-Pastor¹, F. Garrido-Auñón¹, F. Guillén¹, D. Martínez-Romero¹, D. Valero¹ y M. Serrano²

¹ Departamento de Tecnología Agroalimentaria, Universidad Miguel Hernández, Ctra. Beniel km. 3.2, 03312, Orihuela, Alicante, email: jpunte@umh.es

² Departamento de Biología Aplicada, Universidad Miguel Hernández, Ctra. Beniel km. 3,2, 03312, Orihuela, Alicante

Resumen

La naranja sanguina (*Citrus sinensis* L. Osbeck) es un fruto no climatérico caracterizado por poseer un alto contenido en fitonutrientes y compuestos bioactivos beneficiosos para la salud, como ácido ascórbico, flavonoides y antocianinas, las cuales las diferencian del resto de naranjas dulces. La espermidina (Spd) es una poliamina vegetal con diferentes efectos fisiológicos en plantas, desde germinación de la semilla hasta la floración y la maduración del fruto. En el presente estudio, realizado en una finca comercial, se analizó el efecto de los tratamientos de árboles de naranja sanguina, variedad ‘Sanguinelli’ con Spd a tres concentraciones: 0,01, 0,1 y 1 mM. Los tratamientos se realizaron mediante pulverización foliar en tres momentos claves a lo largo del ciclo de crecimiento y maduración del fruto en el árbol. Las naranjas se recolectaron de acuerdo con los criterios comerciales de la empresa y se evaluó la producción total (kg árbol⁻¹), el número de frutos producidos por árbol y el peso medio de los frutos (g). Además, las naranjas se clasificaron en las líneas de la empresa en comerciales y no comerciales para su venta como sanguina, de acuerdo con su color externo, ya que muchos frutos no alcanzan la coloración roja requerida para su venta en el mercado como naranja sanguina y son destinados a la industria de zumo. Los resultados mostraron un aumento de la producción total y de la producción de frutos comerciales, aunque no todas las concentraciones fueron igualmente efectivas. Se analizaron también los parámetros de calidad y se observó que los tratamientos con Spd incrementaron la firmeza de los frutos, la acidez total y su color externo e interno debido a un incremento en la concentración de antocianinas. Por tanto, el tratamiento con Spd puede ser una herramienta útil en precosecha para incrementar la producción del cultivo de naranja sanguina y mejorar aquellos parámetros de calidad que son valorados comercialmente en el momento de la recolección. En estudios futuros, sería interesante evaluar si esta mayor calidad de los frutos en el momento de la recolección también se mantiene a niveles más altos durante la conservación.

Palabras Clave: *Citrus sinensis* L., color, acidez, antocianinas, ‘Sanguinelli’.

INTRODUCCIÓN

La naranja sanguina destaca por su coloración rojiza tanto en la corteza como en la pulpa. Además, se ha demostrado que presenta un elevado contenido de antioxidantes

naturales y fitoquímicos bioactivos como polifenoles, incluso, contienen una mayor proporción de vitamina C en comparación con las naranjas dulces (Legua et al., 2022). Las antocianinas son pigmentos hidrosolubles que confieren dicha coloración rojiza y, además, desempeñan actividades antiinflamatorias, anticancerígenas y antioxidantes que previenen el riesgo de enfermedades cardiovasculares, cáncer y diabetes (García-Pastor et al., 2020). La variedad ‘Sanguinelli’, resultado de una mutación espontánea de la variedad Doble Fina, presenta mayor coloración, firmeza, jugosidad y un equilibrio de sabor entre dulce y ácido frente al resto de variedades de naranja sanguina (Habibi et al., 2020).

La espermidina (Spd) es una de las principales poliaminas biógenas que interviene en los procesos fisiológicos de las plantas, tales como el crecimiento, el desarrollo, la maduración del fruto, entre otros (Sharma et al., 2017). Diversos estudios resaltan que la aplicación de poliaminas exógenas en postcosecha incrementa la vida útil y mejora la calidad de la fruta durante el almacenamiento (Serrano & Valero, 2018). Sin embargo, no existe ningún estudio enfocado a evaluar el efecto de la aplicación de dichas poliaminas en precosecha. Por tanto, el objetivo de este estudio es evaluar el efecto de la aplicación exógena de espermidina en precosecha sobre la producción y la calidad de la naranja sanguina, siendo este tema de gran importancia por la escasez de estudios científicos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal y diseño experimental

El estudio se llevó a cabo en árboles de naranja sanguina, variedad ‘Sanguinelli’, cultivados en una finca comercial (“La Juliana”) ubicada en Alicante, perteneciente a la empresa ‘Las Moreras Fruit & Veggies S.L.’. Los árboles se cultivaron bajo prácticas comerciales y condiciones agroclimáticas similares. Se utilizó un diseño experimental de bloques al azar, seleccionando 3 bloques de 3 árboles por tratamiento. Se rociaron mediante pulverización foliar soluciones acuosas de 0,01, 0,1 y 1 mM de espermidina (Spd) y agua destilada para los árboles control en tres momentos claves del ciclo de crecimiento y maduración del fruto en el árbol.

Evaluación de la producción del cultivo y calidad comercial

Una vez que el fruto alcanzó el estado de maduración comercial, se procedió a la recolección. Se contabilizó la producción por árbol (kg), el número de frutos por árbol y se evaluó el peso medio de los frutos (g). En la empresa, se realizó una clasificación visual por color; “comercial” (frutos rojos) y “no comercial” (frutos naranjas) en función del % de color rojo en la superficie del fruto.

Determinaciones analíticas de la calidad físico-química del fruto

Se seleccionaron 20 frutos por tratamiento del calibre 64-67 mm y se dividieron en 4 réplicas de 5 frutos, con la finalidad de analizar los parámetros de calidad del fruto en el momento de la recolección. La firmeza de cada fruto se determinó mediante el texturómetro modelo TA.XT2i de Stable Micro Systems, ejerciendo una deformación en el fruto del 5 % sobre la superficie del mismo, de acuerdo al protocolo descrito por García-Pastor et al. (2020). El análisis del color externo se realizó alrededor de la zona ecuatorial del fruto, utilizando el colorímetro Konica Minolta CR-400 en el espacio de color CIELAB. Además, se midió el color interno de la pulpa, expresando los resultados

en ángulo hue (° hue). Posteriormente, se obtuvo un zumo homogéneo por medio de un exprimidor semiautomático, seguidamente filtrado con paño de tela. De dicho zumo, se midió por duplicado el contenido de sólidos solubles totales (SST) con un refractómetro digital Atago PR-101. Para analizar la acidez total de dicho zumo, se diluyó 1 mL de zumo en 25 mL de agua destilada, el cual se llevó a un valorizador automático 785 DMP Titrino-Metrohm AG donde se realizó una titulación del zumo con 0,1 NaOH hasta pH 8,10.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos para los diferentes parámetros se analizaron estadísticamente mediante el software SPSS versión 3.1. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) unidireccional para identificar diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) mediante una comparación de medias para los distintos subconjuntos o tratamientos, utilizando el test Tukey-b.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La aplicación foliar de Spd en precosecha incrementó significativamente la producción total, número de frutos por árbol, peso medio y diámetro de los frutos tratados con respecto al control (**Tabla 1**), siendo el tratamiento de Spd 0,01 mM el que mostró los mayores incrementos de mejora. El incremento en la producción total podría deberse a que la Spd podría intervenir en la división celular para inducir un incremento en el peso del fruto (Sharma & Dietz, 2006), así como al incrementar el número de frutos por árbol. Respecto a la calidad comercial, se observó un incremento por parte de los tratamientos con Spd en la categoría comercial (frutos rojos) frente a la no comercial (frutos naranjas) respecto al control (**Tabla 1**).

Respecto a los parámetros físico-químicos de calidad del fruto, el tratamiento con Spd 0,01 mM mostró diferencias significativas en la firmeza de los frutos frente al resto de tratamientos evaluados (**Tabla 1**). Dicho efecto de mejora de la firmeza se ha observado previamente por otros autores mediante la aplicación postcosecha de poliaminas (Martínez-Romero et al., 2002). La tonalidad rojiza, como parámetro de calidad muy valorado por los consumidores, incrementó significativamente, tanto en la piel como en la pulpa, en los frutos tratados con Spd (**Tabla 1**), resaltando la concentración de 0,01 mM. El contenido de SST mostró un ligero incremento por parte del tratamiento con Spd 0,01 mM. Por otro lado, la AT incrementó de forma significativa con los tratamientos de Spd a las tres concentraciones (**Tabla 1**). El contenido de antocianinas totales del zumo fue significativamente superior en las naranjas sanguinas tratadas con Spd 0,01 mM en comparación con el control (**Tabla 1**). Esto supondría una mejora de la coloración rojiza en la pulpa y/o zumo por parte del tratamiento precosecha evaluado.

CONCLUSIONES

En conclusión, el tratamiento precosecha con espermidina (Spd) a la concentración de 0,01 mM mostró un incremento significativo en la producción total del cultivo y una mejora de los parámetros de calidad comercial y físico-química del fruto. El

presente estudio podría derivar en la necesidad futura de realizar un estudio de la evolución de los parámetros de calidad durante el almacenamiento postcosecha.

AGRADECIMIENTOS

A la Generalitat Valenciana por la financiación del proyecto PROMETEO2021/NAC/00075, ‘Innovative and eco-friendly pre- and postharvest strategies with natural compounds to improve quality of fruits’ y a la empresa ‘Las Moreras Fruit & Veggies S.L.’ por el material vegetal suministrado y el asesoramiento técnico.

REFERENCIAS

- García-Pastor, M.E., Zapata, P.J., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Valero, D. and Serrano, M. 2020. The Effects of Salicylic Acid and Its Derivatives on Increasing Pomegranate Fruit Quality and Bioactive Compounds at Harvest and During Storage. *Front Plant Sci.* 11: 668.
- Habibi, F., Ramezani, A., Guillén, F., Castillo, S., Serrano, M. and Valero, D. 2020. Changes in bioactive compounds, antioxidant activity, and nutritional quality of blood orange cultivars at different storage temperatures. *Antioxidants (Basel).* 9: 1–15.
- Legua, P., Modica, G., Porras, I., Conesa, A. and Continella, A. 2022. Bioactive compounds, antioxidant activity and fruit quality evaluation of eleven blood orange cultivars. *J Sci Food Agric.* 102: 2960–2971.
- Martínez-Romero, D., Serrano, M., Carbonell, A., Burgos, L., Riquelme, F. and Valero, D. 2002. Effects of Postharvest Putrescine Treatment on Extending Shelf Life and Reducing Mechanical Damage in Apricot. *Food Sci.* 67: 1706–1712.
- Serrano, M. and Valero, D. 2018. Application of Polyamines to Maintain Functional Properties in Stored Fruits. *Methods Mol Biol.* 1694: 449–458.
- Sharma, S., Pareek, S., Sagar, N. A., Valero, D. and Serrano, M. 2017. Modulatory Effects of Exogenously Applied Polyamines on Postharvest Physiology, Antioxidant System and Shelf Life of Fruits: A Review. *Int J Mol Sci.* 18: 1789.
- Sharma, S. S. and Dietz, K. J. (2006). The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *J Exp Bot.* 57: 711–726

TABLAS

Tabla 1. Producción del cultivo, parámetros de calidad comercial y de calidad físico-química de la naranja sanguina ‘Sanguinelli’ tratada con espermidina (Spd) a tres concentraciones (0,01, 0,1 y 1 mM) y no tratadas (control).¹

Parámetros	Control	Spd 0,01 mM	Spd 0,1 mM	Spd 1 mM
Producción total (kg árbol ⁻¹)	53,99 ± 5,18 ^a	81,60 ± 3,82 ^b	65,52 ± 5,22 ^{ab}	70,00 ± 4,60 ^{ab}
Nº frutos árbol ⁻¹	357,63 ± 31,40 ^a	494,50 ± 18,68 ^b	427,56 ± 23,36 ^{ab}	448,33 ± 25,64 ^{ab}
Peso medio (g)	151,06 ± 3,96 ^a	178,71 ± 5,01 ^b	163,50 ± 5,08 ^{ab}	165,76 ± 3,66 ^{ab}
Producción comercial (%)	49,79	54,35	52,94	57,69
Producción no comercial (%)	50,21	45,65	47,06	42,31
Diámetro (mm)	64,84 ± 0,74 ^a	68,44 ± 0,67 ^b	66,45 ± 0,72 ^{ab}	66,31 ± 0,51 ^{ab}
Firmeza (N mm ⁻¹)	9,83 ± 0,26 ^a	10,42 ± 0,20 ^b	9,93 ± 0,21 ^a	9,87 ± 0,22 ^a
Color externo (° hue)	54,27 ± 1,05 ^b	43,84 ± 1,13 ^a	46,06 ± 1,24 ^a	45,68 ± 1,27 ^a
Color interno (° hue)	69,88 ± 1,89 ^b	64,68 ± 1,26 ^a	67,51 ± 1,76 ^{ab}	68,60 ± 1,24 ^{ab}
SST (g 100 g ⁻¹)	10,43 ± 0,06 ^a	10,76 ± 0,11 ^b	10,65 ± 0,09 ^{ab}	10,89 ± 0,05 ^b
AT (g 100 g ⁻¹)	1,09 ± 0,04 ^a	1,34 ± 0,08 ^b	1,30 ± 0,04 ^b	1,33 ± 0,02 ^b
Antocianinas totales zumo (mg 100 g ⁻¹)	2,65 ± 0,12 ^a	3,57 ± 0,17 ^b	2,80 ± 0,18 ^{ab}	3,32 ± 0,31 ^{ab}

¹Las letras muestran diferencias significativas para $p < 0,05$.

Calidad del fruto y compuestos bioactivos de 17 accesiones de manzana tras su conservación en frío

P. Mignard¹, R. Giménez¹, M.Á. Moreno^{1*}

¹Departamento de Pomología, Estación Experimental de Aula Dei, EEAD-CSIC, Avda. Montañana 1005, E-50059 Zaragoza, España.

*Autor para correspondencia: mmoreno@eead.csic.es

Resumen

La manzana es una fruta disponible durante todo el año en el mercado. En este trabajo se estudiaron 17 accesiones procedentes del Banco de Germoplasma de manzano de la Estación Experimental de Aula Dei (EEAD – CSIC). Se cosecharon en 2020 y se almacenaron en una cámara frigorífica a baja temperatura (1-1,5°C) durante seis meses. Se clasificaron en función de su origen (españolas y extranjeras), del color de su piel y de su ploidía. A los seis meses de conservación, se analizaron los parámetros básicos de la calidad del fruto. Mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), se determinaron los azúcares individuales y ácidos orgánicos mayoritarios. Además, se analizaron los compuestos antioxidantes por espectrofotometría. Se observaron diferencias significativas entre genotipos y correlaciones significativas entre los parámetros estudiados. El Análisis de Componentes Principales (PCA) permitió explicar más del 84% de la variabilidad total observada. A los seis meses de conservación, se observó que, en general, las concentraciones de los ácidos orgánicos mayoritarios y compuestos fenólicos bajaban. Para cada compuesto analizado, las variedades respondieron a la conservación en frío de manera diferente. Destacaron algunas variedades triploides con presencia de ruseting por su mayor contenido en compuestos bioactivos: ‘Reineta Blanca Canadá’, ‘Bossost’ y ‘Reineta Gris’ aunque también mostraron mayores daños por frío (deshidratación y pardeamiento interno). Se demuestra la diversidad entre accesiones a nivel bioquímico y se remarca el interés de las variedades autóctonas como recursos fitogenéticos para futuros programas de mejora genética.

Palabras clave: Ácido málico, azúcares, fenoles, *Malus x domestica* Borkh, postcosecha

INTRODUCCIÓN

La manzana (*Malus x domestica* Borkh) tiene una gran importancia en el mercado gracias al hecho de que se encuentra disponible todo el año para su consumo. Con una producción en España de más de 617 mil toneladas en 2020, Aragón representó un 13,1% del total nacional, por detrás de Cataluña (48,4%) y Galicia (17%) (MAPAMA, 2022).

La manzana es una fuente de sustancias biológicas activas beneficiosas para la salud de los consumidores, como las pectinas, fibras, vitaminas, oligosacáridos, compuestos fenólicos o ácidos orgánicos (Lattanzio, 2013; Mignard et al., 2021; 2022). El contenido de los diferentes compuestos bioactivos varía considerablemente en función de las condiciones ambientales, prácticas de cultivo, fecha de maduración o de las condiciones de conservación en postcosecha (Alhaj Alali et al., 2020; Wu et al., 2012).

Las técnicas de postcosecha buscan reducir los niveles de pérdida de peso de la fruta una vez cosechada y mantener la calidad en su paso del campo a la mesa del consumidor. Este trabajo se centra en evaluar la calidad de la fruta y observar la evolución de diferentes

compuestos bioactivos, como pueden ser los antioxidantes, los azúcares individuales y los ácidos orgánicos mayoritarios. Por ello, evalúa dichos compuestos tras seis meses de almacenamiento en una cámara frigorífica a baja temperatura. La caracterización de dichos compuestos podría contribuir a conocer la adaptación de las variedades a su almacenamiento en postcosecha (Leja et al., 2003; Wu et al., 2012).

MATERIAL Y MÉTODOS

En 2020, se cosecharon 17 accesiones de manzano del Banco de Germoplasma de la Estación Experimental de Aula Dei-CSIC (Aragón, Zaragoza) (Tabla 1) para su posterior análisis, tras seis meses de conservación en cámara frigorífica comercial con nivel de humedad controlado y baja temperatura (1-1,5°C). Con los métodos ya descritos por Mignard et al. (2021 y 2022), se realizaron los análisis de parámetros básicos de calidad de fruto (sólidos solubles y acidez valorable), compuestos antioxidantes (fenoles totales, flavonoides y vitamina C) y capacidad antioxidante relativa (RAC) por espectrofotometría. También se cuantificaron los azúcares solubles individuales (glucosa, fructosa, sacarosa y sorbitol) y los ácidos orgánicos mayoritarios (ácido málico, tartárico, cítrico, succínico y shikímico) por HPLC.

Por otra parte, las mismas 17 variedades de manzano habían sido ya evaluadas durante cinco años consecutivos (2014-2018) en el momento de la cosecha, para los parámetros antes citados. Se calculó la media para los cinco años con el fin de poder comparar con los datos obtenidos después de 6 meses de conservación, en postcosecha.

Las diferencias observadas según los genotipos, se analizaron estadísticamente mediante lenguaje R (R Development Core Team, 2019) y también mediante el programa IBM SPSS Statistics 27. Se realizó un ANOVA de un solo factor para determinar la existencia de diferencias significativas entre accesiones. Además, se llevaron a cabo los análisis de correlación de Pearson y el de Componentes Principales (PCA) para estudiar la relación entre las distintas variables estudiadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las 17 accesiones estudiadas mostraron variabilidad fenotípica para todos los compuestos bioactivos evaluados (Tabla 1, Figura 1). Además, el análisis ANOVA mostró diferencias significativas ($P \leq 0.001$) entre accesiones (datos no mostrados). Los valores mínimos, máximos, medias y desviaciones estándares para cada variable se presentan en la Tabla 2. Dichos valores se encuentran dentro de los rangos publicados en otros estudios de manzano (Aprea et al., 2017; Lattanzio, 2013). Además, se encontraron varias correlaciones significativas y positivas (Tabla 3). Los compuestos antioxidantes estaban muy correlacionados entre ellos, como ya se había observado (Mignard et al., 2021). Asimismo, los valores de SSC y TA mostraron unas correlaciones significativas muy altas con los azúcares totales ($r=0.918$) y los ácidos orgánicos totales ($r=0.947$) respectivamente. Esto demuestra el interés en la utilización de estos parámetros como indicadores del dulzor y de la acidez de la fruta (Mignard et al., 2022).

La Tabla 4 presenta la susceptibilidad de las accesiones de este estudio a presentar daños por frío, tal y como el pardeamiento (manchas marrones en la piel o en la pulpa) o la deshidratación de los frutos (Figura 3) durante su conservación. Tras 6 meses de conservación, de las 17 accesiones estudiadas, nueve no mostraron ningún daño por frío aparente (Figura 4). De estas nueve accesiones aptas a la conservación, dos son españolas

(‘Reneta’ y ‘Solafuente’). Las otras siete extranjeras son conocidas en el mercado y/o muestran características similares entre ellas (‘Baujade’, ‘Cripps Pink’, ‘Delcon’, ‘Evasni – Scarlet Spur’, ‘Florina’, ‘Granny Smith’ y ‘Red Delicious’).

La Figura 1 representa las medias de los parámetros estudiados para las 17 accesiones de manzana en el momento de cosecha y a los 6 meses de almacenamiento en cámara frigorífica. Los flavonoides y la capacidad antioxidante relativa no mostraron un patrón general en su aumento o disminución sino que la evolución dependía más de la variedad estudiada. En el caso de los fenoles y con la excepción de la variedad ‘Evasni - Scarlet Spur’, los valores bajaron significativamente tras los seis meses de almacenamiento (Alhaj Alali et al., 2020). De manera general, los SSC tendían a aumentar ligeramente o a no mostrar diferencias entre la cosecha y la postcosecha. En cuanto a los azúcares individuales (sacarosa, glucosa, fructosa y sorbitol), los cambios observados en postcosecha fueron diversos. Así, los valores de la sacarosa tendían a bajar ligeramente mientras los de la fructosa o del sorbitol, en general, subían (datos no mostrados). Los valores de la glucosa aumentaban con mayor intensidad. Salvo para las accesiones ‘Averdal’, ‘Evasni’, ‘Reineta Blanca del Canadá’ y ‘Reineta Gris’, la suma de los azúcares individuales mostraba una disminución tras seis meses de conservación. Por otra parte, las variedades con russeting (‘Reineta Blanca del Canadá’ y ‘Reineta Gris’), visualmente, aparecían más deshidratadas que las demás. Esto podría explicar el incremento de compuestos bioactivos por concentración de los mismos, como consecuencia de la deshidratación (Tabla 4). La acidez valorable disminuyó ligeramente en postcosecha. Esta disminución fue más significativa para la suma de los ácidos orgánicos individuales. El cítrico, el tartárico, el succínico y el shikímico mostraron unos perfiles más irregulares según las accesiones, pero el málico, el ácido mayoritario en la manzana, disminuyó considerablemente (datos no mostrados).

En la Figura 2 se observa una distribución bidimensional de las 17 accesiones en función de las variables estudiadas, en postcosecha. Este análisis de componentes principales (PCA) explica más del 84% de la variabilidad total observada, aportando el eje principal 1 (PC1) un 63,8% y el eje principal 2 (PC2) un 20,5% de la variabilidad total. En el eje PC1, las variables que más contribuyeron a explicar dicha variabilidad fueron los fenoles (TPC) y los flavonoides (TFC) totales, la vitamina C (AsA), los azúcares totales y el contenido en sólidos solubles (SSC). Las accesiones ‘Bossost’, ‘Reineta Blanca del Canadá’ y ‘Reineta Gris’ (triploides y con presencia de russeting), destacaron por sus mayores contenidos en azúcares totales y antioxidantes, como ya se presentó con anterioridad (Mignard et al., 2022). En el eje PC2, las variables que más contribuyeron a explicar la variabilidad fueron la capacidad antioxidante relativa (RAC), los ácidos totales y la acidez valorable (TA), siendo las accesiones ‘Reineta Blanca del Canadá’, ‘Bossost’ y ‘Granny Smith’ las que mostraron mayores contenidos en ácidos orgánicos y acidez valorable y la ‘Reneta’ la que mostró la mayor capacidad antioxidante relativa.

Según el PCA se pueden destacar tres grupos: Las triploides con russeting, un grupo con tres accesiones españolas y una extranjera (‘Florina’) y finalmente, un grupo con las otras extranjeras y una española (‘Solafuente’). Fue este último grupo, el que presentó variedades con niveles bioquímicos más parecidos entre sí, donde también encontramos la mayoría de las accesiones aptas para su conservación.

Teniendo en cuenta que la calidad del fruto juega un papel importante en la aceptación por el consumidor, tanto por su influencia sobre el sabor como sobre las

características organolépticas del fruto, podemos concluir que las variedades con russetting se conservaron peor que las demás por deshidratación y presencia de pardeamiento interno en sus frutos (Tabla 4), aunque sus compuestos bioquímicos, en general, seguían más altos que las demás. En cambio, las variedades que menos cambios experimentaron a nivel bioquímico fueron las extranjeras ‘Baujade’ y ‘Cripps Pink’ (Figura 1). Por ello, dichas variedades podrían ser de gran utilidad para futuros programas de mejora en el desarrollo de variedades con menor susceptibilidad a perder calidad y a garantizar su apropiada comercialización tras su conservación en frío (Tabla 4).

CONCLUSIONES

La calidad del fruto (contenido en azúcares, ácidos orgánicos y antioxidantes) de las variedades estudiadas mostraron una gran diversidad, tanto en el momento de la cosecha como en postcosecha. Las variedades que mejor se conservaron fueron las variedades españolas ‘Reneta’ y ‘Solafuente’, y otras extranjeras, resultantes de procesos de selección por su calidad y adecuada comercialización como ‘Granny Smith’, ‘Red Delicious’ o ‘Cripps Pink’.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos PIE 201640E070 y RFP 2015-00019, cofinanciados por FEDER y el Gobierno de Aragón (A44, T07_17R y contrato predoctoral de P. Mignard).

BIBLIOGRAFÍA

- Alhaj Alali, F., Askari Sarcheshmeh, M. A., & Babalar, M. (2020). Effect of ammonium content in nutrition solution on vitamin C, phenols, and antioxidant capacity of three apple cultivars during cold storage. *DYSONA-Applied Science*, 1(2), 64-72. DOI: 10.30493/DAS.2020.230629.
- Aprea, E., Charles, M., Endrizzi, I., Corollaro, M. L., Betta, E., Biasioli, F., & Gasperi, F. (2017). Sweet taste in apple: the role of sorbitol, individual sugars, organic acids and volatile compounds. *Scientific Reports*, 7(1), 1-10. DOI: 10.1038/srep44950.
- Lattanzio, V. (2013). Phenolic Compounds: Introduction 50. DOI: 10.1007/978-3-642-22144-6_57.
- Leja, M., Mareczek, A., & Ben, J. (2003). Antioxidant properties of two apple cultivars during long-term storage. *Food Chemistry*, 80(3), 303-307. DOI: 10.1016/S0308-8146(02)00263-7.
- MAPAMA, 2022. <https://www.mapa.gob.es/es/> .
- Mignard, P., Beguería, S., Reig, G., Font i Forcada, C., and Moreno, M.Á. (2021). Genetic origin and climate determine fruit quality and antioxidant traits on apple (*Malus x domestica* Borkh). *Sci. Hortic.* 285, 110142. DOI: 10.1016/j.scienta.2021.110142.
- Mignard, P., Beguería, S., Giménez, R., Font i Forcada, C., Reig, G., & Moreno, M. Á. (2022). Effect of genetics and climate on apple sugars and organic acids profiles. *Agronomy*, 12(4), 827. DOI: 10.3390/agronomy12040827.
- R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL. <https://www.R-project.org/>.
- Wu, Z. S., Zhang, M., & Wang, S. (2012). Effects of high-pressure argon treatments on the quality of fresh-cut apples at cold storage. *Food control*, 23(1), 120-127. DOI: 10.1016/j.foodcont.2011.06.021.

TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Información de las 17 accesiones de manzana utilizadas en este estudio.

Accesión	Nº	Código AD	Clasificación	Color Piel	Ploidía
Averdal	1	882021	Extranjera	Roja	2
Baujade	2	923284 AD	Extranjera	Verde	2
Bossost - MRF 76	3	3627 AD	Española	Marrón	3
Cripps Pink	4	933540 AD	Extranjera	Bicolor	2
Cul de Cirio - MRF 39	5	3551 AD	Española	Bicolor	2
Delcon	6	2896 AD	Extranjera	Bicolor	2
Evasni - Scarlet Spur	7	933554	Extranjera	Bicolor	2
Florina	8	3633 AD	Extranjera	Bicolor	2
Golden Paradise	9	3739 AD	Extranjera	Amarilla	2
Granny Smith	10	2614 AD	Extranjera	Verde	2
Morro de Liebre	11	3256 AD	Española	Bicolor	2
Red Delicious	12	3085 AD	Extranjera	Bicolor	2
Red Elstar	13	882002	Extranjera	Bicolor	2
Reineta Blanca del Canadá	14	308 AD	Extranjera	Verde	3
Reineta Gris	15	2883 AD	Extranjera	Marrón	3
Reneta	16	3408 AD	Española	Bicolor	2
Solafuente	17	3559 AD	Española	Bicolor	3

AD, Estación Experimental de Aula Dei; EEUU, Estados Unidos; UK, Reino Unido.

Tabla 2. Estadísticas básicas de la calidad del fruto y de los compuestos bioactivos estudiados tras seis meses en cámara frigorífica.

Variable	Unidades	n	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
SSC	°Brix	17	9,83	24,23	15,85	3,92
TA	g ácido málico .L ⁻¹	17	2,22	10,07	5,18	2,51
TPC	mg GAE 100 g.FW ⁻¹	17	6,14	49,84	23,00	11,59
TFC	mg CE 100 g.FW ⁻¹	17	5,83	39,01	16,87	10,57
AsA	mg AsA 100 g.FW ⁻¹	17	0,53	3,54	1,46	0,81
RAC	mg Trolox 100 g.FW ⁻¹	17	5,57	19,46	13,40	4,70
Azúcares	g.kg ⁻¹	17	63,77	138,72	89,74	21,43
Ácidos	g.kg ⁻¹	17	1,519	7,759	3,403	1,88

SSC, sólidos solubles; TA, acidez valorable; TPC, fenoles totales; TFC, Flavonoides totales; AsA, ácido ascórbico; RAC, capacidad antioxidante relativa; Azúcares, suma de los azúcares individuales; Ácidos, suma de los ácidos orgánicos mayoritarios; GAE y CE, ácido gálico y catequina equivalentes.

Tabla 3. Correlaciones de Pearson para los diferentes parámetros evaluados en postcosecha para las 17 accesiones de manzana estudiadas.

	TPC	TFC	AsA	RAC	Azúcares	Ácidos
SSC	0,603*	0,549*	0,549*	ns	0,918**	0,528*
TA	ns	ns	0,576*	ns	0,494*	0,947**
TPC		0,960**	0,882**	0,793**	0,669**	0,530*
TFC			0,893**	0,731**	0,623**	0,525*
AsA				0,543*	0,596*	0,626**
RAC					ns	ns
Azúcares						0,637**

Estadísticamente significativo a *: $p \leq 0,05$ y **: $p \leq 0,01$; ns, no significativo.

Tabla 4. Susceptibilidad de las 17 accesiones de manzana estudiadas tras su conservación en frío.

Accesión	Estado General	Pardeamiento	Deshidratación	Conservación
Averdal	Malo	No	Escasa	No apta
Baujade	Bueno	No	No	Apta
Bossost - MRF 76	Malo	Si	Mucha	No apta
Cripps Pink	Bueno	No	No	Apta
Cul de Cirio - MRF 39	Bueno	Si	No	No apta
Delcon	Bueno	No	No	Apta
Evasni - Scarlet Spur	Bueno	No	No	Apta
Florina	Bueno	No	No	Apta
Golden Paradise	Bueno	Si	No	No apta
Granny Smith	Bueno	No	No	Apta
Morro de Liebre	Bueno	Si	No	No apta
Red Delicious	Bueno	No	No	Apta
Red Elstar	Malo	Si	No	No apta
Reineta Blanca del Canadá	Malo	Si	Mucha	No apta
Reineta Gris	Malo	Si	Mucha	No apta
Reneta	Bueno	No	No	Apta
Solafuente	Bueno	No	No	Apta

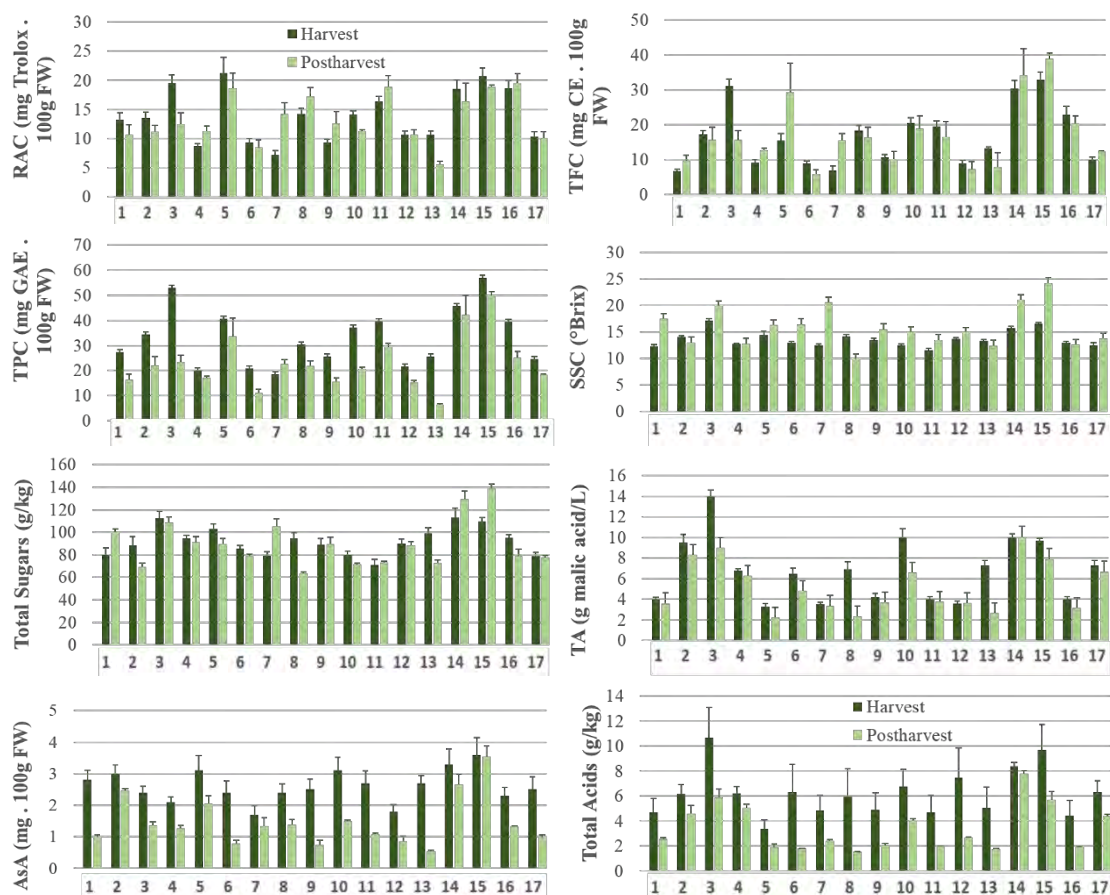


Figura 1. Medias y errores estándares de los parámetros estudiados para las 17 accesiones de manzana, en el momento de cosecha y tras 6 meses de almacenamiento en cámara frigorífica a 1-1,5°C.

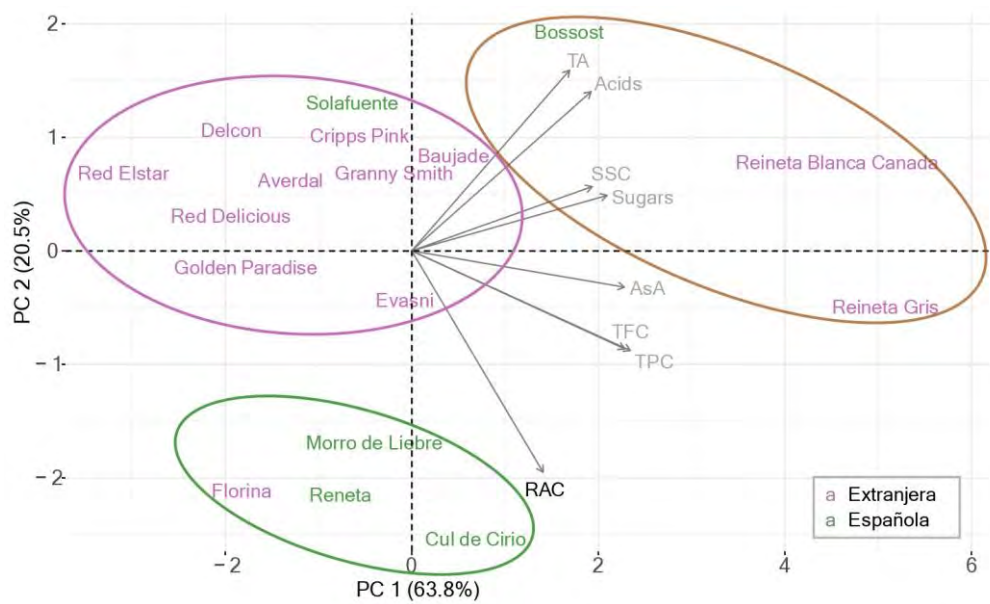


Figura 2. Análisis de componentes principales. Segregación de las 17 accesiones de manzano estudiadas.



Figura 3. Ejemplo de variedad no apta para la conservación: presencia de deshidratación y pardeamiento interno ('Reineta Gris').



Figura 4. Ejemplo de variedad apta para la conservación en frío ('Granny Smith').

Actividad respiratoria de tallos de borraja (*Borago officinalis* L.) mínimamente procesados.

D. Naval, J. González-Buesa y M.L. Salvador

Grupo de Investigación en Alimentos de Origen Vegetal, Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2-(Universidad de Zaragoza-CITA), Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. E-mail: mlsalva@unizar.es (M.L. Salvador)

Resumen

El objetivo de este trabajo fue determinar experimentalmente la actividad respiratoria, en sistema cerrado, de tallos de borraja mínimamente procesados utilizando un respirómetro portátil, de bajo coste, completamente configurable, flexible, basado en software de código abierto y diseñado por los autores. El dispositivo es modular de manera que los sensores están situados fuera de la cámara de respiración del producto, conectados por un circuito cerrado y permite la medida en continuo de la concentración de O₂ y de CO₂, así como de la presión diferencial. A partir de estas medidas se determinó la velocidad de respiración a 4 °C de los tallos de borraja en aire (20 mL CO₂ kg⁻¹h⁻¹ y 22 mL O₂ kg⁻¹h⁻¹) y su evolución con la concentración de O₂. Los resultados indican que un envase que reduzca la concentración de O₂ por debajo del 14 % es suficiente para ralentizar la actividad metabólica de los tallos de borraja al 35-38 % del valor inicial en aire. La concordancia entre el coeficiente respiratorio y la presión diferencial ofrece la posibilidad de utilizar esta medida como indicativa de cambios metabólicos.

Palabras clave: Arduino, coeficiente respiratorio, microcontrolador, respirómetro, velocidad de respiración.

INTRODUCCIÓN

La borraja, por su alto valor nutricional (Alcusón, Remón y Salvador, 2017) y tiempo que requiere su preparación, es un vegetal adecuado para comercializarse como mínimamente procesado, necesitando un envasado en atmósfera modificada. Para diseñar adecuadamente el envase de este producto es clave conocer su actividad respiratoria. La metodología para su determinación está experimentando cambios muy importantes. Aunque el método de sistema cerrado sigue siendo el más utilizado, existe un amplio abanico de opciones para la monitorización de la composición gaseosa de la cámara de respiración mediante sensores electroquímicos infrarrojos, ultrasónicos u ópticos. Estos sensores requieren de un microcontrolador que permita canalizar y controlar y registrar la información que nos proporcionan (González-Buesa y Salvador, 2019). En este trabajo se utilizó un respirómetro diseñado por los autores para minimizar los inconvenientes de los existentes, y con él se determinó la actividad respiratoria de tallos de borraja mínimamente procesados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

Se utilizó borraja (*Borago officinalis* L.) de flor blanca, cv Movera, cultivada en invernadero. Los tallos se cortaron en trozos de 5 cm mediante un cuchillo cerámico que se bañó en una disolución de ác. ascórbico al 2 % para reducir el pardeamiento enzimático. Se lavaron en agua fría a 4 °C con una disolución de hipoclorito sódico de 100 ppm durante 5 min, se aclararon y se centrifugaron manualmente. Los tallos (300 g) se introdujeron en la cámara de respiración para la medida de su actividad respiratoria a 4 °C. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

Respirómetro

El sistema está formado por una cámara de respiración conectada al módulo donde están ubicados los sensores mediante un sistema cerrado. En la Fig. 1 se muestra un esquema general del dispositivo. La cámara de respiración se compone de un frasco de vidrio hermético. Mediante una bomba de diafragma (Gardner Denver Thomas GmbH, 2002VD / 0.5 / E / DC, Puchheim, Alemania) y un microcontrolador de motor (Arduino motor shield rev3, Arduino SRL, Strambino, Italia) se bombea el gas de la cámara hacia el módulo de los sensores, de donde retorna de nuevo a la cámara de respiración.

En el módulo de los sensores dispone de un sensor de CO₂ que utiliza una tecnología de ondas infrarrojas no dispersiva (NDIR) (ABC Engine Engine BLG, Senseair AB, Delsbo, Suecia). Para la medida de la concentración de O₂ cuenta con un sensor de extinción de fluorescencia LuminOx (Flujo UV 25 %, CO2meter Inc., Florida, EE.UU). La medida de la presión diferencial se realiza mediante un sensor de presión bidireccional (AMS 5915-0100-D-B, Analog Microelectronics GmbH, Mainz, Alemania). La presión barométrica se mide con un sensor AMS 5915-1200-B (Analog Microelectronics GmbH, Mainz, Alemania). Todos los sensores y dispositivos se alimentan y se controlan directamente a través de un Arduino UNO (Arduino SRL, Strambino, Italia).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Previamente al cálculo de la tasa respiratoria, los valores de la concentración de CO₂ y de O₂ que suministran los sensores se corrigieron siguiendo las instrucciones de los fabricantes para tener en cuenta su dependencia con la presión. La velocidad de producción de CO₂, R_{CO_2} , y de consumo de O₂, R_{O_2} , se calcularon utilizando las siguientes expresiones (Fonseca, Oliveira y Brecht, 2002):

$$R_{CO_2} = \frac{1}{W} \frac{([CO_2]_{t_2} - [CO_2]_{t_1})}{t_2 - t_1} \frac{1}{100 \cdot V} \quad (1)$$

$$R_{O_2} = \frac{1}{W} \frac{([O_2]_{t_1} - [O_2]_{t_2})}{t_2 - t_1} \frac{1}{100 \cdot V} \quad (2)$$

donde, $[CO_2]_{t_2}$ y $[CO_2]_{t_1}$ son las concentraciones de dióxido de carbono (%) a los tiempos t_2 y t_1 (h), respectivamente; de forma análoga $[O_2]_{t_2}$ y $[O_2]_{t_1}$ las concentraciones de oxígeno (%) a esos mismos tiempos; W (kg) la masa de tallos de borraja y V (mL) el volumen libre de la cámara de respiración.

Las velocidades de respiración obtenidas como medias de las réplicas se muestran en la Fig. 2 en función de la concentración de O₂. En aire, la velocidad de respiración es de 20 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ y 22 mL O₂ kg⁻¹ h⁻¹. Estos valores son superiores a los de otros productos mínimamente procesados como judías verdes cortadas (15 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ a 5 °C), pero inferiores a los de la lechuga iceberg cortada (35 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ a 6 °C), (Deza-

Durand et al., 2011). Cuando la concentración de O₂ en el interior de la cámara de respiración se reduce, desde un 21 hasta un 14 %, se produce un rápido descenso de la velocidad de respiración hasta 7 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ y 8,5 mL O₂ kg⁻¹ h⁻¹.

El coeficiente respiratorio, *RQ*, se determinó como cociente entre la velocidad de producción de CO₂ y la de consumo de O₂. En la Fig. 3 se muestra su evolución y la de la presión diferencial. *RQ* es menor que 1 en prácticamente todo el intervalo de concentraciones de O₂. Este hecho es el responsable de que la presión diferencial tome valores negativos disminuyendo de forma lineal con la concentración de O₂. A concentraciones de oxígeno en torno al 1 %, *RQ* comienza a tomar valores mayores de 1 y simultáneamente la presión diferencial deja de disminuir, lo que podría indicar cambios metabólicos y la iniciación de rutas metabólicas.

CONCLUSIONES

Mediante un respirómetro novedoso, de bajo coste, modular, totalmente configurable, flexible y basado en software de código abierto, se ha determinado la actividad respiratoria de un producto poco estudiado como son los tallos borraja mínimamente procesados. Los resultados indican que velocidad de respiración de este producto se frena considerablemente a concentraciones de O₂ por debajo del 14 %. Los resultados muestran el potencial de la medida de la presión diferencial como indicador de cambios en el coeficiente respiratorio.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la Unión Europea a través del séptimo programa marco (FP7/2007-2013) (People Programme, Marie Curie Actions, REA grant agreement nº 332201).

REFERENCIAS

- Alcusón, G., Remón, S., Salvador, M.L. (2017). Quality related aspects of sous-vide processing of borage (*Borago officinalis* L.) stems. *LWT-Food Sci. Technol.* 85: 104-109.
- Deza-Durand, K.M., Petersen, M.A. (2011). The effect of cutting direction on aroma compounds and respiration rate of fresh-cut iceberg lettuce (*Lactuca sativa* L.)". *Postharvest Biol. Technol.* 61: 83-90.
- Fonseca, S.C., Oliveira, F.A.R. and Brecht, J.K. (2002). Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. *J. Food Eng.* 52: 99-119.
- González-Buesa, J. and Salvador, M.L. (2019). An Arduino-based low cost device for the measurement of the respiration rates of fruits and vegetables. *Comput. Electron. Agr.* 162: 14-20.

FIGURAS

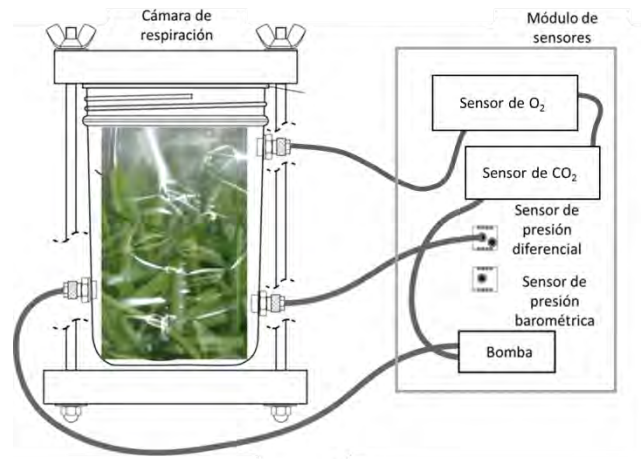


Fig. 1. Esquema del respirómetro.

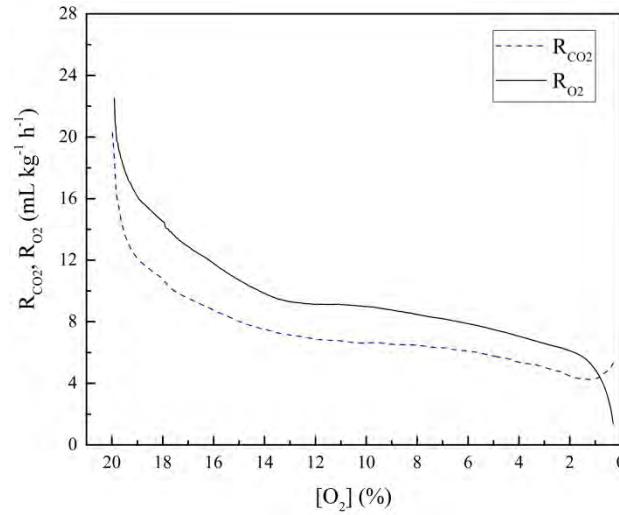


Fig. 2. Evolución de la velocidad de consumo de O₂, R_{O₂}, y de producción de CO₂, R_{CO₂}, con la concentración de oxígeno, [O₂].

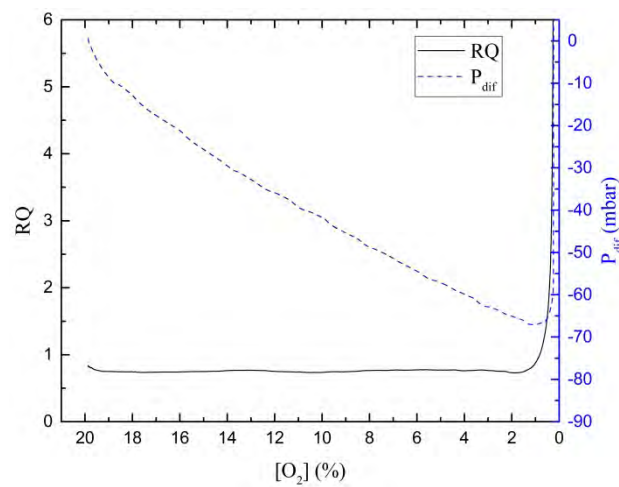


Fig. 3. Evolución del coeficiente respiratorio, RQ, y de la presión diferencial, P_{dif}, con la concentración de oxígeno, [O₂].

Análisis de los parámetros de calidad de arándanos procedentes de diferentes puntos de venta.

I. Romero, C. Marti-Anders, M. I. Escribano, C. Merodio, M. T. Sanchez-Ballesta*

Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN - CSIC), José Antonio Novais 10, 28040 Madrid, email: irene.romero@ictan.csic.es.

Resumen

El objetivo de este estudio ha sido evaluar las propiedades físicas y químicas que determinan la calidad de arándanos (*Vaccinium corymbosum* L.) procedentes de grandes superficies (5 muestras), fruterías de barrio (3 muestras) y de agricultura ecológica (2 muestras). Para establecer su calidad, se analizaron diferentes parámetros tales como: acidez titulable, sólidos solubles totales, pH, contenido total de fenoles y antocianos, así como la actividad antioxidante determinada por los métodos ABTS y FRAP. Las muestras presentaron diferencias en los parámetros individuales analizados, pero todas ellas tuvieron una buena calidad global en el punto de venta. Es importante destacar que no hubo diferencias entre las condiciones de cultivo (ecológicos vs intensivo) en cuanto a la actividad antioxidante y el contenido en compuestos fenólicos y antocianos.

Palabras clave: *Vaccinium corymbosum*, calidad, compuestos fenólicos, metabolitos, expresión génica.

INTRODUCCIÓN

Los arándanos (*Vaccinium corymbosum* L.) son frutos frescos blandos, que están ganando popularidad por sus propiedades farmacológicas y bioquímicas y, por tanto, su valor económico está aumentando (Tănase et al., 2016). Esta tendencia se ha traducido en un aumento del 52% de la producción mundial en los últimos cinco años (FAOSTAT, 2019). En el caso concreto de España, en los últimos 10 años se ha producido un gran incremento en la producción de arándanos, pasando de menos de 10.000 toneladas en 2009 a más de 50.000 en 2019 (FAOSTAT, 2019). Así, España es el quinto país en producción de arándanos, con un 7% del total. Actualmente, la mayor parte de la producción española se localiza en Huelva, liderando la producción de arándanos de Europa, seguida de Asturias, Cantabria y Galicia.

El creciente interés por los frutos rojos se debe a su popularización como "superalimento", debido a su elevada actividad antioxidante *in vitro* y a su abundancia en compuestos fenólicos como los flavonoides y los ácidos fenólicos. Se caracterizan por su alto contenido en vitamina C y, dentro de los compuestos fenólicos, entre los que se encuentran tanto flavonoides como no flavonoides, las antocianinas son las más abundantes con un 60% del total de fenoles en los arándanos maduros.

El objetivo principal de este trabajo ha sido analizar la calidad de arándanos recogidos en diez puntos de venta diferentes (grandes superficies y fruterías de barrio) para determinar si la calidad de los frutos depende del punto de venta, del cultivar (en aquellos en los que se ha podido identificar) y/o de las condiciones de cultivo (agricultura ecológica o intensiva). Para ello, el estudio se centró en evaluar los diferentes parámetros de calidad: sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT) y pH en el momento de

la adquisición, así como el contenido total de fenoles y antocianos y la determinación de la actividad antioxidante mediante dos métodos (ABTS y FRAP).

MATERIAL y MÉTODOS

Se recogieron muestras de arándanos (*Vaccinium corymbosum* L.) en diferentes puntos de venta situados en Madrid en mayo de 2021. Cinco de ellas se compraron en grandes superficies (Alcampo, Lidl, Aldi, Mercadona, and Día), otras tres en fruterías de barrio (Don Frutero de Andalucía, Bargaosa, Agra Das Mil Medas) y dos fueron de cultivo ecológico (Bio Aldi, and Bio Ventura). Es importante señalar que, como las muestras de arándanos se compraron en diferentes puntos de venta, en algunos de ellos los cultivares no estaban identificados en los envases, excepto en cinco de las muestras: cv. Ventura (Lidl, Bio Ventura y Día), cv. Snowchaser (Alcampo) y cv. Royal Blue Aroma (Mercadona). Los frutos de cada punto de venta se dividieron en tres lotes (réplicas biológicas).

Para determinar la acidez titulable, 10 g de arándanos homogeneizados se diluyeron con 40 mL de agua desionizada y se determinó por valoración con NaOH 0,1 N hasta un punto final de 8,2 con un titulador (862 Compact Titrosampler, Metrohm, España) y se expresó en % de ácido cítrico (v/p). Los sólidos solubles totales (SST) se determinaron mediante un refractómetro digital Mettler AT100 (Mettler, España). El pH se midió con el micropH 2000 (Crison, España) en el zumo obtenido de los arándanos homogeneizados. Todas las mediciones se realizaron tres veces.

Los fenoles totales y antocianos totales se determinaron por los métodos de Folin-Ciocalteu y de pH diferencial, respectivamente y se expresaron como mg equivalentes ácido gálico por 100 g de peso fresco ($\text{mg EAG} \cdot 100\text{g PF}^{-1}$) y como mg equivalentes malvidin-3-glucósido por 100 g de peso fresco ($\text{mg EM3G} \cdot 100\text{g PF}^{-1}$). La capacidad antioxidante se determinó mediante los métodos ABTS y FRAP (Romero et al., 2019) y se expresó como mM de equivalentes Trolox por gramo de peso fresco ($\text{mM ET} \cdot \text{g PF}^{-1}$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según Maas et al. (1991), el contenido global de ácidos de *V. corymbosum* es relativamente alto, con un rango de 0,5-1,5% de ácido cítrico. Por otro lado, los SST suelen presentar valores medios superiores a 10 °Brix. En el caso de las muestras analizadas en el presente trabajo, todos los valores estaban dentro de estos rangos, pero el contenido de SST y de AT fue diferente entre las muestras (Tabla 1). Mientras que en el caso del AT hubo cuatro grupos homogéneos, los valores de SST fueron más divergentes entre ellos. Así, los frutos de Mercadona, Aldi y Bio Ventura mostraron los valores de AT más bajos. Asimismo, estas tres muestras coincidieron en tener los niveles más altos de SST, lo que se tradujo en un valor más elevado del índice de maduración (SST/AT). En cuanto al pH, los valores oscilaron entre 3,07 y 3,55, teniendo los valores más altos Aldi, Mercadona, Bio Aldi y Bio Ventura, mientras que los más bajos correspondieron a Día y Agra Das Mil Medas. Saftner et al. (2008) encontraron que el valor del pH de los extractos de arándanos presentaba una alta correlación con la intensidad del sabor ($r = 0,56$), la aceptabilidad del sabor ($r = 0,51$) y la calidad general del consumo ($r = 0,48$), así como una relación inversa con la AT ($r = -0,76$).

De acuerdo con Beaudry (1992), los arándanos deben contener más del 10% de SST, valores de AT entre 0,3 y 1,3% de ácido cítrico, un pH entre 2,25 y 4,25, para

presentar una buena calidad en el punto de venta. En general, los valores de las muestras analizadas en el presente trabajo se encontraron dentro de estos rangos.

El contenido fenólico total (CFT) osciló entre 131,00 y 249,71 mg EAG/100 g PF (Tabla 2), siendo las muestras de Don Frutero de Andalucía las que presentaron los mayores valores, seguidas de las muestras de Mercadona y Aldi. Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre el resto. Por el contrario, para el contenido de antocianos totales (CAT) no se observó esta tendencia. Así, los valores más altos se alcanzaron en las muestras de Aldi y Día, mientras que los frutos de Lidl presentaron los valores más bajos. Al igual que se observó para el CFT, no hubo diferencias significativas en el contenido de antocianos entre el resto de muestras. Según Rodrigues et al. (2011), los valores medios de fenoles totales para las bayas de *V. corymbosum* (cv. Bluecrop) fueron de 274,48 mg EAG/100 g PF, mientras que Prior et al. (1998) reportaron valores de 189,90 mg EAG/100 g PF. Aunque los niveles obtenidos en el presente trabajo se encuentran entre los reportados previamente, no se pueden comparar con datos bibliográficos ya que hay diferentes parámetros que afectan al contenido de estos compuestos tales como el cultivar, los tratamientos postcosecha, las condiciones climáticas de los cultivos, entre otros (Tănase et al., 2016), dando lugar una gran variación en el CFT y CAT.

La actividad antioxidante determinada por el método ABTS (Tabla 2) mostró una gran variación, oscilando entre 8,33 y 20,48 mM ET·g PF⁻¹, que corresponde a las muestras de Lidl y Mercadona, respectivamente. Asimismo, entre el resto de las muestras no hubo mucha variación, existiendo sólo diferencias significativas entre los valores más altos (Mercadona y Don Frutero de Andalucía) y el más bajo (Lidl). Respecto a los resultados del método FRAP, también hubo un amplio rango, de 6,55 a 13,69 mM ET·g PF⁻¹, correspondientes a los frutos de Agra Das Mil Medas y Don Frutero de Andalucía, respectivamente. Sin embargo, los valores de las distintas muestras presentaron subgrupos más definidos ya que todos ellos mostraron diferencias significativas a excepción de los procedentes de Bio Aldi, Bio Ventura y Barga. En general, los valores de actividad antioxidante obtenidos en este estudio son similares a los reportados por Rodrigues et al. (2011).

Es importante señalar que las muestras de agricultura ecológica presentaron valores similares de actividad antioxidante. Además, las muestras que pertenecen al mismo cultivar (cv. Ventura) no mostraron diferencias significativas en la actividad antioxidante determinada por el método ABTS. Sin embargo, cuando se utilizó el método FRAP, dentro del cultivar Ventura, los frutos de Lidl mostraron los valores más bajos seguidos por las muestras de Bio Ventura y Día.

Los resultados indicaron una correlación positiva entre el contenido de fenoles y la actividad antioxidante (ABTS; $r = 0,631$, FRAP; $r = 0,860$), así como entre los métodos ABTS y FRAP ($r = 0,529$, $p < 0,01$). En general, según los trabajos de Dudonné et al. (2009) y Bunea et al. (2011), existe una buena correlación entre los métodos ABTS y FRAP, así como entre la actividad antioxidante y el contenido fenólico. En nuestro caso, no se encontró correlación entre el contenido de antocianos totales y la actividad antioxidante determinada por el método ABTS, pero sí con los resultados obtenidos con el método FRAP ($r = 0,633$, $p < 0,01$).

CONCLUSIONES

El conjunto de resultados mostró que las diferentes muestras analizadas provenientes de distintos puntos de venta presentaban parámetros de calidad dentro de

los rangos considerados como óptimos según diferentes trabajos presentes en la bibliografía, aunque los parámetros individuales diferían entre las muestras. Asimismo, cabe destacar que no se observaron diferencias entre los cultivos de agricultura ecológica e intensiva en cuanto al contenido fenólico total, el contenido total de antocianos y la actividad antioxidante. Por otro lado, las tres muestras del cultivar Ventura presentaron diferencias en función del punto de venta, lo que sugiere que el cultivar no es el único factor que afecta a la calidad de las bayas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado con el proyecto PID2020-113965RB-I00/AEI/10.13039/501100011033.

BIBLIOGRAFÍA

- Beaudry, R. (1992). Blueberry quality characteristics and how they can be optimized. Annual Report of the Michigan State Horticultural Society (122nd), 140-145.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). FAOSTAT Statistical Database, Statistical Division. Rome (2019).
- Maas, J. L., Galletta, G. J., and Stoner, G. D. (1991). Ellagic acid, and anticarcinogen in fruits, especially in strawberries: a review. HortScience 26: 10-14.
- Prior, R. L., Cao, G., Martin, A., Sofic, E., McEwen, J., O'Brien, C., and Mainland, C. M. (1998). Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. J. Agric. Food Chem. 46: 2686-2693.
- Rodrigues, E., Poerner, N., Rockenbach, I. I., Gonzaga, L. V., Mendes, C. R., and Fett, R. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activity of blueberry cultivars grown in Brazil. Food Sci. Technol. 31: 911-917.
- Romero, I., Domínguez, I., Doménech-Carbó, A., Gavara, R., Escribano, M.I., Merodio, C., Sanchez-Ballesta, M.T., 2019. Effect of high levels of CO₂ on the electrochemical behavior and the enzymatic and non-enzymatic antioxidant systems in black and white table grapes stored at 0 °C. J. Sci. Food Agric. 99: 6859–6867.
- Tănase, E., Popa, V., Popa E., Geicu-Cristea, M., Popescu, P., Drăghici, M., and Mitelut, A. (2016). Identification of the most relevant quality parameters for berries—A review. Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies 20: 222-233.

Tabla 1. Acidez titulable (AT), sólidos solubles totales (SST), índice de maduración (SST/AT) y pH de arándanos (*V. corymbosum* L.) obtenidos de diferentes puntos de venta.

Muestras	SST (°Brix)	AT (% ácido cítrico)	SST/AT	pH
Agra Das Mil Medas	9,93±0,06 ^{ab}	1,16±0,04 ^{bc}	8,54	3,20±0,02 ^{ab}
Alcampo	10,10±0,30 ^b	1,12±0,01 ^b	9,06	3,36±0,09 ^{bcd}
Aldi	11,67±0,25 ^d	0,77±0,08 ^a	15,15	3,55±0,09 ^f
Bargosa	10,33±0,21 ^b	1,10±0,09 ^b	9,42	3,32±0,07 ^{bc}
BioAldi	11,03±0,23 ^c	1,03±0,06 ^b	10,71	3,52±0,05 ^{def}
BioVentura	11,57±0,23 ^{cd}	0,69±0,07 ^a	16,84	3,39±0,07 ^{cdef}
Día	11,27±0,21 ^{cd}	1,32±0,02 ^c	8,54	3,07±0,03 ^a
Don				
Frutero de Andalucía	11,77±0,32 ^d	1,03±0,12 ^b	11,46	3,37±0,07 ^{bcd}
Lidl	9,53±0,12 ^a	1,30±0,06 ^c	7,35	3,35±0,09 ^{bcd}
Mercadona	12,50±0,10 ^e	0,66±0,02 ^a	19,04	3,54±0,03 ^{ef}

Las letras diferentes en las filas indican diferencias significativas según la prueba Tukey-b ($p < 0,05$)

Tabla 2. Contenido de fenoles totales (CFT), contenido de antocianos totales (CAT) y capacidad antioxidante medida por dos métodos ABTS y FRAP de arándanos (*V. corymbosum* L.) obtenidos de diferentes puntos de venta.

Muestras	CFT (mg EAG·100g PF ⁻¹)	CAT (mg EM3G·100g PF ⁻¹)	ABTS (mMET·g PF ⁻¹)	FRAP (mMET·g PF ⁻¹)
Agra Das Mil Medas	137,00±10,21 ^a	65,49±4,91 ^b	10,33±1,78 ^{ab}	6,55±0,36 ^a
Alcampo	159,35±9,57 ^a	68,53±4,68 ^b	10,83±0,72 ^{ab}	12,12±0,29 ^d
Aldi	200,53±5,20 ^b	84,60±4,36 ^c	10,40±0,68 ^{ab}	13,55±0,29 ^e
Bargosa	142,98±11,32 ^a	62,07±4,67 ^b	12,19±1,76 ^{bc}	8,93±0,00 ^b
BioAldi	155,24±9,52 ^a	60,75±4,31 ^b	8,68±0,49 ^{ab}	8,55±0,41 ^b
BioVentura	150,24±3,13 ^a	59,05±2,73 ^b	11,33±1,78 ^{ab}	8,50±0,33 ^b
Día	163,18±7,40 ^a	86,06±3,11 ^c	8,83±0,59 ^{ab}	10,93±0,11 ^c
Don Frutero de Andalucía	249,71±15,53 ^c	70,37±6,46 ^b	14,76±1,96 ^c	13,69±0,60 ^e
Lidl	131,00±16,39 ^a	42,21±4,26 ^a	8,33±0,59 ^a	7,17±0,52 ^a
Mercadona	204,25±18,64 ^b	64,23±4,72 ^b	20,48±1,79 ^d	12,83±0,74 ^{de}

Las letras diferentes en las filas indican diferencias significativas según la prueba Tukey-b ($p < 0,05$)

Tratamiento postcosecha con aceite esencial de tomillo en uva ‘Crimson’

Fernández-León, A.M.^{1,2}, Laranjo, M.¹, Potes, M.E.^{1,3}, Agulheiro-Santos, A.C.^{1,4}, Fernández-León, M.F.⁵, Elias, M.^{1,4}

¹MED-Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development, IIFA-Instituto de Investigação e Formação Avançada, Universidade de Évora, Portugal.

²Área de Fruticultura Mediterránea, Instituto de Investigaciones Agrarias Finca La Orden - Valdesequera, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, Guadajira (Badajoz), España.

³Departamento de Medicina Veterinária, Escola de Ciências e Tecnologia, Universidade de Évora, Portugal.

⁴Departamento de Fitotecnia, Escola de Ciências e Tecnologia, Universidade de Évora, Portugal.

⁵Departamento de Farmacia Galénica y Tecnología Alimentaria, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, España.

Email: mariafef@ucm.es

Resumen

Para prolongar la vida útil de la fruta después de recolección, es preciso la aplicación de tratamientos postcosecha que consisten en el uso de técnicas de barrera donde se combina temperatura y humedad, y en algunas ocasiones la unión de otros conservantes químicos, con el inconveniente que se ha asociado al uso de estos productos, con intoxicaciones, alergias y otras enfermedades. Por esta causa, y porque los consumidores cada vez demandan productos más naturales, se deben buscar alternativas de conservación. Las plantas aromáticas han sido usadas como conservantes desde hace mucho tiempo, pudiendo extraerse de ellas aceites esenciales, que tienen efectos sobre el crecimiento microbiano, que es la principal causa de deterioro de los alimentos. El objetivo de este trabajo fue el estudio de la acción del aceite esencial de tomillo sobre la calidad físico-química, visual y microbiológica de la uva de mesa ‘Crimson’. Se realizaron dos tratamientos: Control y Tomillo, conservándose en refrigeración ($2^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y 90% HR), realizándose seguimientos a los 7, 14, 21, 28 y 35 días. En cada fecha se evaluó acidez, sólidos solubles totales, firmeza, pérdida de peso, deshidratación del raspón y evolución de la microbiología (mesófilos aerobios, psicrotrofos, mohos y levaduras). El tratamiento con aceite esencial de tomillo mostró mejores resultados, debido a que presentó menores pérdidas de firmeza, pérdidas de peso, mantuvo el color verde del raspón y el recuento microbiológico fue más estable que en las muestras control.

Palabras clave: plantas aromáticas, calidad, conservación

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe un mayor consumo de frutas y hortalizas, debido a la preocupación por una dieta equilibrada, así como el gran interés por parte de los consumidores de comprar y consumir productos más frescos. Para prolongar la vida útil se necesita el uso de técnicas de barrera donde se combina temperatura y humedad, junto con conservantes, siendo los más utilizados los conservantes químicos, benzoatos, nitritos y nitratos, anhídrido sulfuroso (SO₂), con el inconveniente que se ha asociado el uso de estos productos con intoxicaciones, alergias y otras enfermedades degenerativas (Rodríguez Saucedo, 2011). Por esta causa, y porque los consumidores cada vez demandan productos más naturales, se deben buscar alternativas de conservación, como por ejemplo los aceites esenciales que tienen alta capacidad antioxidante y antimicrobiana (Campos et al., 2016).

Las plantas aromáticas han sido usadas como conservantes desde hace mucho tiempo, pudiendo extraerse de ellas aceites esenciales, que tienen efectos sobre el crecimiento microbiano (Laranjo et al., 2019), que es la principal causa de deterioro de los alimentos.

Una de las frutas más consumidas es la uva, siendo el cultivar ‘Crimson’ uno de los cultivares de uva de mesa más producido en todo el mundo, porque ha despertado gran interés en los consumidores, al no tener semillas. La uva es una fruta muy perecedera, en condiciones ambientales, su conservación es muy limitada, por eso es tan importante hacer tratamientos postcosecha, para prolongar la vida y mantener sus características sensoriales y físico-químicas.

El objetivo de este trabajo fue el estudio de la evolución de la acidez, sólidos solubles totales, firmeza, % pérdida de peso, deshidratación del raspón y evolución de la microbiología (mesófilos aerobios, psicrotrofos, mohos y levaduras), en uvas en atmosfera tratada con aceite esencial de tomillo comparado con un tratamiento control.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal y diseño experimental

El material vegetal, uva (*Vitis vinífera* (Lindl.) cultivar ‘Crimson’ fue producido por la empresa “Herdade Vale da Rosa”, en Beja (Portugal). Los racimos se recolectaron en su madurez comercial y se metieron en cajas de plástico, a las que se colocó en la tapa una gasa impregnada de una concentración de 1:10 del aceite esencial de estudio, tomillo (*Thymus vulgaris*), creándose un atmósfera enriquecida en este aceite.

Se realizaron dos tratamientos: control (C) y tomillo (T), conservándose en refrigeración (2°C ±1°C y 90% HR) hasta los 35 días, siguiendo su evolución a los 7, 14, 21, 28 y 35 días.

Métodos de análisis

La **Acidez Titulable** (AT) se determinó con un valorador automático Crison Compact Tritrador, mediante valoración hasta pH 8,1, empleándose una disolución 0,1 N de NaOH, expresándose los resultados en porcentaje de ácido málico de peso fresco (pf). Los **Sólidos Solubles Totales** (SST) se midieron con un refractómetro digital portátil Atago, expresándose los resultados en °Brix. La **firmeza** se determinó con un texturómetro TA.HD.Plus, por penetración con sonda de 2 mm de diámetro, expresándose los resultados

en Newton (N). **% Pérdida de peso** que se determinó, pesando los racimos a día 0 y en cada fecha de salida de cámara en una balanza digital PB1502 (Mettler Toledo). La deshidratación del raspón se evaluó visualmente. Los **análisis microbiológicos** se hicieron acorde a la ISO 4833:1991, ISO 7954:1988 e ISO 7402:1993 y los resultados expresados en log UFC/g. Se estudió mesófilos aerobios, psicrotrofos, mohos y levaduras. Todos los análisis realizados fueron realizados n=6.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los valores obtenidos para la AT y los SST. La AT a lo largo del estudio fue disminuyendo significativamente, siendo mayor este descenso en las muestras Control que en las muestras en la atmósfera de Tomillo. Los SST aumentaron durante el estudio siendo los valores mayores en las muestras Control que las de Tomillo. Que sean superiores los valores tanto de AT como de SST en las muestras Control fue debido a que evolucionaron más rápido hacia la madurez que las de Tomillo.

La firmeza (Fig. 1) descendió en los dos tratamientos pero fue mucho más acusada en las muestras Control, cuyos valores obtenidos a los 7 días se mantuvieron sin diferencias significativas hasta el final del ensayo, mientras que las muestras Tomillo la firmeza también fue disminuyendo a lo largo del estudio pero fue más progresiva su pérdida, incluso presentando mejores resultado a los 35 días que el Control.

El tratamiento que mayor porcentaje de pérdida de peso presentó (Fig. 2) al final del ensayo fue el Control, siendo de entorno al 3 % las pérdidas, mientras que el tratamiento con Tomillo fue el que tuvo menores pérdidas de peso con un 2%. La mayor pérdida de peso en Control se produjo a los 7 días del ensayo, manteniéndose esta pérdida a lo largo de todo el estudio y en Tomillo como ha sucedido en los anteriores parámetros fueron las pérdidas de forma más progresivas a lo largo del ensayo. La deshidratación del raspón se produjo progresivamente a lo largo del ensayo siendo mucho más evidente en las muestras Control que las muestras Tomillo, llegando a día 35 estas últimas con el raspón mucho menos deshidratado y manteniendo el color verde aunque no tan intenso como al inicio del ensayo.

El tratamiento que mejores resultados microbiológicos (Fig. 3) se obtuvieron fue el de Tomillo a lo largo de todo el ensayo resultados que concuerdan con lo dicho por otros autores (Geransayeh et al., 2012). Decir también que los recuentos a día 7 fueron inferiores que a día 0, para mesófilos totales, psicrotrofos totales, mohos y levaduras, 1,65, 2,03, 2,04 y 2,26 log UFC/g y para los días 14 y 21 iguales o inferiores.

CONCLUSIONES

Con todos los resultados obtenidos, se puede decir que el aceite esencial de tomillo mantuvo las características físico-químicas y microbiológicas mejor que el tratamiento Control a lo largo de todos los días de estudio del ensayo, así como que el aceite esencial de tomillo tiene efecto bacterioestático y fungiestático, así como bactericida y fungicida, a la concentración estudiada, por lo que sería una buena alternativa a los conservantes químicos.

AGRADECIMIENTOS

A “Herdade Vale da Rosa” por el suministro de las muestras. Este trabajo fue financiado por la FCT-Fundação para a Ciência e a Tecnologia under Project UID/AGR/00115/2013.

REFERENCIAS

- Campos, T., Barreto, S., Queirós, R., Ricardo-Rodrigues, S., Félix, M. R., Laranjo, M., Rato, A. E., Agulheiro-Santos, A. C. (2016) “Conservação de morangos com utilização de óleos essenciais” AGROTEC 18, 90-96.
- Geransayeh, M., Mostofi, Y., Vbdossi, V. and Ali Nejatian M.. (2012). Use of *Thymus vulgaris* essential oil to improve the safety and shelf-life of Iranian table Grape. J. Essent. Oil Bear. Pl. DOI: 10.1080/0972060X.2012.10644032
- Laranjo, M., Fernández-León, A.M., Agulheiro-Santos, A. C., Potes, M.E., Elias, M. (2019). Essential oils of aromatic and medicinal plants play a role in food safety. J. Food Process Preserv. 2019;00:e14278. DOI: 10.1111/jfpp.14278
- Rodríguez Saucedo, E.N. 2001. Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. Ra Ximhai 7, 153-170.

Tabla 1. Evolución de la AT y los SST a lo largo del ensayo.

Días Muestreo	AT Control	AT Tomillo	SST Control	SST Tomillo
0	0,42±0,04a	0,42±0,01a	18,45±0,30a	18,45±0,30a
7	0,45±0,03a	0,40±0,01ab	19,43±0,65ab	19,65±0,75b
14	0,39±0,03ab	0,39±0,02 ab	21,07±0,71cd	19,68±0,52b
21	0,35±0,04bc	0,39±0,01 ab	20,18±0,84bc	19,92±0,47b
28	0,32±0,04c	0,39±0,01 ab	20,22±0,20bc	20,00±0,02bc
35	0,32±0,02c	0,38±0,02 ab	21,58±0,37d	20,80±0,35c

Medias ± DS. Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas entre cosechas ($p < 0,05$ según el test de Tukey HSD).

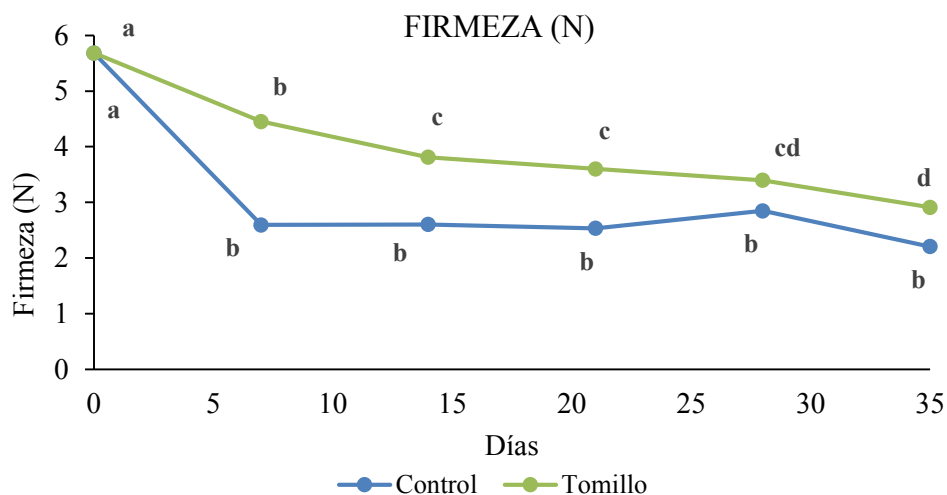


Fig. 1. Evolución de la firmeza a lo largo del ensayo. Para cada variable, datos marcados con letras diferentes implican diferencias significativas entre fechas ($p < 0,05$ según el test de Tukey HSD).

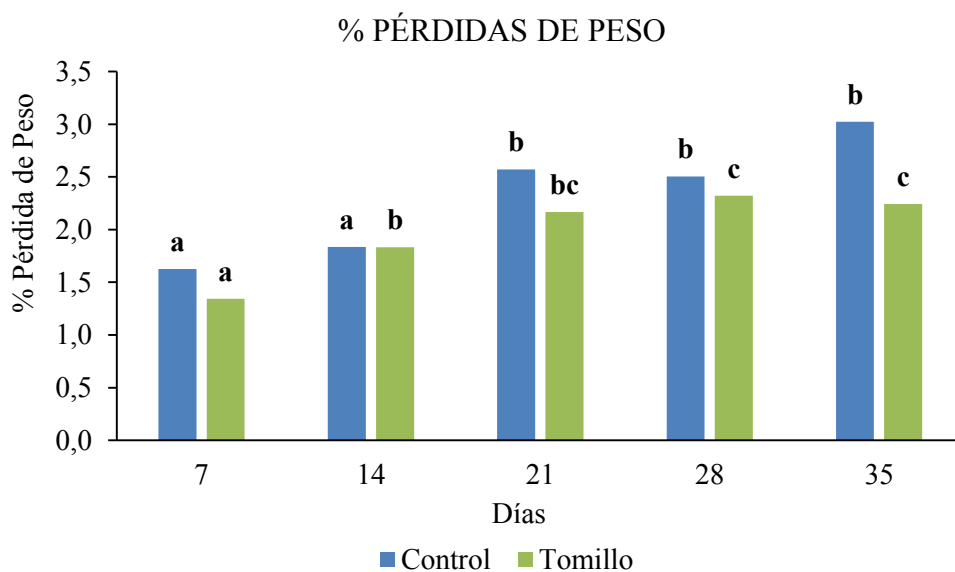


Fig. 2. Evolución del % pérdidas de peso a lo largo del ensayo. Para cada variable, datos marcados con letras diferentes implican diferencias significativas entre fechas ($p < 0,05$ según el test de Tukey HSD).

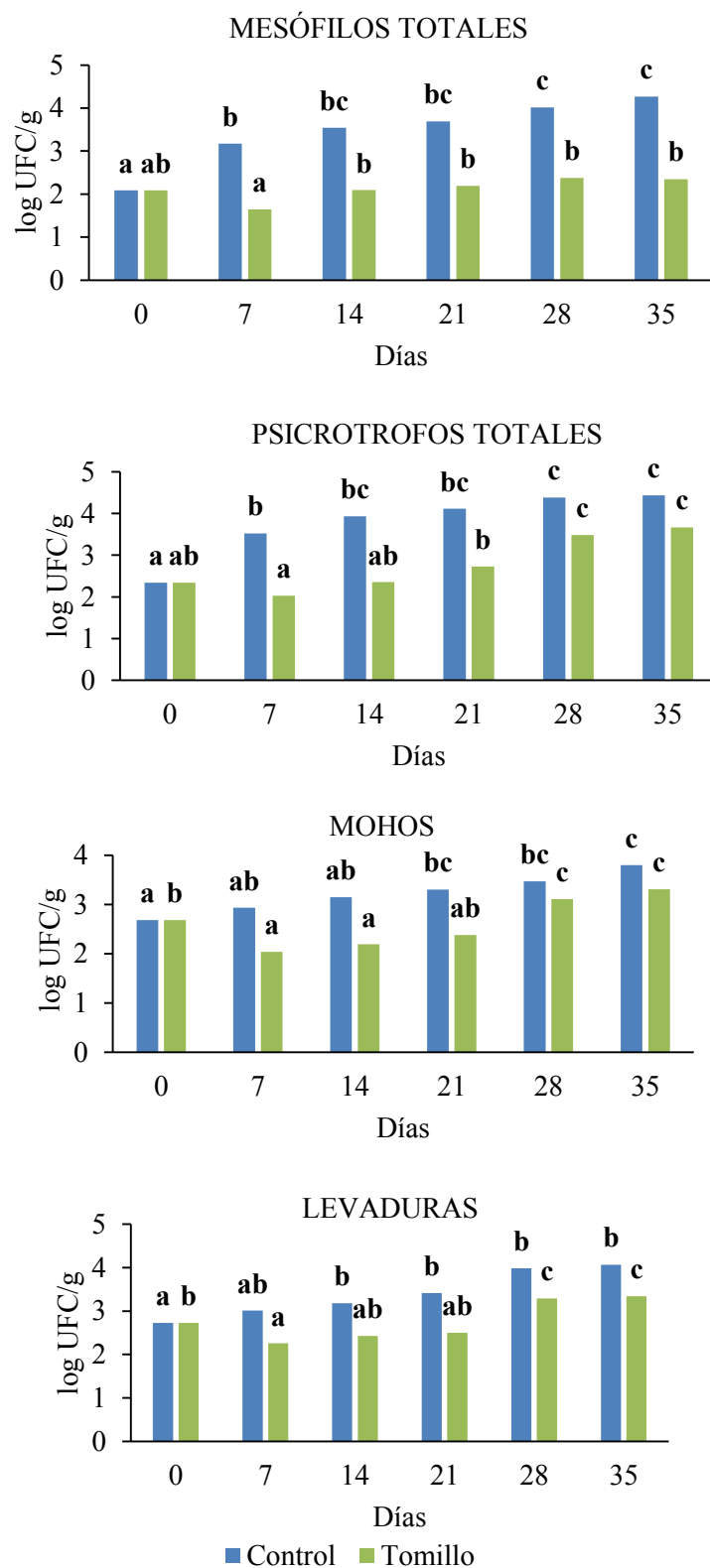


Fig. 3. Evolución del recuento microbiológico de los diferentes tratamientos. Para cada variable, datos marcados con letras diferentes implican diferencias significativas entre fechas ($p < 0,05$ según el test de Tukey HSD).

Calidad organoléptica y nutricional de la borraja (*Borago officinalis* L.) mínimamente procesada y envasada con film biodegradable.

R. Vela, J. González-Buesa y M.L. Salvador

Grupo de Investigación en Alimentos de Origen Vegetal, Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2-(Universidad de Zaragoza-CITA), Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. E-mail: mlsalva@unizar.es (M.L. Salvador)

Resumen

Para mantener la calidad de tallos de borraja mínimamente procesados fue necesario aplicar un tratamiento higienizante, un tratamiento antipardeamiento, un envasado en atmósfera modificada y la conservación en refrigeración (4 °C). Motivado por la necesidad de reducir el uso de plásticos derivados del petróleo, el objetivo de este estudio fue evaluar la calidad organoléptica y nutricional de los tallos de borraja envasados en bolsas biodegradables de ácido poliláctico (PLA), y compararla con la del producto envasado con polipropileno (PP); utilizando como control el producto envasado en PP macroporoso. Debido a la alta permeabilidad al agua del PLA los tallos envasados en este material llegan a perder hasta un 5.7 % de su peso a los 21 días. Durante la conservación, luminosidad e intensidad de la tonalidad verde característica disminuyen, sin embargo no hay diferencias significativas ($P>0.05$) entre envases hasta el día 18, que comienzan a ser más marcados los cambios en los tallos envasados en PLA. No se encontraron diferencias en la textura de las borrajas envasadas en PP y PLA, pero las muestras control presentaron una menor resistencia a la flexión indicando que la composición gaseosa en el interior del envase influye en la textura. La capacidad antioxidante y el contenido en fenoles totales del producto envasado en PP no sufre cambios significativos durante los 21 días de conservación; sin embargo, el producto envasado en PLA reduce a la mitad su capacidad antioxidante entre los días 11 y 14 y pierde hasta el 70 % de los compuestos fenólicos al final del periodo de conservación.

Palabras clave: capacidad antioxidante, color, fenoles, PLA, textura.

INTRODUCCIÓN

Los tallos de borraja mínimamente procesados envasados en atmósfera modificada y conservados en refrigeración es una alternativa a las existentes en el mercado acorde con la tendencia por parte de los consumidores de adquirir productos listos para el ser consumidos o cocinados (Alcúzar et al., 2017). Para el envasado de este tipo de productos se ha utilizado hasta la actualidad, fundamentalmente, plásticos derivados del petróleo. Estos materiales no son biodegradables y suponen un gran problema medioambiental global, por lo que existe un interés creciente en sustituirlos por envases bio-basados. Sin embargo, el uso de materiales bio-basados está limitado por las pobres propiedades barrera y débiles propiedades mecánicas que presentan (Khalil et al., 2018). Ello implica que hay que analizar cada producto en concreto para determinar cómo se ve afectada la calidad del mismo si se utilizan envases bio-basados.

El ácido poliláctico (PLA) es un material bio-basado y biodegradable, de precio económico, con buenas propiedades mecánicas y moderadas permeabilidades al oxígeno y al vapor de agua en comparación con otros materiales bio-basados (Almenar y Auras,

2010), que ya ha sido evaluado con otros productos (González-Buesa et al., 2014), pero su idoneidad para el envasado de borraja mínimamente procesada todavía no se ha evaluado. El objetivo de este trabajo fue comparar el efecto del material de envasado en la calidad de tallos de borraja mínimamente procesados, para ello se ha utilizado un material bio-basado (PLA) y otro derivado del petróleo (PP).

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

Se utilizó borraja (*Borago officinalis* L.) de flor blanca, cv Movera, cultivada en invernadero. Los tallos se cortaron en trozos de 5 cm mediante un cuchillo cerámico que se bañó en una disolución de ácido ascórbico al 2 % para reducir el pardeamiento enzimático. Se lavaron en agua fría a 4 °C con una disolución de hipoclorito sódico de 100 ppm durante 5 min, se aclararon y se centrifugaron manualmente. Posteriormente se envasaron (150 g) en bolsas de PLA y de PP de 40 µm de espesor, de 20x15 cm, y se conservaron en refrigeración a 4 °C. Como control se utilizaron bolsas de PP macroperforadas. La calidad del producto se analizó los días 0, 4, 7, 11, 14, 18 y 21. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Metodología analítica

La medida del color se realizó por análisis digital de imágenes adquiridas con un escáner (CanonScan Lide 210) utilizando el software ADImag .

La textura se analizó mediante test de pandeo con un texturómetro (TA.XTplus, Stable Micro Systems), con una célula de carga de 5 kg a 2 mm s⁻¹ hasta ruptura. A partir de estos datos se obtuvo la resistencia a la flexión, como el producto de la fuerza, a 5 mm de desplazamiento de la sonda, por la longitud de separación entre los puntos de apoyo del tallo en la sonda, referido al área de un tallo de sección circular que tuviese la misma área que el tallo analizado.

El contenido en humedad se determinó por pérdida de peso tras secado en estufa de convección a 105 °C. La capacidad antioxidante se determinó haciendo reaccionar los distintos compuestos antioxidantes presentes en la muestra con DPPH. Para cuantificar el contenido en compuestos fenólicos se partió del mismo extracto que en la determinación de la capacidad antioxidante y se siguió el método de Folin-Ciocalteu.

La evolución de la composición gaseosa en el interior de los envases (O₂ y CO₂), se midió con un analizador de gas (Dansensor CheckMate 3).

Los datos se presentan como valores medios ±desviación estándar. Con el fin de comparar las medias se realizó un test de varianza ANOVA acompañado de un test de Tukey, considerándose que las diferencias son significativas si P<0.05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Debido a la menor permeabilidad al O₂ del PLA (310 mL m⁻² d⁻¹ atm⁻¹, a 23 °C, 85% HR) en comparación con el PP (1100 mL m⁻² d⁻¹ atm⁻¹, a 23 °C, 0% HR), en los envases de PLA los tallos agotaron el O₂ en una semana de almacenamiento a 4°C, mientras que en los de PP la concentración de O₂ descendió por debajo del 1% el día 11.

Por otra parte, la alta permeabilidad al vapor de agua del PLA ($186 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, a $38 \text{ }^\circ\text{C}$, 90% HR) fue la causa de que los tallos envasados en este material sufrieran una deshidratación más severa que los envasados en PP ($4 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, a $38 \text{ }^\circ\text{C}$, 100% HR), (ver Tabla 1), llegando a perder un 5.7 % de peso.

En todos los envases se produjo un incremento en la firmeza de los tallos en los 11 primeros días de conservación, posiblemente debido al estrés que el procesado genera en el producto. En las muestras control, en el último tramo del periodo de conservación, descendió la resistencia a la torsión, lo que refleja un ablandamiento del tallo que no se aprecia en las muestras envasadas en PLA ni en las envasadas en PP (Tabla 1), indicando que en la textura influye notablemente la atmósfera de envasado.

Durante la conservación los tallos perdieron luminosidad y tonalidad verde característica que se manifestó por un incremento de la coordenada a^* los primeros 4 d de conservación (Tabla 2). Comparando el color de los tallos entre los envases se observó que solamente existen diferencias significativas ($P < 0.05$) en las muestras envasadas en PLA que a los 21 d eran menos luminosas y tenían un tono verde menos intenso.

La evolución de la capacidad antioxidante y del contenido en compuestos fenólicos siguió la misma tendencia (Tabla 3). Las muestras envasadas en PP mantienen durante la conservación los valores iniciales. Sin embargo, en el caso del PLA, la capacidad antioxidante sufrió una reducción del 65 % y los compuestos fenólicos del 70%.

CONCLUSIONES

Los tallos de borraja mínimamente procesados si se envasan con PLA en vez de usar PP, a pesar de experimentar cierta deshidratación, presentan un color y una textura similares durante los primeros 18 d de conservación. Sin embargo, las pérdidas nutricionales de los tallos en PLA desaconsejan su utilización ya que el envasado en PP preserva mejor la capacidad antioxidante y el contenido en fenoles del producto.

REFERENCIAS

- Alcusón, G., Remón, S., Salvador, M.L. (2017). Quality related aspects of sous-vide processing of borage (*Borago officinalis* L.) stems. LWT-Food Sci. Technol. 85: 104-109.
- Almenar, E., Auras, R. (2010). Permeation, sorption, and diffusion in poly(lactic acid). In: Auras, R., Lim, L.-T., Selke, S.E.M., Tsuji, H. (Eds.), Poly(lactic Acid): Synthesis, structure, properties and applications. Wiley and Sons, New York, pp. 155-179:
- Khalil, H.P.S.A., Banerjee, A., Saurabh, C.K., Tye Y.Y., Suriani, A.B., Azmi, M., Paridah, M.T. (2018). Biodegradable films for fruits and vegetables packaging applications: preparation and properties. Food Eng. Rev. 10 (3): 139-153.
- González-Buesa, J., Page, N., Kaminski, Ch., Ryser, E.T., Beadry, R., Almenar, E. (2014). Effect on non-convetional atmospheres and bio-bases packaging on the quality and safety of *Listeria monocytogenes*-inoculated fresh-cut celery (*Apium graveolens* L.) during storage. Postharvest Biol. Technol. 93:29-73.

TABLAS

Tabla 1. Evolución de la humedad y de la turgencia de los tallos, expresada como resistencia a la flexión, durante la conservación en los diferentes envases.

día	Humedad (g agua/g)			Resistencia a la flexión (MPa)		
	Control	PP	PLA	Control	PP	PLA
0	0.9649±0.0004 ^{A,a}	0.9649±0.0004 ^{A,a}	0.9649±0.0004 ^{A,a}	0.63±0.17 ^{A,a}	0.63±0.17 ^{A,a}	0.63±0.17 ^{A,a}
4	0.9587±0.0033 ^{A,ab}	0.9645±0.0006 ^{A,ab}	0.9503±0.0127 ^{A,ab}	0.79±0.29 ^{A,ab}	0.73±0.26 ^{A,ab}	0.70.251± ^{A,ab}
7	0.9513±0.0017 ^{B,ab}	0.9637±0.0005 ^{A,bc}	0.9501±0.0018 ^{B,ab}	0.74±0.23 ^{A,ab}	0.81±0.23 ^{A,b}	0.74±0.25 ^{A,ab}
11	0.9423±0.0019 ^{B,bc}	0.9638±0.0007 ^{A,bc}	0.9400±0.0014 ^{B,bc}	0.82±0.24 ^{A,b}	0.81±0.27 ^{A,b}	0.84±0.22 ^{A,b}
14	0.9410±0.0049 ^{B,bc}	0.9639±0.0001 ^{A,bc}	0.9318±0.0034 ^{C,c}	0.74±0.23 ^{A,ab}	0.73±0.24 ^{A,ab}	0.73±0.28 ^{A,ab}
18	0.9252±0.0132 ^{B,c}	0.9632±0.0001 ^{A,c}	0.9229±0.0058 ^{B,cd}	0.63±0.25 ^{B,ab}	0.80±0.24 ^{B,ab}	0.75±0.30 ^{B,ab}
21	0.9261±0.0094 ^{B,c}	0.9632±0.0001 ^{A,c}	0.9098±0.0020 ^{C,d}	0.65±0.26 ^{AB,ab}	0.82±0.27 ^{B,b}	0.71±0.29 ^{AB,ab}

Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P<0.05$) entre envases. Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($P<0.05$) entre tiempos de conservación.

Tabla 2. Evolución del color de los tallos durante la conservación en los diferentes envases.

día	L*			a*		
	Control	PP	PLA	Control	PP	PLA
0	68.32±3.29 ^{A,a}	68.32±3.29 ^{A,ab}	68.32±3.29 ^{A,a}	-4.21±0.75 ^{A,a}	-4.21±0.75 ^{A,a}	-4.21±0.75 ^{A,a}
4	67.39±3.68 ^{A,a}	68.54±3.13 ^{A,a}	66.87±3.90 ^{A,ab}	-3.29±0.61 ^{A,b}	-3.41±0.96 ^{A,b}	-3.43±0.84 ^{A,b}
7	67.29±3.93 ^{A,ab}	66.89±4.40 ^{A,ab}	68.26±3.76 ^{A,a}	-3.39±0.92 ^{A,b}	-3.38±0.94 ^{A,b}	-3.34±1.57 ^{A,b}
11	67.49±3.63 ^{A,a}	66.18±4.42 ^{A,b}	66.86±3.17 ^{A,ab}	-3.39±0.98 ^{A,b}	-3.32±0.96 ^{A,b}	-3.24±0.81 ^{A,b}
14	66.27±4.18 ^{A,ab}	66.45±3.12 ^{A,ab}	65.08±5.49 ^{A,b}	-3.20±1.05 ^{A,b}	-3.09±0.85 ^{A,b}	-2.67±1.99 ^{A,b}
18	66.92±3.81 ^{A,ab}	67.70±4.37 ^{A,ab}	66.00±5.00 ^{A,ab}	-3.39±1.18 ^{A,b}	-3.27±0.70 ^{A,b}	-2.67±1.52 ^{B,b}
21	65.00±3.96 ^{A,b}	66.71±3.68 ^{A,ab}	61.51±5.09 ^{B,c}	-3.32±0.91 ^{A,b}	-3.26±0.96 ^{A,b}	-1.61±2.37 ^{B,c}

Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P<0.05$) entre envases. Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($P<0.05$) entre tiempos de conservación.

Tabla 3. Evolución de la capacidad antioxidante y del contenido en fenoles totales de los tallos durante la conservación en los diferentes envases.

día	Capacidad antioxidante (mg Trolox/100g DM)			Fenoles totales (mg GAES/100g DM)		
	Control	PP	PLA	Control	PP	PLA
0	753±15 ^{A,a}	744±15 ^{A,a}	744±15 ^{A,a}	319±30 ^{A,a}	319±30 ^{A,a}	319±30 ^{A,a}
4	759±19 ^{A,a}	751±20 ^{A,a}	560±28 ^{B,b}	198±49 ^{AB,b}	258±13 ^{A,a}	128±23 ^{B,b}
7	408±29 ^{B,b}	747±127 ^{A,a}	520±66 ^{B,bc}	166±70 ^{A,b}	287±24 ^{A,a}	151±84 ^{A,b}
11	398±23 ^{B,b}	656±46 ^{A,a}	424±17 ^{B,cd}	148±12 ^{B,b}	241±42 ^{A,a}	187±9 ^{Ab,b}
14	452±47 ^{B,b}	747±164 ^{A,a}	308±33 ^{B,e}	170±27 ^{B,b}	311±40 ^{A,a}	124±3 ^{B,b}
18	383±44 ^{B,b}	714±72 ^{A,a}	361±22 ^{B,de}	106±14 ^{B,b}	313±53 ^{A,a}	118±2 ^{B,b}
21	414±66 ^{B,b}	734±129 ^{A,a}	259±62 ^{B,e}	168±3 ^{B,b}	285±20 ^{A,a}	99±8 ^{C,b}

Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P<0.05$) entre envases. Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($P<0.05$) entre tiempos de conservación.



POST
2022
ZARAGOZA



SESIÓN

2

Aspectos fisiológicos de
la maduración y su implicación
en postcosecha

Efecto de la madurez y almacenamiento en atmósfera controlada en la composición y propiedades alergénicas de diferentes variedades de manzana

C. Esteban, A. P. Tobajas, E. Arias, A. Civera, L. Sánchez, M. D. Pérez*

Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Miguel Servet, 177, 50013 (Zaragoza). Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2) (Universidad de Zaragoza-CITA).

atobajas@unizar.es

Resumen

Las frutas rosáceas son las responsables del 60% de las alergias a frutas y entre ellas destaca la manzana. Las proteínas de la familia LTP (Lipid Transfer Proteins) a la que pertenece la Mal d 3 de la manzana (*Malus domestica*), son las más alergénicas de las frutas. El objetivo de este trabajo ha sido estudiar el efecto de la variedad de manzana ('Golden Delicious', 'Granny Smith', 'Verde Doncella' y 'Red Story'), así como del grado de madurez en el momento de la recolección y el tiempo de almacenamiento postcosecha en atmósfera controlada en su composición y propiedades alergénicas. Para la caracterización del grado de madurez se determinaron los siguientes parámetros físico-químicos: firmeza, contenido en sólidos solubles totales y acidez titulable. Además, en la piel de las manzanas se determinó el contenido en proteína por la técnica de Bradford, el perfil proteico mediante electroforesis y el contenido en Mal d 3 utilizando una técnica ELISA sandwich, previamente desarrollada y validada. La proteína total de las manzanas recogidas en el grado de madurez definido como el óptimo para la recolección, varió entre $116'8 \pm 36'7 \mu\text{g/g}$ ('Golden Delicious') y $527'4 \pm 87'6 \mu\text{g/g}$ ('Verde Doncella'), y la concentración de Mal d 3 entre $13'6 \pm 3'0 \mu\text{g/g}$ ('Golden Delicious') y $25'2 \pm 3'9 \mu\text{g/g}$ ('Verde Doncella'). Tras el almacenamiento durante 7 meses, la concentración de proteína total aumentó entre 1,1 y 2,5 veces, sobre todo en la variedad 'Red Story'. La electroforesis de las proteínas mostró un perfil de bandas similar, pero con diferente intensidad, visualizándose en todas la Mal d 3. Por otra parte, la concentración de Mal d 3 disminuyó entre 1,3 y 2,5 veces durante el almacenamiento, siendo el descenso más acusado en las variedades 'Verde Doncella' y 'Granny Smith'.

Palabras clave: alergia, frutas, rosáceas, Mal d 3, ELISA.

INTRODUCCIÓN

Según el informe "Alergológica 2015" de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC), la principal causa de alergia alimentaria en la población española son las frutas frescas (44,7%), siendo las rosáceas las causantes del 59,4% de las alergias a frutas, y destacando entre ellas la manzana (*Malus domestica*). Las proteínas de transferencia de lípidos, a las que pertenece la Mal d 3 de la manzana, son las más alergénicas de las frutas. Estas proteínas poseen una función de defensa, por lo que las prácticas agronómicas y las condiciones de almacenamiento postcosecha podrían influir en su expresión y por tanto en su alergenicidad (Sancho et al., 2006; Vanga, Jain y Raghavan, 2016). El objetivo de este trabajo ha sido estudiar el efecto de la variedad de manzana, así

como del grado de madurez en el momento de la recolección y el tiempo de almacenamiento postcosecha en su composición y propiedades alergénicas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras de manzana de las variedades ‘Golden Delicious’, ‘Granny Smith’, ‘Verde Doncella’ y ‘Red Story’ se recolectaron de 5 árboles en una finca de ensayo situada en La Almunia de Doña Godina (Zaragoza). En cada uno de ellos se recogieron entre 10 y 15 manzanas de diferentes partes del árbol, que se dividieron en 3 lotes de 15 manzanas cada uno. Para cada variedad, las manzanas se cosecharon en el grado de madurez comercial u óptimo para la venta, así como una semana antes y una semana después del mismo. Además, los frutos con grado de madurez óptimo se almacenaron durante 1, 3, 5 y 7 meses en una cámara de atmósfera controlada (AC) Ultra Low Oxygen (ULO) (1-1,5% de oxígeno) entre 0 y 1 °C. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado para cada lote de manzanas.

La firmeza de las manzanas se determinó utilizando un texturómetro, el contenido en sólidos solubles totales (SST) de la pulpa se cuantificó por refractometría y la acidez mediante una valoración ácido-base.

Las proteínas de la piel se extrajeron en una relación 1/2 (p/v) con tampón fosfato sódico pH 5,6 que contenía EDTA, DIECA y PVPP. La concentración de proteína de los extractos de piel se determinó mediante la técnica colorimétrica de Bradford a 595 nm, utilizando albúmina sérica bovina como patrón. El perfil proteico de los extractos de piel de manzana se determinó por electroforesis en presencia de SDS y en condiciones reductoras. Los geles se tiñeron con el colorante Azul de Coomassie R y, tras decolorarlos, se realizó una tinción con plata.

La concentración de la proteína Mal d 3 se determinó mediante una técnica ELISA tipo sandwich, previamente desarrollada. Los pocillos se tapizaron con anticuerpos específicos frente a Mal d 3 (10 µg/ml) y se bloquearon con ovoalbúmina. Tras realizar tres lavados, se añadieron 100 µl de los estándares de Mal d 3 (de entre 1,25 y 50 ng/ml) o de las muestras. Tras realizar cinco lavados, los pocillos se incubaron con 100 µl de una solución de anticuerpos anti-Mal d 3 conjugados con fosfatasa alcalina. Finalmente, tras otra etapa de lavados, se incubaron con 100 µl de un sustrato comercial de la fosfatasa alcalina. La reacción enzimática se detuvo con 25 µl de NaOH 3 N y la lectura de la absorbancia de los pocillos se realizó a 405 nm.

El análisis estadístico de los resultados se realizó con el programa GraphPad Prism 8, aplicando un análisis de varianza (ANOVA) con una prueba post hoc de Tukey ($P \leq 0,05$). La relación entre los parámetros se determinó mediante la correlación de Pearson con el programa Excel 2016.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el análisis de la firmeza, contenido en SST y acidez de las cuatro variedades en el óptimo de madurez se muestran en la Figura 1. La variedad ‘Golden’ es la que muestra un valor de firmeza más alto, mientras que la variedad ‘Granny’ es la menos firme. La variedad que presenta un mayor contenido en SST es la ‘Red Story’,

y la variedad ‘Granny’ un menor contenido. La variedad ‘Granny’ destaca por su elevada acidez, que es entre 2,3 y 4,2 veces mayor que la de las demás variedades, y la ‘Verde Doncella’ es la menos ácida.

En la Figura 2 se muestra la firmeza de cada variedad de manzana en los diferentes grados de madurez y periodos de almacenamiento. En la mayoría de las variedades se observa un descenso significativo de la firmeza durante la maduración, que es más pronunciado en las variedades ‘Golden’ y ‘Verde Doncella’. En estas variedades, la firmeza también disminuye con el almacenamiento, entre un 55% y un 25% a los 7 meses, al igual que se ha mostrado en otros estudios (Gonçalves, Argenta y De Martin, 2017). Las variedades ‘Granny’ y ‘Red Story’ no muestran un ablandamiento significativo tras 7 meses en AC. Respecto al contenido en SST (Figura 3), en las variedades ‘Golden’ y ‘Granny’, destaca un pequeño incremento de la concentración con el grado de madurez, y en las variedades ‘Granny’ y ‘Verde Doncella’ durante el almacenamiento (entre un 7% y un 15%), resultados que concuerdan con los obtenidos por Mikulič Petkovšek, Štampar y Veberič (2009) y Gonçalves, Argenta y De Martin (2017). El grado de acidez en las variedades ‘Golden’, ‘Verde Doncella’ y ‘Red Story’ presenta una ligera disminución con el grado de madurez, que no se observa en la variedad ‘Granny’ (Figura 4). Durante el almacenamiento, la acidez tiende a disminuir en todas las variedades, como se ha observado en otros estudios (Mikulič Petkovšek, Štampar y Veberič, 2009).

Los resultados de los análisis del contenido en proteína de la piel de las cuatro variedades en el óptimo de madurez se muestran en la Figura 5. La concentración de proteína de la variedad ‘Verde Doncella’ fue de 3 a 3,5 veces superior a la de las otras variedades ($527,4 \pm 87,6 \mu\text{g/g}$), siendo la variedad ‘Golden’ la de menor contenido ($116,8 \pm 36,7 \mu\text{g/g}$). Como se muestra en la Figura 6, la concentración de proteína total tiende a aumentar con el grado de madurez en las variedades ‘Golden’ y ‘Granny’, mientras que no se modifica en la variedad ‘Red Story’ e incluso tiende a disminuir en la variedad ‘Verde Doncella’. Todas las variedades, salvo la ‘Verde Doncella’, presentan a los 7 meses un contenido entre 1,5 y 2,3 veces mayor que el mostrado en la fecha de recolección. Por otra parte, la electroforesis de las proteínas de la piel (Figura 7) muestra un perfil de bandas similar, pero con diferente intensidad para las cuatro variedades, visualizándose en todas ellas la banda de la proteína Mal d 3.

El contenido en Mal d 3 de las cuatro variedades en el óptimo de madurez se muestra en la Figura 8. La variedad ‘Verde Doncella’ es la que presenta el mayor contenido ($25,2 \pm 3,9 \mu\text{g/g}$) y la variedad ‘Golden’ el menor contenido ($13,6 \pm 3,0 \mu\text{g/g}$). Respecto al grado de madurez, ninguna de las variedades muestra variaciones significativas en la concentración de Mal d 3 (Figura 9). Sin embargo, durante el almacenamiento, los niveles de Mal d 3 disminuyen, obteniéndose valores entre un 21% y un 57% más bajos a los 7 meses de almacenamiento (en comparación con los obtenidos en el momento de la cosecha en su óptimo grado de madurez), siendo el descenso más acusado en las variedades ‘Verde Doncella’ y ‘Granny Smith’. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Sancho et al. (2006), quienes observaron que los niveles de Mal d 3 aumentan con el grado de madurez, pero disminuyen durante el almacenamiento en atmósfera controlada.

La correlación entre los parámetros analizados es, en general, moderada o baja en las cuatro variedades, salvo para los parámetros de SST y acidez en la variedad ‘Granny’, y de SST y Mal d 3 en la variedad ‘Verde Doncella’. El hecho de que las correlaciones

corresponden a parámetros que no son coincidentes entre las variedades hace que no sea posible establecer una tendencia en el comportamiento de los mismos.

CONCLUSIONES

En el grado de madurez óptimo de recolección, la variedad ‘Golden’ es la que presenta una mayor firmeza, la variedad ‘Red Story’ un mayor contenido en SST y la variedad ‘Granny’ una mayor acidez. Por otra parte, la variedad ‘Verde Doncella’ es la que muestra un mayor contenido proteico y de Mal d 3 en la piel.

La concentración de proteína total en la piel de manzana tiende a aumentar durante el almacenamiento, más marcadamente en las variedades ‘Red Story’ y ‘Granny’. Sin embargo, la concentración de proteína Mal d 3 tiende a disminuir con el tiempo de almacenamiento, siendo más acusado en las variedades ‘Verde Doncella’ y ‘Granny’. Esta reducción no parece ser suficiente para evitar que se produzca una reacción alérgica en individuos sensibilizados.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado gracias a la financiación obtenida por el Gobierno de Aragón (Grupos consolidados A20_20R y A22_20R) y al contrato predoctoral del Gobierno de Aragón obtenido por Ana Pilar Tobajas.

REFERENCIAS

- Gonçalves, M. W., Argenta, L. C. y De Martin, M. S. (2017). “Maturity and quality of apple fruit during the harvest period at apple industry”. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 39(5). DOI: 10.1590/0100-29452017825
- Mikulič Petkovšek, M., Štampar, F. y Veberič, R. (2009). “Changes in the inner quality parameters of apple fruit from technological to edible maturity”. *Acta Agriculturae Slovenica*, 93(1), pp. 17-29. DOI: 10.2478/v10014-009-0003-3
- Sancho, A. I., Foxall, R., Rigby, N. M., Browne, T., Zuidmeer, L., van Ree, R., Waldron, K. W. y Mills, E. N. C. (2006). “Maturity and Storage Influence on the Apple (*Malus domestica*) Allergen Mal d 3, a Nonspecific Lipid Transfer Protein”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(14), pp. 5098-5104. DOI: 10.1021/jf0530446
- Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC) (2015). Alergológica 2015. Madrid: SEAIC. Disponible en: <https://n9.cl/qqvxv> [Consultado 30-09-2020].
- Vanga, S. K., Jain, M. y Raghavan, V. (2016). “Significance of fruit and vegetable allergens: Possibilities of its reduction through processing”. *Food Reviews International*, 34(2), pp. 103-125. DOI: 10.1080/87559129.2016.1239208

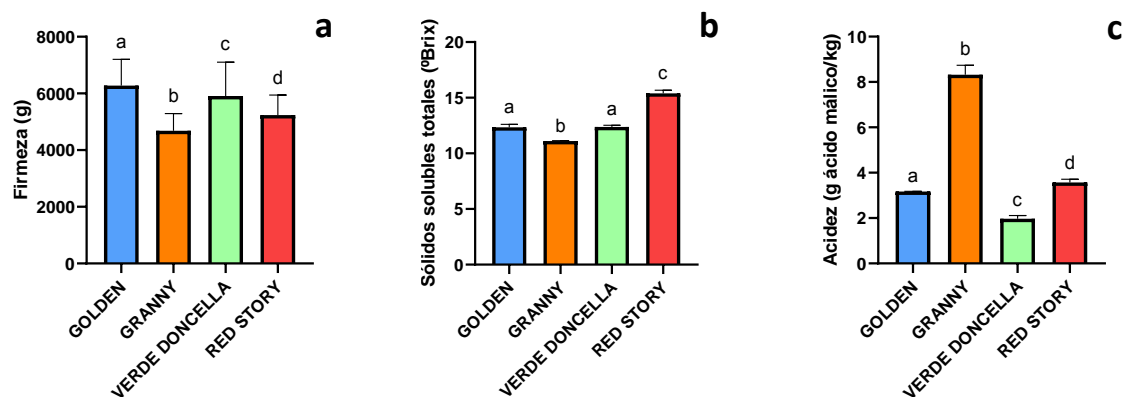


Fig. 1. (a) Firmeza, (b) contenido en sólidos solubles totales y (c) acidez titulable de las cuatro variedades de manzana en el grado de madurez comercial (GMC 0). Las barras etiquetadas con diferentes letras son significativamente diferentes ($P \leq 0,05$).

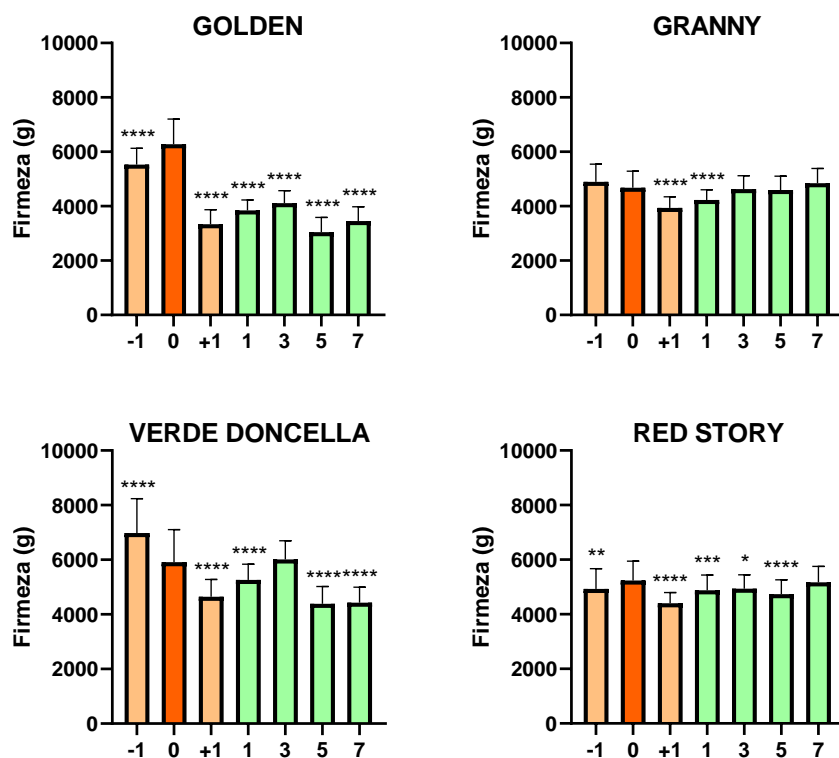


Fig. 2. Valores de firmeza expresada en gramos (g) de las diferentes variedades de manzana en los distintos grados de madurez comercial y durante el almacenamiento en refrigeración en atmósfera controlada. Los números del eje de abscisas corresponden al grado de madurez (0, óptimo; -1 y +1, una semana antes o después del óptimo) y al tiempo de almacenamiento (1, 1 mes; 3, 3 meses; 5, 5 meses; 7, 7 meses). Los asteriscos indican diferencias significativas con respecto al grado de madurez óptimo (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$; **** $P \leq 0,0001$).

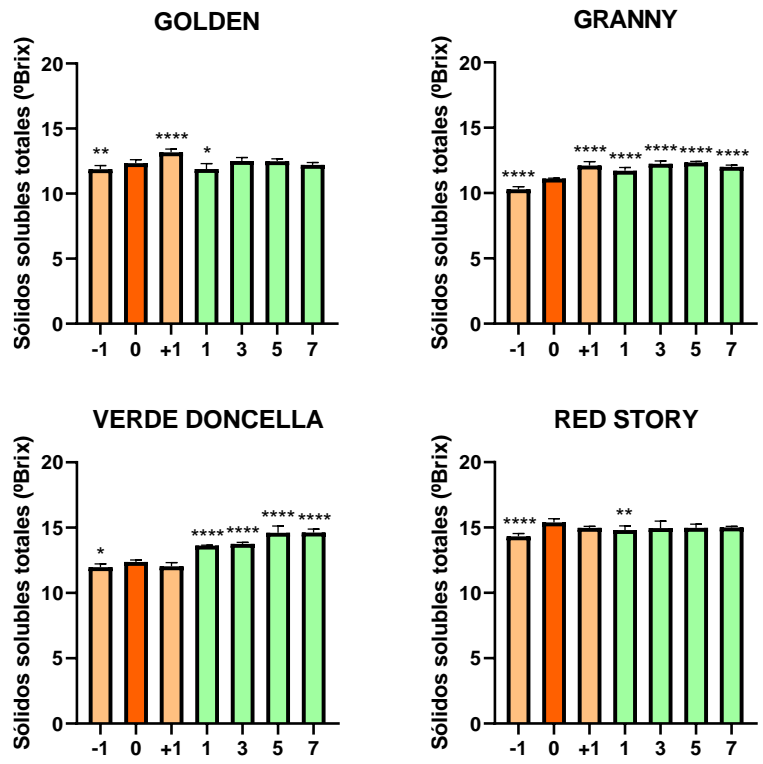


Fig. 3. Concentración de sólidos solubles totales expresada en grados Brix (°Brix) de las diferentes variedades de manzana en los distintos grados de madurez comercial y durante el almacenamiento en refrigeración en atmósfera controlada. Los números del eje de abscisas corresponden al grado de madurez (0, óptimo; -1 y +1, una semana antes o después del óptimo) y al tiempo de almacenamiento (1, 1 mes; 3, 3 meses; 5, 5 meses; 7, 7 meses). Los asteriscos indican diferencias significativas con respecto al grado de madurez óptimo (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$; **** $P \leq 0,0001$).

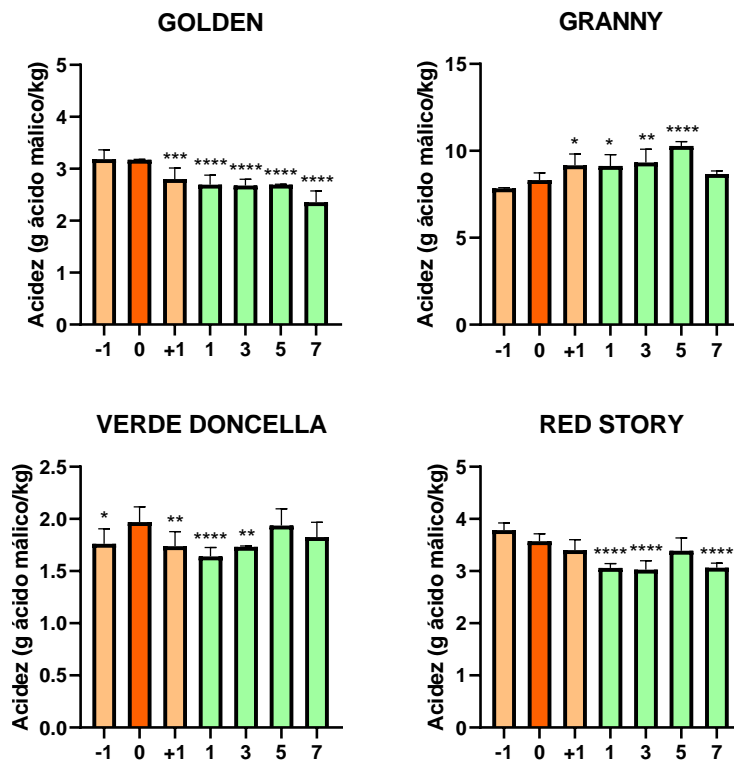


Fig. 4. Valores de acidez titulable expresada en gramos de ácido málico/kilogramo (g ácido málico/kg) de las diferentes variedades de manzana en los distintos grados de madurez comercial y durante el almacenamiento en refrigeración en atmósfera controlada. Los números del eje de abscisas corresponden al grado de madurez (0, óptimo; -1 y +1, una semana antes o después del óptimo) y al tiempo de almacenamiento (1, 1 mes; 3, 3 meses; 5, 5 meses; 7, 7 meses). Los asteriscos indican diferencias significativas con respecto al grado de madurez óptimo (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$; **** $P \leq 0,0001$).

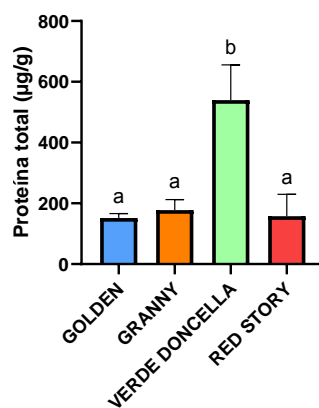


Fig. 5. Concentración de proteína total expresada en microgramos de proteína/gramo de piel (µg/g) determinada en los extractos de las cuatro variedades de manzana en el grado de madurez comercial (GMC 0). Las barras etiquetadas con diferentes letras son significativamente diferentes ($P \leq 0,05$).

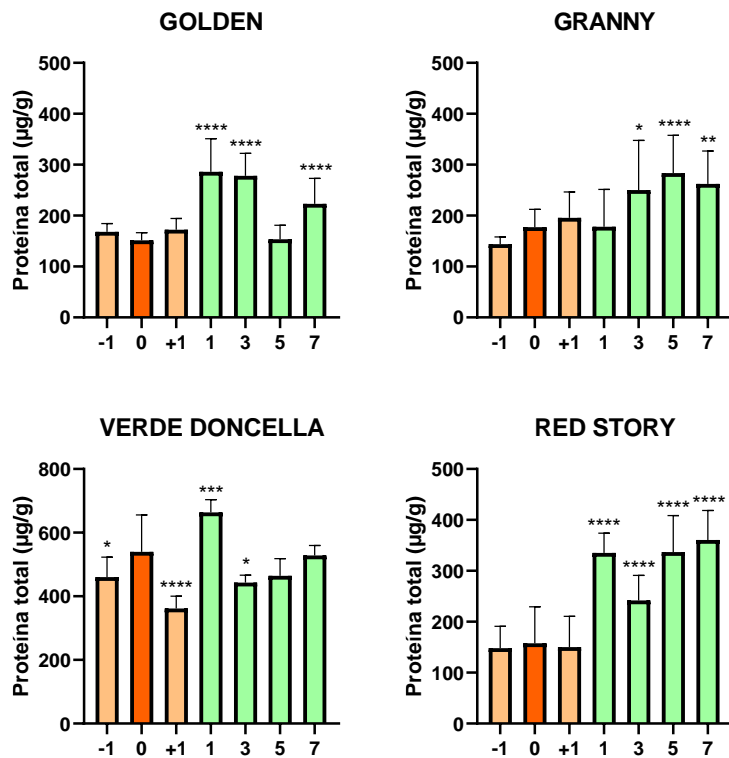


Fig. 6. Concentración de proteína total determinada en los extractos de piel de manzana de las distintas variedades en diferentes grados de madurez comercial y durante el almacenamiento en refrigeración en atmósfera controlada, expresada en microgramos de proteína/gramo de piel ($\mu\text{g/g}$). Los números del eje de abscisas corresponden al grado de madurez (0, óptimo; -1 y +1, una semana antes o después del óptimo) y al tiempo de almacenamiento (1, 1 mes; 3, 3 meses; 5, 5 meses; 7, 7 meses). Los asteriscos indican diferencias significativas con respecto al grado de madurez óptimo (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$; **** $P \leq 0,0001$).

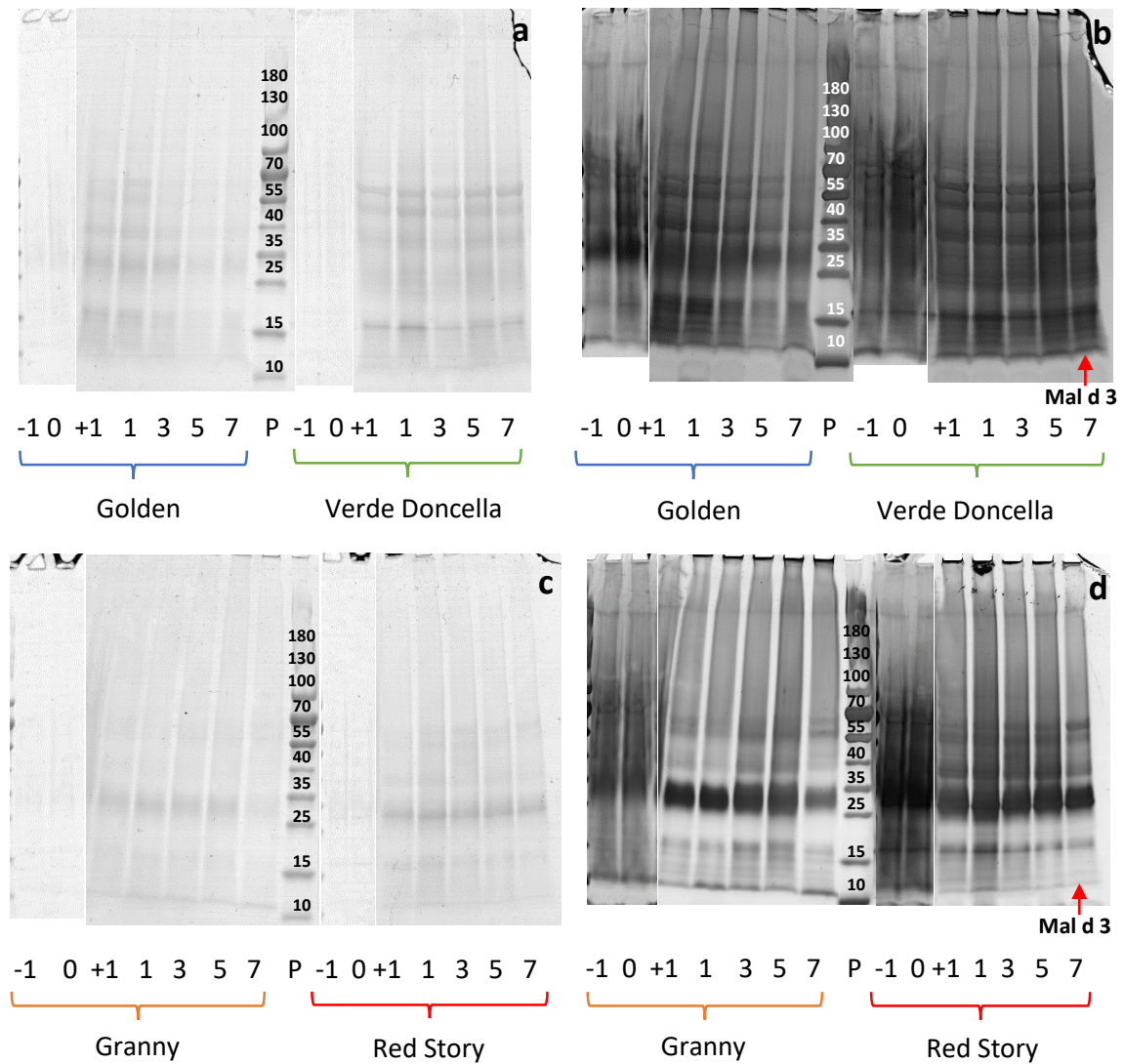


Fig. 7. SDS-Electroforesis en gel de poliacrilamida 4-20% en condiciones reductoras de los extractos de piel de las diferentes variedades de manzana en distintos grados de madurez y tiempos de almacenamiento postcosecha. (a, c) Tinción con Azul de Coomassie. (b, d) Tinción con plata. (P) Patrón de pesos moleculares (kDa). Los números corresponden al grado de madurez (0, óptimo; -1 y +1, una semana antes o después del óptimo) y al tiempo de almacenamiento en meses en refrigeración y atmósfera controlada (1, 1 mes; 3, 3 meses; 5, 5 meses; 7, 7 meses).

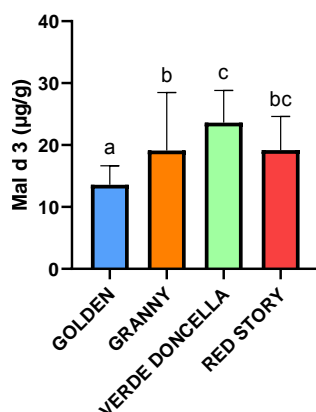


Fig. 8. Concentración de proteína Mal d 3 expresada en microgramos de proteína/gramo de piel ($\mu\text{g/g}$) determinada en los extractos de las cuatro variedades de manzana en el grado de madurez comercial (GMC 0). Las barras etiquetadas con diferentes letras son significativamente diferentes ($P \leq 0,05$).

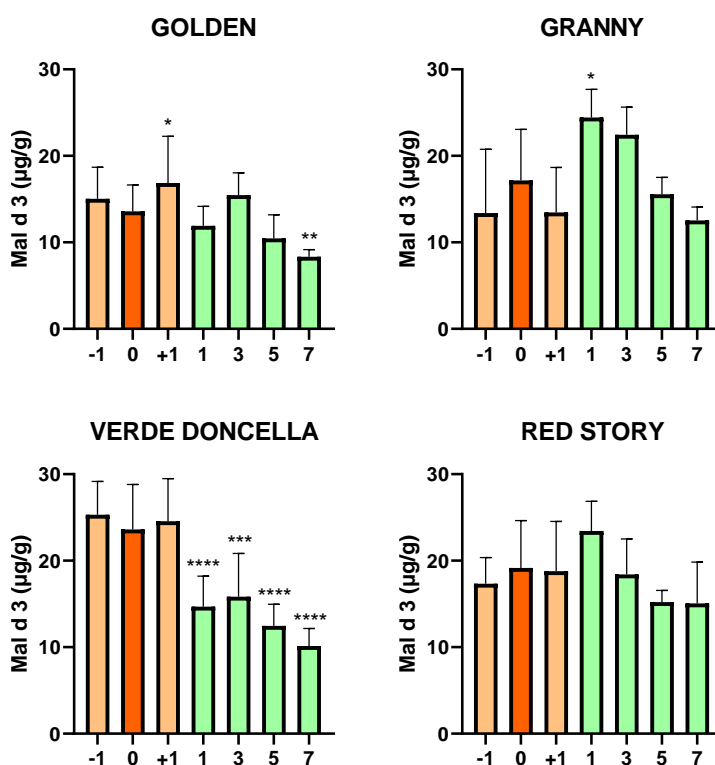


Fig. 9. Concentración de proteína Mal d 3 determinada en los extractos de piel de manzana de las distintas variedades en diferentes grados de madurez comercial y durante el almacenamiento en refrigeración en atmósfera controlada, expresada en microgramos de proteína/gramo de piel ($\mu\text{g/g}$). Los números del eje de abscisas corresponden al grado de madurez (0, óptimo; -1 y +1, una semana antes o después del óptimo) y al tiempo de almacenamiento (1, 1 mes; 3, 3 meses; 5, 5 meses; 7, 7 meses). Los asteriscos indican diferencias significativas con respecto al grado de madurez óptimo (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$; **** $P \leq 0,0001$).

Evolución de las propiedades fisicoquímicas y bioactivas de cereza y ciruela a lo largo de su maduración

A.M., Fernández-León¹, M.C., Ayuso Yuste², M.J., Serradilla¹, M.J., Rodríguez Gómez³, B., Velardo-Micharet^{1*}

¹Área de Postcosecha, Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, Avd. Adolfo Suárez s/n, 06007, Badajoz, España. Email: belen.velardo@juntaex.es

²Departamento de Ingeniería del Medio Agronómico y Forestal, Escuela de Ingenierías Agrarias, Universidad de Extremadura. Avd. Adolfo Suárez, s/n. 06007, Badajoz, España.

³Área de Vegetales. Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, Avd. Adolfo Suárez s/n, 06007, Badajoz, España.

Resumen

El objetivo de este trabajo fue establecer el patrón de maduración de cereza y ciruela mediante técnicas no destructivas, dada la importancia que estos frutales tienen en Extremadura. El estudio se llevó a cabo en cereza ‘Lapins’ y ciruela japonesa ‘Prime Time’ utilizando como tecnología no destructiva el Cherry-Meter y DA-Meter, respectivamente. Para que estas medidas puedan ser implementadas para determinar el momento de recolección en campo, es necesario establecer la correspondencia entre los valores de IAD generados por estos equipos con los índices de cosecha tradicionalmente utilizados por los fruticultores. Por ello, se realizó un seguimiento del desarrollo y maduración de la fruta mediante determinaciones fisicoquímicas convencionales (firmeza, sólidos solubles totales y acidez titulable) y no destructivas (IAD), así como la determinación del contenido en clorofilas y compuestos fenólicos. Como era de esperar, durante la maduración se observó un aumento del contenido en sólidos solubles totales, acompañado de una disminución de la firmeza, acidez y las clorofilas, mostrando una correlación positiva con el índice IAD. Los compuestos fenólicos mayoritarios en cereza y ciruela fueron las antocianinas, pigmentos responsables del color rojo de piel y pulpa, que mostraron un incremento durante la maduración. En conclusión, tanto el Cherry-Meter como el DA-Meter resultaron medidas útiles para la determinación no destructiva de los índices de cosecha, siendo necesario alcanzar valores de IAD de 0,66 en cereza ‘Lapins’ y de 0,76 en ciruela ‘Prime Time’ en el momento de la recolección comercial.

Palabras clave: Cherry-Meter, DA-Meter, índice de madurez, clorofilas, compuestos fenólicos

INTRODUCCIÓN

La evolución de la fruta a lo largo de la maduración, así como el momento óptimo de recolección, son parámetros muy importantes para el sector frutícola, ya que determinan la calidad y la vida útil de la fruta. Los índices de cosecha establecidos en fruta de hueso, utilizan parámetros de los cuales no siempre se obtienen medidas reproducibles, ya que varían con el cultivar, área de producción, condiciones edafoclimáticas y sistemas de producción (Velardo-Micharet et al., 2021). Debido a ello, resulta de gran interés el

disponer de una tecnología no destructiva que permita seguir en tiempo real la evolución de los frutos en el árbol y establecer índices de cosecha que indiquen el momento óptimo de recolección. Los equipos portátiles Cherry-Meter y DA-Meter se caracterizan por determinar el índice de madurez (IAD) de la fruta de forma no destructiva mediante espectroscopía visible e infrarrojo cercano (vis/NIR). El Cherry-Meter, específico para cerezas, se correlaciona con el contenido en antocianinas, y el DA-Meter con el contenido en clorofilas de la pulpa del fruto (Velardo-Micharet et al., 2021). El uso de esta tecnología es especialmente interesante en cultivares de ciruelas que consiguen el color definitivo en etapas muy tempranas del desarrollo y, por tanto, el color no proporciona una medida fiable de su estado de maduración. También, en el caso de las cerezas, al ser un fruto no climatéricos deben ser recolectados en un estado de maduración adecuado para su consumo.

En Extremadura, las frutas de hueso más importantes son la cereza (*Prunus avium*, Lindl.) y la ciruela japonesa (*Prunus salicina*, Lindl.). Ambos frutales son estratégicos para el sector, el primero por ser un producto altamente valorado y reconocido a través de la Denominación de Origen “Cereza del Jerte”, y el segundo por su alto volumen de producción y exportación. Por ello, el objetivo de este trabajo fue validar la implementación del Cherry-Meter y DA-Meter en cereza y ciruela, respectivamente, para determinar el momento óptimo de cosecha, así como establecer la correspondencia entre los valores de IAD con los índices de cosecha convencionales (firmeza, sólidos solubles totales y acidez titulable) y el contenido en clorofila y compuestos fenólicos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal y diseño experimental

El ensayo se realizó en cereza ‘Lapins’ y ciruela japonesa de piel y pulpa roja ‘Prime Time’, cultivadas en fincas comerciales del Valle del Jerte (Cáceres) y de las Vegas Bajas del Guadiana (Badajoz), respectivamente. Se marcaron un total de 60 frutos procedentes de 3 árboles por cultivar, sobre los que se realizó un seguimiento periódico de la maduración del fruto en el árbol, desde 21 días antes de recolección comercial hasta que la fruta alcanzó la madurez organoléptica, 7 días después de la recolección comercial (Tabla 1). En cada fecha de análisis, se cogieron 15 cerezas y 10 ciruelas para las determinaciones de calidad.

Métodos de análisis

La firmeza (N) se determinó con un texturómetro Stable Micro Systems TAXT2i, mediante ensayo de compresión al 3% en cereza y ensayo de penetración con sonda de 8 mm de diámetro en ciruela. Los sólidos solubles totales (SST), expresados en °Brix, se midieron con un refractómetro digital portátil PR-01 (Atago CO., LTD, Tokyo, Japan). La acidez titulable (AT) se determinó con un valorador automático DL50 Graphix (Mettler Toledo), mediante valoración hasta pH 8,1, empleándose una disolución 0,1 N de NaOH, expresándose los resultados en g ácido málico 100 g⁻¹. El índice de madurez no destructivo (IAD) se midió con el Cherry-Meter en cereza y con el DA-Meter en ciruela (TrTuroni, SRL, Italia). La determinación de clorofila A (mg kg⁻¹) se hizo siguiendo el método de Fernández-León et al. (2010), mientras que la extracción, separación e identificación de los compuestos fenólicos (mg 100 g⁻¹) se realizó según el método descrito por Manzano-Durán et al. (2019). El tratamiento estadístico de los resultados se realizó con el programa informático SPSS 20.0 (IBM Statistics, Chicago, IL, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cereza ‘Lapins’

La firmeza descendió bruscamente entre las dos primeras cosechas, manteniéndose prácticamente estable (1,326 N) hasta la penúltima cosecha, para luego volver a descender ligeramente en la última fecha de cosecha (Fig.1). El contenido en SST (Fig. 1) aumentó de forma significativa hasta 7 días antes de la recolección comercial (C3), estabilizándose posteriormente hasta la última cosecha (C6), donde se alcanzó el mayor contenido en SST (20,3 °Brix). La AT aumentó entre las cosechas 1 y 2 (Fig. 1), debido a los procesos de pigmentación de las cerezas (Díaz Mula et al., 2009), y a partir de ese momento el porcentaje de AT se mantuvo sin diferencias significativas ($p > 0,05$), con valores medios de 0,6 g ácido málico 100 g⁻¹. Los valores más bajos de IAD se registraron en las tres primeras cosechas, con un importante incremento desde ese momento, pasando de 0,304 en C3 a 0,660 en C4 y, finalmente, 1,069 en la C6 cuando los frutos presentaron tonalidades caobas asociadas a la madurez. El índice de cosecha que mejor se correlacionó con el IAD fue el contenido en SST ($r = 0,649$). Nuestros resultados coinciden con los descritos por Nagpala et al. (2017), quienes encontraron una elevada correlación entre los valores de IAD con el color, contenido en antocianinas y SST de cerezas ‘Lala Star’. El contenido de clorofila A descendió a lo largo de la maduración, mostrando una evolución inversa al IAD (Fig. 2). Los compuestos fenólicos (Fig. 2), aumentaron significativamente ($p < 0,05$) y en paralelo al IAD a lo largo de la maduración de los frutos. Las familias de compuestos fenólicos más abundantes en cereza fueron los ácidos hidroxicinámicos y las antocianinas (Fig. 3). Los flavonoles (catequina y epicatequina) y flavanoles (quercetina 3-*O*-rutinosido) fueron minoritarios y presentaron un comportamiento errático a la largo de la maduración. Se identificaron cuatro ácidos hidroxicinámicos; neoclorogénico, p-cumaroilquínico, clorogénico y p-cumárico, cuyo contenido disminuyó a lo largo de la maduración. De las tres antocianinas identificadas, la cianidina 3-*O*-rutinosido fue la mayoritaria, seguida de la cianidina 3-*O*-glucósido y la peonidina 3-*O*-glucósido. El contenido en antocianinas, los pigmentos responsables del color rojo de las cerezas, aumentó significativamente ($p < 0,05$) durante el proceso de maduración, acorde a lo descrito por Serradilla et al. (2012).

Ciruela ‘Prime Time’

La firmeza descendió a medida que avanzaba la maduración de los frutos llegando a la recolección comercial (C5) con un valor de 33,21 N (Fig. 4). Los SST aumentaron progresivamente hasta alcanzar valores medios y estables de 11 °Brix en recolección comercial, a diferencia de la AT, cuyos valores disminuyeron significativamente ($p < 0,05$) a lo largo de la maduración (Fig. 4). Los valores del IAD evolucionaron desde 1,140 en la C1, hasta 0,760 en recolección comercial (C5) y 0,680 en C7, siguiendo una tendencia lineal descendente. Esta tendencia coincide con la descrita en ciruela ‘Angelino’ (“Horticulture Industry Networks”, 2019), si bien en este cultivar los valores de IAD en recolección comercial (1,29-1,0) y para consumo ($< 0,99$) son ligeramente diferentes a los encontrados en ‘Prime Time’, poniendo de manifiesto la variabilidad inherente al cultivar. Los índices de cosecha estudiados presentaron una alta correlacionaron con el IAD para la firmeza ($r = 0,850$), SST ($r = -0,722$) y AT ($r = 0,762$). La clorofila fue más abundante en la piel que en la pulpa de las ciruelas (Fig. 5). En ambas fracciones, los frutos de la C1 presentaron el valor máximo de clorofila A, produciéndose una disminución paulatina y significativa según avanzaba el proceso de maduración. Los compuestos fenólicos se concentraron en la piel de las ciruelas, registrándose un aumento

significativo ($p < 0,05$) en los frutos más maduros (C6). Las antocianinas (cianidina 3-*O*-glucósido y cianidin 3-*O*-rutinosido) y los flavanoles (quercetinas 3- rutinosido, glucósido, galactósido y arabinósido, kaempferol 3-*O*-rutinosido e isorhamnetín 3-*O*-rutinosido) fueron las familias mayoritarias en la piel. Los ácidos hidroxicinámicos (neoclorogénico, clorogénico, p-cumárico y t-ferúlico) y los flavonoles (catequina y epicatequina) fueron minoritarios y no presentaron una tendencia clara con la maduración de los frutos.

CONCLUSIONES

El índice de madurez no destructivo (IAD), proporcionado por el Cherry-Meter y el DA-Meter resultó una medida útil para la determinación no destructiva de los índices de cosecha, siendo necesario alcanzar valores de IAD de 0,66 en cereza ‘Lapins’ y de 0,76 en ciruela ‘Prime Time’ en el momento de la recolección comercial.

AGRADECIMIENTOS

Al Proyecto INNOACE, Innovación Abierta e Inteligente en la EUROACE, financiado por el Programa Operativo de Cooperación Transfronteriza España Portugal (POCTEP) de la Unión Europea (2017-2019).

REFERENCIAS

- Díaz-Mula, H.M., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Valero, D., Zapata, P.J., Guillén, F., and Serrano, M. (2009). Sensory, nutritive and functional properties of Sweet Cherry as affected by cultivar and ripening stage. *Food Sci Tech Int.* 15 (6):0535-543.
- Fernández-León, M.F. Lozano M., Ayuso M.C., Fernández-León A.M., González-Gómez D. (2010). Fast and accurate alternative UV-chemometric method for the determination of chlorophyll A and B in broccoli (*Brassica oleracea* Italica) and cabbage (*Brassica oleracea* Sabauda) plants. *J. Food Composit. Anal.* vol. 23: 809-813.
- Horticulture Industry Networks. (2019). <http://www.hin.com.au/networks/profitable-stonefruit-research/stonefruit-maturity-and-fruit-quality/da-meter-iad-maturity-classes-database>. [Consultado mayo de 2022].
- Manzano Durán, R., Fernández Sánchez, J.E., Velardo-Micharet, B., Rodríguez Gómez, M.J. (2019). Multivariate optimization of ultrasound-assisted extraction for the determination of phenolic compounds in plums (*Prunus salicina* Lindl.) by high-performance liquid chromatography (HPLC). *Instrum. Sci. Technol.* DOI:10.1080/10739149.2019.1662438
- Nagpala, E.G.L., Noferini, M., Farneti, B., Piccinini, L. and Costa, G. (2017). Cherry-Meter: an innovative non-destructive (vis/NIR) device for cherry fruit ripening and quality assessment. *Acta Horticulturae*, 1161: 491-496
- Serradilla, M.J., Martín, A., Ruiz-Moyano, S., Hernández, A., López-Corrales, M., Córdoba, M.G. (2012). Physicochemical and sensorial characterisation of four sweet cherry cultivars grown in Jerte Valley (Spain). *Food Chem.* 133:1551–1559.
- Velardo-Micharet, B., Fernández-León, A.M., Serradilla, M.J. (2021). Índices de cosecha en ciruela japonesa: Idoneidad del uso del DA-Meter frente a los métodos de calidad destructivos. *Revista de Fruticultura (Especial)*, 60-69.

TABLAS

Tabla 1. Fechas de cosecha establecidas en los cultivares de cereza y de ciruela estudiados.

Cultivar	Cosecha		Fecha
Cereza 'Lapins'	C1	21 AC	11-junio
	C2	14 AC	18-junio
	C3	7 AC	25-junio
	C4	RC	2-julio
	C5	3 DR	4-julio
	C6	7 DR	9-julio
Ciruela 'Prime Time'	C1	21 AC	22-junio
	C2	14 AC	27-junio
	C3	7 AC	6-julio
	C4	3 AC	10-julio
	C5	RC	13 julio
	C6	3 DR	16-julio
	C7	7 DR	20-julio

AC: antes de recolección comercial; RC: recolección comercial; DR: después de recolección comercial

FIGURAS

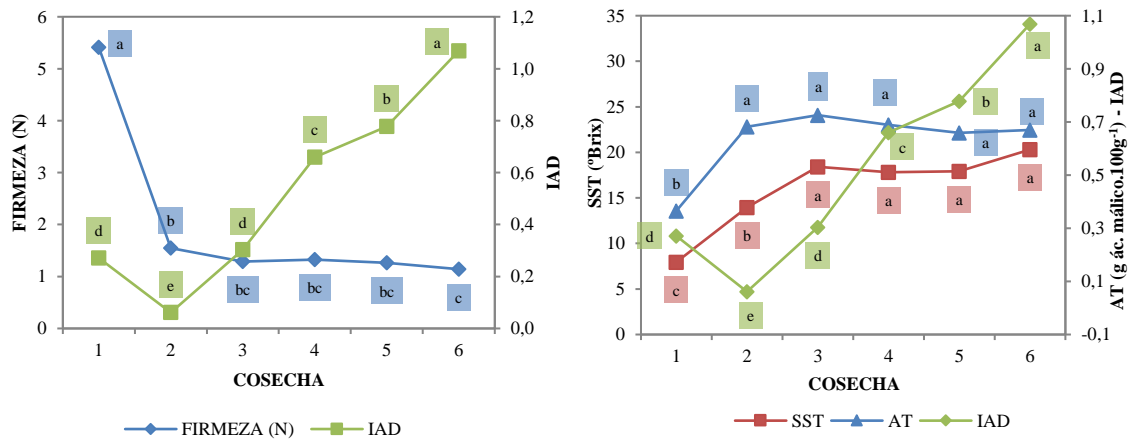


Fig. 1. Evolución de la firmeza, SST, AT e IAD de cereza ‘Lapins’ a lo largo de la maduración. Para cada variable, datos marcados con letras diferentes implican diferencias significativas entre fechas ($p < 0,05$ según el test de Tukey HSD).

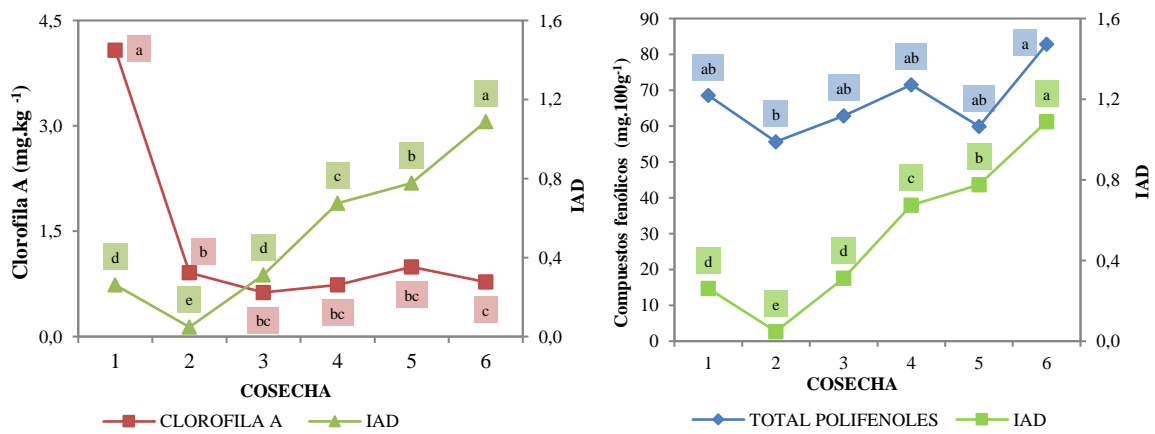


Fig. 2. Evolución de la concentración de clorofila a y suma de los compuestos fenólicos de cereza ‘Lapins’ en relación con el valor IAD durante la maduración. Para cada variable, datos marcados con letras diferentes implican diferencias significativas entre fechas ($p < 0,05$ según el test de Tukey HSD).

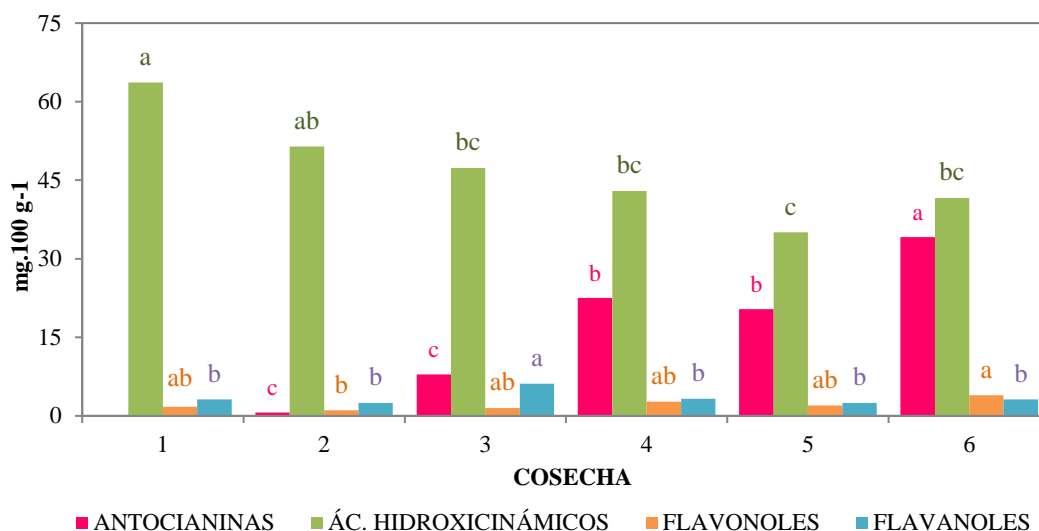


Fig. 3. Evolución de la concentración de las diferentes familias de compuestos fenólicos de cereza ‘Lapins’ durante su maduración. Para cada variable, datos marcados con letras diferentes implican diferencias significativas entre fechas ($p < 0,05$ según el test de Tukey HSD).

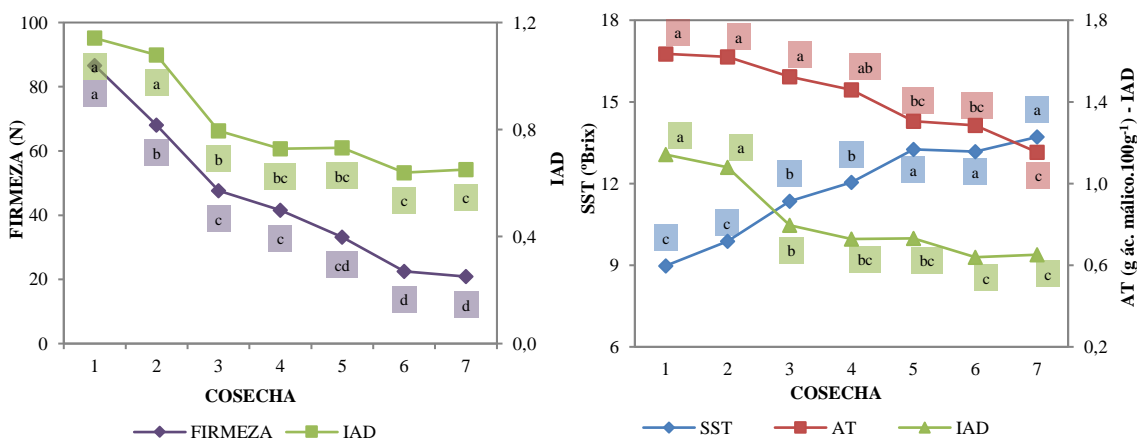


Fig. 4. Evolución de la firmeza, SST, AT e IAD de ciruela ‘Prime Time’ a lo largo de la maduración. Para cada variable, datos marcados con letras diferentes implican diferencias significativas entre fechas ($p < 0,05$ según el test de Tukey HSD).

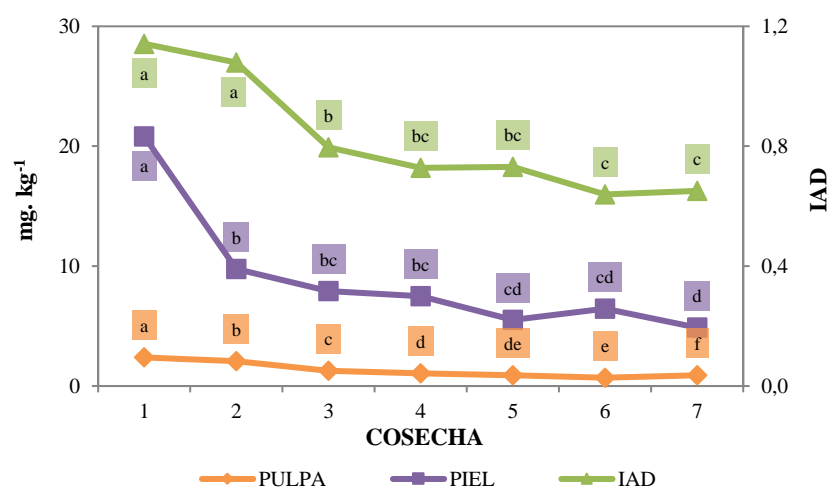


Fig. 5. Evolución de la concentración de clorofila a, presente en piel y pulpa, de ciruela ‘Prime Time’ en relación con el valor IAD durante la maduración. Para cada variable, datos marcados con letras diferentes implican diferencias significativas entre fechas ($p < 0,05$ según el test de Tukey HSD).

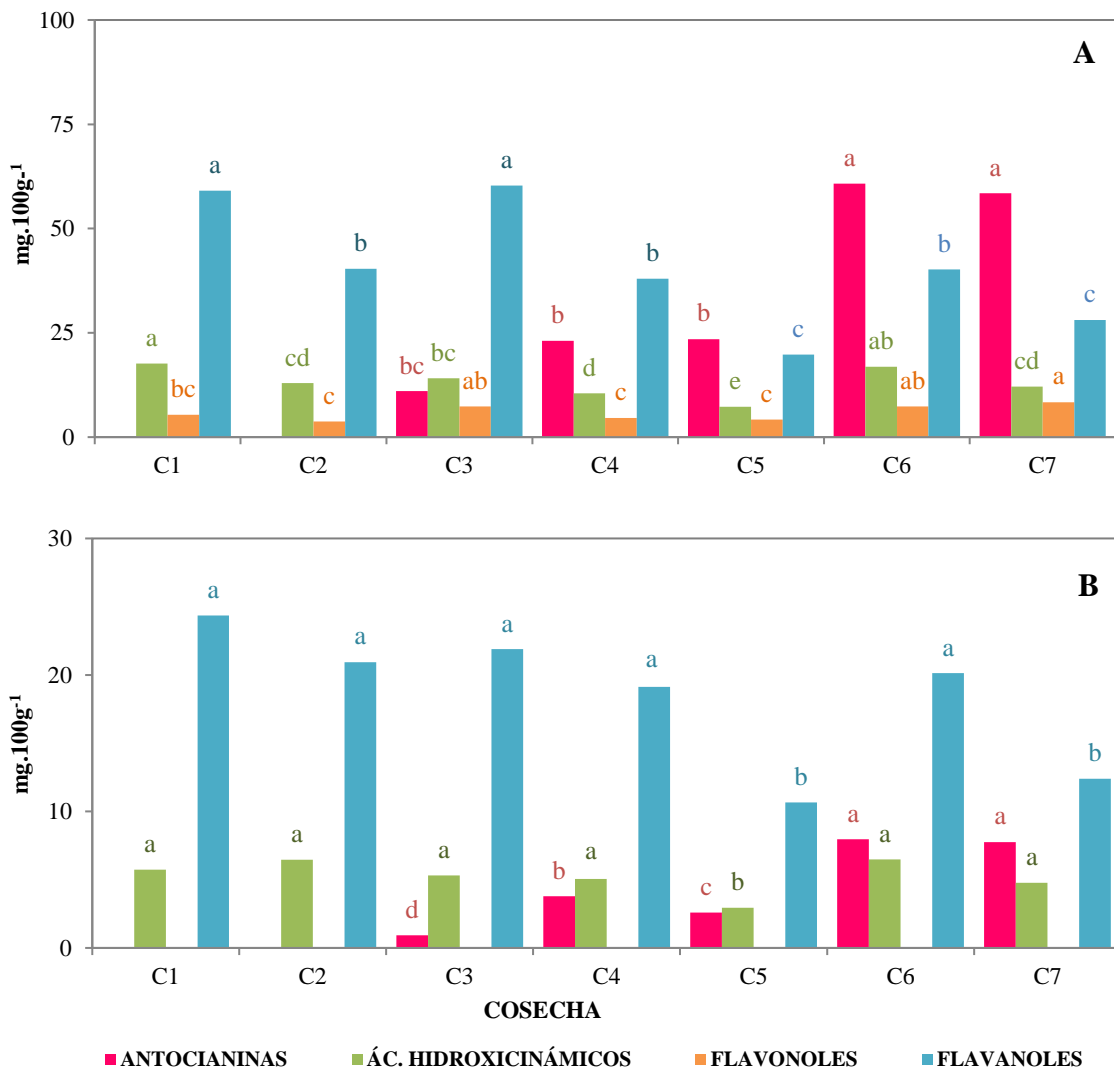


Fig.6. Evolución del contenido de compuestos fenólicos en piel (A) y en pulpa (B) de ciruela ‘Prime Time’ durante su maduración. Para cada variable, datos marcados con letras diferentes implican diferencias significativas entre fechas ($p < 0,05$ según el test de Tukey HSD).

La aplicación precosecha de jasmonato de metilo incrementa la calidad del pimiento verde en la recolección y durante la conservación

A. Dobón-Suárez¹, P.J. Zapata¹, M.J. Giménez¹, M. Gutiérrez-Pozo¹ y M.E. García-Pastor¹

¹ Departamento de Tecnología Agroalimentaria, EPSO, Universidad Miguel Hernández, Ctra. Beniel km. 3,2, 03312, Orihuela, Alicante, email: alicia.dobon@goumh.umh.es

Resumen

El jasmonato de metilo (JaMe) se encuentra de manera natural en plantas superiores y actúa como inductor o agente de señalización implicado en procesos fisiológicos y bioquímicos. Actualmente, existe poca información sobre el efecto del tratamiento precosecha con JaMe en la calidad del pimiento verde en el momento de la recolección y durante el almacenamiento postcosecha a 7 °C, siendo este el objetivo principal del presente estudio. En la campaña de cultivo de 2020, se analizaron los efectos de la pulverización foliar con JaMe a las concentraciones 0,1 y 1 mM sobre la tasa de respiración, calidad físico-química y funcional del pimiento verde, variedad ‘Herminio’. En base a los resultados obtenidos, en el año 2021 se aplicó nuevamente la concentración de JaMe más efectiva en la mejora de la calidad. Ambos experimentos, se llevaron a cabo en un invernadero localizado en El Raal (Murcia). Los resultados mostraron una tasa de respiración significativamente inferior en el momento de la recolección de los pimientos tratados con JaMe frente a los controles. Por otro lado, se observó un color verde más intenso, una mayor firmeza y un contenido en sólidos solubles totales y acidez total significativamente superior en el momento de la recolección en los pimientos tratados, principalmente a la concentración de 0,1 mM. El tratamiento con JaMe retrasó las pérdidas de calidad durante el almacenamiento postcosecha. Respecto al contenido de fenoles totales y actividad antioxidante total, dichos parámetros fueron estimulados significativamente en los pimientos tratados durante el almacenamiento, siendo la concentración 0,1 mM la que mostró los mejores efectos. Los resultados fueron corroborados en la campaña de cultivo de 2021 con la aplicación de JaMe 0,1 mM. En conclusión, la aplicación foliar de JaMe 0,1 mM mejora significativamente la calidad físico-química y funcional de los pimientos verdes en el momento de la recolección y retrasa las pérdidas de calidad durante 28 días de almacenamiento a 7 °C, resultando ser una estrategia precosecha interesante para aumentar el tiempo de almacenamiento.

Palabras clave: Almacenamiento, antioxidantes, color, firmeza, JaMe.

INTRODUCCIÓN

El pimiento (*Capsicum annuum* L.) es una hortaliza muy valorada por los consumidores a nivel mundial debido a sus propiedades organolépticas, físico-químicas y a su valor nutricional (Dobón-Suárez et al., 2021). A nivel comercial, el pimiento verde en fresco presenta unos atributos de calidad que determinan la decisión de compra de los consumidores. Dichos atributos se centran comúnmente en el tamaño, color y firmeza del pimiento verde. Además, esta hortaliza presenta un alto contenido en compuestos

antioxidantes como la vitamina C o ácido ascórbico, carotenoides y flavonoides, entre otros compuestos fenólicos (Raybaudi-Massilia et al., 2017; Dobón-Suárez et al., 2021). En la actualidad, se demandan productos que no sean nocivos para la salud humana y sean más respetuosos con el medio ambiente. Recientemente, se ha realizado una investigación sobre la aplicación de un tratamiento precosecha con ácido salicílico (AS) en pimiento verde, con la finalidad de aumentar el rendimiento del cultivo y la calidad del mismo en el momento de la recolección, así como el mantenimiento de la misma durante el almacenamiento postcosecha (Dobón-Suárez et al., 2021).

El jasmonato de metilo (JaMe) es una hormona vegetal endógena, derivada del ácido jasmónico (AJ). Dicho compuesto es sintetizado en la planta de forma natural e interviene en procesos fisiológicos de la misma como son la floración, la germinación y el crecimiento y desarrollo del fruto. Además, induce la resistencia sistémica adquirida (RSA) frente a estreses abióticos y bióticos. Actualmente, existen distintas investigaciones que evalúan el efecto del tratamiento postcosecha con JaMe sobre la reducción de la incidencia de daños por frío o chilling injury (CI) en pimiento (Wang et al., 2019; Fu et al., 2022). Sin embargo, solamente existe un estudio que evalúa la aplicación precosecha de JaMe sobre la reducción de los daños por frío (Venkatachalam et al., 2018). Por lo tanto, debido a la escasa información existente sobre el efecto del tratamiento precosecha con JaMe sobre la calidad del pimiento verde, el objetivo principal del presente trabajo de investigación es evaluar su efecto sobre los parámetros fisiológicos, físico-químicos y funcionales de la variedad ‘Herminio’ en el momento de la recolección y durante 28 días de conservación postcosecha.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental y material vegetal

En el presente estudio, se utilizó pimiento verde tipo ‘Lamuyo’, variedad ‘Herminio’, cultivado en una parcela experimental perteneciente a un invernadero comercial, localizado en El Raal (Murcia), durante las campañas de cultivo de 2020 y 2021. En el año 2020, se seleccionaron 130 plantas distribuidas en 5 bloques al azar (26 plantas por bloque) para cada tratamiento. Los tratamientos fueron: JaMe aplicado a dos concentraciones (0,1 y 1 mM) y control (plantas tratadas con agua destilada). En base a los resultados obtenidos en la primera campaña, en 2021 se aplicó la concentración de JaMe más efectiva en la mejora de los parámetros de calidad. Los tratamientos se aplicaron mediante pulverización foliar en 7 momentos claves del ciclo de cultivo del pimiento verde, separados por 21 días aproximadamente. Los pimientos fueron seleccionados de forma homogénea y se trasladaron al laboratorio del Grupo de Post-Recolección de Frutas y Hortalizas para su análisis y posterior almacenamiento postcosecha. Para cada muestreo, se realizaron lotes de tres réplicas ($n = 3$) con 5 pimientos por réplica (15 pimientos en total) para cada tratamiento. Los muestreos se realizaron tanto en el día de la recolección (día 0) como a los 7, 14, 21 y 28 días de conservación postcosecha a 7 °C. Los parámetros analizados fueron los siguientes: pérdida de peso, tasa de respiración, firmeza, color externo, sólidos solubles totales, acidez total, fenoles totales y actividad antioxidante total, tanto de la fase hidrosoluble como liposoluble, de los pimientos evaluados.

Pérdidas de peso, tasa de respiración, parámetros físico-químicos y funcionales

Las pérdidas de peso se determinaron semanalmente con ayuda de una balanza Radwag WLC 2/A2 (Radwag Wagi Elektroniczne). Los pimientos se pesaron el día de la recolección (día 0) para cada lote elaborado (7, 14, 21 y 28 días). Los resultados se expresaron en tanto por ciento (%) respecto al peso inicial (día 0) y como la media \pm ES para cada tratamiento. La tasa de respiración se cuantificó mediante un cromatógrafo de gases Shimadzu™ 14A (Kyoto, Japón) con un detector de conductividad térmica de acuerdo con el protocolo descrito por García-Pastor et al. (2020). Por otro lado, la firmeza se analizó en cada pimiento de forma individual utilizando un Texturómetro TAXT2i (Textura Analyzer, Stable Microsystems, Godalming, UK) y aplicando una deformación del 5 % en la superficie del pimiento. El color externo y el contenido en sólidos solubles totales (SST) y acidez total (AT) se evaluó de acuerdo el protocolo descrito por Dobón-Suarez et al. (2021) en pimiento verde. De igual forma, las determinaciones funcionales del contenido de fenoles totales y actividad antioxidante total, presente en la fase hidrofílica (AAT-H) y lipofílica (AAT-L) del extracto, se llevaron a cabo de acuerdo al protocolo citado anteriormente (Dobón-Suárez et al., 2021).

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de las diferentes determinaciones analíticas se expresaron como la media \pm ES de tres réplicas ($n = 3$). En el análisis estadístico, la fuente de variación fueron los tratamientos aplicados en ambas campañas de cultivo. En la campaña de 2020, se realizó una comparación de medias entre tratamientos a través de un análisis de varianza (ANOVA) para un nivel de significancia de $p < 0,05$ usando el test de Tukey-b. Por otro lado, durante la campaña de 2021 se realizó una comparación de medias usando el test *t*-Student para determinar si existían diferencias significativas para un nivel de significancia de $p < 0,05$ entre los pimientos tratados y controles. Dicho análisis estadístico se realizó con el paquete de software SPPSS v.17.0 para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los pimientos tratados con JaMe a ambas concentraciones (0,1 y 1 mM) mostraron una pérdida de peso significativamente inferior en comparación con los pimientos control a partir de los 14 días de conservación a 7 °C, observándose dicho efecto en ambas campañas de cultivo. El tratamiento con JaMe 0,1 mM fue el más efectivo retrasando las pérdidas de peso del pimiento verde durante el almacenamiento postcosecha (Tabla 1). Por otro lado, los pimientos tratados con JaMe, especialmente a la menor concentración ensayada, mostraron de forma significativa una menor tasa de respiración y, por tanto, una reducción en la actividad metabólica del pimiento verde. Dicha reducción fue observada tanto en el momento de la recolección como a lo largo de la conservación para ambas campañas de cultivo (Tabla 1).

El contenido de sólidos solubles totales (SST) y acidez total (AT) mostró una mejora significativa en el momento de la recolección y a los 28 días de almacenamiento en los pimientos recolectados de las plantas tratadas con JaMe 0,1 mM en ambas campañas de cultivo (Tabla 1). De igual modo, los pimientos tratados mostraron un color verde más intenso, reflejado por un menor ángulo hue, frente a los controles en el momento de la recolección y se mantuvo durante la conservación, destacando los pimientos tratados con JaMe 0,1 mM (Tabla 1). Los pimientos tratados con JaMe a ambas concentraciones, 0,1 y

1 mM, mostraron niveles de firmeza significativamente superiores frente los pimientos controles al final del periodo de conservación postcosecha (Tabla 1). Dichos resultados fueron repetidos durante la campaña de 2021 (Tabla 1). Respecto a la calidad funcional, el tratamiento con la concentración de 0,1 mM mostró una mejora significativa en ambos años experimentales en comparación con los pimientos control. De este modo, se observó un incremento significativo en el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante hidrosoluble y liposoluble por parte del tratamiento precosecha tanto en el momento de la recolección como a lo largo del almacenamiento en postcosecha (Tabla 1). Otro estudio reciente de investigación ha evaluado el efecto de JaMe aplicado en precosecha sobre el cultivo de granada ‘Mollar de Elche’, donde los resultados también mostraron una mejora de los parámetros físico-químicos de calidad del fruto (García-Pastor et al., 2020). Además, en dicho estudio se observó una mejora en la capacidad antioxidante total y los compuestos fenólicos por parte del tratamiento.

CONCLUSIONES

En conclusión, la aplicación precosecha de JaMe a la concentración de 0,1 mM mediante pulverización foliar podría ser una buena estrategia para la mejora de la calidad físico-química y funcional del pimiento verde en el momento de la recolección. Además, dicho tratamiento ha mostrado que es efectivo retrasando las pérdidas de calidad que ocurren en este tipo de hortaliza durante su conservación postcosecha prolongado de 28 días a 7 °C, conduciendo a un incremento en el tiempo de almacenamiento.

REFERENCIAS

- Dobón-Suárez, A., Giménez, M.J., García-Pastor, M.E., and Zapata, P.J. 2021. Salicylic Acid Foliar Application Increases Crop Yield and Quality Parameters of Green Pepper Fruit during Postharvest Storage. *Agronomy* 11: 2263.
- García-Pastor M.E., Serrano, M., Guillén, F., Giménez, M.J., Martínez-Romero, D., Valero, D., and Zapata, P.J. 2020. Preharvest application of methyl jasmonate increases crop yield, fruit quality and bioactive compounds in pomegranate ‘Mollar de Elche’ at harvest and during postharvest storage. *J. Sci. Food and Agric.* 100: 145-153.
- Fu, A., Zheng, Y., Lv, Y., Watkins, C.B., Bai, C., Ma, L., Yuan, S., Zheng, S., Jia, L., Gao, L., Wang, Q., Mu, J., and Zuo, J. 2022. Multi-omics analysis reveals specific modifications associated with reduced chilling injury in bell pepper fruit by methyl jasmonate. *Postharvest Biol. Technol.* 185: 111799.
- Raybaudi-Massilia, R., Suárez, A.I., Arvelo, F., Zambrano, A., Sojo, F., Calderón-Gabaldón, M.I., and Mosqueda-Melgar, J. 2017. Cytotoxic, antioxidant and antimicrobial properties of red sweet pepper (*Capsicum annuum* L. Var. Llanerón) extracts: In vitro study. *Int. J. Food Stud.* 6: 222-231.
- Venkatachalam, K., Thongbour, P., and Nagarajan, M. 2018. Effects of methyl jasmonate fumigation and packaging on chilling injury and physiochemical quality changes of stored green bell peppers. *Carpathian J. Food Sci. Technol.* 10: 120-132.
- Wang, Y., Gao, L., Wang, Q., and Zuo, J. 2019. Low temperature conditioning combined with methyl jasmonate can reduce chilling injury in bell pepper. *Sci. Hort.* 243: 434-439.

TABLAS

Tabla 1. Pérdida de peso, tasa de respiración, parámetros físico-químicos y funcionales del pimiento verde tratado con jasmonato de metilo (JaMe) a las concentraciones de 0,1 y 1 mM y no tratado (control) en el momento de la recolección y tras 28 días de almacenamiento a 7 °C. Los datos representados pertenecen a dos campañas de cultivo (año 2020 y 2021).¹

Parámetros	Días de conservación	Campaña 2020			Campaña 2021	
		Control	JaMe 0,1 mM	JaMe 1 mM	Control	JaMe 0,1 mM
Pérdida de peso (%)	0	-	-	-	-	-
	7	2,57 ± 0,26 ^a	2,43 ± 0,19 ^a	2,33 ± 0,14 ^a	1,52 ± 0,12 ^a	1,41 ± 0,06 ^a
	14	5,00 ± 0,34 ^b	3,69 ± 0,19 ^a	4,68 ± 0,36 ^{ab}	2,80 ± 0,08 ^b	2,29 ± 0,09 ^a
	21	6,29 ± 0,15 ^b	5,62 ± 0,15 ^a	5,73 ± 0,22 ^{ab}	5,06 ± 0,20 ^b	4,47 ± 0,11 ^a
	28	8,09 ± 0,22 ^b	6,91 ± 0,31 ^a	7,16 ± 0,32 ^{ab}	6,56 ± 0,17 ^b	5,84 ± 0,12 ^a
Tasa de respiración (mg CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)	0	93,51 ± 2,31 ^b	78,67 ± 3,39 ^a	82,03 ± 3,26 ^a	87,17 ± 4,64 ^b	71,05 ± 2,57 ^a
	7	18,78 ± 0,89 ^b	14,25 ± 0,51 ^a	16,84 ± 0,61 ^b	18,19 ± 0,67 ^b	14,65 ± 0,41 ^a
	14	15,59 ± 0,61 ^b	13,48 ± 0,30 ^a	13,44 ± 0,49 ^a	16,53 ± 0,38 ^b	12,65 ± 0,47 ^a
	21	14,39 ± 0,76 ^c	10,83 ± 0,29 ^a	11,94 ± 0,24 ^b	14,02 ± 0,52 ^b	11,21 ± 0,38 ^a
	28	12,41 ± 0,47 ^b	9,52 ± 0,35 ^a	10,21 ± 0,36 ^a	11,90 ± 0,34 ^b	10,04 ± 0,27 ^a
SST (g 100 g ⁻¹)	0	4,40 ± 0,06 ^a	4,68 ± 0,07 ^b	4,73 ± 0,04 ^b	3,99 ± 0,05 ^a	4,13 ± 0,02 ^b
	7	4,60 ± 0,07 ^a	4,83 ± 0,01 ^b	4,88 ± 0,04 ^b	4,04 ± 0,02 ^a	4,15 ± 0,03 ^b
	14	4,80 ± 0,01 ^a	5,00 ± 0,03 ^b	4,92 ± 0,02 ^b	4,10 ± 0,05 ^a	4,25 ± 0,02 ^b
	21	4,90 ± 0,08 ^a	5,55 ± 0,03 ^b	5,10 ± 0,09 ^a	4,20 ± 0,03 ^a	4,34 ± 0,03 ^b
	28	5,08 ± 0,08 ^a	5,72 ± 0,04 ^b	5,17 ± 0,07 ^a	4,37 ± 0,05 ^a	4,59 ± 0,04 ^b
AT (g 100 g ⁻¹)	0	0,20 ± 2 10 ^{-3a}	0,22 ± 4 10 ^{-3b}	0,21 ± 3 10 ^{-3b}	0,22 ± 4 10 ^{-3a}	0,24 ± 3 10 ^{-3b}
	7	0,19 ± 7 10 ^{-3a}	0,20 ± 7 10 ^{-3a}	0,20 ± 8 10 ^{-3a}	0,20 ± 6 10 ^{-3a}	0,22 ± 4 10 ^{-3b}
	14	0,17 ± 5 10 ^{-3a}	0,18 ± 6 10 ^{-3a}	0,17 ± 9 10 ^{-3a}	0,14 ± 5 10 ^{-3a}	0,18 ± 2 10 ^{-3b}
	21	0,16 ± 4 10 ^{-3a}	0,17 ± 4 10 ^{-3a}	0,16 ± 4 10 ^{-3a}	0,14 ± 3 10 ^{-3a}	0,16 ± 6 10 ^{-3b}
	28	0,14 ± 3 10 ^{-3a}	0,15 ± 2 10 ^{-3b}	0,15 ± 2 10 ^{-3b}	0,10 ± 5 10 ^{-3a}	0,12 ± 4 10 ^{-3b}
Color externo (° hue)	0	124,84 ± 0,36 ^b	121,47 ± 0,40 ^a	122,71 ± 0,78 ^{ab}	125,06 ± 0,28 ^b	121,58 ± 0,43 ^a
	7	126,96 ± 0,61 ^b	123,33 ± 0,63 ^a	124,64 ± 0,33 ^a	128,83 ± 0,39 ^b	125,51 ± 0,48 ^a
	14	127,69 ± 0,39 ^b	124,49 ± 0,83 ^a	126,30 ± 0,60 ^{ab}	128,56 ± 0,29 ^b	126,82 ± 0,34 ^a
	21	129,10 ± 0,81 ^b	125,54 ± 0,47 ^a	127,89 ± 0,36 ^{ab}	129,23 ± 0,21 ^b	127,68 ± 0,44 ^a
	28	132,50 ± 0,45 ^b	129,78 ± 0,27 ^a	130,70 ± 0,47 ^a	129,91 ± 0,17 ^b	128,27 ± 0,33 ^a
Firmeza (N mm ⁻¹)	0	3,90 ± 0,21 ^a	5,27 ± 0,15 ^b	4,54 ± 0,18 ^a	4,23 ± 0,21 ^a	4,97 ± 0,16 ^b
	7	3,75 ± 0,13 ^a	4,72 ± 0,18 ^b	3,93 ± 0,07 ^a	3,72 ± 0,19 ^a	4,51 ± 0,22 ^b
	14	2,89 ± 0,19 ^a	3,58 ± 0,10 ^b	3,35 ± 0,16 ^a	3,05 ± 0,17 ^a	3,95 ± 0,15 ^b
	21	2,24 ± 0,10 ^a	3,14 ± 0,17 ^b	2,74 ± 0,15 ^b	2,90 ± 0,09 ^a	3,54 ± 0,21 ^b
	28	1,45 ± 0,16 ^a	1,98 ± 0,08 ^b	1,81 ± 0,14 ^b	2,63 ± 0,07 ^a	2,98 ± 0,10 ^b
Fenoles totales (mg 100 g ⁻¹)	0	87,98 ± 1,09 ^a	96,15 ± 2,17 ^b	86,09 ± 1,94 ^a	67,87 ± 0,58 ^a	77,15 ± 0,81 ^b
	7	91,75 ± 1,73 ^a	97,97 ± 1,67 ^b	97,52 ± 1,71 ^a	75,02 ± 1,69 ^a	81,14 ± 1,44 ^b
	14	95,61 ± 1,43 ^a	100,57 ± 1,19 ^b	101,25 ± 1,37 ^b	77,82 ± 2,02 ^a	85,56 ± 1,84 ^b
	21	100,33 ± 1,71 ^a	111,96 ± 1,15 ^b	112,47 ± 1,74 ^b	84,52 ± 2,36 ^a	92,66 ± 1,63 ^b
	28	111,08 ± 1,69 ^a	117,00 ± 1,47 ^b	114,02 ± 1,83 ^{ab}	88,53 ± 1,10 ^a	94,66 ± 1,19 ^b
AAT-H (mg 100 g ⁻¹)	0	106,30 ± 5,74 ^a	123,81 ± 3,50 ^b	104,97 ± 0,53 ^a	110,22 ± 4,23 ^a	139,33 ± 4,45 ^b
	7	117,59 ± 2,09 ^a	134,83 ± 3,92 ^b	126,79 ± 2,50 ^b	128,59 ± 2,90 ^a	140,42 ± 3,10 ^b
	14	138,12 ± 2,81 ^a	150,17 ± 3,74 ^b	154,09 ± 3,89 ^b	131,25 ± 2,39 ^a	142,14 ± 2,60 ^b
	21	155,66 ± 3,26 ^a	167,05 ± 2,67 ^b	165,03 ± 1,51 ^b	142,33 ± 3,32 ^a	158,47 ± 4,57 ^b
	28	203,38 ± 4,52 ^a	245,00 ± 4,25 ^c	217,00 ± 2,54 ^b	174,00 ± 2,87 ^a	187,25 ± 4,15 ^b

AAT-L (mg 100 g ⁻¹)	0	19,12 ± 1,01 ^a	21,60 ± 1,55 ^a	18,74 ± 0,98 ^a	11,67 ± 0,44 ^a	15,04 ± 0,32 ^b
	7	21,50 ± 0,93 ^a	28,64 ± 1,76 ^b	20,79 ± 1,21 ^a	14,93 ± 0,42 ^a	22,48 ± 0,17 ^b
	14	23,36 ± 1,09 ^a	34,79 ± 2,13 ^b	26,62 ± 1,73 ^a	16,00 ± 0,18 ^a	27,09 ± 0,74 ^b
	21	30,62 ± 1,15 ^a	39,94 ± 1,07 ^b	30,28 ± 1,82 ^a	27,43 ± 0,31 ^a	30,01 ± 0,59 ^b
	28	32,97 ± 1,15 ^a	41,25 ± 1,74 ^b	34,57 ± 1,28 ^a	30,50 ± 0,24 ^a	38,54 ± 0,47 ^b

¹ Las letras muestran diferencias significativas entre los tratamientos evaluados para un nivel de significancia de $p < 0,05$ en cada una de las campañas de cultivo.

Evaluación de nuevos cultivares de ciruelas de tipo japonés con potencialidad para mercados de ultramar

F. De Benito¹, M.J. Serradilla², M.E. Guerra^{1*}

¹Área de Fruticultura Mediterránea. Instituto de Investigaciones Agrarias Finca La Orden-Valdesequera, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX), A-5, km 372, 06187, Guadajira, Badajoz

²Área de Postcosecha. Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura (INTAEX), Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, Avd. Adolfo Suarez s/n, 06071, Badajoz.

*mariaengracia.guerra@juntaex.es

Palabras clave: *Prunus salicina*, renovación varietal, maduración, etileno

Resumen

La exportación a ultramar de ciruelas de tipo japonés se ha convertido en una prioridad a nivel nacional pero especialmente para la industria hortofrutícola extremeña. El cv. Angeleno es uno de los más apreciados para mercados ultramar por su carácter climatérico suprimido y su maduración lenta. Sin embargo, este cultivar se caracteriza por garantizar una calidad mínima en destinos a ultramar, no cumpliendo las expectativas de los consumidores a nivel organoléptico. Los programas de mejora genética de la especie están trabajando, entre otros objetivos, en la obtención de nuevos cultivares con buena aptitud postcosecha para ultramar y buenas características organolépticas. En este trabajo se han evaluado tres nuevos cultivares de ciruelo japonés, ‘African Rose’, ‘Sunkiss’ y ‘African Delight’ procedentes del programa de mejora sudafricano ARC-Infruitec. Se ha evaluado su comportamiento climatérico así como sus características fisicoquímicas. Estos nuevos cultivares presentan características idóneas para la exportación a larga distancia; además, muestran fechas de recolección muy interesantes para los productores extremeños (‘African Rose’, 1-5 junio; ‘Sunkiss’, 10-15 julio; ‘African Delight’, 15-30 agosto). Estos resultados implementan la exportación a ultramar como una buena alternativa o complemento al cv. Angeleno. La renovación varietal, como escalón insalvable para el futuro de la ciruela de tipo japonés en España, pasa por el estudio de nuevos cultivares con potencial de exportación a ultramar y fechas precoces de recolección que haga frente a los bajos precios de esta fruta en las últimas campañas.

INTRODUCCIÓN

A pesar de que España ocupa el 17º lugar en área de cultivo destinada a ciruelo y el 14º en producción a nivel mundial, nos situamos como la segunda potencia en exportación de esta fruta (FAOSTAT, 2022), solo por detrás de Chile. A nivel nacional la producción

de ciruela se centra en el cultivo en Extremadura principalmente, atribuyéndose a esta comunidad autónoma el 55,3 % de la producción total nacional (MAPA, 2022).

La mayoría de la ciruela de tipo japonés (*Prunus salicina* L.) que se ha venido produciendo tradicionalmente está destinada al consumo en fresco (Okie, 2006) por lo que posibilitar su transporte a larga distancia en buenas condiciones se traduce en una importante salida económica para este frutal. A pesar de que la ciruela como especie se ha considerado climatérica (Abdi et al., 1997) pudiendo ser recolectada antes de la maduración y alargando así la posibilidad de exportación a largas distancias, se ha visto que hay algunos cultivares climatéricos suprimidos (Abdi et al., 1998; Zuzunaga et al., 2001) no pudiendo generalizarse por tanto este concepto a todos los cultivares. Este comportamiento diferencial en la misma especie se ha descrito en otros aspectos agronómicos como la respuesta a riego deficitario (Martín-Vertedor, 2010) pudiendo deberse a que el ciruelo de tipo japonés no es una especie pura sino que puede incluir hasta 15 especies de ciruelo en su genealogía (Okie y Weinberger, 1996). La importante renovación varietal en las últimas décadas en este frutal propicia desconocimiento en aspectos dispares como necesidades de polinización, agroclimáticas y comportamiento postcosecha. En este trabajo se planteó la necesidad de conocer el comportamiento climatérico de nuevos cultivares interesantes de ciruelo de tipo japonés como alternativa a los cultivares tradicionales mediante el estudio de su producción autocatalítica de etileno a través de la activación del sistema II mediante etileno exógeno.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal

Se seleccionaron y numeraron 100 frutos de siete cultivares de ciruelo de tipo japonés ('African Delight', 'Angelino', 'African Pride', 'African Rose', 'Golden Japan', 'Sundew' y 'Sunkiss') incluidos en la colección de cultivares del CICYTEX-La Orden. Cada uno de ellos fue recolectado en madurez comercial utilizando como referencia una firmeza media entre 3,5 y 4 Kg·cm⁻².

Comportamiento climatérico

Un total de 90 frutos sanos por cultivar, en lotes de 10 frutos cada uno, fueron colocados en 9 jarras de cristal de tres litros estancas con un septum de PTFE-butilo en la parte superior. Una vez introducido los frutos, antes de cerrar y sellar las jarras, también se introdujo un recipiente que contenía una solución de hidróxido de sodio de 1 N para controlar el exceso de CO₂ en el interior de las mismas. A continuación, se inyectaron 20 ml de etileno de tres concentraciones diferentes 10 ppm, 100 ppm y 1000 ppm, realizándose por triplicado para concentración y cultivar. Los frutos permanecieron en las jarras durante 24h a temperatura y humedad ambiental constante (21,1°C y 64%), realizándose mediciones de etileno con un cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama (FID) a T0 (medida inicial), T45 (transcurridos 45 minutos), T2 (transcurridas 2h) y T24 (transcurridas 24h). Además, para tener un control inicial y final de la calidad de los frutos tras la aplicación de etileno exógeno (100 ppm), se tomaron 10 frutos de cada cultivar al inicio y al final del ensayo y se determinó la firmeza con la ayuda de un penetrómetro de

campo, expresando los resultados como kg/cm². También se determinaron los sólidos solubles totales (SST) usando un refractómetro digital portátil PR-01 (Atago CO., LTD, Tokyo, Japan) y expresándose los resultados en °Brix. Finalmente, la acidez titulable (AT) se determinó con un valorador automático DL50 Graphix mediante valoración hasta pH 8,1, empleándose una disolución 0,1 N de NaOH, expresándose los resultados en gramos de ácido málico por 100 gramos de muestra.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tanto los nuevos cultivares ‘SunKiss’ y ‘African Rose’ mostraron un comportamiento climatérico suprimido al igual que los cultivares ‘Angelino’ y ‘Golden Japan’ (Tabla 1). Este carácter de climaterio suprimido le confiere a estos nuevos cultivares la potencial capacidad de aguantar largos periodo de almacenamiento, ya que no tienen respuesta al etileno exógeno que se pudiera concentrar en la cámara de almacenamiento o durante el transporte en barco.

En cuanto a los parámetros fisicoquímicos analizados (Tabla 2), se pudo observar que los frutos de los cultivares ‘SunKiss’ y ‘African Rose’, no mostraron grandes cambios ni en firmeza, SST y AT después de 24 horas tras la aplicación de etileno exógeno. Tres cultivares presentaron carácter climatérico (‘African Delight’, ‘African Pride’ y ‘Sundew’), observándose en el cultivar ‘African Delight’ pequeñas diferencias entre el inicio y el final del ensayo en cuanto a firmeza, SST y AT lo que muestra que aunque su carácter sea climatérico, este nuevo cultivar se caracterizaría por tener una maduración lenta. Por el contrario el cultivar ‘Golden Japan’ con climaterio suprimido presenta un proceso de maduración rápida por lo que los resultados obtenidos muestran que un comportamiento climatérico o climatérico-suprimido en cultivares de ciruelo de tipo japonés no son características determinantes para definir la capacidad de exportación a larga distancia de este frutal haciendo necesario el estudio expreso de cada cultivar que se pretenda exportar.

CONCLUSIONES

No todos los cultivares de ciruelo de tipo japonés pueden considerarse climatéricos ya que se ha visto que existen cultivares con diferentes comportamientos tanto climatéricos como climatéricos suprimidos y tanto con maduración lenta como rápida. La potencialidad de exportación a larga distancia de los cultivares de ciruelo de tipo japonés debe hacerse para cada cultivar de forma específica sin caer en generalizaciones para cubrir con éxito las necesidades del consumidor y los beneficios del productor.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el FEDER, mediante el proyecto sectorial de investigación RB-Fruit del CICYTEX-Finca La Orden.

BIBLIOGRAFÍA

Abdi, N., Holford, P., McGlasson, W. B., & Mizrahi, Y. (1997). Ripening behaviour and responses to propylene in four cultivars of Japanese type plums. *Postharvest Biology and Technology*, 12,21–34.

Abdi, N., McGlasson, W. B., Holford, P., Williams, M., & Mizrahi, Y. (1998). Responses of climacteric and suppressed-climacteric plums to treatment with propylene and 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology*, 14, 29-39

FAO STAT (Food and agriculture Organization of the United Nations); <https://www.fao.org>

MAPA (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación); <https://www.mapa.gob.es>

Martín-Vertedor, A. 2010. Tesis Doctoral. “Relaciones hídricas del olivo (cv. Morisca) y el ciruelo japonés (cvs. Red Beaut y Angeleno) en Extremadura”. Universidad de Extremadura

Okie, W.R. and Weinberger, J.H. 1996. Plums. p.559-607. In: J. Janick and J.N. Moore (eds.), *Fruit Breeding*. Wiley J. and Sons, New York.

Zuzunaga, M., Serrano, M., Martínez-Romero, D., Valero, D., & Riquelme, F. (2001a). Comparative study of two plum (*Prunus salicina* Lindl.) cultivars during growth and ripening. *Food Science and Technology International*, 7, 123–130

TABLAS

Tabla 1. Valores medios de etileno producidos por los diferentes cultivares estudiados en respuesta a la aplicación de etileno exógeno a inicio (T0) y al final del estudio (T24)

Cultivar	Comportamiento	Producción de etileno ($\mu\text{L}/\text{kg}\cdot\text{h}$)			
		Antes de aplicación (T0)	24 horas después de aplicación		
			10 ppm	100 ppm	1000 ppm
‘Angeleno’	Suprimido	0,12	0,02	0,05	0,03
‘Golden Japan’	Suprimido	0,00	0,01	0,02	0,06
‘SunKiss’	Suprimido	0,00	0,08	0,14	0,20
‘SunDew’	Climatérica	0,20	2,50	4,00	6,30
‘African Rose’	Suprimido	0,00	0,72	0,07	0,81
‘African Delight’	Climatérica	0,15	1,20	3,20	4,58
‘African Pride’	Climatérica	0,20	2,35	5,22	8,85

Tabla 2. Valores medios de firmeza, sólidos solubles totales (STT) y acidez titulable (AT) producidos por los diferentes cultivares estudiados en respuesta a la aplicación de etileno exógeno de 100 ppm al inicio (T0) y al final del estudio (T24)

Cultivares	Firmeza (kg/cm^2)		SST ($^{\circ}\text{Brix}$)		AT (% ác. málico)	
	Inicio	Final (24 horas)	Inicio	Final (24 horas)	Inicio	Final (24 horas)
‘Angeleno’	3,80	3,55	15,90	15,82	0,61	0,58
‘Golden Japan’	0,70	0,85	13,02	16,63	1,34	1,37
‘SunKiss’	2,98	3,28	15,57	15,63	0,89	0,90
‘SunDew’	2,43	2,10	14,77	15,13	0,82	0,90
‘African Rose’	3,32	3,26	15,90	16,85	1,12	1,12
‘African Delight’	3,84	3,78	16,45	16,85	0,62	0,59
‘African Pride’	3,27	2,70	14,45	14,73	1,10	1,16

Efecto de la aplicación precosecha de melatonina y ácido oxálico sobre la calidad estándar y bioactiva de cereza en poscosecha

D. Cortés-Montaña^{1*}, B. Velardo-Micharet¹, A. Fernández-León¹, M.J. Bernalte-García², P. Bañuls³, M.J. Serradilla¹.

¹ Área de Postcosecha, Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, Avenida Adolfo Suárez s/n, 06007, Badajoz.

² Departamento de Biología Vegetal, Ecología y Ciencias de la Tierra, Escuela de Ingenierías agrarias, Universidad de Extremadura Avd. Adolfo Suárez s/n, 06007, Badajoz.

³ Centro de Agricultura Ecológica y de Montaña, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, Avda. España, nº 43. 10600 Plasencia, Cáceres.

*daniel.cortes@juntaex.es

Resumen

El cerezo es un cultivo estratégico para el sector frutícola extremeño en términos de producción y comercialización. En la actualidad, la mayor parte de la producción se destina a la exportación a mercados europeos e internacionales, los cuales precisan de largos periodos de almacenamiento postcosecha bajo condiciones de refrigeración. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación precosecha de diferentes concentraciones de melatonina y ácido oxálico, sobre la calidad estándar y bioactiva de cerezas del cultivar temprano ‘Samba’ sometido a un largo periodo de almacenamiento postcosecha. Para ello, se realizaron aplicaciones precosecha de melatonina (0,3 y 0,5 mM) y de ácido oxálico (2 y 5 mM) en tres momentos claves del proceso de desarrollo y maduración de los frutos (endurecimiento de hueso, cambio de color y cinco días antes de recolección comercial). Tras la recolección comercial, las cerezas fueron almacenadas durante 28 días a 1 °C y 90-95 % de humedad relativa, analizándose la calidad estándar (peso, calibre, firmeza, color de piel y pulpa, sólidos solubles totales y acidez) y bioactiva (compuestos fenólicos) al inicio y final del almacenamiento. La conclusión principal de este estudio fue que los tratamientos con melatonina y ácido oxálico mantuvieron la calidad estándar y mejoraron las propiedades bioactivas de las cerezas después de 28 días de almacenamiento en refrigeración, en comparación con los frutos del lote control.

Palabras clave: *Prunus avium* L, elicitores, refrigeración, calidad, fitoquímicos.

INTRODUCCIÓN

Para el sector frutícola extremeño, el cerezo (*Prunus avium*, L) es un cultivo estratégico en términos de producción y comercialización. La mayor parte de la producción se exporta a mercados europeos e internacionales, y ello requiere largos periodos de almacenamiento bajo condiciones de refrigeración. Los cultivares tempranos son de especial interés, porque debido a su precocidad alcanzan elevados precios en los mercados.

La aplicación precosecha de elicitores como herramienta para mantener la calidad de los productos vegetales ha despertado un gran interés entre la comunidad científica. Diferentes estudios han concluido que la aplicación de melatonina (MT) en cereza tiene una repercusión sobre la tasa respiratoria, firmeza, contenido en compuestos bioactivos, así como sobre la actividad antioxidante química y enzimática (Xu et al., 2019; Carrión-Antolí

et al., 2022). De igual modo, aplicaciones de ácido oxálico (AO) entre 0,5 y 2 mM en precosecha en cereza han dado lugar a un incremento en el tamaño y en el contenido de compuestos bioactivos (Martínez-Esplá et al., 2014).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación precosecha de diferentes concentraciones de MT y AO, sobre la calidad estándar y compuestos bioactivos de cerezas del cultivar temprano ‘Samba’ sometido a 28 días de almacenamiento poscosecha.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal y diseño experimental

Se utilizaron cerezas del cultivar ‘Samba’ procedente de árboles con trece años de edad, injertados sobre el patrón ‘Rebollo’ (*Prunus avium*, L.), localizados en una finca comercial a 400 m de altitud en el término municipal de Cabrero (Cáceres, España). Se emplearon 3 árboles por tratamiento (CO (control), MT (0,3 y 0,5 mM) y AO (2 y 5 mM)). Las aplicaciones se realizaron mediante pulverización foliar, en los momentos claves de desarrollo y maduración de los frutos (endurecimiento del hueso, cambio de color y cinco días antes de la recolección comercial).

Tras la recolección, las cerezas fueron trasladadas a la central hortofrutícola mediante transporte refrigerado. Se realizó una selección en base al calibre, color de piel y ausencia de defectos mediante clasificación electrónica (Cherryway, MAFRODA, Valencia, España). Además, se sometieron a un preenfriamiento por “hydrocooling” mediante inmersión en agua a 3 °C, conteniendo 60 ppm de cloro (pH=7), pasando la pulpa de la cereza de 20 °C a 3 °C. Las muestras se analizaron por triplicado. Se tomó una muestra al azar de 15 frutos, por tratamiento, para la caracterización inicial. El resto, se dividió en lotes homogéneos y se almacenaron en condiciones de atmósfera ordinaria en cámara frigorífica a 1 °C y 90-95% HR durante 28 días.

Calidad estándar

El peso se determinó con una balanza electrónica Mettler Toledo PB 1502 (Mettler Toledo, Madrid, España). Para el calibre se tomaron las medidas a la altura de los hombros de las cerezas (calibre máximo) con un calibrador “ABS Digimatic” digital. La acidez titulable (AT) y el contenido en sólidos solubles (CSS) se evaluó en 3 homogenizados por tratamiento (n=3). Para la AT se pesaron 3 g de homogenizado y se añadió agua destilada hasta un volumen de 60 mL. Las valoraciones se llevaron a cabo con un valorador automático Mettler Toledo T-50 Graphix (Mettler Toledo, Coslada, Madrid, España), empleando una disolución 0,1 N de NaOH, y los resultados se expresaron en g de ácido málico por 100 g de muestra fresca. Para cuantificar el CSS se empleó un refractómetro digital portátil PR-01 (Atago CO., LTD, Tokyo, Japan), expresándose los resultados en °Brix. La determinación de la firmeza se realizó mediante un ensayo de compresión al 3% sobre fruto entero, con un plato de 25 mm de diámetro y base plana, utilizando un Texturómetro Stable Micro Systems TAXT2i (Anname, Pozuelo, Madrid, España). La velocidad de desplazamiento fue de 0,2 mm·s⁻¹, se registró la fuerza máxima (N) y, a partir de la curva de fuerza-deformación, se calculó la pendiente de la curva (N·mm⁻¹). Se determinó el color, de piel y pulpa, en las dos caras opuestas del fruto con un colorímetro de reflectancia Minolta CR-400 (Minolta Cámara Co, Osaka, Japón) (Iluminación de 65/0° observador estándar 0,8 cm puerto/área de visualización).

Compuestos bioactivos

El análisis de los compuestos bioactivos se realizó a partir de frutos congelados a -80 °C. La identificación y cuantificación de compuestos fenólicos se realizaron por HPLC-DAD/FLD siguiendo el método descrito por Manzano et al., (2020).

Análisis estadístico

Los resultados fueron sometidos a un análisis de la varianza (ANOVA) mediante el programa SPSS 21.0 para Windows. En los casos en los que presentaron diferencias significativas, se realizó el test Tukey, para comparación múltiple de medias. Se empleó un nivel de confianza del 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las cerezas fueron seleccionadas por calibre, utilizándose para el estudio las superiores a 24 mm. Presentaron un peso y calibre medios de 10 g y 28 mm a día 0, sin mostrar diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos a lo largo del almacenamiento (datos no mostrados). En el momento de la recolección comercial, no hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos para los parámetros AT y CSS. La AT media fue de 0,58 g de ácido málico/100 g y el CSS medio 15,9 °Brix. Nuestros resultados coinciden con los obtenidos por Tijero et al. (2019) con aplicaciones precosecha de MT y por Martínez-Esplá et al. (2014) con AO. Sin embargo, después de 28 días de almacenamiento, solamente se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) a nivel de AT entre AO5 y CO (Tabla 1). Una menor pérdida de acidez es indicativa de un retraso en la senescencia. Por otro lado, la textura no se vio afectada por los tratamientos precosecha. El valor medio de la firmeza fue de 1,27 ($N \cdot mm^{-1}$) el día 0 y 1,74 ($N \cdot mm^{-1}$) después de 28 días de almacenamiento. En cuanto al color (Tabla 1) en el caso de la piel, no se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos. Sin embargo, para la pulpa a día 0, el color de CO fue más intenso y con diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al AO2. Tras 28 días de almacenamiento, la pulpa de las cerezas CO perdió intensidad de color, con diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a MT05 y AO2, los cuales poseían pulpas más pigmentadas.

En cuanto los compuestos bioactivos, dentro de los ácidos hidroxicinámicos se identificaron el neoclorogénico (NC), clorogénico y p-cumárico (Fig. 1). El NC fue el mayoritario y característico de este cultivar. Además, se identificaron un total de cuatro antocianinas, la cianidina 3-*O*-glucósido, cianidina 3-*O*-rutinósido (C-3-R), peonidina 3-*O*-glucósido y peonidina 3-*O*-rutinósido, siendo la mayoritaria la C-3-R. Finalmente, dentro de los flavonoles, sólo se identificó y cuantificó la quercetina 3-*O*-rutinósido o rutina. A día 0, el contenido en ácidos hidroxicinámicos fue mayor ($p < 0,05$) para el tratamiento MT0,5. Las cerezas de los tratamientos MT0,3, MT0,5 y AO5 tuvieron un menor contenido en antocianinas, con diferencias significativas ($p < 0,05$) respecto a CO. Esta menor síntesis de pigmentos podría estar relacionada con un retraso en la maduración. Tijero et al. (2019) mostraron que la aplicación de melatonina en precosecha provoca un retraso en la acumulación de antocianinas, lo que confirma el papel regulador e inhibidor sobre la maduración de esta fruta. Además, el contenido en flavonoles fue significativamente menor para MT0,5 y AO5. Al final del almacenamiento, todos los tratamientos consiguieron mantener, o incluso incrementar, el contenido en compuestos bioactivos con respecto al CO, el cual disminuyó su contenido. Los tratamientos precosecha con MT y AO mostraron un mayor contenido en compuestos fenólicos, especialmente en

ácidos hidroxicinámicos, con diferencias significativas ($p < 0,05$) respecto a CO, tras 28 días de almacenamiento. Por otro lado, está descrito que los tratamientos con MT mejoran la conservación postcosecha de la cereza debido al incremento de la actividad antioxidante enzimática y no enzimática (Xu et al., 2019). También, Martínez-Esplá et al. (2014) demostraron que los tratamientos con AO consiguen incrementar las características bioactivas de las cerezas debido al aumento de los compuestos fenólicos y de la actividad antioxidante. Está demostrado el efecto beneficioso que ejercen los compuestos fenólicos sobre la salud y sobre el retraso de los procesos oxidativos (Serradilla et al., 2017). Por ello, incrementar la presencia de estos compuestos en los alimentos y en la dieta puede contribuir a una mejora de la salud y de la calidad de vida.

CONCLUSIONES

La aplicación precosecha de MT y de AO mediante pulverización foliar se plantea como una herramienta eficaz para mantener y mejorar la calidad estándar y la composición bioactiva de cerezas tempranas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Junta de Extremadura y al Fondo Europeo de Desarrollo Regional por el apoyo económico a través del Proyecto GR21193. Daniel Cortés Montaña contó con un contrato predoctoral asociado al proyecto RTA2017-000092 y a la ayuda PRE2018-084891 MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y por FSE invierte en tu futuro.

REFERENCIAS

- Carrión-Antolí, A.; Lorente-Mento, J.M.; Valverde, J.M.; Castillo, S.; Valero, D.; Serrano, M. 2022. "Effects of Melatonin Treatment on Sweet Cherry Tree Yield and Fruit Quality". *Agronomy*, Vol. 12, 3.
- Manzano Durán R., E. Fernández Sánchez J., Velardo-Micharet B., Rodríguez Gómez M.J. 2020. "Multivariate optimization of ultrasound-assisted extraction for the determination of phenolic compounds in plums (*Prunus salicina* Lindl.) by HPLC", *Instrumentation Science & Technology*, Vol. 48:2, 113-127.
- Martínez-Esplá, A., Zapata, P.J., Valero, D., García-Viguera, C., Castillo, S., Serrano, M., 2014. Preharvest application of oxalic acid increased fruit size, bioactive compounds and antioxidant capacity in Sweet Cherry cultivars (*Prunus avium* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62: 3432–3437.
- Serradilla, M.J., Aksic, M.F., Manganaris, G.A., Ercisli, S., González-Gómez, D., Valero, D. 2017. "Fruit chemistry, nutritional benefits and social aspects of cherries", en: Quero-García, J., Iezzoni, A., Pulawska, J., Lang, G. (Eds.), *Cherries: Botany, Production and Uses*. CABI:Wallingford, UK; pp. 420–441.
- Tijero V., Muñoz P., Munné-Bosch S. 2019. "Melatonin as an inhibitor of sweet cherries ripening in orchard trees", *Plant Physiology and Biochemistry*, Vol. 140, pp 88-95.
- Xu T., Chen Y., Kang H. 2019. "Melatonin is a potential target for improving post-harvest preservation of fruits and vegetables". *Frontiers in Plant Science* Vol.10:1–14.

Tabla 1. Valores medios \pm error estándar de acidez titulable (AT), contenido en sólidos solubles (CSS), firmeza (N/mm) y color de piel y pulpa (a*/b*). Para cada día de análisis, letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, según el test de Tukey.

	Día	Control	Melatonina (0,3 mM)	Melatonina (0,5 mM)	A. Oxálico (2 mM)	A. Oxálico (5 mM)
AT (% Ác. Málico)	0	0,586 \pm 0,005	0,577 \pm 0,004	0,567 \pm 0,007	0,585 \pm 0,002	0,579 \pm 0,005
	28	0,486 \pm 0,003 ^{bc}	0,510 \pm 0,014 ^{ab}	0,487 \pm 0,004 ^{bc}	0,483 \pm 0,017 ^c	0,544 \pm 0,011 ^a
CSS (°Brix)	0	16,900 \pm 0,100	15,567 \pm 0,437	15,600 \pm 0,058	15,800 \pm 0,643	15,700 \pm 0,173
	28	14,367 \pm 0,033	14,200 \pm 0,458	15,000 \pm 0,404	15,433 \pm 0,176	14,000 \pm 0,208
Firmeza (N/mm)	0	1,330 \pm 0,046	1,259 \pm 0,041	1,307 \pm 0,044	1,195 \pm 0,044	1,244 \pm 0,040
	28	1,798 \pm 0,136	1,714 \pm 0,089	1,667 \pm 0,074	1,758 \pm 0,077	1,750 \pm 0,051
Color de piel (a*/b*)	0	3,035 \pm 0,061	3,023 \pm 0,081	3,092 \pm 0,056	2,922 \pm 0,054	3,024 \pm 0,083
	28	2,463 \pm 0,111	2,497 \pm 0,066	2,496 \pm 0,068	2,389 \pm 0,044	2,639 \pm 0,034
Color de pulpa (a*/b*)	0	2,054 \pm 0,082 ^a	1,881 \pm 0,087 ^a	1,723 \pm 0,129 ^{ab}	1,464 \pm 0,110 ^b	1,669 \pm 0,089 ^{ab}
	28	1,695 \pm 0,067 ^c	1,758 \pm 0,050 ^{bc}	2,177 \pm 0,068 ^a	2,001 \pm 0,075 ^{ab}	1,734 \pm 0,046 ^c

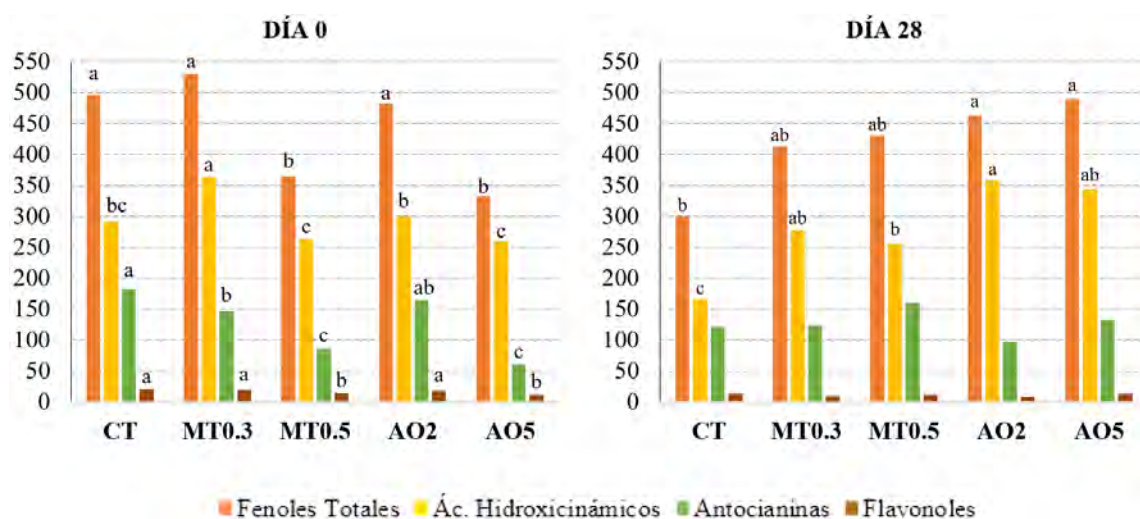


Fig.1. Valores medios expresados en $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de fenoles totales, ácidos hidroxicinámicos totales, antocianinas totales y flavonoles totales, obtenidos mediante HPLC. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos para cada una de las variables de estudio y fecha, según el test de Tukey.

Efeito das práticas culturais e do método de conservação na qualidade organolética da maçã de Alcobaça

Claudia Sánchez^{1*}, J. Neto¹, D. Garcia¹, Ana Cristina Ramos^{1,3}, Cláudia S. Tavares², Ana Cristina Figueiredo²

¹INIAV, IP, Estação Nacional de Fruticultura Vieira Natividade, Estrada de Leiria, 2460-059 Alcobaça, Polo Oeiras, Quinta do Marquês 2784-505 Oeiras, Portugal. claudia.sanchez@iniav.pt

²CESAM Lisboa, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, DBV, C2, Campo Grande, 1749 016 Lisboa, Portugal

³GeoBioTec, Universidade Nova de Lisboa, Portugal

RESUMO

A maçã de Alcobaça, produzida na região Oeste de Portugal, associada a um sabor e aroma característicos, resultantes das condições edafoclimáticas da região, tem uma elevada procura nos mercados nacional e internacional. É reconhecida a influência das técnicas culturais de pré-colheita e de conservação pós-colheita nas características de qualidade dos frutos. Este trabalho avaliou a influência dos fatores culturais (fertilização azotada e irrigação em excesso) e dos métodos de conservação, na qualidade gustativa e organolética da Maçã de Alcobaça, variedade ‘Royal Gala’. Foram realizados ensaios em dois pomares e em três condições de conservação: Atmosfera Controlada + 1-Metilciclopropeno (AC+1-MCP), AC Dinâmica (ACD) e ACD+1-MCP. Os frutos foram analisados à colheita (T0) e após 8 meses de conservação (T8). Foi determinado o índice de qualidade (IQ) gustativa dos frutos, em função do teor de açúcares e da acidez, e o seu perfil volátil e sensorial.

O cálculo do IQ evidenciou um decréscimo, relativamente aos controlos, como consequência da aplicação de azoto ou rega em excesso. O perfil volátil das maçãs analisadas em T0 foi caracterizado pela dominância de *trans*, *trans*- α -farneseno e de acetato de hexilo. Na análise sensorial, as maçãs conservadas em ACD+1-MCP apresentaram maior pontuação na qualidade global e intenção de compra.

Palavras-chave: *Malus domestica*; rega; fertilização azotada; atmosfera controlada; aroma

INTRODUÇÃO

Produzida nos concelhos do litoral Oeste, a Maçã de Alcobaça é um produto nacional qualificado como IGP (Indicação Geográfica Protegida) pela União Europeia e pelo Ministério da Agricultura (Regulamento CEE nº 2081/92). A Maçã de Alcobaça inclui diferentes variedades, sendo a variedade ‘Royal Gala’ aquela com maior procura no mercado nacional e internacional. Regra geral, esta variedade apresenta uma polpa branca, doce, pouco ácida, sumarenta e igualmente consistente, tornando-a desta forma muito atrativa (Clube Maçã de Alcobaça, 2020).

O azoto é um elemento essencial para o desenvolvimento de qualquer cultura. No caso particular da macieira, a falta de azoto resulta em frutos de pequeno calibre e limita a sua produtividade. Contudo, quando aplicado em excesso, pode diminuir a qualidade dos frutos, devido a coloração indesejada, firmeza da polpa e teor de açúcares insuficientes, desenvolvimento de podridões e outros problemas de conservação (Cheng & Schupp, 2004).

Relativamente à rega, o défice hídrico moderado, quando induzido na fase final de desenvolvimento do fruto, permite a otimização da qualidade e produção. No entanto, aplicada em excesso, apesar de aumentar o calibre dos frutos, afeta negativamente a

firmeza, bem como a produção de compostos voláteis responsáveis pelo aroma e sabor dos frutos, e aumenta a sua suscetibilidade a alterações patológicas e fisiológicas (Nemeskéri, 2007).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade e propriedades organolépticas das maçãs da variedade 'Royal Gala', colhidas em 2019 e obtidas de quatro modalidades de campo diferentes de fertilização azotada e rega, em dois locais diferentes. Pretendeu-se ainda, avaliar o impacto de oito meses de conservação em câmara frigorífica sob diferentes condições, por comparação do índice de qualidade gustativa, do perfil volátil (aroma) e das propriedades sensoriais.

MATERIAL E MÉTODOS

As maçãs (*Malus domestica* Borkh.), variedade 'Royal Gala', colhidas em 2019 foram obtidas de dois Produtores (P1 e P2) de acordo com diferentes modalidades agrícolas de produção: i) controlo com rega e azoto normal (RNAN), ii) rega normal e azoto em excesso (RNAE), iii) rega em excesso e azoto normal (REAN), iv) rega e azoto em excesso (REAE). A rega e fertilização azotada normais correspondem às quantidades recomendadas nas Normas Técnicas para a Produção Integrada de Pomóideas. O excesso de azoto consistiu na aplicação de 120 kg N/ha e a rega em excesso no incremento do teor de água no solo até exceder a capacidade de campo. A avaliação foi realizada no momento da colheita (T0), e após 8 meses (T8) de conservação em câmara frigorífica sob diferentes condições: A: Atmosfera controlada + 1-metilciclopropeno (AC+1-MCP), B: Atmosfera controlada dinâmica (ACD) e C: Atmosfera controlada dinâmica + 1-metilciclopropeno (ACD+1-MCP).

A análise qualitativa dos frutos consistiu na determinação da dureza, teor de sólidos solúveis (SST) e acidez titulável (AT)). A partir dos valores de SST e AT calculou-se o índice de qualidade (IQ) gustativa dos frutos, segundo a fórmula: $IQ = SST (g/L) + 10 AT (g/L)$.

A extração da componente volátil foi realizada por microextração em fase sólida (SPME), à temperatura ambiente, como detalhado em Machado et al. (2021). Cada extração foi realizada em duplicado, utilizando-se duas amostras coletivas, por condição de análise, com 7 frutos intactos cada. Os voláteis extraídos foram analisados por Cromatografia Gasosa (GC) e por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (GC-MS), e utilizados na análise estatística, de acordo com o detalhado em Machado et al. (2021). Os voláteis emanados nas diferentes amostras analisadas (índice de emanação) foram analisados como detalhado em Tavares (2020).

Os lotes das amostras no momento da colheita (T0) e após 8 meses de conservação (T8), foram avaliados sensorialmente por um painel de 8 provadores semi-treinados atendendo aos parâmetros aspeto, cor, textura, sabor e aroma, e ainda quanto à qualidade global (QG) e intenção de compra (IC) (ficha de prova).

Os dados foram processados através do software AgroEstat, utilizando a análise de variância seguida pelas comparações múltiplas das médias por meio do Teste de Tuckey, para um nível de significância de 5% e 1%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos da análise dos parâmetros físico-químicos de qualidade não mostraram diferenças significativas na dureza dos frutos, como consequência dos tratamentos aplicados, com exceção dos frutos submetidos à rega em excesso (REAN), nos quais a dureza foi ligeiramente inferior comparativamente ao controlo (Tabela 1). Em geral, os frutos do produtor P2 apresentaram valores de dureza mais baixos que os do produtor P1. Relativamente ao teor de sólidos solúveis totais, verificou-se uma diminuição significativa do conteúdo de açúcares nos frutos submetidos ao excesso de

azoto (Tabela 1). No caso do produtor P2, esta diminuição foi mais acentuada, à semelhança do observado para os valores de AT. Outros estudos em ‘Golden Delicious’ comprovam o efeito negativo do azoto na AT (Raese et al., 2007). Valores baixos de acidez titulável à colheita podem resultar em frutos insípidos, que não cumprem os padrões de qualidade exigidos pelo mercado depois da conservação (Musacchi & Serra, 2017). Em concordância, o cálculo do índice de qualidade gustativa (IQ) mostrou valores inferiores nos frutos submetidos ao excesso de azoto (Fig. 1). Segundo Trigueiros (1993) aceita-se o valor de 170 para o IQ como mínimo à colheita, sendo um IQ igual ou superior a 180 o mais aconselhado. Os frutos da modalidade RNAE e REAE não cumpriram os requisitos mínimos de qualidade gustativa à colheita (Fig. 1).

Após 8 meses de conservação, em geral, o IQ foi inferior nos frutos submetidos a ambos excessos, em comparação aos controlos, e independentemente das condições de conservação (Fig. 2). Para todas as modalidades de campo estudadas, os frutos conservados em condições de ACD+1-MCP foram os que apresentaram maiores valores de IQ gustativa.

Os resultados da análise da componente volátil de cada uma das amostras coletivas, agrupadas por produtor, modalidade agrícola e método de conservação, revelaram uma predominância de 10 compostos. A variação percentual dos compostos voláteis dominantes está listada na Tabela 2, de acordo com a sua ordem de eluição numa coluna DB-1, após extração e dessorção da fibra por SPME-GC, e caracterizou-se pela dominância de *trans*, *trans*- α -farneseno e de 2-etil-1-hexanol, para todas as maçãs analisadas.

A composição percentual dos voláteis extraídos por SPME foi utilizada na determinação da relação entre as diferentes amostras por análise aglomerativa em grupos, evidenciando dois grupos (clusters), clusters A e B, quimicamente muito correlacionadas (Scor > 0,88), Fig. 3. O dendrograma, Fig. 3, mostra as amostras agrupadas consoante o momento temporal, ou seja, as amostras analisadas após 8 meses de conservação (T8) constituem o cluster A e as amostras analisadas após colheita (T0) constituem o cluster B. As amostras do cluster B, no geral, agruparam-se consoante as condições de conservação, independentemente do produtor e das condições de cultura. Independentemente da modalidade de campo, e do método de conservação utilizado, o armazenamento por 8 meses levou a um decréscimo no índice de emanação, com o método C a revelar o efeito mais negativo sobre a emanação dos voláteis.

A análise sensorial, através da avaliação de determinados parâmetros tem por fim a determinação da qualidade global (QG) do produto com reflexo na intenção de compra (IC). Tendo por base a avaliação destes dois índices, à colheita obtiveram-se em todas as modalidades pontuações de (QG) acima do valor 3, valor considerado suficiente (Fig 4a). Contudo, nos frutos submetidos aos excessos de rega ou azoto verificaram-se valores inferiores que nos respectivos controlos, especialmente nas modalidades com excesso de azoto (Fig 4a). Ao fim de 8 meses de conservação, foram poucas as maçãs que, comparativamente com a avaliação à colheita, obtiveram pontuações de (QG) acima do valor 3, verificando-se a mesma tendência para a Intenção de Compra (IC) (Fig.4 a e b).

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo permitem confirmar o efeito prejudicial da rega e fertilização azotada excessivas na qualidade da maçã de Alcobaça. De facto, o cálculo do IQ evidenciou um decréscimo, relativamente aos controlos, como consequência da aplicação de azoto ou rega em excesso no mês antecedente à colheita. Este efeito verificou-se quer à colheita quer após o período de conservação. O perfil volátil das maçãs analisadas em T0 foi caracterizado pela dominância de *trans*, *trans*- α -farneseno e

de acetato de hexilo. Independentemente da modalidade de campo e do método de conservação utilizado, o armazenamento por 8 meses levou a um decréscimo na emanação de voláteis. Na análise sensorial, as maçãs conservadas em ACD+1-MCP apresentaram maior pontuação na qualidade global e intenção de compra.

AGRADECIMENTOS

Ao Projeto PDR2020-101-031742, “SafeApple - Conservação da Qualidade da Maçã de Alcobaça: objetivo resíduos zero”, financiado pela República Portuguesa e a União Europeia através do Programa de Desenvolvimento Rural 2014-2020, e aos parceiros envolvidos. À Carolina Ferro Rodrigues no apoio às análises de 2018 e 2019. À FCT/MCTES pelo apoio financeiro ao CESAM UIDP/50017/2020+UIDB/50017/2020+LA/P/0094/2020 e ao GeoBioTec UIDP/04035/2020 através de fundos nacionais.

REFERÊNCIAS

- Clube Maçã de Alcobaça – www.maca.pt (consultado em abril de 2022).
- Cheng, L., & Schupp, J. (2004). Nitrogen Fertilization of Apple Orchards. *New York Fruit Quarterly*, Volume 12 Number 1, 22–25.
- Machado, A.M., Antunes, M., Miguel, M.G., Vilas-Boas, M., Figueiredo A.C. 2021. Volatile profile of Portuguese monofloral honeys: significance in botanical origin determination. *Molecules* 26: 4970.
- Musacchi, S., & Serra, S. (2017). Apple fruit quality: Overview on pre-harvest factors. *Scientia Horticulturae*, 234, 409–430. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.12.057>
- Nemeskéri, E. (2007). Water relations of apple and influence on fruit quality (minireview). *International Journal of Horticultural Science*, 13, 59–63.
- Raese, J. T., Drake, S. R., & Curry, E. A. (2007). Nitrogen fertilizer influences fruit quality, soil nutrients and cover crops, leaf color and nitrogen content, biennial bearing and cold hardiness of “Golden Delicious.” *Journal of Plant Nutrition*, 30(10), 1585–1604. <https://doi.org/10.1080/01904160701615483>
- Regulamento (CEE) nº 2081/92 do Conselho, de 14 de Julho de 1992, relativo à proteção das indicações geográficas e denominações de origem dos produtos agrícolas e dos géneros alimentícios. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*, L 208 /1, 24. 7. 92.
- Tavares, C. 2020. Relatório de atividades de prestação de serviços no âmbito do Projeto *SafeApple - Conservação da Qualidade da Maçã de Alcobaça: objetivo resíduos zero* (PDR2020-101-031742). Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa (FCUL).
- Trigueiros, J. J. de B. L. (1993). *Manual de Tecnologias de Colheita*. Sociedade Portuguesa de Inovação.

TABELAS

Tabela 1 - Valores médios (\pm desvio padrão, n=20) dos parâmetros qualitativos dureza, teor de sólidos solúveis totais (SST) e acidez titulável (AT) dos frutos dos produtores P1 e P2 à colheita. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre modalidades do mesmo pomar.

Modalidade	Dureza (Kg/cm ²)	SST (°Brix)	AT (g ác. málico/L)
RNAN-P1	6,69 \pm 0,58a*	13,48 \pm 0,62a*	4,12 \pm 0,31a
REAN- P1	6,16 \pm 0,72b*	13,16 \pm 1,00ab*	4,20 \pm 0,24a
REAE-P1	6,62 \pm 0,48a*	12,84 \pm 0,58b*	4,00 \pm 0,34a
RNAN-P2	5,80 \pm 0,78a	13,33 \pm 0,83a**	3,61 \pm 0,12a**
RNAE-P2	5,67 \pm 0,58a	11,99 \pm 0,84b**	2,97 \pm 0,07b**
REAE-P2	5,67 \pm 0,53a	11,95 \pm 0,87b**	3,21 \pm 0,22b**

* Significativo ao nível de significância de 1%.

** Significativo ao nível de significância de 5%.

Tabela 2. Variação mínima (Min) e máxima (Max) da composição percentual dos componentes maioritários ($\geq 10\%$) identificados nos voláteis extraídos, por SPME, das amostras de todas as maçãs analisadas no momento T0 e T8.

Componentes	RI	Cluster A		Cluster B	
		Min	Max	Min	Max
Acetato de hexilo	995	v	2,5	9,0	23,3
2-Etil-1-hexanol	1004	0,7	35,9		
Éster 2-etil hexilo	1163	v	13,8	v	0,6
<i>trans,trans</i> - α -Farneseno	1500	55,5	93,6	35,8	55,1
% Identificação		92,4	99,6	98,1	100,0

RI: Índice de retenção relativo a uma série de *n*-alcanos C7-C17; v: vestigial (<0,05 %).

FIGURAS

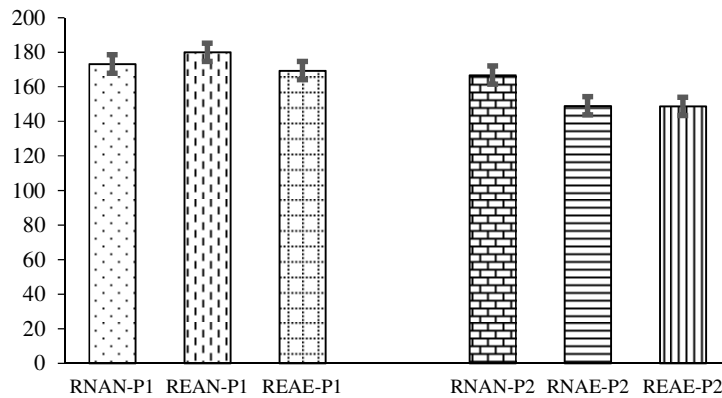


Fig. 1 - Índice de qualidade gustativa dos frutos à colheita (T0). As barras representam as médias \pm desvio padrão.

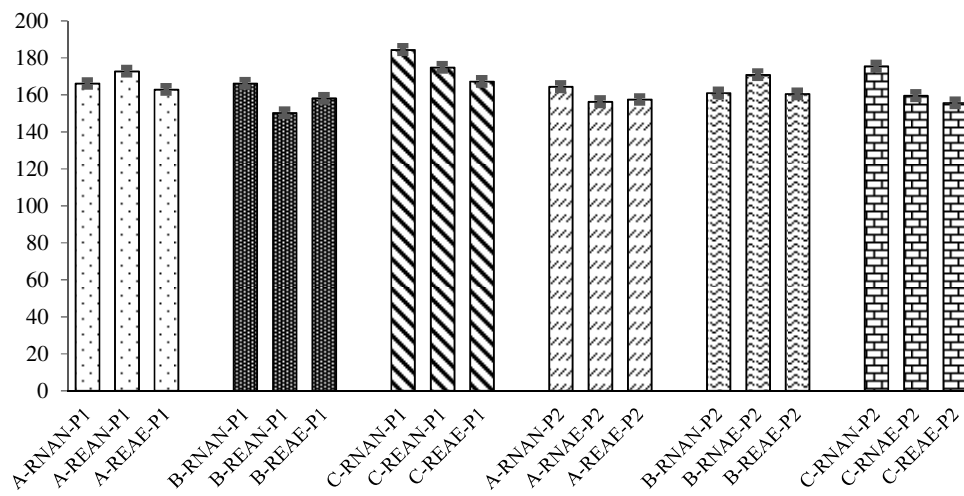


Fig. 2 - Índice de qualidade gustativa dos frutos após 8 meses de conservação (T8) em AC+1-MCP (A), ACD (B) e ACD+1-MCP (C). As barras representam as médias \pm desvio padrão.

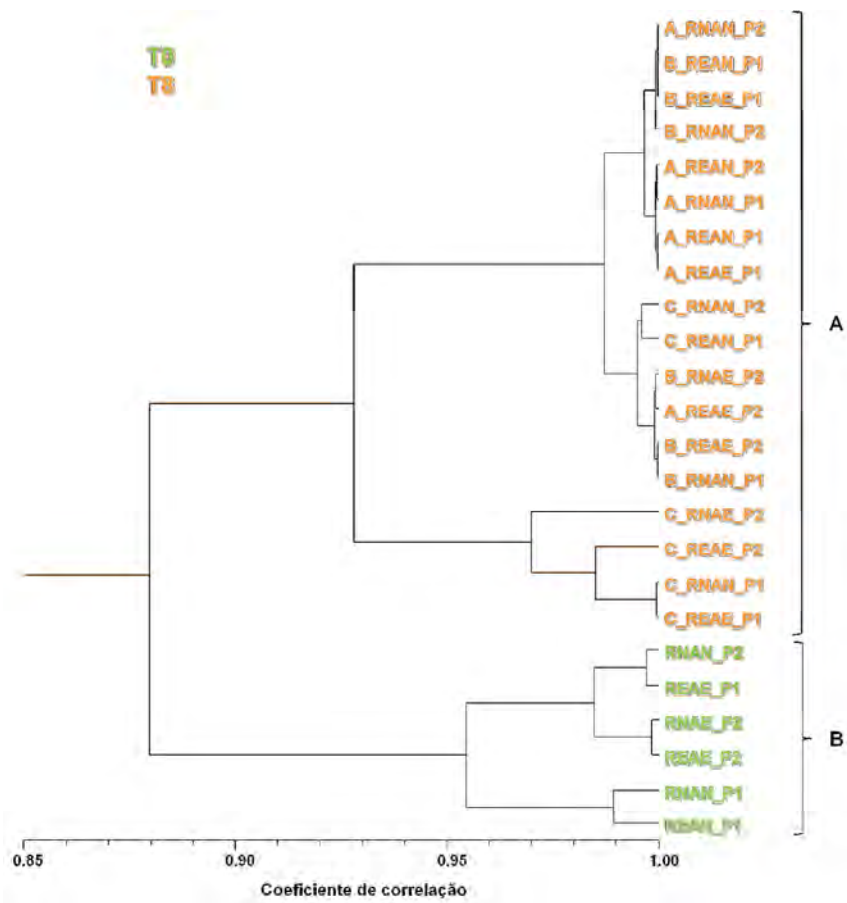


Fig. 3. Dendrograma obtido por análise aglomerativa em grupos da composição percentual dos voláteis, extraídos por SPME em T0 e T8, utilizando o agrupamento segundo a associação média (UPGMA) na definição dos clusters. Para definição de abreviaturas vide Material e Métodos.

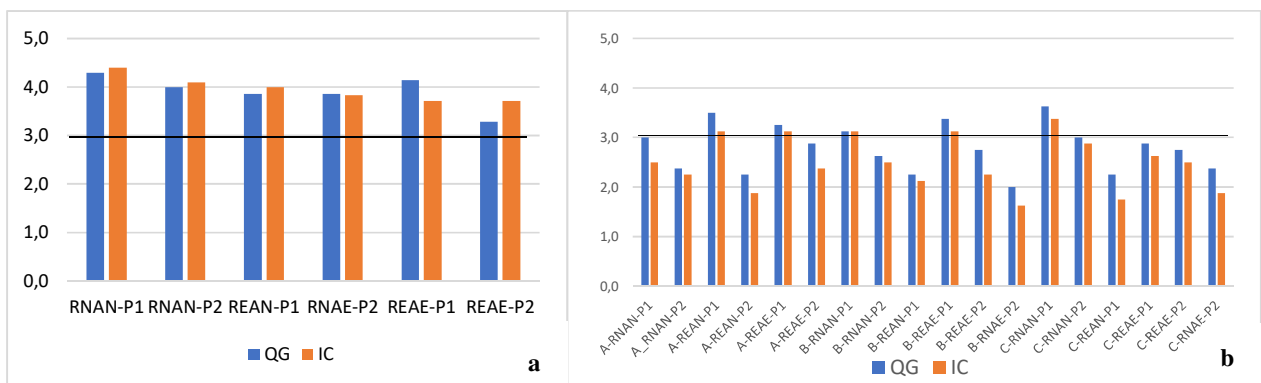


Fig. 4 - Apreciação da Qualidade Global (QG) e Intenção de Compra (IC) das maçãs imediatamente após colheita (a) e após 8 meses de conservação em AC+1-MCP (A), ACD (B) e ACD+1-MCP (C) (b).

Efeito do excesso de rega e fertilização azotada na qualidade e conservação da “Maçã de Alcobaça”

D. Garcia¹, A. Eira¹, A. Pina¹, P. Vasilenko¹, M. Santos¹, C. Sánchez^{1*}

¹Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV, IP), Estação Nacional de Fruticultura Vieira Natividade, Estrada de Leiria, 2460-059 (Alcobaça) e Polo Oeiras, Quinta do Marquês 2784-505 (Oeiras), Portugal.

*Email: claudia.sanchez@iniav.pt

Resumo

As práticas culturais, quando não aplicadas da forma e no momento correto, podem provocar uma depreciação da qualidade e do poder de conservação dos frutos. Com o intuito de estudar o efeito do excesso de rega e de fertilização azotada, aplicado no mês que antecede a colheita, na qualidade da “Maçã de Alcobaça”, foram realizados ensaios na variedade ‘Gala’. Analisaram-se frutos da campanha 2021 à colheita e após 5 meses de conservação em: Atmosfera Controlada + 1-Metilciclopropeno (AC+1-MCP), AC Dinâmica (ACD) e ACD+1-MCP. Avaliaram-se parâmetros colorimétricos, biométricos (peso, calibre) e físico-químicos (dureza, sólidos solúveis totais (SST) e acidez titulável (AT)), assim como o aspeto externo e interno. À colheita verificou-se que a aplicação de rega e azoto em excesso contribuíram para uma diminuição significativa do peso e calibre dos frutos. Não se verificaram diferenças significativas nos parâmetros físico-químicos analisados, com exceção da AT. O excesso de azoto reduziu significativamente a AT e, consequentemente, a qualidade gustativa dos frutos. Durante os 5 meses de conservação houve uma redução significativa da dureza dos frutos, independentemente do método de conservação. No entanto, a redução foi mais acentuada em AC+1-MCP. O excesso de rega resultou em perdas de peso significativas. Verificou-se ainda um aumento geral dos SST dos frutos, significativo na modalidade com rega e azoto em excesso, bem como uma diminuição geral na AT, significativa nos frutos do controlo. Os frutos do controlo e sujeitos a ambos excessos apresentaram maior incidência de podridões e os conservados em AC evidenciaram mais danos físicos e desidratação. Os resultados demonstram o efeito negativo na qualidade dos frutos, resultante da aplicação excessiva de azoto e rega, e destacam a ACD como o sistema mais adequado para conservação da maçã ‘Gala’.

Palavras-chave: *Malus domestica*; práticas culturais; atmosfera controlada; parâmetros qualitativos

INTRODUÇÃO

A cultura da maçã (*Malus domestica* Borkh.) assume atualmente uma posição de destaque no setor frutícola mundial. Em 2020, os cerca de 4,6 milhões de ha ocupados por esta cultura produziram mais de 86 milhões de toneladas de maçã, conferindo-lhe o estatuto de um dos frutos mais produzidos mundialmente em quantidade, apenas superado pela banana e melancia (FAOSTAT, 2022). Os últimos dados disponíveis para Portugal

apontam para uma produção média estimada a rondar as 300 mil toneladas. As maçãs produzidas na região do litoral Oeste e classificadas como Indicação Geográfica Protegida são denominadas de “Maçã de Alcobaça”, que por sua vez representa 20 a 25 % da produção nacional e abrange 9 variedades: ‘Golden Delicious’, ‘Red Delicious’, ‘Royal Gala’, ‘Casanova de Alcobaça’, ‘Fuji’, ‘Granny Smith’, ‘Reineta’, ‘Jonagold’ e ‘Pink’.

A qualidade dos frutos é um conceito dinâmico, determinado pelas exigências vigentes do consumidor, e intimamente relacionado com as práticas agronômicas de gestão da cultura. Em maçã, a rega e a fertilização influenciam parâmetros qualitativos dos frutos e a sua capacidade de conservação (Musacchi & Serra, 2017). O azoto (N) é um nutriente indispensável a qualquer cultura. No caso particular da macieira, a carência de azoto resulta em frutos de pequeno calibre, favorece a alternância da cultura e limita a sua produtividade. No entanto, quando aplicado em excesso ou tardiamente, além de contribuir para o vigor excessivo das árvores e conseqüente suscetibilidade a fatores nocivos bióticos e abióticos, pode provocar o atraso na maturação dos frutos, coloração indesejada, firmeza da polpa e teor de açúcares insuficientes, e favorecer o aparecimento de podridões e *bitter-pit* (Fallahi et al., 2010). Relativamente à rega, para a cultura da maçã, o déficit hídrico moderado, quando induzido na fase final de desenvolvimento do fruto, permite a otimização da qualidade e produção, promovendo uma coloração adequada dos frutos e o aumento do teor de sólidos solúveis, sem comprometer o seu peso e calibre (Wang et al., 2019). De um modo geral, o excesso de rega, apesar de aumentar o calibre dos frutos, afeta negativamente a firmeza da polpa, bem como a produção de compostos voláteis responsáveis pelo aroma e sabor dos frutos, e aumenta a sua suscetibilidade a alterações patológicas e fisiológicas indesejadas, contribuindo para a depreciação da produção e para o rápido decaimento da qualidade dos frutos no pós-colheita (Nemeskéri, 2007).

Assim, pretende-se com o presente estudo avaliar o efeito da fertilização azotada e rega excessivas efectuadas durante a fase final de desenvolvimento dos frutos, na qualidade e capacidade de conservação da “Maçã de Alcobaça”.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados durante a campanha de 2021, em 280 árvores da cultivar ‘Gala’ (70 árvores/modalidade) pertencentes a um pomar comercial situado no concelho de Alcobaça, com recurso a um sistema de fertirrega. Definiram-se as seguintes quatro modalidades de fertilização azotada e de rega aplicadas durante o mês antecedente à colheita: rega e azoto normais (RNAN), que funcionou como o controlo da experiência, rega em excesso com azoto normal (REAN), rega normal com azoto em excesso (RNAE), e rega e azoto em excesso (REAE). A rega e fertilização azotada normais correspondem às quantidades recomendadas nas Normas Técnicas para a Produção Integrada de Pomóideas, ou seja, em média 40 kg N/ha e uma rega que satisfaz as necessidades hídricas da cultura. O excesso de fertilização azotada consistiu na aplicação de 120 kg N/ha e a rega em excesso no incremento do teor de água no solo até exceder a capacidade de campo. Após a colheita, seleccionaram-se aleatoriamente 20 frutos/modalidade, de forma a serem analisados parâmetros indicadores de qualidade. Seleccionaram-se também lotes de frutos das diferentes modalidades, para serem submetidos, durante 5 meses, a 3 condições de conservação distintas: A: Atmosfera Controlada + 1-Metilciclopropeno (AC+1-MCP), B: Atmosfera Controlada Dinâmica (ACD), C: Atmosfera Controlada

Dinâmica + 1-Metilciclopropeno (ACD+1-MCP). Após 5 meses de armazenamento, analisaram-se parâmetros qualitativos em 20 frutos/modalidade. A análise qualitativa dos frutos consistiu na análise de parâmetros colorimétricos, biométricos (massa e calibre), físico-químicos (dureza, teor de sólidos solúveis (SST) e acidez titulável (AT)) e na observação visual do seu aspeto externo e interno. A partir dos valores de SST e AT obtidos calculou-se o Índice de Thiault (IT), indicador da qualidade gustativa dos frutos, segundo a fórmula: $IT = SST \text{ (g/L)} + 10 \text{ AT (g/L)}$. Posteriormente, através do software AgroEstat, os dados foram submetidos a uma análise de variância, sendo as médias comparadas pelo Teste de Tuckey, para um nível de significância de 5 %.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Da análise à colheita verificaram-se diferenças estatisticamente significativas para os parâmetros colorimétricos L^* e Chroma (Quadro 1). Os excessos de rega e, especialmente, de fertilização azotada deram origem a menor luminosidade e intensidade na cor dos frutos, ou seja, a frutos com uma cor menos viva, menos apetecíveis para o consumidor e, portanto, com menor valorização comercial (Quadro 1). Contrariamente ao que geralmente acontece, o excesso de rega (REAN) não deu origem a frutos maiores e mais pesados. De facto, quando associado a um excesso de fertilização azotada (REAE) resultou mesmo em calibres e pesos significativamente menores do que o controlo (Quadro 1). O excesso de azoto por si só (RNAE) também afetou negativamente e de forma significativa o peso e calibre dos frutos. Estudos realizados com as cultivares ‘Gala’ e ‘Fuji’ demonstraram que a aplicação excessiva de azoto ou de rega não resultam necessariamente em frutos maiores. Pelo contrário, favorece o crescimento vegetativo e contribui para colorações dos frutos insuficientes (Atay et al., 2017). Relativamente à dureza da polpa à colheita, não se verificaram diferenças significativas nos frutos provenientes das diferentes modalidades. No entanto, deve referir-se que a modalidade RNAN produziu os frutos com maior dureza, e que os excessos de rega e de azoto resultaram em menores firmezas da polpa (Quadro 2). Estes resultados vão de encontro com os obtidos por Nava et al. (2008) e Yıldırım et al. (2016). O equilíbrio entre N e Ca assume um papel importante na firmeza da polpa, sendo o Ca associado à integridade e resistência da membrana e parede celulares. O excesso de fertilização azotada provoca, além do aumento no tamanho das células, um aumento da razão N/Ca e diminuição da concentração de Ca nos frutos, contribuindo para uma menor firmeza da polpa. O teor de sólidos solúveis também não variou significativamente entre modalidades (Quadro 2). O único dos parâmetros físico-químicos analisados em que se verificaram diferenças estatisticamente significativas à colheita foi a acidez titulável (AT). Os frutos com menor AT corresponderam aos tratamentos com excesso de azoto e o controlo produziu os frutos com maior AT. Outros estudos em ‘Golden Delicious’ comprovam o efeito negativo do azoto na AT (Raese et al., 2007). Uma acidez titulável baixa à colheita pode resultar em frutos insípidos, que não cumprem os padrões de qualidade exigidos pelo mercado depois da conservação (Musacchi & Serra, 2017). O cálculo do índice de Thiault demonstrou um decréscimo significativo da qualidade gustativa dos frutos à colheita resultante da aplicação conjunta dos excessos de rega e fertilização azotada, relativamente à testemunha (Fig. 1). Segundo Trigueiros (1993) aceita-se o valor de 170 para o IT como mínimo à colheita, sendo um IT igual ou superior a 180 o mais aconselhado. Os frutos da modalidade REAE não cumpriram os requisitos mínimos de qualidade gustativa à

colheita (Fig. 1). Os excessos de rega e azoto em simultâneo resultaram num aumento de 10 % da incidência de podridões relativamente ao controlo. Os sintomas observados corresponderam maioritariamente aos produzidos pela doença fúngica do Pedrado (*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.).

Após 5 meses de conservação verificou-se uma diminuição geral do peso e dureza dos frutos. Essa diminuição foi mais evidente nos frutos conservados em AC + 1-MCP (Fig. 2). Both (2015) verificou que a manutenção da qualidade dos frutos é garantida de forma mais eficaz em ACD do que em AC. O excesso de rega resultou em perdas de peso significativas (Quadro 3). Considerando que 95 a 98 % da perda de peso durante o armazenamento são explicados pela perda de água, este é um resultado expectável e que vai ao encontro do obtido por Mpelasoka et al. (2000). Verificou-se ainda um aumento geral dos SST dos frutos, significativo na modalidade REAE, bem como uma diminuição geral na AT, significativa nos frutos do controlo (Quadro 3). As amostras correspondentes ao controlo e as sujeitas a excesso de rega e azoto em simultâneo, apresentaram maior incidência de podridões, desidratação e danos físicos, principalmente as conservadas em AC + 1-MCP. Em AC verificaram-se praticamente o dobro das alterações de pós-colheita verificadas em ACD.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo permitem não só contrariar a ideia de que maiores quantidades de água e de azoto aplicadas garantem, necessariamente, uma maior produtividade ou frutos maiores, mas também confirmar o efeito prejudicial da rega e fertilização azotada excessivas na qualidade da maçã à colheita. De facto, a aplicação excessiva destes fatores, no mês antecedente à colheita, afetou negativamente características coloriméticas, gustativas e a firmeza da polpa. Em relação à conservação, concluiu-se, ainda que de forma pouco consistente, que os excessos de rega e/ou fertilização azotada influenciaram negativamente a capacidade de conservação dos frutos, contribuindo para uma degradação mais acentuada da sua qualidade durante o período de pós-colheita. Confirmou-se a ACD como o sistema mais adequado para conservação da maçã ‘Gala’.

AGRADECIMENTOS

Ao Projeto PDR2020-101-031742, “SafeApple - Conservação da Qualidade da Maçã de Alcobaça: objetivo resíduos zero”, financiado pela República Portuguesa e a União Europeia através do Programa de Desenvolvimento Rural 2014-2020, e parceiros envolvidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Atay, E., Hucbourg, B., Drevet, A., & Lauri, P.-E. (2017). Investigating effects of over-irrigation and deficit irrigation on yield and fruit quality in Pink Lady™ “Rosy Glow” apple. *Acta Scientiarum Polonorum: Hortorum Cultus*, 16(4), 45–51. <https://doi.org/10.24326/asphc.2017.4.5i>

- Both, V. (2015). *Atmosfera Controlada Dinâmica Monitorada Pelo Quociente Respiratório: Efeito do Manejo do Etileno, Temperatura e Níveis de CO2 Sobre Compostos Voláteis e Conservação de Maçãs*.
- Fallahi, E., Fallahi, B., Neilsen, G. H., Neilsen, D., & Peryea, F. J. (2010). Effects of Mineral Nutrition on Fruit Quality and Nutritional Disorders in Apples. In M. Pestana & P. J. Correia (Eds.), *VI International Symposium on Mineral Nutrition of Fruit Crops* (pp. 49–60).
- FAOSTAT. (2022). *Crops and livestock products*. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>
- Mpelasoka, B. S., Behboudian, M. H., Dixon, J., Neal, S. M., & Caspari, H. W. (2000). Improvement of fruit quality and storage potential of “Braeburn” apple through deficit irrigation. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 75(5), 615–621. <https://doi.org/10.1080/14620316.2000.11511296>
- Musacchi, S., & Serra, S. (2017). Apple fruit quality: Overview on pre-harvest factors. *Scientia Horticulturae*, 234, 409–430. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.12.057>
- Nava, G., Dechen, A. R., & Nachtigall, G. R. (2008). Nitrogen and potassium fertilization affect apple fruit quality in southern Brazil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 39(1–2), 96–107. <https://doi.org/10.1080/00103620701759038>
- Nemeskéri, E. (2007). Water relations of apple and influence on fruit quality (minireview). *International Journal of Horticultural Science*, 13, 59–63.
- Raese, J. T., Drake, S. R., & Curry, E. A. (2007). Nitrogen fertilizer influences fruit quality, soil nutrients and cover crops, leaf color and nitrogen content, biennial bearing and cold hardiness of “Golden Delicious.” *Journal of Plant Nutrition*, 30(10), 1585–1604. <https://doi.org/10.1080/01904160701615483>
- Trigueiros, J. J. de B. L. (1993). *Manual de Tecnologias de Colheita*. Sociedade Portuguesa de Inovação.
- Wang, Y., Liu, L., Wang, Y., Tao, H., Fan, J., Zhao, Z., & Guo, Y. (2019). Effects of soil water stress on fruit yield, quality and their relationship with sugar metabolism in ‘Gala’ apple. *Scientia Horticulturae*, 258. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108753>
- Yıldırım, F., Vural, E., Uçar, Y., & Yıldırım, A. N. (2016). Interaction of Crop Load and Irrigation on Yield, Fruit Size, Color and Stem-end Splitting Ratio of Apple c.v. ‘Gala, Galaxy.’ *Erwerbs-Obstbau*, 58(2), 103–111. <https://doi.org/10.1007/s10341-015-0262-6>

QUADROS

Quadro 1. Valores médios e desvio padrão de parâmetros colorimétricos e biométricos dos frutos à colheita. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre modalidades, para um nível de significância de 5 %.

Modalidade	L*	Chroma	Peso (g)	Diâmetro (mm)
RNAN	46,49 ± 7,96 a	41,85 ± 4,53 a	150,78 ± 33,96 a	68,89 ± 5,37 a
REAN	42,47 ± 8,07 b	40,36 ± 4,29 a	143,82 ± 21,36 ab	67,30 ± 3,31 ab
RNAE	38,81 ± 6,00 c	37,43 ± 5,33 b	126,07 ± 19,49 b	65,39 ± 3,53 b
REAE	40,83 ± 6,06 bc	40,57 ± 4,06 a	128,60 ± 16,83 b	65,26 ± 2,75 b

Quadro 2. Valores médios e desvio padrão de parâmetros físico-químicos dos frutos à colheita. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre modalidades, para um nível de significância de 5 %.

Modalidade	Dureza (kg/cm ²)	SST (°Brix)	AT (g ác.mál/L)
RNAN	7,41 ± 0,54 a	12,99 ± 0,70 a	4,14 ± 0,02 a
REAN	7,15 ± 0,79 a	13,35 ± 0,88 a	3,99 ± 0,08 ab
RNAE	7,31 ± 0,85 a	13,37 ± 0,74 a	3,71 ± 0,07 c
REAE	7,36 ± 1,07 a	12,95 ± 0,67 a	3,87 ± 0,07 bc

Quadro 3. Valores médios e desvio padrão de parâmetros biométricos e físico-químicos dos frutos à colheita e após 5 meses de conservação. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre modalidades, para um nível de significância de 5 %.

Modalidade		Peso (g)	SST (°Brix)	AT (g ác.mál/L)
RNAN	Colheita	150,78 ± 33,96 a	12,99 ± 0,70 a	4,14 ± 0,02 a
	T5 Meses	137,62 ± 17,33 a	13,29 ± 0,49 a	3,75 ± 0,24 b
REAN	Colheita	143,82 ± 21,36 a	13,35 ± 0,88 a	3,99 ± 0,06 a
	T5 Meses	131,72 ± 11,57 b	13,42 ± 0,46 a	3,88 ± 0,13 a
RNAE	Colheita	126,07 ± 19,49 a	13,37 ± 0,74 a	3,71 ± 0,05 a
	T5 Meses	122,30 ± 12,63 a	13,39 ± 0,45 a	3,89 ± 0,23 a
REAE	Colheita	128,60 ± 16,83 a	12,95 ± 0,67 b	3,87 ± 0,05 a
	T5 Meses	137,68 ± 18,03 a	13,32 ± 0,29 a	3,77 ± 0,07 a

FIGURAS

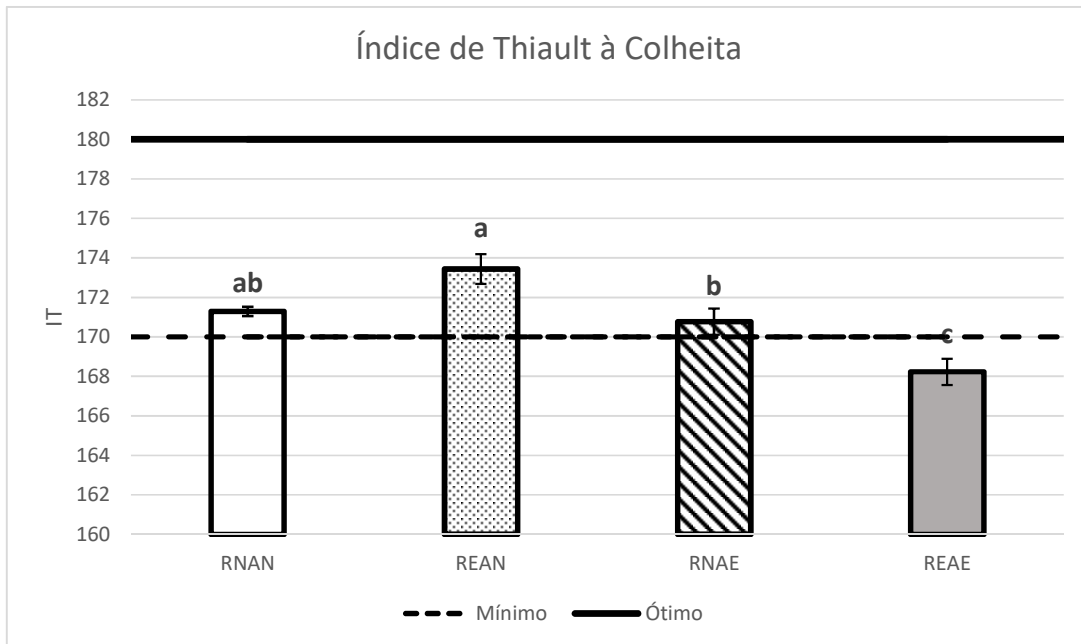


Fig. 2. Índice de Thiault, indicador da qualidade gustativa dos frutos (médias e desvio padrão), e valores de referência para o período referente à colheita.

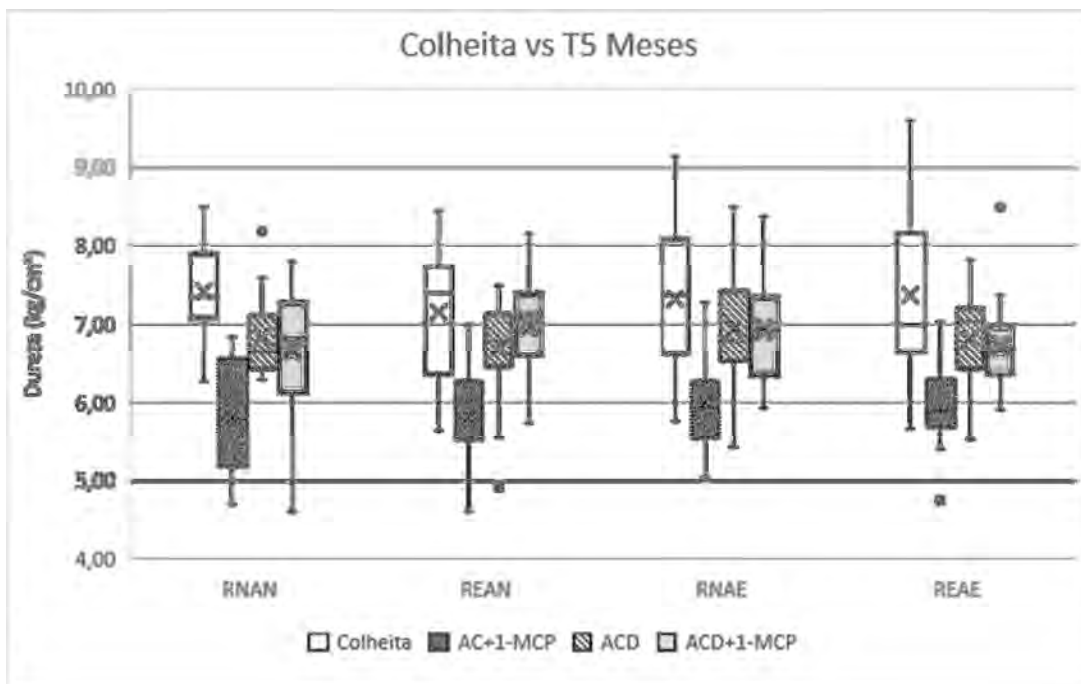


Fig. 1. Boxplot relativos à dureza dos frutos à colheita e após 5 meses de conservação sujeitos a 3 métodos distintos: Atmosfera Controlada + 1-Metilciclopropeno, Atmosfera Controlada Dinâmica, Atmosfera Controlada Dinâmica + 1-Metilciclopropeno. Os valores médios para cada modalidade estão representados por um "x".

Evaluación de la calidad y perfil de ácidos orgánicos de cultivares de ciruela japonesa tratados vía foliar con ácido oxálico

Cortés-Montaña, D.^{1*}, Bernalte-García, M.J.², Serradilla, M.J.¹, Velardo-Micharet, B.¹

¹ Área de Postcosecha, Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, Avenida Adolfo Suárez s/n, 06007, Badajoz.

² Departamento de Biología Vegetal, Ecología y Ciencias de la Tierra, Escuela de Ingenierías agrarias, Universidad de Extremadura Avd. Adolfo Suárez s/n, 06007, Badajoz.

*daniel.cortes@juntaex.es

Resumen

El cultivo del ciruelo japonés tiene un alto valor socioeconómico en Extremadura, debido a su elevado volumen de producción y exportación. Entre las ciruelas de piel y pulpa roja destacan los cultivares ‘Black Splendor’ (maduración temprana) y ‘Prime Time’ (maduración media) y entre las de piel negra y pulpa amarilla están ‘John W’ y ‘Angeleno’ (maduración tardía). Existe un gran número de publicaciones que proponen al ácido oxálico como un elicitador capaz de mejorar la calidad global de distintos productos vegetales. El objetivo de este estudio fue analizar el efecto de la aplicación precosecha de distintas concentraciones de ácido oxálico (2, 3 y 5 mM) sobre la calidad fisicoquímica y el perfil de ácidos orgánicos de los 4 cultivares de ciruela citados anteriormente. Las aplicaciones se realizaron mediante pulverización foliar en 3 momentos claves del crecimiento y desarrollo del fruto (endurecimiento del hueso, cambio de color y 5 días antes de la recolección comercial). Tras la recolección comercial, se analizó el contenido en sólidos solubles (CSS), la acidez titulable (AT) y el perfil de ácidos orgánicos (málico, quínico, succínico, cítrico, oxálico, tartárico y fumárico) mediante HPLC-DAD. Se observó que la aplicación de ácido oxálico no incrementó el contenido endógeno del mismo, ni alteró el perfil de ácidos orgánicos en los 4 cultivares estudiados. Sin embargo, las ciruelas tratadas con ácido oxálico presentaron un mayor contenido en ácidos málico y quínico, especialmente la concentración de 2 mM, aunque sin diferencias significativas ($p \geq 0,05$). Por otro lado, se observó un retraso de la maduración (mayor AT y un menor CSS) en la fruta tratada lo que permitió una ampliación en la ventana de recolección.

Palabras clave: *Prunus salicina* Lindl., elicitador, sólidos solubles, acidez, ácidos orgánicos

INTRODUCCIÓN

Extremadura, con 6.764 hectáreas, es la primera región en cuanto a superficie de ciruela japonesa (*Prunus salicina* Lindl.), lo que representa el 47 % del total de la superficie nacional. La región lidera la producción con 77.600 toneladas, de las cuales gran parte va destinada a exportación (MAPA., 2021). La campaña de ciruela en Extremadura se extiende desde finales del mes de mayo hasta septiembre, encontrando ciruelas con diferentes características organolépticas. Entre los cultivares de piel y pulpa roja destacan ‘Black Splendor’ (maduración temprana) y ‘Prime Time’ (maduración media) y en los de piel

negra y pulpa amarilla se encuentran ‘John W’ y ‘Angelino’ (maduración tardía), siendo todas ellas climatéricas, a excepción de ‘Angelino’ que es climatérica suprimida.

El pacto verde acordado por la Comisión Europea está impulsando el uso de elicitores y biorreguladores con el fin de transformar el sector hortofrutícola hacia una agricultura más sostenible y respetuosa con el medio ambiente. Los elicitores son moléculas que, a bajas concentraciones, desencadenan los mecanismos de resistencia sistémica frente a estreses bióticos y abióticos. También promueven las rutas metabólicas relacionadas con la producción de metabolitos secundarios en las plantas, induciendo cambios fisiológicos, morfológicos y acumulación de compuestos fitoquímicos (Viacava et al., 2018). El ácido oxálico es un ácido orgánico que está presente de forma natural en los tejidos vegetales y está considerado como elicitor. Se ha utilizado en aplicaciones postcosecha para reducir la incidencia de podredumbres y daños por frío en distintos tipos de fruta. En precosecha ha sido aplicado en cerezas (Martínez-Esplá et al. (2014); Cortés-Montaña et al. (2020)) y en ciruelas (Martínez-Esplá et al (2019), observándose mejoras en la calidad y sistemas antioxidantes del fruto tras un periodo de almacenamiento postcosecha. El consumo elevado de ácido oxálico puede producir deficiencias nutricionales, entre otros efectos, debido a la capacidad que posee para unirse a minerales como el calcio, hierro, sodio, potasio o magnesio (Çaliskan 2000). Las personas sanas pueden consumir alimentos con cantidades pequeñas de ácido oxálico sin que afecte a su salud, pero no es recomendable para las propensas a sufrir cálculos renales, gota o artritis.

El objetivo del ensayo fue estudiar el efecto de las aplicaciones precosecha de ácido oxálico (2, 3 y 5 mM) sobre el contenido en sólidos solubles, acidez titulable y perfil de ácidos orgánicos, más concretamente, sobre el contenido endógeno de ácido oxálico en diferentes cultivares de ciruelas producidos en Extremadura.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal y diseño experimental

El estudio se llevó a cabo en una finca comercial situada en las Vegas Altas del Guadiana (Entrerriós, Badajoz, España). Con la intención de cubrir la ventana comercial de las ciruelas producidas en Extremadura, se seleccionaron cultivares tempranos, medios y tardíos, además de cultivares de piel y pulpa roja, y de piel negra y pulpa amarilla, así como ciruelas con diferente producción de etileno (climatéricas y climatéricas suprimidas). Se emplearon 3 árboles para cada concentración de ácido oxálico establecida (AO, 2, 3 y 5 mM)). Los resultados obtenidos fueron comparados con ciruelas procedentes de árboles que no recibieron aplicaciones de AO (Control, CO). Los tratamientos se llevaron a cabo al atardecer mediante pulverización foliar, en los tres momentos claves de desarrollo y maduración de los frutos (endurecimiento del hueso, cambio de color y cinco días antes de la recolección comercial). El día de la recolección comercial, se cogió una muestra al azar de 30 frutos por árbol (90 frutos por tratamiento) para la caracterización físico-química en el laboratorio.

Calidad estándar

Para la determinación de la calidad estándar se cuantificó el contenido en sólidos solubles (CSS) y la acidez titulable (AT). Para cada cultivar y tratamiento se realizaron 3 homogenizados de fruta (n=3) a partir de los 30 frutos de cada árbol. CSS se cuantificó a

20°C con un refractómetro digital portátil PR-01 (Atago CO., LTD, Tokyo, Japan), expresándose los resultados en °Brix. La AT fue medida a partir de 3 g de homogenizado que fueron llevados a un volumen final de 60 mL con agua destilada. Para ello, se empleó un valorador automático T-50 Graphix (Mettler Toledo, Coslada, Madrid, España), y una disolución 0,1 N de NaOH hasta pH 8,1. La AT se expresó en g de ácido málico por 100 g de peso fresco.

Perfil de ácidos orgánicos

Para la identificación y cuantificación de los ácidos orgánicos se utilizó un equipo HPLC Agilent 1200 infinity con columna Rezex Organic Acid, ROA-Organic Acid H⁺ de 300 x 7,8 mm (Phenomenex), acoplado a un detector Diodo Array. La longitud de onda para la identificación y cuantificación fue de 210, 8 nm. Para la fase móvil se utilizó agua / H₂SO₄ 0.005 N. El volumen de inyección fue de 10 µL y la velocidad de flujo fue de 0,5 mL/min. La temperatura de la columna se mantuvo a 55°C usando un horno de columna.

Análisis estadístico

El tratamiento estadístico de los resultados se realizó con el programa SPSS 25 (IBM Statistics, Chicago, IL, USA). Los resultados fueron sometidos a un análisis de la varianza (ANOVA). En los casos en los que presentaron diferencias significativas, se realizó el test Tukey, para comparación múltiple de medias. Se empleó un nivel de confianza del 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los valores medios de CSS y AT de los diferentes cultivares de ciruela estudiados. Podemos observar que el CSS y el pH fue mayor en los cultivares tardíos, mientras que la AT más elevada fue registrada en los más tempranos. Se observó una mayor AT y un menor CSS en la fruta tratada, en los 4 cultivares de ciruela, poniendo de manifiesto un ligero retraso de la maduración. Si bien, no se encontraron diferencias significativas ($p \geq 0,05$) entre los tratamientos de ácido oxálico (2, 3 y 5 mM) y el control. Nuestros resultados van en sintonía con los de Martínez-Esplá et al. (2014) y Martínez-Esplá et al. (2018), quienes tampoco encontraron diferencias significativas a nivel de los sólidos solubles totales y la acidez titulable entre las cerezas y ciruelas tratadas en precosecha con ácido oxálico y los controles. Asimismo, también observaron una tendencia en el retraso de la maduración de la fruta que fue tratada con ácido oxálico.

Se identificaron y cuantificaron un total de 7 ácidos orgánicos (málico, quínico, succínico, cítrico, oxálico, tartárico y fumárico). El perfil fue similar en todos los cultivares a excepción del cultivar tardío 'Angeleno', que también presentó ácido tartárico. La presencia y concentración de estos compuestos está muy influenciado por el genotipo (Usenik et al., 2008). No se encontraron diferencias significativas ($p \geq 0,05$) en el contenido en ácidos orgánicos entre las ciruelas no tratadas (CO) y las tratadas con las concentraciones 2, 3 y 5 mM de ácido oxálico. (Figura 1). Los tres ácidos orgánicos mayoritarios fueron el málico, el quínico y el succínico, representando entre los tres más de 97,5 % del total. El cultivar 'Black Splendor' mostró el porcentaje más elevado de ácido málico con un 78,6 %, seguido por 'John W' con un 67,3%, 'Prime Time' un 63,2 y 'Angeleno' con un 51,3% en. Las ciruelas tratadas con ácido oxálico mostraron un mayor contenido en málico y quínico, especialmente aquellas en las que se empleó la concentración de 2 mM, aunque sin diferencias significativas ($p \geq 0,05$).

El ácido oxálico representó el 0,20 % en 'Black Splendor', 0,09 % en 'Prime Time', 0,14 % en 'John W' y 0,24% en 'Angeleno'. Debido a que no hubo diferencias significativas en este ácido entre la fruta tratada con ácido oxálico y el control, se puede afirmar que la utilización de este elicitor en precosecha es seguro, ya que en ningún caso hubo un incremento del contenido endógeno de este ácido debido a las aplicaciones realizadas durante el proceso de desarrollo y maduración de los frutos.

CONCLUSIONES

El ácido oxálico indujo un retraso de la maduración de las ciruelas, manifestado por una mayor AT y un menor CSS respecto al control. Las ciruelas tratadas con ácido oxálico presentaron un mayor contenido en ácidos málico y quínico, especialmente la concentración de 2 mM, aunque sin diferencias significativas ($p \geq 0,05$) con la fruta sin tratar. La aplicación por vía foliar de ácido oxálico no incrementó el contenido endógeno del mismo en los frutos, ni alteró el perfil de ácidos orgánicos en ninguno de los 4 cultivares de ciruela estudiados, haciendo seguro su implementación entre las técnicas agrícolas y permitiendo ampliar la ventana comercial, especialmente de los cultivares tardíos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Junta de Extremadura y al Fondo Europeo de Desarrollo Regional por el apoyo económico a través del Proyecto GR21193. Daniel Cortés Montaña contó con un contrato predoctoral asociado al proyecto RTA2017-000092 y a la ayuda PRE2018-084891 MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y por FSE invierte en tu futuro.

REFERENCIAS

- Çalışkan, M. 2000. The Metabolism of Oxalic Acid. Turkish Journal of Zoology, 24: 103–106.
- Cortés-Montaña, D., Serradilla, M. J., Bernalte-García, M. J., Bañuls, P., Fernández-León, A., Velardo-Micharet, B. 2020. Ácido oxálico, el elicitor que mejora la calidad y la vida útil de cerezas tempranas. Horticultura, 4-349: 16-20.
- Martínez-Esplá, A., Zapata, P.J., Valero, D., García-Viguera, C., Castillo, S., Serrano, M. 2014. Preharvest application of oxalic acid increased fruit size, bioactive compounds and antioxidant capacity in Sweet Cherry cultivars (*Prunus avium* L.). J. Agric. Food Chem, 62: 3432–3437.
- Martínez-Esplá A, Serrano M, Martínez-Romero D, Valero D, Zapata PJ. 2019. Oxalic acid preharvest treatment increases antioxidant systems and improves plum quality at harvest and during postharvest storage J Sci Food Agric. 15; 99(1): 235-243.
- M.A.P.A. 2021. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Consultado por última vez en 12/05/2022: https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/producciones-agricolas/boletinfrutadehueso2020n20-2020_tcm30-544449.pdf
- Usenik, V., Kastelec, D., Veberič, R., Štampar, F. 2008. Quality changes during ripening of plums (*Prunus domestica* L.). Food chemistry, 11: 830–836.
- Viacava, G.E., Goyeneche R., Goñi G. M., Roura, S. I., Agüero, M. V. 2018. Natural elicitors as preharvest treatments to improve postharvest quality of Butterhead lettuce. Scientia Hort. 228: 145–152.

Tabla 1. Valores medios \pm desviación del contenido en sólidos solubles (CSS) y acidez titulable (AT) para los cultivares de ciruela estudiados.

	‘Black Splendor’	‘Prime Time’	‘John W’	‘Angeleno’
CSS (°Brix)*	9,90 \pm 1,85	11,31 \pm 1,44	14,83 \pm 1,55	15,45 \pm 0,82
AT (% Ác. Málico)*	1,85 \pm 0,05	1,44 \pm 0,07	1,55 \pm 0,10	0,82 \pm 0,09

*Valor medio de todos los tratamientos (control y ácido oxálico 2, 3 y 5 mM) para cada cultivar de estudio.

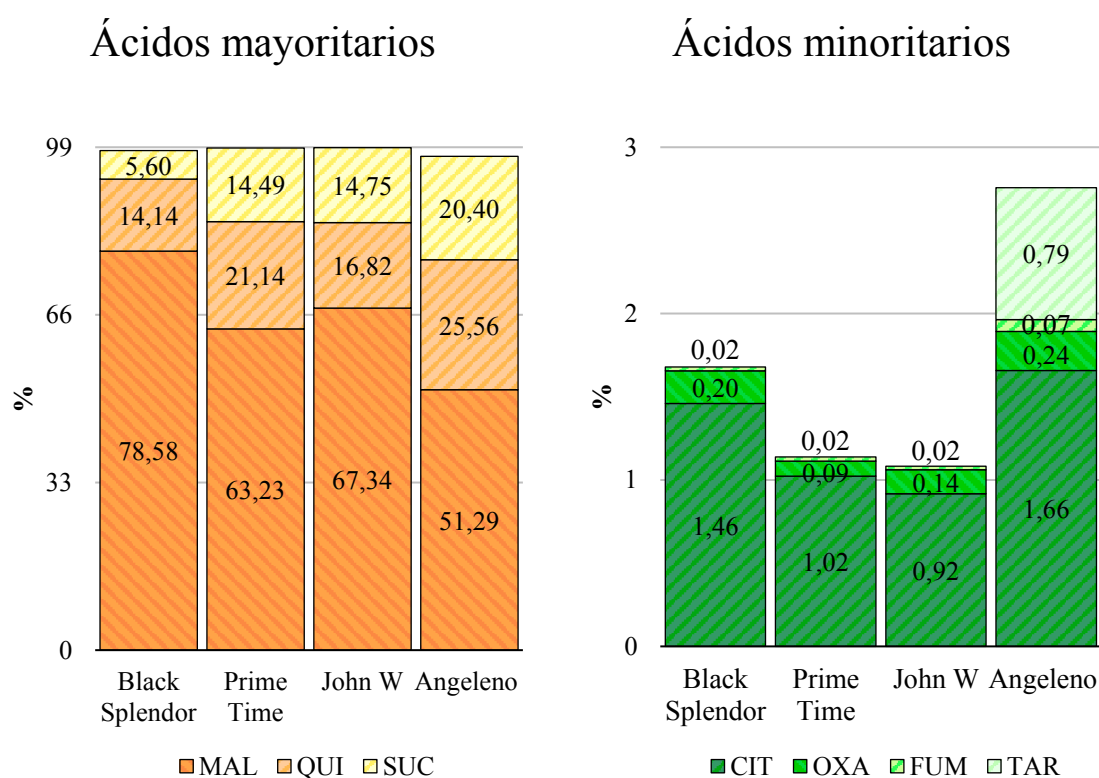


Fig.1. Valores medios de ácidos orgánicos, expresados en porcentaje (%), para los cultivares de ciruela estudiados. Málico (MAL), quínico (QUI), succínico (SUC), cítrico (CIT), oxálico (OXA), fumárico (FUM) y tartárico (TAR).

Evolución de la maduración en el árbol de la naranja sanguina: parámetros externos e internos

F. Garrido-Auñón¹, J. Puente-Moreno¹, M.E. García-Pastor¹, S. Castillo¹, P. J. Zapata¹, M. Serrano² y D. Valero¹

¹ Departamento de Tecnología Agroalimentaria, Universidad Miguel Hernández, Ctra. Beniel km. 3.2, 03312, Orihuela, Alicante, e-mail: fgarrido@umh.es

² Departamento de Biología Aplicada, Universidad Miguel Hernández, Ctra. Beniel km. 3,2, 03312, Orihuela, Alicante

Resumen

La naranja sanguina (*Citrus sinensis* L. Osbeck) está incrementando su valor en los mercados debido a que posee un alto contenido en compuestos bioactivos beneficiosos para la salud, como el ácido ascórbico, flavonoides y antocianinas, los cuales son muy apreciados por los consumidores, cada vez más conscientes de la relación entre alimentación y salud. Esta naranja se diferencia de las demás variedades por su color rojo, tanto en la piel como en la pulpa. Estos frutos se recolectan, según criterios comerciales, cuando alcanzan su tamaño y coloración característica de la variedad. Sin embargo, en concreto para la variedad ‘Sanguinelli’ es frecuente que en muchos frutos la coloración externa deseada no llegue a desarrollarse totalmente y estos frutos no se pueden vender como naranjas sanguinas para consumo en fresco y se destinan a la industria de zumo, a un precio mucho más bajo. No obstante, es necesario determinar si la maduración interna del fruto, incluido el contenido en antocianinas del zumo, se corresponde con el color externo. Por ello, en este trabajo se recolectaron frutos en distinto estado de maduración a lo largo del desarrollo del fruto en el árbol, en los que se analizó la evolución de los parámetros de maduración externos (peso, diámetro, color, firmeza y contenido de los pigmentos presentes en la piel del fruto) y los internos (sólidos solubles totales, acidez total, color y contenido de antocianinas del zumo). Los resultados mostraron que el tamaño y el color externo no son índices totalmente fiables para determinar el estado de maduración del fruto, ya que el contenido de antocianinas totales del zumo, o el color interno, no muestran una buena correlación con el color externo. Es decir, frutos que no podrían venderse como sanguinas, de acuerdo con su aspecto externo, sí que tienen un contenido de antocianinas elevado y viceversa.

Palabras clave: *Citrus sinensis* L., color, azúcares, antocianinas.

INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas la producción de naranja sanguina (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) en España ha disminuido, destinándose tradicionalmente su cultivo a la industria del zumo. No obstante, la alta cantidad de compuestos bioactivos beneficiosos para la salud presentes en el fruto ha derivado en un incremento reciente de la demanda entre los consumidores del fruto fresco (Castillo et al., 2014; Morales et al., 2019). Las antocianinas, caracterizadas por poseer una alta capacidad antioxidante, son el principal compuesto

encargado de otorgarle a la naranja sanguina su característico color rojo, tanto en la piel como en la pulpa y el zumo. La cantidad de estos pigmentos en el fruto dependerá de varios factores, tales como el cultivo, la madurez del fruto, la región y/o el clima (Legua et al., 2022). Concretamente, la variedad ‘Sanguinelli’ es la más común en España, y está caracterizada por poseer una leve pigmentación en el zumo (Castillo et al., 2014).

El objetivo del presente trabajo ha sido estudiar la evolución en el árbol de ocho estados de maduración de la naranja sanguina, variedad ‘Sanguinelli’. Para ello, se han evaluado distintos parámetros de maduración físico-químicos del fruto, siendo la primera vez que se busca caracterizar los cambios de maduración externa e interna en el ciclo de maduración de esta variedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y diseño experimental

El estudio se realizó en árboles de naranja sanguina (*Citrus sinensis* L. Osbeck), variedad ‘Sanguinelli’, situados en una finca comercial de Algorfa (Alicante, España). Se evaluaron un total de ocho estados de maduración (E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7 y E8) recolectados durante los meses de diciembre de 2021 y febrero de 2022. Los frutos se clasificaron en función de la presencia de color verde/rojo externo, siendo el E1 el fruto más verde y el E8 el fruto más rojo y, por tanto, el más inmaduro y maduro de forma externa, respectivamente. Una vez recolectados, los frutos se llevaron al laboratorio donde se analizaron distintos parámetros de maduración.

Determinaciones analíticas

En primer lugar, se midió el diámetro (mm) de cada fruto utilizando el pie de rey digital Mitutoyo de 150 mm. Posteriormente, se pesaron los estados de maduración con la balanza Radwag Serie WTC 2000, expresándose el peso en gramos (g). La firmeza se evaluó individualmente con el texturómetro TX-XT2i, aplicando una fuerza (N) encargada de causar una deformación (mm) del 5 % en el diámetro del fruto. El análisis del color externo se llevó a cabo con el colorímetro CRC200 Minolta Camera Co, expresando los resultados en ángulo hue (° hue).

Posteriormente, se procedió al análisis destructivo donde los frutos se cortaron en dos mitades. De una de las secciones internas, se midió el color interno (° hue) con el colorímetro Minolta. A continuación, se exprimieron ambas mitades con un exprimidor semiautomático, con el que se obtuvo un zumo homogéneo que fue filtrado con paños de tela. Empleando el refractómetro digital Atago PR-101, se midió por duplicado el contenido en sólidos solubles totales (SST) del zumo. Además, se determinó la acidez total (AT) con el valorizador automático 785 DMP Titrino, Metrohm, diluyendo 1 mL del zumo en 25 mL de agua destilada, y realizando una titulación con 0,1 N de NaOH hasta pH 8,10. El índice de maduración (IM) se calculó como el ratio de SST y AT.

Para el análisis del contenido de clorofilas en piel se adaptó el procedimiento de Kao et al. (2011). Por otro lado, el contenido de antocianinas, tanto de la piel como del zumo, fue cuantificado según el protocolo establecido por Serrano et al. (2005). Finalmente, se procedió a la extracción de carotenoides en piel siguiendo el procedimiento descrito por Al-Idee et al. (2020).

Análisis estadístico

Se empleó el test de Tukey HSD para un nivel de significancia de $p < 0,05$ entre los ocho estados de maduración en aquellos parámetros que se analizaron por duplicado. El análisis estadístico se realizó con el paquete de software SPSS v. 17,0 para Windows. Además, se realizaron correlaciones entre los parámetros de maduración externa del fruto (firmeza y color externo) y el contenido de antocianinas totales del zumo, así como dicho contenido con los parámetros de maduración interna (sólidos solubles totales).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El estado más inmaduro externamente (E1) fue el que obtuvo un menor peso, siendo el E5 el que mayor peso presentó (**Tabla 1**). Esto está relacionado con los resultados de diámetro, donde el E1 y el E5 fueron los estados que mostraron un menor y un mayor diámetro, respectivamente (**Tabla 1**). Por otro lado, la firmeza no mostró una tendencia de evolución clara a lo largo de los estados de maduración estudiados (**Tabla 1**). Respecto a los parámetros internos, el contenido en SST produce un incremento significativo entre los estados E1 y E2, aunque se estabiliza a partir del E4. Por otro lado, el E5 mostró un contenido de AT significativamente superior al resto de los estados evaluados (**Tabla 1**). Dichos resultados establecen que los estados más maduros externamente (E7 y E8) son los estados con un mayor IM, mientras que el estado más inmaduro (E1) es el que presenta el menor IM (**Tabla 1**).

El proceso de maduración externa del fruto se caracteriza por un cambio en la pigmentación de la piel de la naranja sanguina, estando determinado por cambios en el contenido de clorofilas, carotenoides y antocianinas (Habibi et al., 2020). La **Tabla 1** muestra que el E8 fue el estado con una tonalidad externa más rojiza, caracterizada por un menor ° hue, mientras que el E1 presentó un ° hue significativamente superior. De hecho, el nivel de antocianinas en zumo y piel fue significativamente superior en los estados más maduros externamente (E7 y E8), lo que explicaría el incremento del color rojo observado en la piel (Habibi et al., 2020). La cuantificación de clorofilas estableció que el estado más inmaduro externamente (E1) fue el que presentó un contenido de clorofilas totales significativamente mayor al resto de estados, mientras que a partir del E5 no se detectaron (**Tabla 1**). Por otro lado, el contenido de carotenoides de la piel incrementa de forma significativa conforme avanza la maduración externa del fruto, alcanzándose su valor máximo en el E6, aunque en los estados más coloreados (E7 y E8) vuelve a disminuir (**Tabla 1**), como se ha observado en trabajos anteriores (Lado et al., 2019). Finalmente, no existe una correlación entre el color interno y el color externo en la naranja sanguina, pues aquellos frutos con mayor color rojizo externo no tenían por qué también serlo de forma interna ($R^2 = 0,114$).

CONCLUSIONES

En conclusión, el contenido de pigmentos en piel y pulpa o zumo varía en la naranja sanguina en función del estado de maduración en el que se encuentre el fruto. No obstante, los parámetros de maduración externa que han sido estudiados evolucionaron de forma independiente a los parámetros internos, lo cual podría ser de interés a nivel comercial ya

que naranjas sanguinas que no adquieren una tonalidad externa rojiza, sí que tienen un contenido de antocianinas en pulpa y/o zumo elevado, y viceversa.

AGRADECIMIENTOS

A la Generalitat Valenciana por la financiación del proyecto PROMETEO2021/NAC/00075, 'Innovative and eco-friendly pre- and postharvest strategies with natural compounds to improve quality of fruits' y a la empresa 'Las Moreras Fruit & Veggies' por el material vegetal y el asesoramiento técnico.

REFERENCIAS

- Al-Idee, T., Habbal, H., and Karabet, F. 2020. Al-idee et al Determination of the Optimum Extraction Conditions of Carotenoid Pigment from Orange Peel by Response Surface Methodology. *J. Mater. Environ. Sci*, 7: 1141–1149.
- Castillo, P., Martínez, C., Bassa, M., Sánchez-Valladares, M., Nicolás, M., and Rodríguez, F.J. 2014. Estudio preliminar de diversas variedades de naranja sanguina. I: Parámetros de calidad y del color externo de los frutos, *Levante agrícola*, 420:19–22.
- Habibi, F., Ramezani, A., Guillén, F., Castillo, S., Serrano, M., and Valero, D. 2020. Changes in bioactive compounds, antioxidant activity, and nutritional quality of blood orange cultivars at different storage temperatures. *Antioxidants*, 9(10):1–15.
- Kao, T. H., Chen, C. J., and Chen, B. H. 2011. An improved high performance liquid chromatography-photodiode array detection-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry method for determination of chlorophylls and their derivatives in freeze-dried and hot-air-dried *Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz. *Talanta*, 86(1): 349–355.
- Lado, J., Alós, E., Manzi, M., Cronje, P.J.R, Gómez-Cadenas, A., Rodrigo, and M.J., Zacarías, L. 2019. Light Regulation of Carotenoid Biosynthesis in the Peel of Mandarin and Sweet Orange Fruits. *Frontiers in Plant Science*, 10:1-16.
- Legua, P., Modica, G., Porras, I., Conesa, A., and Continella, A. 2022. Bioactive compounds, antioxidant activity and fruit quality evaluation of eleven blood orange cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(7): 2960–2971.
- Morales, J., Navarro, P., Besada, C., Bermejo, A., and Salvador, A. 2019. Effect of cold storage on fruit quality of blood oranges. *Acta Horticulturae*, 1256: 203–209.
- Serrano, M., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Castillo, S., and Valero, D., 2005. Chemical constituents and antioxidant activity of sweet cherry at different ripening stages. *J. Agric. Food Chem.* 53: 2741–2745

TABLAS

Tabla 1. Parámetros físico-químicos de maduración externa e interna y contenido de pigmentos en ocho estados de maduración de naranja sanguina, variedad ‘Sanguinelli’.¹

Parámetros	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8
Peso (g)	97,2	106,82	172,4	182,71	214,6	162,52	155,53	124,59
Diámetro (mm)	56,29	57,2	66,82	67,24	71,68	68,12	64,56	59,60
Firmeza (N mm ⁻¹)	12,68	7,91	8,89	9,82	10,84	8,71	11,97	8,98
Color externo (°hue)	109,88 ± 2,34 ^g	76,85 ± 0,02 ^f	67,18 ± 0,04 ^e	64,61 ± 0,15 ^d	58,34 ± 0,12 ^c	52,46 ± 2,07 ^b	35,55 ± 3,74 ^a	30,51 ± 3,93 ^a
Color interno (°hue)	86,65 ± 1,42 ^e	77,24 ± 0,34 ^d	61,19 ± 2,95 ^a	67,74 ± 1,39 ^b	84,48 ± 3,73 ^e	91,62 ± 0,39 ^f	74,14 ± 2,40 ^c	59,07 ± 2,63 ^a
SST (g 100 g ⁻¹)	4,30 ± 0,10 ^a	9,40 ± 0,01 ^b	10,05 ± 0,05 ^c	11,10 ± 0,01 ^e	11,15 ± 0,05 ^e	11,00 ± 0,01 ^d	11,50 ± 0,01 ^g	11,40 ± 0,01 ^f
AT (g 100 g ⁻¹)	1,92 ± 0,01 ^f	1,56 ± 0,01 ^c	1,62 ± 0,01 ^d	1,71 ± 0,01 ^e	2,31 ± 0,01 ^h	2,20 ± 0,01 ^g	1,28 ± 0,01 ^a	1,47 ± 0,01 ^b
IM	4,32 ± 0,05 ^a	6,64 ± 0,01 ^f	5,77 ± 0,03 ^d	6,48 ± 0,01 ^e	4,82 ± 0,03 ^b	4,99 ± 0,01 ^c	8,98 ± 0,01 ^h	7,78 ± 0,01 ^g
Antocianinas en zumo (mg 100 g ⁻¹)	0,026 ± 0,01 ^a	1,05 ± 0,01 ^c	1,48 ± 0,01 ^d	2,32 ± 0,01 ^f	1,78 ± 0,01 ^e	0,65 ± 0,01 ^b	3,29 ± 0,01 ^h	3,21 ± 0,02 ^g
Antocianinas en piel (mg 100 g ⁻¹)	0,97 ± 0,01 ^a	2,05 ± 0,03 ^b	2,99 ± 0,08 ^c	2,92 ± 0,12 ^c	6,77 ± 0,14 ^d	8,94 ± 0,47 ^e	17,81 ± 0,23 ^f	26,22 ± 1,18 ^g
Clorofilas en piel (mg 100 g ⁻¹)	131,01 ± 0,70 ^d	83,48 ± 1,78 ^c	60,37 ± 1,96 ^b	36,63 ± 0,60 ^a	-	-	-	-
Carotenoides en piel (mg 100 g ⁻¹)	20,60 ± 1,68 ^a	84,71 ± 1,85 ^b	317,05 ± 1,68 ^e	223,65 ± 1,26 ^d	482,73 ± 22,79 ^g	524,79 ± 1,26 ^h	358,0 ± 4,82 ^f	129,27 ± 5,70 ^c

¹Las letras muestran diferencias significativas entre los estados de maduración para $p < 0,05$. El símbolo - equivale a la ausencia de contenido para el pigmento cuantificado.

Efecto de los tratamientos de limoneros con ácido γ -aminobutírico en el rendimiento del cultivo y en la calidad del fruto

Fátima Badiche El Hilali¹, Alberto Carrión-Antolí¹, José Manuel Lorente², Juan M. Valverde¹, Fabián Guillén¹, Daniel Valero¹

¹ Dept. Tecnología Agroalimentaria, Universidad Miguel Hernández, Ctra. Beniel, km 3,2. 03312, Orihuela, Alicante. fbadiche@umh.es

² Dept. Biología Aplicada, Universidad Miguel Hernández, Ctra. Beniel, km 3,2. 03312, Orihuela, Alicante

El ácido γ -aminobutírico (GABA), es un aminoácido no proteico de cuatro carbonos, con diferentes funciones en el metabolismo de las plantas, como señalización, modulación del crecimiento y el desarrollo, regulación del pH e inducción de tolerancia al estrés. Actualmente el GABA está adquiriendo un interés creciente, aplicado en pre-cosecha o post-cosecha, por sus efectos retrasando la senescencia y aumentando la tolerancia al estrés por frío o *chilling injury* en muchos frutos. En este experimento se trataron limoneros (*Citrus lemon L.*) de las variedades Fino y Verna, mediante spray foliar, con GABA (a concentraciones de 10 mM, 50 mM y 100 mM) en una finca comercial de Orihuela (Alicante). Los tratamientos se aplicaron mensualmente, realizándose el primer tratamiento en agosto y el último en noviembre (4 días antes de la recolección) en el caso de la variedad Fino y de febrero a mayo en la variedad Verna. Los limones Fino se recolectaron en estado de maduración comercial verde en noviembre de 2020 y amarillo en febrero de 2021 y los de la variedad Verna en estado verde en mayo de 2021 y en estado amarillo en junio de 2021. Se analizó el efecto de los tratamientos sobre la producción total de los árboles y en cada fecha de recolección y sobre los parámetros de calidad de los frutos, como tamaño, color o firmeza. Los resultados mostraron que tanto en la primera como en la segunda recolección los árboles tratados con GABA obtuvieron una mayor producción que los árboles que no habían sido tratados. Este estudio permitirá determinar si el ácido γ -aminobutírico podría ser una herramienta eficaz para incrementar la calidad de estos frutos, lo que sería muy interesante, ya que se trata de un compuesto natural sin efectos perjudiciales para el medio ambiente y una alternativa a los productos químicos comúnmente empleados.

Palabras Clave: GABA, precosecha, *Citrus lemon L.* Fino, Verna, rendimiento, color

INTRODUCCIÓN

La producción mundial de limón ha aumentado destacablemente en la última década. Con respecto al balance de la campaña 2020/2021, las últimas estimaciones sitúan finalmente la producción de cítricos en 7,045 millones de toneladas, un 12,6 % por encima de la 2019/20 y un 6,2 % superior a la media de las cinco precedentes, y se sitúa como la cuarta cosecha más alta, según las estadísticas del MAPA. España lideró el mercado de limón en 2020/2021 con un volumen de producción de 1.290.000 toneladas (MAPA 2021) Los cultivares más extendidos en esta región son los autóctonos “Fino” y “Verna”.

Se trata de un fruto muy apreciado por su composición, rica en compuestos fenólicos y otros nutrientes con actividad antioxidante y efectos beneficiosos para la salud. Sin embargo, es susceptible de padecer desordenes fisiológicos, bioquímicos y patológicos (Ma et al., 2019) por lo que buscamos tratamientos naturales para evitar estas pérdidas de calidad.

El GABA es un aminoácido no proteínogénico de cuatro carbonos ubicuo que se encuentra tanto en eucariotas como en procariotas. En las plantas, el GABA se encontró por primera vez hace más de 70 años. A partir de entonces, su papel fisiológico ha sido ampliamente estudiado y, hasta la fecha, se ha confirmado no solo como metabolito, sino también como molécula señal en las plantas (Li Li. et al., 2021). Su versatilidad funcional incluye responder a factores de estrés abiótico y biótico, mantener el equilibrio de carbono/nitrógeno (C/N) y regular el desarrollo de la planta.

Se aplica ampliamente para reducir el daño por frío y el daño oxidativo y para inducir resistencia a los patógenos (Shang et al., 2011; Yu et al., 2014). Solimani-Aghdam et al. 2016 informó de que el tratamiento exógeno con GABA mantuvo la firmeza y aumentó la capacidad antioxidante.

Por lo tanto, el presente experimento tuvo como objetivo evaluar los efectos del tratamiento con GABA durante el desarrollo del limón en el árbol en el proceso de maduración, así como en la evolución del rendimiento y las propiedades de calidad, utilizando el cultivar “Fino” y “Verna”.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo durante el periodo de otoño-invierno de 2020 para la variedad Fino y durante el periodo de primavera-verano de 2021 para la variedad Verna, en una finca comercial, bajo prácticas agronómicas estándar para el cultivo de limón.

Se aplicaron 4 tratamientos con GABA (Sigma Aldrich, Madrid, España) a concentraciones 10, 50 y 100 mM a intervalos de 30 días aproximadamente. Las soluciones se rociaron por vía foliar con un pulverizador manual. Los frutos se cosecharon en la fase de maduración comercial por lo que se realizaron varias recolecciones. Se determinó la producción total (Kg árbol⁻¹ y número de frutos árbol) así como el peso de los frutos y el destrío. Otros frutos se trasladaron al laboratorio donde se clasificaron y se evaluaron parámetros de calidad tales como firmeza utilizando un analizador de textura TX-XT2i, acoplado a una placa de acero aplicando una fuerza del 5% de deformación, pérdidas de peso, color externo (colorímetro CR-400, Minolta Camera Co., Tokio, Japón), acidez total (mediante la valoración de 0,5 mL de zumo con NaOH 0,1mM hasta pH 8,1 utilizando un valorador automático) y sólidos solubles totales (SST), utilizando un refractómetro digital.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En primer lugar, durante la recolección se evaluó la producción de los árboles. Las recolecciones se realizaron cuando los frutos alcanzaron el criterio comercial establecido por la empresa. Dado que la maduración de los frutos en el árbol no es homogénea deben realizarse varias recolecciones. Se evaluaron tanto los frutos comerciales como lo que no eran comerciales o destrío.

En la tabla 1, que representa los datos de la variedad Fino, podemos observar como en la primera recolección no existen diferencias significativas entre los árboles tratados y el control. Sin embargo, en la segunda recolección, que se realizó dos meses después de la primera, podemos observar que los árboles tratados presentan mayor número de kg/árbol que el control, destacando el tratamiento GABA 100 mM que obtuvo $193,4 \pm 14,75$ kg/árbol. En cuanto al destrío, también observamos que es inferior en los árboles tratados con respecto al control. Si observamos el total de la producción, los árboles que habían sido tratados con las distintas concentraciones de GABA produjeron casi un 12% más de kg/árbol que el control y a su vez, el destrío fue un 36% menor con respecto al control.

A continuación, en la tabla 2, se representan los datos de la variedad Verna. En la primera recolección no hubo diferencias significativas entre los árboles tratados y los controles, aunque observamos un ligero aumento de la producción en los árboles tratados con GABA 10 mM. En la segunda recolección, podemos observar que los árboles tratados con GABA 50 mM presentan la mayor producción en kg/árbol. Si observamos la producción total, los árboles tratados con GABA 10 y 50 mM son los que presentan mayor producción con respecto al control. En cuanto al destrío, no observamos que los árboles tratados con GABA obtengan mejores resultados que el control.

La diferencia en la producción en kg/árbol se debe a que los árboles tratados con GABA tenían mayor número de frutos por árbol que los controles. Esto es debido al efecto del GABA que disminuye la abscisión, reforzando la zona de unión entre el fruto y el árbol. Así, que en los árboles tratados con GABA encontramos más frutos que en los árboles control. Como observamos en la tabla 1, el mayor número de frutos por árbol se obtuvo con el tratamiento con GABA 100 mM en el caso de la variedad Fino, alcanzando un total de 1125 frutos/árbol, mientras el control solo alcanzó los 914 frutos/árbol. Sin embargo, en la variedad Verna fue la concentración de GABA 50 Mm la que obtuvo mayor número de frutos con respecto al control.

Posteriormente, se analizaron algunos parámetros de calidad el mismo día de la recolección (los resultados se muestran en las tablas 3 y 4) Tanto en la variedad Fino como en la variedad Verna no existen diferencias significativas en prácticamente ninguno de los parámetros evaluados. La excepción se presenta en la variedad Verna, donde observamos cómo, tanto en la primera como en la segunda recolección, los frutos tratados con GABA obtuvieron mayor firmeza (Tabla 4) que los frutos control.

CONCLUSIÓN

La aplicación de GABA como tratamiento de precosecha demostró un efecto significativo en la mejora la producción en los limones Fino y Verna, obteniéndose los resultados más significativos para el GABA a 100 mM en el caso de la variedad Fino y GABA 10 y 50 mM en el caso de la variedad Verna. Además, estos tratamientos con GABA no ejercieron ningún efecto negativo sobre los atributos de calidad del limón, como TSS, TA y firmeza, mejorando esta última en el caso de la variedad Verna. En el futuro, el efecto del GABA en los parámetros de calidad durante el almacenamiento a bajas temperaturas y el papel en los compuestos bioactivos y las enzimas antioxidantes requiere una mayor investigación.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación de España a través del Proyecto RTI2018-09966-B-100 y la Comisión Europea con fondos FEDER. Se agradece al Ministerio de Ciencia e Innovación las becas de investigación de F. Badiche y A. Carrión Antolí y a la Universidad Miguel Hernández la beca de investigación de J.M. Lorente-Mento. Además agradecemos a la sociedad cooperativa El Limonar de Santomera por empresa la disposición de la finca para los ensayos de campo.

BIBLIOGRAFÍA

Li, L., Dou, N., Zhang, H., & Wu, C. (2021). The versatile GABA in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 16(3), 1862565. <https://doi.org/10.1080/15592324.2020.1862565>

Ma, Y., Li, S., Yin, X., Xing, Y., Lin, H., Xu, Q. Chen, C. 2019. Effects of controlled atmosphere on the storage quality and aroma compounds of lemon fruits using the designed automatic control apparatus. *BioMed research international*, Vol. 2019, Article ID 6917147, 17. <https://doi.org/10.1155/2019/6917147>

MAPA 2021. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. Reunión sectorial de cítricos, desarrollo de la campaña de cítricos 2020/2021. <https://www.mapa.gob.es>

Shang, H., Cao, S., Yang, Z., Cai, Y., & Zheng, Y. (2011). Effect of exogenous γ -aminobutyric acid treatment on proline accumulation and chilling injury in peach fruit after long-term cold storage. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(4), 1264-1268. <https://doi.org/10.1021/jf104424z>

Yu, G. H., Zou, J., Feng, J., Peng, X. B., Wu, J. Y., Wu, Y. L., ... & Sun, M. X. (2014). Exogenous γ -aminobutyric acid (GABA) affects pollen tube growth via modulating putative Ca^{2+} -permeable membrane channels and is coupled to negative regulation on glutamate decarboxylase. *Journal of experimental botany*, 65(12), 3235-3248. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru171>

Aghdam, M. S., Razavi, F., & Karamneghad, F. (2016). Maintaining the postharvest nutritional quality of peach fruits by γ -Aminobutyric acid. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 5(4) (2016), pp. 1457-1463. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2022.111863>

TABLAS

Tabla 1. Efecto en la producción, número de frutos por árbol y destrío de los tratamientos con GABA a concentraciones de 10, 50 y 100 mM en limón Fino, en dos periodos de recolección. Los datos son la media \pm ES

	Producción (Kg/árbol)			Producción (N° de frutos/ árbol)			Destrío (Kg/árbol)		
	1ª Rec.	2ª Rec.	Total	1ª Rec.	2ª Rec.	Total	1ª Rec.	2ª Rec.	Total
Control	84,19 \pm 10,4 a	167,7 \pm 10,08 a	251,89 \pm 20,48 a	331,3 \pm 30,4 a	661,1 \pm 47,3 a	992,4 \pm 112,2 a	1,9 \pm 0,25 a	37,12 \pm 4,47 a	39,11 \pm 4,72 a
GABA 10 mM	85,02 \pm 8,95 a	197,62 \pm 3,73 b	282,64 \pm 12,68 b	328,2 \pm 28,4 a	903,6 \pm 42,4 b	1231,8 \pm 107 b	3,32 \pm 0,35 b	28,85 \pm 2,6 b	32,17 \pm 2,95 b
GABA 50 mM	78,49 \pm 11,58 a	173,59 \pm 13,7 b	252,08 \pm 25,28 a	296,8 \pm 31,2 b	777,7 \pm 22,3 c	1074,3 \pm 74,1 a	2,5 \pm 0,37 b	23,68 \pm 2,39 b	26,18 \pm 2,76 b
GABA 100 mM	87,11 \pm 9,63 a	193,4 \pm 14,75 b	280,51 \pm 24,38 b	337 \pm 24,1 a	903,5 \pm 48,2 a	1245,5 \pm 108 b	3,3 \pm 0,37 b	21,8 \pm 1,76 b	25,1 \pm 2,13 b

Tabla 2. Efecto en la producción, número de frutos por árbol y destrío de los tratamientos con GABA a concentraciones de 10, 50 y 100 mM en limón Verna, en dos periodos de recolección. Los datos son la media \pm ES

	Producción (Kg/árbol)			Producción (N° de frutos/ árbol)			Destrío (Kg/árbol)		
	1ª Rec.	2ª Rec.	Total	1ª Rec.	2ª Rec.	Total	1ª Rec.	2ª Rec.	Total
Control	92,21 \pm 16,73 a	63,56 \pm 5,14 a	176,14 \pm 4,39 a	445,67 \pm 77,63 a	407,17 \pm 34,17 a	1081,83 \pm 55,99 a	8,03 \pm 1,69 a	4,52 \pm 0,93 a	17,81 \pm 1,88 a
GABA 10 mM	120,57 \pm 22,2 a	71,27 \pm 3,75 a	204,05 \pm 10,52 b	582 \pm 93,54 a	458 \pm 28,02 a	1222,17 \pm 77,77 b	8,71 \pm 1,65 a	5,68 \pm 1,27 a	20,84 \pm 1,77 a
GABA 50 mM	99,12 \pm 6,91 a	97,05 \pm 12,69 b	215,21 \pm 15,22 b	475,67 \pm 33,38 a	622,83 \pm 81,85 b	1314,5 \pm 99,79 b	9,48 \pm 1,54 a	6,68 \pm 0,85 a	30,73 \pm 4,89 b
GABA 100 mM	84,65 \pm 13,16 a	72,85 \pm 8,73 a	178,04 \pm 13,72 a	441,17 \pm 71,01 a	471,17 \pm 59,36 a	1128,33 \pm 100,68 a	6,68 \pm 1,28 a	5,77 \pm 1,5 a	18,85 \pm 2,43 a

Tabla 3. Atributos de calidad (firmeza, tasa de respiración y acidez total) de limón Fino procedentes de árboles tratados con GABA a concentraciones de 10, 50 y 100 mM y control el día 0 en las dos recolecciones. Los datos son la media \pm ES

	Firmeza (N/mm)		Tasa de respiración (mg/ kg*h)		Acidez total (%)	
	1ª Rec.	2ª Rec.	1ª Rec.	2ª Rec.	1ª Rec.	2ª Rec.
Control	14,93 \pm 0,42 a	9,65 \pm 0,32 a	13,89 \pm 0,76 a	11,53 \pm 0,14 a	6,07 \pm 0,2 a	5,45 \pm 0,04 a
GABA 10 mM	14,08 \pm 0,5 a	9,18 \pm 0,23 a	11,98 \pm 0,22 a	9,18 \pm 0,23 a	6,39 \pm 0,03 a	5,3 \pm 0,05 a
GABA 50 mM	13,46 \pm 0,45 a	9,42 \pm 0,15 a	12,37 \pm 0,16 a	9,42 \pm 0,15 a	5,87 \pm 0,05 a	5,07 \pm 0,04 a
GABA 100 mM	14,94 \pm 0,42 a	9,34 \pm 0,4 a	13,19 \pm 0,34 a	9,34 \pm 0,4 a	6,12 \pm 0,04 a	5,6 \pm 0,08 a

Tabla 4. Atributos de calidad (firmeza, sólidos solubles totales y acidez total) de limón Verna procedentes de árboles tratados con GABA a concentraciones de 10, 50 y 100 mM y control el día 0 en las dos recolecciones. Los datos son la media \pm ES

	Firmeza (N/mm)		SST (°Brix)		Acidez total (%)	
	1ª Rec.	2ª Rec.	1ª Rec.	2ª Rec.	1ª Rec.	2ª Rec.
Control	13,18 \pm 0,3 a	9,96 \pm 0,31 a	6,11 \pm 0,04 a	5,93 \pm 0,03 a	6,07 \pm 0,2 a	5,45 \pm 0,04 a
GABA 10 mM	14,6 \pm 0,4 b	13,31 \pm 0,36 b	6,18 \pm 0,03 a	5,88 \pm 0,04 a	6,39 \pm 0,03 a	5,3 \pm 0,05 a
GABA 50 mM	15,06 \pm 0,46 b	14,31 \pm 0,35 b	6,08 \pm 0,06 a	5,88 \pm 0,05 a	5,87 \pm 0,05 a	5,07 \pm 0,04 a
GABA 100 mM	14,65 \pm 0,52 b	14,62 \pm 0,72 b	6,13 \pm 0,02 a	5,8 \pm 0,2 a	6,12 \pm 0,04 a	5,6 \pm 0,08 a

Influencia del estado de maduración sobre el desarrollo fúngico del higo para secado

A. I. Galván¹, M.G. Córdoba-Ramos^{2,3}, S. Ruiz-Moyano^{2,3}, A. Rodríguez^{2,3}, M. López-Corrales¹, A.J. Galán¹ y M.J. Serradilla⁴

¹Centro de Investigación Finca La Orden-Valdesequera (CICYTEX). Departamento de Fruticultura. Junta de Extremadura y e-mail: anaisabel.galvan@juntaex.es

²Nutrición y Bromatología. Escuela de Ingeniería Agrarias, Universidad de Extremadura.

³Instituto Universitario de Investigación Recursos Agrarios (INURA), Universidad de Extremadura.

⁴Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura (INTAEX-CICYTEX). Área de Postcosecha. Junta de Extremadura.

Resumen

La higuera, perteneciente al género *Ficus*, es un cultivo característico del área mediterránea. A nivel nacional, Extremadura es la primera comunidad autónoma en superficie y producción de higos con 7.034 hectáreas y una producción anual de 37.382 toneladas (MAPA, 2020). Los higos pueden ser consumidos en fresco, seco y/o elaborados. Los higos secos tienen la peculiaridad que, por sus nutrientes y características físico-químicas, son susceptibles de alteración por el crecimiento de mohos. Además, determinadas especies de mohos bajo condiciones favorables pueden producir micotoxinas, las cuales suponen un riesgo para la salud. Por ello, el objetivo de este trabajo fue la evaluación de la micobiota a lo largo de los diferentes estados de maduración por los que pasa el higo a lo largo de su secado al sol en las variedades Calabacita y Cuello Dama Blanco. Los recuentos de mohos oscilaron entre no detectado (nd) y 3,07 log ufc/g y los de levadura entre nd y 3,89 log ufc/g durante la maduración del higo. En la variedad 'Calabacita', la población de mohos estaba dominada por especies del género *Cladosporium* spp. (41,17%) y *Penicillium* spp. (38,24%), mientras que en la variedad Cuello Dama Blanco fueron igualmente *Cladosporium* spp. (47,61%) y *Alternaria* spp. (28,57%). A lo largo de la maduración se observó que la micobiota varió en ambas variedades. Así, los géneros *Penicillium* spp. Y *Cladosporium* spp. Fueron los mayoritarios al inicio de la maduración, mientras que en los géneros *Alternaria* spp. Y *Aspergillus* spp. predominaron en los estados intermedios. Por tanto, la implementación de estrategias antifúngicas en esta fase intermedia del desarrollo del fruto se hace necesaria para prevenir la presencia de micotoxinas en el producto final.

Palabras clave: *Ficus carica* L., higo seco, maduración, mohos, micotoxinas

INTRODUCCIÓN

La higuera (*Ficus Carica* L.) es una especie cultivada principalmente en los países mediterráneos, ya que está bien adaptada a las altas temperaturas y a regímenes de agua bajos. Además, es un cultivo económicamente importante en la zona del Mediterráneo.

España, es el primer país productor de higos en la Unión Europea con 59.900 t. De esta producción, el 62,41% se cultiva en Extremadura (MAPA, 2020). Los higos pueden ser consumidos tanto en fresco como en seco y/o elaborado. En Extremadura, el higo se destinada principalmente a la producción de higo seco, siendo las principales variedades cultivadas ‘Calabacita’, ‘Cuello Dama Blanco’ y ‘Picholetera’.

Tradicionalmente, el cultivo de la higuera en Extremadura se ha desarrollado en secano con amplios marcos de plantaciones. El fruto una vez seco, cae al suelo y se recolecta de forma manual del mismo cada 10 días, aproximadamente. Esto hace que los higos secos sean muy vulnerables al desarrollo de mohos filamentosos. Algunos de ellos pueden ser toxigénicos y si las condiciones son favorables para su crecimiento pueden producir micotoxinas, las cuales suponen un riesgo para la salud de los consumidores. Entre ellas, destacan por su toxicidad e incidencia en este producto las aflatoxinas (AFs) y ocratoxina A (OTA). Sin embargo, estudios previos han indicado que la contaminación de los higos secos con mohos toxigénicos comienza durante el secado al sol en el árbol, durante las etapas de desarrollo de los frutos (Gilbert and Senyuva, 2008). Por ello, el objetivo de este trabajo fue la evaluación de la micobiota a lo largo de los diferentes estados de maduración por los que pasa el higo en el árbol hasta su secado al sol en las variedades Calabacita y Cuello Dama Blanco.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Las muestras de higo a lo largo de la maduración fueron tomadas a partir de árboles de 8 años de edad de las variedades Calabacita y Cuello Dama Blanco localizados en una finca experimental en la “Finca La Orden-Valdesequera” (Guadajira, Badajoz), perteneciente al Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX). Las higueras en esta finca estaban bajo condiciones de regadío (3000- 3500 m³/ha entre junio y septiembre). Se establecieron un total de 8 estados de maduración para la variedad Calabacita, siendo H1 el estado inicial (5-8 cm) hasta H8 (higo seco) y 5 estados de maduración para la variedad Cuello Dama Blanco, siendo H1 (16-20 cm) hasta H5 (higo seco). Se realizaron dos tomas de muestras en cada variedad y en cada toma de muestra se recogieron 15 frutos de cada estado de maduración. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS para Windows, 25.0.

Recuentos microbiológicos y aislamiento de cepas

Diez gramos de cada muestra fueron tomados de forma aséptica en bolsas estériles y se homogeneizaron con 90 mL de agua de peptona estéril. Posteriormente, se prepararon diluciones decimales seriadas con agua de peptona y 0,1 mL de cada dilución se sembró en Agar de Patata Dextrosa (PDA) acidificado a pH 3,5 con una solución estéril de ácido tartárico al 10% (p/v). Las placas fueron incubadas a 25 °C durante 5 días. Después de la incubación, se contaron las colonias de mohos, y los resultados se expresaron como log ufc/g.

Seguidamente, se aislaron al azar tres colonias de moho de las diluciones más altas en placas de PDA y se realizaron pases hasta obtener cultivos puros. Las esporas fueron

recogidas con una solución de Tween 80 al 0,05% (p/v) y almacenadas a -80°C en una solución de glicerol (50% v/v) hasta su utilización.

Identificación y caracterización de los aislamientos

Los aislados de mohos fueron sembradas en agar PDA e incubados a 25°C durante 4 días. Posteriormente, se extrajo el ADN genómico de cada aislado de moho con el kit “Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep Kit” de Zymo siguiendo las instrucciones del fabricante. Los aislados fueron identificados a nivel de género mediante la amplificación por PCR del espaciador transcrito interno ITS1/ITS2-5.8 S rDNA utilizando los cebadores ITS1 e ITS4 y posterior secuenciados. Las secuencias obtenidas se compararon con la base de datos GenBank usando el software BLAST algorithm. La identificación de los aislados a nivel de género fue determinada sobre el porcentaje de máxima similitud.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Recuentos de mohos

En la Figura 1 se muestra la evolución a lo largo de los diferentes estados de maduración de los recuentos de mohos en las variedades Calabacita y Cuello Dama Blanco. Los recuentos oscilaron entre no detectado (nd) y 3,07 log ufc/g en las dos variedades analizadas a lo largo de los diferentes estados de maduración. En la variedad ‘Calabacita’ se observó un incremento significativo ($p>0,05$) en los recuentos de mohos en el estado H8. Los resultados obtenidos fueron similares a los mostrados por Villalobos et al. (2018) en higos secos de estas mismas variedades secados de forma natural al sol.

Identificación de los aislamientos

La incidencia de los diferentes géneros de mohos identificados en los higos secos en ‘Calabacita’ y ‘Cuello Dama Blanco’ se muestra en la Figura 2. En general, el género mayoritario en las dos variedades estudiadas fue *Cladosporium*, con 41,18% de los aislamientos identificados en ‘Calabacita’ y 47,62% en ‘Cuello Dama Blanco’. Otros géneros de mohos identificados en niveles importantes fueron *Penicillium* spp. y *Alternaria* spp. Concretamente, *Penicillium* spp. (38,24%) y *Alternaria* spp. (11,76%) en ‘Calabacita’, mientras que en ‘Cuello Dama Blanco’ la dinámica fue a la inversa con *Alternaria* spp. (28,57%) y *Penicillium* spp. (14,28%) (Fig. 2). Además, destacar que, la incidencia del género *Aspergillus* fue baja, 5,88% en la variedad Calabacita y 4,76% en ‘Cuello Dama Blanco’ de los aislamientos identificados. Sin embargo, debido al potencial toxigénico de algunas especies de este género, su presencia se considera uno de los mayores problemas asociado a la infección por mohos en los higos secos (Ait Mimoune et al., 2018).

En la Tabla 1 se presentan las identificaciones de los mohos obtenidas en los diferentes estados de maduración establecidos en ‘Calabacita’ y ‘Cuello Dama Blanco’. La diversidad de los géneros fue mayor en los estados H1, H2 y H5 en ‘Calabacita’ y en el H4 en ‘Cuello Dama Blanco’. En cuanto a la distribución de los géneros identificados, en los estados iniciales y finales predominaron los géneros *Penicillium* spp. y *Cladosporium* spp. mientras que en los estados H3, H4 y H5 predominan mohos toxigénicos como *Alternaria* spp. y *Aspergillus* spp (Tabla 1). Buchanan, Sommer y Fortlage (1975) informaron que los frutos verdes son más resistentes a la colonización por *Aspergillus*, pero que al madurar pierden su resistencia. La mayoría de los géneros encontrados en los distintos estados de maduración contienen especies potencialmente toxigénicas. Heperkan (2006) reportó que la microbiota más común que se encuentra colonizando los higos secos son *Aspergillus*

section *Nigri*, *Aspergillus* section *Flavi*, *Fusarium* spp. y *Penicillium* spp. Una identificación más específica a nivel de especie de los aislados obtenidos, utilizando marcadores genéticos como la β -tubulina y la calmodulina, podría contribuir a aclarar el riesgo de contaminación con especies toxigénicas en el higo seco a lo largo de su maduración en el árbol.

CONCLUSIONES

El desarrollo fúngico puede observarse en el higo a lo largo de su proceso de maduración. Se encontró que la población fúngica dominante fue *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., *Alternaria* spp. y *Aspergillus* spp. conteniendo alguno de estos géneros especies productoras de micotoxinas. Por tanto, la implementación de estrategias antifúngicas en esta fase intermedia del desarrollo del fruto se hace necesaria para controlar la presencia de micotoxinas en el producto final.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación al Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) por el proyecto RTA2017-000032-C01 y al Gobierno de Extremadura por el Grupo de Investigación GR21198 del “Fondo Europeo de Desarrollo Regional FEDER”. A.I. Galván y A.J. Galán agradecen al Ministerio de Economía, Industria y Competitividad por las becas predoctorales Ref. BES-2017-079830 y Ref. PRE2018-086475

REFERENCIAS

- Ait Mimoune, N., Arroyo-Manzanares, N., Gámiz-García, L., García-Campiña, A. M., Bouti, K., Sabaou, N., Riba, A. (2018). *Aspergillus* section *Flavi* and aflatoxins in dried figs and nuts in Algeria. *Food Additives & Contaminants*. 11. <https://doi.org/10.1080/19393210.2018.1438524>.
- Buchanan, J.R., Sommer, N.F., Fortlage, R.J. (1975). *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin production in fig fruits. *Appl. Microbiol.*30 (2), 238-241.
- Gilbert, J., Senyuva, H. (2008). Fungal and mycotoxin contamination of dried figs-a review. *Mycotoxins* 58, 73–82. <https://doi.org/10.2520/myco.58.73>.
- Heperkan, D. (2006). The importance of mycotoxins and a brief history of mycotoxin studies in Turkey. Special issue “Mycotoxins: Hidden hazards in food”. *ARI Bulletin of Istanbul Technical University*, 54, 18–27
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, MAPA. (2020). <https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/estadisticas/>
- Villalobos, M.C., Serradilla, M.J., Martín, A., Ruíz-Moyano, S., Casquete, R., Hernández, A., Córdoba, M.G. (2018). Use of efficient drying methods to improve the safety and quality of dried fig. *J. Food Process. Preserv.* e13853. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13853>.

TABLAS

Tabla 1. Identificación de mohos a nivel de género a lo largo de los diferentes estados de maduración en las variedades Calabacita y Cuello Dama Blanco.

‘Calabacita’							
H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8
<i>Cladosporium</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Cladosporium</i>		<i>Penicillium</i>	<i>Cladosporium</i>
<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Penicillium</i>	-		<i>Penicillium</i>
<i>Epicoccum</i>	<i>Alternaria</i>			<i>Aspergillus</i>			
‘Cuello Dama Blanco’							
<i>Paraphoma</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Cladosporium</i>			
	<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria</i>			
			<i>Aspergillus</i>				
			<i>Penicillium</i>				

FIGURAS

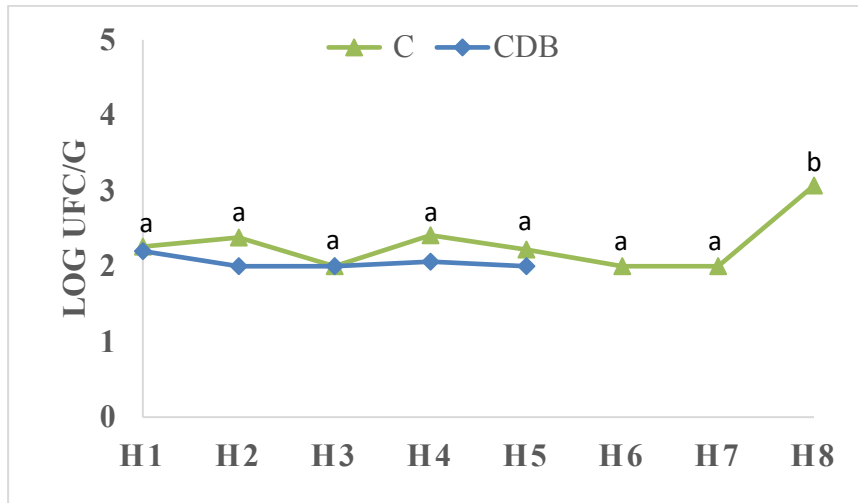


Fig. 1. Evolución de los recuentos de mohos a lo largo de los diferentes estados de maduración en las variedades Calabacita (C) y Cuello Dama Blanco (CDB). ^{ab}Indican diferencias significativas ($p < 0,05$) dentro de una misma variedad entre los diferentes estados de maduración.

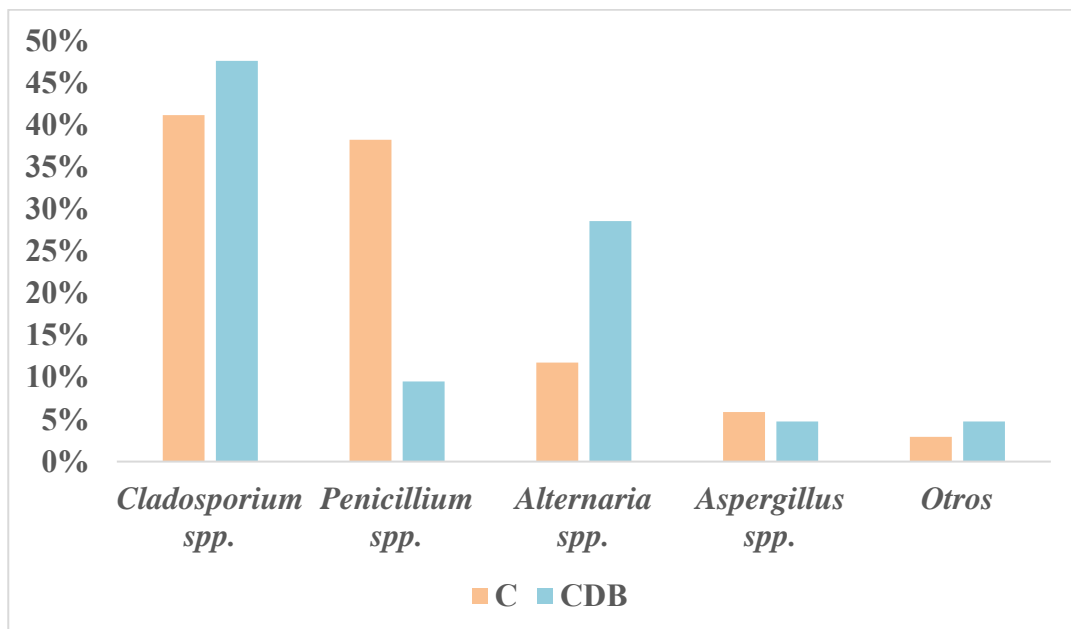


Fig. 2. Prevalencia de los mohos en los higos durante todas las etapas de maduración en las variedades Calabacita (C) y Cuello Dama Blanco (CDB).

¿Es posible modular la fisiología y los compuestos bioactivos de los frutos mediante tratamientos innovadores en precosecha?

Daniel Valero¹, María Serrano²

¹ Departamento de Tecnología Agroalimentaria, Universidad Miguel Hernández, Ctra. Beniel km. 3,2, 03312, Orihuela, Alicante, Email: daniel.valero@umh.es

² Departamento de Biología Aplicada, Universidad Miguel Hernández, Ctra. Beniel km. 3,2, 03312, Orihuela, Alicante, E-mail: m.serrano@umh.es

Resumen

En esta conferencia se va a exponer los últimos avances llevados a cabo a través de tratamientos precosecha y su impacto en la calidad de frutas en el momento de la cosecha y durante su almacenamiento post-recolección, con especial énfasis de los compuestos bioactivos con actividad antioxidante. Dentro de los tratamientos, considerados innovadores y de carácter natural, se estudiarán la melatonina y el ácido γ -aminobutírico. Entre las frutas que se han utilizado estos elicitores se estudiarán los efectos en cereza, granada y limón. En todos los casos se ha comprobado un aumento del rendimiento de los cultivos, así como un mayor contenido de compuestos bioactivos. Durante el almacenamiento, los parámetros de calidad y los compuestos fitoquímicos se mantienen durante el almacenamiento en refrigeración, un retraso del proceso de maduración poscosecha de estos frutos no climatéricos, y una extensión de la vida útil. Finalmente, se discutirá el efecto de algunas variables tales como momento de aplicación, dosis aplicada y número de tratamientos. Mediante esta conferencia se va a exponer los principales resultados obtenidos del Proyecto Retos RTI2018-09966-B-100 del Ministerio de Ciencia e Innovación.

Palabras clave: Antocianinas, Fenoles, Antioxidantes, Calidad, Elicitores

INTRODUCCIÓN

Las plantas se encuentran en su hábitat natural sometidas a diferentes tipos de estrés tanto bióticos (hongos, bacterias y virus) como abióticos (radiación ultravioleta, salinidad, altas y bajas temperaturas, ozono y sequía), lo que afecta a la producción del cultivo. Las plantas no son testigos pasivos frente a la avalancha continua de estos estreses, y al igual que otros organismos, se defienden mediante la activación de varios mecanismos (Savvides et al., 2016). Investigaciones recientes han demostrado un proceso de señales de tipo químico que actúan como sensores de estrés e inductores de señales de estrés en plantas. Este proceso se puede obtener mediante la aplicación de elicitores, que son compuestos de bajo peso molecular que imitan a un estímulo de estrés abiótico u otros factores bióticos. Sobre la base de su origen, hay dos grupos distintos: elicitores bióticos abióticos. En este trabajo se presentan resultados de elicitores de naturaleza química, pero de origen natural, como melatonina y el ácido γ -aminobutírico (GABA). Los elicitores aplicados en precosecha inducen cambios morfológicos, fisiológicos y bioquímicos (Zhu et al., 2016) que pueden afectar a la producción y calidad de frutos (Drobek et al., 2019), así como modular los compuestos bioactivos con actividad antioxidante (Baenas et al., 2014), e incluso modificaciones genéticas (Awan et al., 2017).

MELATONINA

En la actualidad, los consumidores demandan alimentos más sanos, a la vez que frescos, seguros y duraderos. Las últimas décadas han sido testigos de un tremendo crecimiento en el uso de elicitores en la agricultura, por lo que el Consejo Europeo de la Industria de los Bioestimulantes, y con el objetivo de un marco legal para la comercialización de estos productos, los definió como “Sustancia(s) que contiene(n) y/o microorganismos cuya función cuando se aplica a las plantas para estimular los procesos naturales para mejorar/beneficiar la absorción de nutrientes, la eficiencia de nutrientes, tolerancia al estrés abiótico y la calidad del cultivo” (EBIC, 2012).

La melatonina puede ser considerada como una hormona vegetal que ha ganado mucha atención en los últimos años y reconocida como un bioestimulador frente al estrés de la planta, si bien esta fitohormona no está aún autorizada, si bien puede influir en otras hormonas vegetales (Arnao y Hernández-Ruiz, 2014; 2018).

Nuestro grupo, fue pionero en aplicar melatonina como tratamiento precosecha en granada (García-Pastor et al., 2017). Melatonina a 0,1 mM incrementó la producción y el peso de los frutos, así como el contenido de azúcares y los compuestos bioactivos en el momento de la recolección. El siguiente año se repitió el tratamiento y las granadas se almacenaron durante 3 meses, y se observó que la granada tratada con melatonina 0,1 mM mantuvo atributos de calidad más altos que, como la acidez, sólidos solubles, firmeza y un mejor control de la pérdida de peso (Medina-Santamarina et al., 2021a). Además, la melatonina estimuló la síntesis de antocianinas en los arilos, por lo que incrementó el color interno de la granada ‘Mollar de Elche’. Por lo que respecta al contenido de compuestos bioactivos, el tratamiento con melatonina conllevó a un aumento de fenoles totales, antocianinas totales y actividad antioxidante total en el momento de la recolección y durante el almacenamiento postcosecha (Lorente-Mento et al., 2021). Resultados similares se han obtenido en uva de mesa durante la maduración en el árbol, donde las uvas tratadas con melatonina mostraron mayor uniformidad del color y mayor peso, cuyo mecanismo de acción podría deberse a través de su interacción con ABA y etileno (Pérez-Llorca et al., 2019).

En cereza, la aplicación de melatonina a dosis de 0,1, 0,3, y 0,5 mM a variedades de ‘Prime Giant’ y ‘Sweet Heart’ tuvo unos efectos positivos en cuanto a la reducción de las pérdidas de peso, acidez y firmeza. Además, las concentraciones de fenoles totales y antocianinas fueron más altas en la fruta tratada, así como la actividad de los enzimas antioxidantes catalasa (CAT), ascorbato peroxidasa (APX) y peroxidasa (POD) y alargando la vida útil (Carrión-Antolí et al., 2022). Las especies reactivas de oxígeno (ROS) se reconocieron inicialmente como subproductos tóxicos del metabolismo aeróbico. En los últimos años, se ha hecho evidente que las ROS desempeñan un importante papel de señalización en las plantas, controlando procesos como el crecimiento, el desarrollo y, especialmente, la respuesta a estímulos ambientales bióticos y abióticos. Para asegurar la supervivencia, las plantas han desarrollado una maquinaria antioxidante eficiente que tiene dos brazos, (1) componentes enzimáticos como superóxido dismutasa (SOD), CAT y APX. (2) antioxidantes no enzimáticos como el ácido ascórbico (AA), compuestos fenólicos, flavonoides y carotenoides (Das y Roychoudhury, 2014). Por tanto, la melatonina es capaz de estimular ambos sistemas antioxidantes en cereza, los cuales son capaces de mantener la calidad durante más tiempo, incrementando los sistemas antioxidantes en el momento de la cosecha y tras el almacenamiento.

En albaricoque, el tratamiento con melatonina a variedades de 'Colorado' y 'Mikado', aumentó de los parámetros de calidad en la cosecha, como el peso del fruto, la firmeza, y el rendimiento del cultivo. Durante el almacenamiento a la temperatura de 8 y 1 °C (temperatura de daños por frío) se comprobó que la evolución de los parámetros responsables de la reducción de la calidad de la fruta, tales como pérdida de peso, firmeza, y pérdidas de acidez, se retrasaron en los frutos tratados. Además, se redujeron los síntomas de daño por frío debido a la reducción de la producción de etileno encontrada en los frutos tratados (Medina-Santamarina et al., 2021b). En melocotón, se ha demostrado que la melatonina confiere tolerancia al frío durante el almacenamiento a baja temperatura, lo que parece estar relacionado principalmente con su actividad antioxidante (Cao et al., 2018), el aumento de la respuesta sistémica de defensa (Cao et al., 2016) y el aumento de la síntesis de poliaminas en tomate (Aghdam et al., 2019).

Como conclusión, se puede afirmar que se han obtenido efectos muy positivos para mantener la calidad de los frutos no climatéricos como granada y cereza, y frutos climatéricos como albaricoque. No obstante, los efectos de la melatonina dependen de la dosis aplicada, y por tanto se necesitan más investigación para comprender mejor el papel de la melatonina en el control del desarrollo del fruto. Resulta interesante comprobar cómo en melocotón tratado con melatonina produjo una mayor cantidad de ácido γ -aminobutírico (GABA) a través del aumento de la enzima glutamato descarboxilasa y expresión de genes de poliamino oxidasa, relacionada con el metabolismo de las poliaminas (Cao et al., 2018)

ÁCIDO γ -AMINOBUTÍRICO (GABA)

El ácido γ -aminobutírico (GABA) es un aminoácido no proteínico de 4 carbonos que se encuentra de forma natural tanto en plantas como en animales. Existen también otros isómeros como el ácido α -aminobutírico (AABA), también conocido como homoalanina, y el ácido β -aminobutírico (BABA) que también tienen un papel fisiológico en animales (AABA), mientras que el BABA es una molécula natural en las plantas (Oketch-Rabah et al., 2021). El GABA se encuentra naturalmente en pequeñas concentraciones en muchas frutas y hortalizas, y se acumula bajo varias condiciones de estrés abiótico jugando un papel fisiológico como equilibrio redox, osmoprotección, ajuste osmótico y funciones antioxidantes, entre otras (Signorelli et al., 2021).

En humanos, es bien sabido que el GABA tiene múltiples propiedades promotoras de la salud, ya que juega un papel como neurotransmisor inhibitorio de la corteza neuronal que actúa sobre el sistema nervioso central, pero también se considera un compuesto bioactivo en alimentos con diferentes funciones, como antiinflamatorio, antidiabético, antihipertensivo y anticancerígeno (Jain y Ghodke, 2021).

La aplicación precosecha de GABA en limón se estudió por primera vez en limón. Para ello, se utilizaron 3 dosis (10, 50 y 100 mM) a limón 'Fino' durante 2 campañas consecutivas (2019 y 2020). Se evaluó el papel de GABA sobre el crecimiento y rendimiento de frutos (kg árbol^{-1} y número de frutos árbol^{-1}) y los atributos de calidad del limón al momento de la cosecha. El limón 'Fino' generalmente se cosecha en diferentes etapas de madurez para cumplir con los requisitos del mercado, y lo normal con 2 fechas, una en noviembre y otra en febrero. El tamaño y el color de la fruta son dos de las principales características que determinan cuándo se debe recolectar la fruta. Durante el otoño, a medida que la temperatura comienza a descender (por debajo de los 13 °C), el fruto comienza a cambiar de color debido a la descomposición de la clorofila y la aparición del color amarillo de la piel, cuyos principales pigmentos son los carotenoides,

mientras que en la segunda cosecha el fruto está completamente amarillo. Los tratamientos con GABA en limonero fueron muy efectivos para mejorar el rendimiento del cultivo, determinado tanto por la producción (kg árbol⁻¹) como por el número de frutos árbol⁻¹ para las 2 temporadas y las 2 fechas de cosecha, siendo el efecto mayor luego de la aplicación de GABA a 100 mM (Badiche et al., 2022). El contenido de sólidos solubles, la acidez y la firmeza no se vio afectado por los tratamientos con GABA. Como conclusión, en este trabajo se ha demostrado la eficacia del GABA como elicitador para incrementar la producción y mantener la calidad del limón 'Fino'. En el futuro, el efecto de GABA en otros cultivares de limón, como 'Verna', y el papel en los compuestos bioactivos y las enzimas antioxidantes requieren más investigación.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad a través del Proyecto AGL2015-63986R y la Comisión Europea con fondos FEDER.

REFERENCIAS

- Aghdam, M.S., Luo, Z., Jannatizadeh, A., Sheikh-Assadi, M., Sharafi, Y., Farmani, B. 2019. Employing exogenous melatonin applying confers chilling tolerance in tomato fruits by upregulating ZAT2/6/122/6/12 giving rise to promoting endogenous polyamines, proline, and nitric oxide accumulation by triggering arginine pathway activity. *Food Chem.* 275: 549–556
- Arnao, M.B., Hernández-Ruiz, J. 2014. Melatonin: plant growth regulator and/or biostimulator during stress? *Trends Plant Sci.* 19,789–797.
- Arnao, M.B., Hernández-Ruiz, J. 2018. Melatonin and its relationship to plant hormones. *Ann. Bot.* 121: 195–207.
- Awan, F.K., Khurshid, M.Y., Mehmood, A. 2017. Plant growth regulators and their role in abiotic stress management. *Int. J. Innov. Res. Biosci.* 1: 9–21.
- Badiche, F., Valverde, J.M., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Serrano, M., Valero, D. 2022. Preharvest use γ -aminobutyric acid (GABA) as an innovative treatment to enhance yield and quality traits in lemon fruit. *Agronomy* (En Prensa).
- Baenas, N., García-Viguera, C., Moreno, D.A. 2014. Elicitation: a tool for enriching the bioactive composition of foods. *Molecules* 19: 13541–13563.
- Cao, S., Shao, J., Shi, L., Xu, L., Shen, Z., Chen, W. 2018. Melatonin increases chilling tolerance in postharvest peach fruit by alleviating oxidative damage. *Sci. Rep.* 8: 806.
- Cao, S., Song, C., Shao, J., Bian, K., Chen, W., Yang, Z. 2016. Exogenous melatonin treatment increases chilling tolerance and induces defence response in harvested peach fruit during cold storage. *J. Agric. Food Chem.* 64: 5215–5222.
- Carrión-Antolí, A., Martínez-Romero, D., Guillén F., Zapata. P.J., Serrano, M., Valero, D. 2022. Melatonin Pre-harvest Treatments Leads to Maintenance of Sweet Cherry Quality During Storage by Increasing Antioxidant Systems. *Front. Plant Sci.* 13: 863467.
- Das, K., Roychoudhury, A. 2014. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Front. Environ. Sci.* 2: 53.
- Drobek M, Frac, M., Cybulska, J. 2019. Plant biostimulants: importance of the quality and yield of horticultural crops and the improvement of plant tolerance to abiotic stress—a review. *J Agron.* 9:335.

- EBIC. 2012. What are biostimulants? <https://www.biostimulatnts.eu>.
- García-Pastor, M. E., Guillén, F., Zapata, P.J., Agulló, V., Castillo, S., Serrano, M. D. Valero, D. 2019. Melatonin: a new tool to increase yield and quality at harvest and to extend postharvest shelf-life of pomegranate. *Acta Hort.* 1254: 289-294.
- Jain, P., Ghodke, M.S. 2021. Advances and Perspectives of Gamma-Aminobutyric Acid as a Bioactive Compound in Food. In *Bioactive Natural Products for Pharmaceutical Applications*, Pal, D., Nayak, A.K., Eds.; Springer, Cham, pp. 819-843.
- Janas, K.M., Posmyk, M.M. 2013. Melatonin, an underestimated natural substance with great potential for agricultural application. *Acta Physiol. Plant.* 35: 3285–3292.
- Lorente-Mento, J.M., Guillén, F., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Valverde, J.M., Valero, D., Serrano, M. 2021. Melatonin Treatment to Pomegranate Trees Enhances Fruit Bioactive Compounds and Quality Traits at Harvest and during Postharvest Storage. *Antioxidants*.10: 820.
- Medina-Santamarina, J., Serrano, M., Lorente-Mento, J.M., García-Pastor, M.E., Zapata, P.J., Valero, D., Guillén, F. 2021a. Melatonin Treatment of Pomegranate Trees Increases Crop Yield and Quality Parameters at Harvest and during Storage. *Agronomy* 2021, 11, 861.
- Medina-Santamarina, J., Zapata, P.J., Valverde, J.M., Valero, D., Serrano, M., Guillén, F. 2021b. Melatonin Treatment of Apricot Trees Leads to Maintenance of Fruit Quality Attributes during Storage at Chilling and Non-Chilling Temperatures. *Agronomy*. 11: 917.
- Oketch-Rabah, H.A., Madden, E.F., Roe, A.L., Betz, J.M. 2021. United States Pharmacopeia (USP) Safety Review of Gam-ma-Aminobutyric Acid (GABA). *Nutrients*. 13: 2742.
- Pérez-Llorca, M., Muñoz, P., Müller, M., Munné-Bosch, S. 2019. Biosynthesis, Metabolism and Function of Auxin, Salicylic Acid and Melatonin in Climacteric and Non-climacteric Fruits. *Front. Plant Sci.* 10: 136.
- Roychoudhury, A., Tripathi, D.K. 2019. *Molecular Plant Abiotic Stress: Biology and Biotechnology*. JohnWiley & Sons Ltd, USA.
- Savvides, A., Ali, S., Tester, M., Fotopoulos, V. 2016. Chemical priming of plants against multiple abiotic stresses: mission possible? *Trends Plant Sci.* 21: 329–340.
- Signorelli, S., Tarkowski, Ł.P., O’Leary, B., Tabares-da Rosa, S., Borsani, O., Monza, J. 2021. GABA and Proline Metabolism in Response to Stress. In *Hormones and Plant Response. Plant in Challenging Environments*, Gupta, D.K., Corpas, F.J., Eds.; Springer, Cham, pp. 291-314.
- Zhai, R., Liu, J., Liu, F., Zhao, Y., Liu, L., Fang, C. 2018. Melatonin limited ethylene production, softening and reduced physiology disorder in pear (*Pyrus communis* L.) fruit during senescence. *Postharvest Biol. Technol.* 139: 38–46.
- Zhu, J.K. 2016. Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell.* 167: 313–324.

Calidad de la granada: influencia de la recolección

J. M. Lorente-Mento*, F. Badiche, J.M. Valverde, D. Valero, M. Serrano, F. Guillén
Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO),
Universidad Miguel Hernández de Elche. Carretera de Beniel Km 3.2, Orihuela, 03312,
Alicante, España. jlorente@umh.es

Resumen

La granada es un fruto estacional, de elevada calidad y en concreto, la variedad ‘Mollar de Elche’ es muy apreciada por los consumidores por su dulce sabor, baja acidez y agradable aroma. Sin embargo, los agricultores tienden a adelantar la fecha de recolección, ya que la fruta temprana alcanza mayores precios en el mercado, aunque en detrimento de la calidad. El objetivo de este trabajo fue determinar si la fecha de recolección a lo largo de la campaña, influye en los parámetros de calidad organoléptica, nutritiva y funcional de la granada ‘Mollar de Elche’, lo que nos permitiría dar recomendaciones al sector hortofrutícola al respecto. Las granadas se recolectaron en una finca comercial de Albaterra (Alicante), en estado de maduración comercial, según color externo y tamaño, el 30 de septiembre, 15 y 24 de octubre de 2019 y el 6 y 21 de octubre de 2020. Se analizaron parámetros de calidad organoléptica (tamaño, color externo e interno, sólidos solubles y acidez), nutritiva (contenido en ácidos y azúcares) y funcional (polifenoles y antocianinas). Los resultados muestran que el número de frutos fue menor en el año 2019 con respecto al año 2020, además el peso de éstos es mayor en la 1ª recolección en comparación a las otras recolecciones. Los valores de firmeza y sólidos solubles totales fueron ligeramente superiores en el año 2020 aunque no se observaron diferencias entre las diferentes fechas de recolección en ambos años. Sin embargo, el color de la corteza externa y de los arilos sí que aumentó de forma significativa en el parámetro a^* entre las diferentes recolecciones debido a un aumento de la concentración de antocianinas, siendo este aumento más significativo en el año 2020 con respecto al 2019. Este aumento también se vio reflejado en el contenido de polifenoles totales.

Palabras clave: *Punica granatum* L., acidez, firmeza, azúcares, antocianinas

INTRODUCCIÓN

La granada (*Punica granatum* L.) es una especie originaria de Irán y el norte de la India y que desde hace cientos de años se ha extendido y cultivado por toda la región del Mediterráneo. El color de los arilos, el contenido de azúcares y ácidos orgánicos, así como su aspecto externo son los principales atributos de calidad de esta fruta. Además, numerosos estudios científicos han demostrado que su consumo tiene efectos beneficiosos para la salud, destacando su contenido en antocianinas y otros compuestos fenólicos (Pirzadeh et al., 2021). La granada ‘Mollar de Elche’ es el cultivar más cultivado en España ya que es muy apreciado por los consumidores debido a su alta concentración de azúcares y baja acidez (Fernandes et al., 2017). La recolección de la granada se realiza normalmente cuando el fruto alcanza el estado óptimo de comercialización. Dado que la composición química se modifica durante la maduración en el árbol, es importante determinar el momento óptimo de recolección. Si la recolección se realiza demasiado pronto son frutos de baja calidad porque aún no han desarrollado su color, aroma y sabor característico y si se realiza demasiado tarde se obtienen frutos de elevada calidad, aunque su deterioro después de la recolección es más rápido y disminuyen las posibilidades de conservación. Durante la

maduración de la granada se produce una acumulación de azúcares y una disminución de la acidez en los arilos (Kulkarni et al., 2005). Por otro lado, el color de los arilos aumenta debido a la acumulación de antocianinas, pigmentos responsables de su color rosado-rojo-granate (Miguel et al., 2004). Por lo tanto, el objetivo principal del presente trabajo fue determinar cuál sería el momento óptimo de recolección para obtener frutos de máxima calidad organoléptica (color de la corteza y de los arilos, firmeza, acidez y °Brix) y funcional (contenido total de polifenoles y antocianinas) en un estudio realizado en los años 2019 y 2020.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Para este estudio se utilizaron árboles de granado (*Punica granatum* L.) en una parcela comercial situada en Elche (Alicante) durante los años 2019 y 2020. Las granadas fueron recolectadas según necesidades comerciales de la empresa y cuando alcanzaron los estándares de calidad establecidos (más de 350 g de peso y más de 13 °Brix de sólidos solubles totales). En el año 2019 se realizaron 3 recolecciones: 30 de septiembre y 15 y 24 de octubre. Y en el año 2020 se realizaron 2 recolecciones: 6 y 21 de octubre. Las diferentes fechas de recolección de los frutos se debe a que la producción de granada en el árbol es heterogénea, es decir, unas granadas maduran antes que otras. Un total de 15 frutos se tomaron al azar en cada recolección y se trasladaron de forma inmediata al laboratorio donde se analizaron los siguientes parámetros de maduración.

Métodos analíticos

El peso de los frutos se determinó mediante una báscula digital cuyo resultado fue expresado en gramos y son la media \pm ES. El contenido de sólidos solubles totales (SST) se midió, por duplicado, en el zumo obtenido al exprimir 100 gramos de arilos con una tela doble de algodón utilizando un refractómetro digital (Atago PR-101, Atago Co. Ltd., Tokio, Japón) a 20 °C. Los resultados se expresaron como g.100 g⁻¹ en peso fresco y son la media \pm ES. La acidez total (AT) se midió por duplicado en el mismo zumo, utilizando 1 mL de zumo diluido en 25 mL de agua destilada, el cual se valoró con NaOH 0,1N hasta un pH 8,1 en un valorador automático (785 DMP Tritino, Metrhom) y los resultados se expresaron como g equivalentes de ácido málico 100 g⁻¹ en peso fresco y son la media \pm ES. El color de la corteza externa y de los arilos de la granada se determinó utilizando un colorímetro Minolta (CRC200 Minolta Camera Co., Tokio, Japón) y fue expresado en a*. La firmeza se midió individualmente en cada fruto, utilizando un analizador de textura TX-XT2i (Stable mycosystems, Godalming, Reino Unido), que aplicó una fuerza para lograr una deformación del 5% del diámetro del fruto. Los resultados se expresaron como la relación entre la fuerza aplicada y la distancia recorrida (N.mm⁻¹) y son la media \pm ES. Las antocianinas y polifenoles totales se analizaron mediante el método descrito por Lorente-Mento et al., (2021). Los resultados se expresaron como mL.100 mL⁻¹ para las antocianinas y mg.100 g⁻¹ para los polifenoles y son la media \pm ES. Los análisis estadísticos se realizaron con el software SPSS, versión 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Los datos se sometieron a un análisis de la varianza (ANOVA), las medias se compararon mediante pruebas t de Student y las diferencias se consideraron significativas a $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número de frutos totales recolectados en el año 2019 fue estadísticamente superior ($p < 0,005$) con respecto al año 2020, presentando en el 1^{er} año un total de 215 frutos y 125 frutos en el 2^o año (Tabla 1). En cuanto al peso de los frutos, la 1^a recolección del año 2019 presentó valores superiores con respecto a la 2^a y 3^a recolección (Tabla 1). Lo mismo ocurrió en el año 2020. Ello es debido a que el tamaño es un criterio fundamental (junto con el color de la corteza) para decidir qué fruto se recolecta o no. Además, es interesante señalar que el peso de las granadas de la tercera o segunda recolección en 2019 y 2020, respectivamente, fue menor que el de las recolecciones anteriores. Esto indica, que aunque los frutos se dejen en el árbol más tiempo, su crecimiento ya no aumenta. En cuanto a la firmeza, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes fechas de recolección en ninguno de los dos años. Relativo al color de la corteza externa, en la 1^a y 2^a recolección del año 2019 no se apreciaron diferencias significativas entre ambas fechas de recolección, sin embargo, la 3^a recolección presentó un valor superior del parámetro a^* (14,84) con respecto a la 1^a y 2^a recolección, presentando diferencias estadísticamente significativas. Por otro lado, en el año 2020 se observaron diferencias entre la 1^a y 2^a recolección, con valores del parámetro a^* de 11,5 y 15,5, respectivamente (Tabla 1). En cuanto al color de los arilos, la 1^a recolección del año 2019 presentó valores inferiores del parámetro a^* en comparación con la 2^a y 3^a recolección. Además, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las dos últimas recolecciones. Sin embargo, el año 2020 sí se observaron diferencias en el color de los arilos entre las dos recolecciones (Tabla 1). La acidez disminuyó ligeramente entre las diferentes fechas de recolección, sin embargo, el contenido de sólidos solubles totales no presentó diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes fechas de recolección, presentando valores comprendidos entre 15 y 16 °Brix (datos no mostrados). El contenido de antocianinas totales aumentó desde la primera a la última recolección en ambos años y fue significativamente mayor en 2020 que en 2019 (≈ 25 y $15 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$), respectivamente. Finalmente, el contenido de polifenoles totales también fue superior en el 2^o año con respecto al 1^{er} año, con valores de 65 y 55 $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, respectivamente (datos no mostrados). Destacar que la concentración de antocianinas en la última recolección, que son los frutos más maduros era de $16,43 \text{ mL} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ en el 2019 y de $25,79 \text{ mL} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ en el 2020. Y este mayor contenido de antocianinas se puede relacionar con las temperaturas máximas y mínimas que se registraron en octubre del año 2020 con respecto a octubre del año 2019, que fueron de 26,2 y 26,1 °C de T^a máxima y 10,9 y 13,2 °C de T^a mínima, respectivamente. Todos estos cambios indican la evolución del proceso de maduración de la granada en el árbol, es decir, disminuye la acidez y aumenta el color debido a la síntesis de las antocianinas (Pareek et al., 2015; Kulkarni et al., 2005). Además, teniendo en cuenta que las antocianinas aumentan desde la primera hasta la última recolección, y que son compuestos con actividad antioxidante y que ejercen beneficiosos para la salud (Doostkam et al., 2020; Pirzadeh et al., 2021), sería recomendable recolectar las granadas en un estado de maduración avanzado para garantizar su contenido en estos compuestos bioactivos.

CONCLUSIONES

La granada, debido a su aspecto atractivo y a sus características organolépticas y funcionales, posee un elevado potencial para conquistar nuevos mercados. Sin embargo, una recolección temprana da lugar a frutos de mayor tamaño pero con una menor coloración y por tanto, menos atractivos para los consumidores que demandan granadas con una coloración intensa de los arilos. Además, tendrían una baja concentración de compuestos

bioactivos con propiedades antioxidantes como son los fenoles, incluidas las antocianinas. Por tanto, se recomienda recolectar las granadas en un estado más avanzado de maduración, aunque sería necesario desarrollar tecnologías, pre- o post-cosecha, para mantener su calidad organoléptica y funcional y aumentar su periodo de conservación.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Miguel Hernández por la beca predoctoral de J.M. Lorente-Mento y al Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (MCIU) por la beca predoctoral de F.Badiche y por la financiación del proyecto RTI2018-099664-B-I00 junto con los Fondos Europeos de Desarrollo Regional (FEDER). También a Hegebu S.L. por la disposición de las parcelas para realizar el experimento.

REFERENCIAS

- Doostkam, A., Bassiri-Jahromi, S., Irvani, K. 2020. Punica granatum with multiple effects in chronic diseases. *Int. J. Fruit Sci.* 20, 471–494.
- Fernandes, L., Pereira, J.A., López-Cortés, I., Salazar, D., González-Álvarez, J., Ramalhosa, E. 2017. Physicochemical composition and antioxidant activity of several pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars grown in Spain. *Eur. Food Res. Technol.* 243, 1799–1814.
- Kulkarni, A. P., Aradhya, S. M. 2005. Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food Chemistry*, 93, 319-324.
- Lorente-Mento, J.M., Guillen, F., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Valverde, J.M., Valero, D., Serrano, M. 2021. Melatonin treatment to pomegranate trees enhances fruit bioactive compounds and quality traits at harvest and during postharvest storage. *Antioxidants*, 10, 820.
- Miguel, G., Fontes, C., Antunes, D., Neves, A. Martins, D. 2004. Anthocyanin concentration of ‘Assaria’ pomegranate fruits during different cold storage conditions. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 5: 338-342.
- Pareek, S., Valero, D., Serrano, M. 2015. Postharvest biology and technology of pomegranate. *J. Sci. Food Agric.* 95, 2360–2369
- Pirzadeh, M., Caporaso, N., Rauf, A., Shariati, M.A., Yessimbekov, Z., Khan, M.U., Imran, M., Mubarak, M.S. 2021. Pomegranate as a source of bioactive constituents: A review on their characterization, properties and applications. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 61, 982–999.

Tabla 1. Parámetros de producción y fisiológicos de las granadas en el momento de la cosecha y analizadas a 20 °C. Años 2019 y 2020.

Parámetro	Año 2019			Año 2020	
	Recolecciones			Recolecciones	
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	1 ^a	2 ^a
Nº frutos/árbol	16,83±3,10 ^a	122,50±16,50 ^b	77,33±16,37 ^c	63,10±7,36 ^a	64,30±7,87 ^a
Peso frutos (g)	425±12,63 ^a	353±33,32 ^b	343±16,58 ^b	441±12,49 ^a	377±6,24 ^b
Firmeza (N.mm ⁻¹)	30,76±0,96 ^a	31,22±1,40 ^a	29,36±1,44 ^a	33,31±1,08 ^a	32,57±0,98 ^a
Color corteza (a*)	11,44±0,43 ^a	12,78±0,91 ^a	14,84±0,80 ^b	11,51±0,77 ^a	15,56±0,77 ^b
Color arilos (a*)	8±0,56 ^a	10,95±0,50 ^b	12,15±0,80 ^b	9,95± 0,54 ^a	12,55±0,44 ^b
Antocianias (mL.100 mL ⁻¹)	9,51±0,19 ^a	16±0,36 ^b	16,43±0,43 ^b	22,21±0,69 ^a	25,79±1,42 ^b

Los datos son la media ± SE. Diferentes letras minúsculas presentan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre recolecciones para cada año.

Estudio de daños por frío en dos variedades nuevas de granada en el sudeste Español.

S. Castillo, M. Serrano, F. Guillen, D. Martinez Romero, J.M. Valverde, D. Valero,

Grupo de Investigación Postrecolección de frutas y Hortalizas, CIAGRO, Universidad Miguel Hernandez. Crta de Beniel km 3.2, Orihuela (Alicante). e-mail: scastillo@umh.es.

Resumen

La introducción de nuevas variedades tempranas ha llevado al estudio de su comportamiento durante la conservación, de dos variedades de granadas rojas como Purple Queen® y Smith la primera se caracteriza por su baja acidez ($0,37 \pm 0,01\%$) y la segunda por su acidez ($2,20 \pm 0,04\%$). Para ello se han almacenado a dos temperaturas, 2°C y a 12°C durante 75 días, empezó a detectarse un deterioro por daño por frío (2°C) en las dos variedades estudiadas en el periodo de un mes, siendo este daño muy superior para la variedad Smith con claros daños superficiales. Además a esta temperatura se produjo pérdidas de antocianinas, pero produciéndose un aumento en los frutos conservados a 12°C . Las pérdidas de peso fueron menores para la Purple Queen®. No existiendo diferencias significativas en la variación de otros componentes como son la acidez y azúcares.

Palabras clave: Calidad, daños por frío, conservación, temperatura

INTRODUCCIÓN

En el sudeste español el cultivo mayoritario de granada es de la variedad Mollar de Elche, y su producción se centra en el mes de Octubre principalmente, por lo que algunos productores esta introducción variedades de granadas rojas más tempranas que comienzan a finales de Agosto y principios de Septiembre, como medida de adelantar la comercialización de estos frutos como son “Purple Queen” de sabor dulce y piñón semitierno y la variedad “Smith” se caracteriza por ser más ácida y su índice de madurez es agrio, (Tozzia et al., 2020). Dependiendo de las variedades, después de la recolección se pueden producir una serie de alteraciones durante el almacenamiento y sobre todo en la conservación larga en el tiempo, produciéndose una pérdida de calidad debido a daños mecánicos, daños por frío o “Chilling Injury” y podredumbre por algún tipo de microorganismos como *Alternaria* o *Penicilium*, Kader AA (2006). En este trabajo se estudió el comportamiento de estas dos variedades introducidas en el mercado, en dos condiciones de temperatura 2°C y 12°C durante la conservación y su efecto en la calidad del fruto.

MATERIAL Y METODOS

Se emplearon granadas (*Punica granatum* L cv.) “Purple Queen” (PQ) y “Smith” (Sm) de una finca situada en el término de Albaterra. Se recolectaron con las características para su comercialización a primeros de septiembre. Una vez recolectada se conservaron durante 75 días en dos condiciones de temperatura 2°C y 85% HR, y a 12

°C, 90% HR, más 2 días a 20 °C de “Self-life”. El diseño experimental consistió en la elaboración de lotes homogéneos, de 5 granadas cada uno, para cada muestreo de 15 días se realizaron 2 lotes por variedad y muestreo. Para la evaluación del efecto de la conservación en las granadas, se determinaron las pérdidas de peso, tasa de respiración y parámetros físico químicos como son: color $CieL^*a^*b^*$, textura, sólidos solubles totales (SST) y acidez total (AT) y Antocianos totales, según García-Pastor et al., (2020a) y daños por frío o “Chilling Injury” (CI) externamente e internamente y además se determinó la fuga de electrolitos “Ion Leakage” (IL) (García-Pastor et al., 2020b). Los resultados son la media \pm ES de los datos obtenidos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 podemos ver el efecto de la conservación de estas dos variedades durante el almacenamiento hasta los 75 días. Se observó, que durante la conservación la variedad Smith se produjo las mayores pérdidas de peso y en concreto las conservadas a 2°C, con una diferencia de un 3-5%, mayor de pérdidas que la Purple Queen para las dos temperaturas de conservación. En cuanto a la firmeza la variedad PQ en el momento de la recolección ($31,79 \pm 1,48 \text{ N} \cdot \text{mm}^{-1}$) fue superior al inicio y durante todo el periodo de conservación con respecto a la variedad Smith ($22,34 \pm 0,9 \text{ N} \cdot \text{mm}^{-1}$) donde se observó una menor firmeza y ablandamiento del fruto llegando a valores de $8-9 \text{ N} \cdot \text{mm}^{-1}$ en el último muestreo. Para los parámetros de SST no se vieron diferencias significativas durante el almacenamiento para una misma variedad, como se esperaba por ser frutos climatéricos, Kader, (2006), pero si se observaron diferencias entre las dos variedades, se vio que para PQ fue de $13,5 \pm 0,15$ °Brix y superior para Sm $15,4 \pm 0,03$. Con respecto a la acidez (AT) para cada una de las variedades se produjo un descenso durante la conservación, pasando en PQ de $0,37 \pm 0,01$ a $0,28$ y en Sm al inicio de $2,2 \pm 0,4$ a $1,53$ a los 75 días de conservación, siendo esta acidez unas 6 veces superior a la obtenida en PQ.

Con respecto a la evolución del color (Tabla 1) podemos apreciar una ligera disminución del índice Hue* de la piel en la variedad PQ, pero la mayor disminución fue en los arilos de los frutos conservados a 12°C, donde se produjo un mayor oscurecimiento de estos. Mientras que en la variedad Sm no existieron diferencias durante el periodo de conservación.

Con respecto al CI se observaron daños en los frutos almacenados a 2°C mientras que los almacenados a 12°C no presentaron daños significativos durante este periodo de conservación. En la Fig. 1.A se aprecian los mayores daños por frío tanto externos como internos de la corteza (CI) en la variedad Sm a partir de las dos semanas de conservación ($CI \approx 2,5$), mientras que estos niveles de daños en la variedad PQ se alcanzaron a partir de las 8 semanas de conservación ($CI \approx 2,3$), este mismo efecto ocurrió en la parte interna de la corteza. Estos daños observados en la piel de las granadas están relacionados con el estudio de la fuga de electrolitos de la corteza (IL) donde su efecto se ve incrementado con el descenso de temperatura, como se puede ver en la Fig. 1.B, para las dos variedades se aprecia una mayor fuga de electrolitos (IL) durante la conservación a 2°C, estas fugas son debido a los daños producidos en las membranas celulares, con cambios en la composición de fosfolípidos de ácidos grasos (Lurie et al. 1987), donde a partir de los 15 días esta fuga fue mayor para la variedad Sm alcanzando valores del 82,5% a los 60 días de conservación frente al 65% de la variedad PQ.

Si tenemos en cuenta la evolución de los antocianinos totales Fig. 2, en el momento de la recolección la variedad Sm presenta mayor cantidad de antocianinos en el zumo ($128,3\pm 3,4$ mg·L⁻¹), mientras que la PQ es de $89,7\pm 1,1$ mg·L⁻¹, observándose un aumento durante la conservación a temperaturas de 12°C, el aumento en PQ llega a equipararse a las antocianinas de la Sm en el momento de la recolección, efectos similares de aumento de antocianos ocurre en granada “Mollar de Elche” a 10°C Garcia-Pastor et al 2020a, mientras que a temperaturas bajas se mantienen o sufren una ligera disminución de antocianos.

CONCLUSIONES

De las dos variedades de granada tempranas estudiadas, las granadas “Smith” son las que mayor daños por frío y ablandamiento del fruto se produce a las primeras semanas de conservación, mientras que la “Purple Queen” es la que mantiene mejor los parámetros de calidad hasta los 60 días de conservación, con una menor pérdida de peso y menores daños por frío, mantenimiento o aumentando los antocianos totales a las distintas temperaturas de conservación.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la financiación de este trabajo al Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, Agencia Estatal de Investigación y a la UE (fondos FEDER, RTI2018-099664-B-I00). A D. Ildelfonso Riquelme por su aportación de las variedades y asesoramiento.

REFERENCIAS

- García-Pastor, M.E., Serrano, M., Guillén, F., Giménez, M.J., Martínez-Romero, D., Valero, D., Zapata, P.J. (2020a). Preharvest application of methyl jasmonate increases crop yield, fruit quality and bioactive compounds in pomegranate ‘Mollar de Elche’ at harvest and during postharvest storage. *J. Science Food Agriculture*. 100: 145–153
- García-Pastor, M.E.; Serrano, M. Guillén, F.; Zapata, P.J.; Valero, D. (2020b). Preharvest or a combination of preharvest and postharvest treatments with methyl jasmonate reduced chilling injury, by maintaining higher unsaturated fatty acids, and increased aril colour and phenolics content in pomegranate. *Postharvest Biology and Technology*. 167, 111226. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020>.
- Kader, A.A. (2006). Postharvest biology and technology of pomegranates. In *Pomegranates. Ancient roots to modern medicine*. Seeram, N.P., Schulman, R.N., & Heber, D., Eds.: Boca Raton: CRC Press-Taylor & Francis. 211-218
- Lurie, S., Sonogo, L., Ben-Arie, R. (1987). Permeability, microviscosity and chemical changes in the plasma membrane during storage of apple fruit. *Sci. Hort.* 32: 73–83.
- Mirdehghan, S.H., Rahemi, M., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Serrano, M., Valero, D. (2007) Pre-storage application of polyamines by pressure or immersion improves shelf-life of pomegranate stored at chilling temperatura by increasing endogenous polyamine levels. *Postharvest Biol. and Technol.* 44: 26-33.

Sayyari, M., Castillo, S., Valero, D., Díaz-Mula, H.M., Serrano, M. (2011). Acetyl salicylic acid alleviates chilling injury and maintains nutritive and bioactive compounds and antioxidant activity during postharvest storage of pomegranates. *Postharvest Biol. and Technol.* 60: 136–142.

Tozzia, F.; Legua, P.; Martínez-Nicolás J.J.; Núñez-Gómez, D.; Giordania, E.; Melgarejo, P. (2020). Morphological and nutraceutical characterization of six pomegranate cultivars of global commercial interest. *Scientia Horticulturae* 272 (2020) 109557. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109557>.

Valero, D.; García-Pastor, M.E.; Sargent, S.A.; Medina, J.; Guillen, F.; Castillo, S.; Martínez-Romero, D.; Zapata, P.J.; Serrano, M. (2021). Postharvest biology and Storage. *The Pomegranate, Botany, Production and Uses*. CAB International Cap 15: 456-479

TABLAS

Tabla 1.- Propiedades Físico-químicas de los frutos de granadas “Purple Queen” y “Smith” conservadas a 2°C y 12°C +2 días a 20°C durante 75 días, (media ± ES).

		Purple Queen		Smith	
		2°C	12°C	2°C	12°C
Pérdida de peso	Día 0	0		0	
	Día 75	22,2±0,50	14,63±0,96	25,59±0,7	19,41±1,44
Firmeza	Día 0	31,79±1,48		22,34±0,9	
	Día 75	16,24±0,98	11,40±0,48	8,37±0,53	9,30±0,45
SST (°Brix)	Día 0	13,5±0,15		15,4±0,03	
	Día 75	13,63±0,02	13,53±0,02	15,03±0,08	15,07±0,02
AT (g ac cítrico · 100 g ⁻¹)	Día 0	0,37±0,01		2,2±0,4	
	Día 75	0,28±0,01	0,31±0,01	1,53±0,06	1,59±0,01
Hue* externo	Día 0	30,19±0,85		25,04±0,40	
	Día 75	29,81±2,04	26,8±2,85	24,52±1,11	23,52±1,41
Hue* interno	Día 0	32,82±1,47		27,99±0,52	
	Día 75	31,48±1,86	24,52±1,11	25,61±1,69	24,39±0,94

FIGURAS

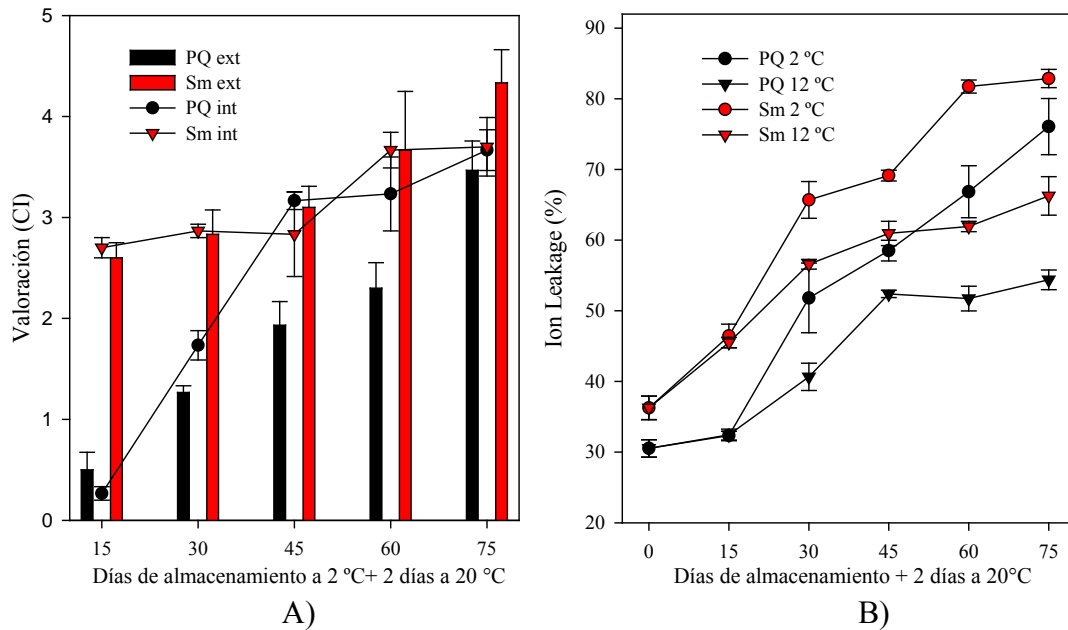


Figura 1.- A) Evolución de daños por frío “Chilling Injury” (CI) (externos e internos en la piel) y B) fuga de electrolitos “Ion Leakage” (IL), de granadas “Purple Queen” y “Smith” almacenadas durante 75 días. Los datos son la media \pm ES (n=10).

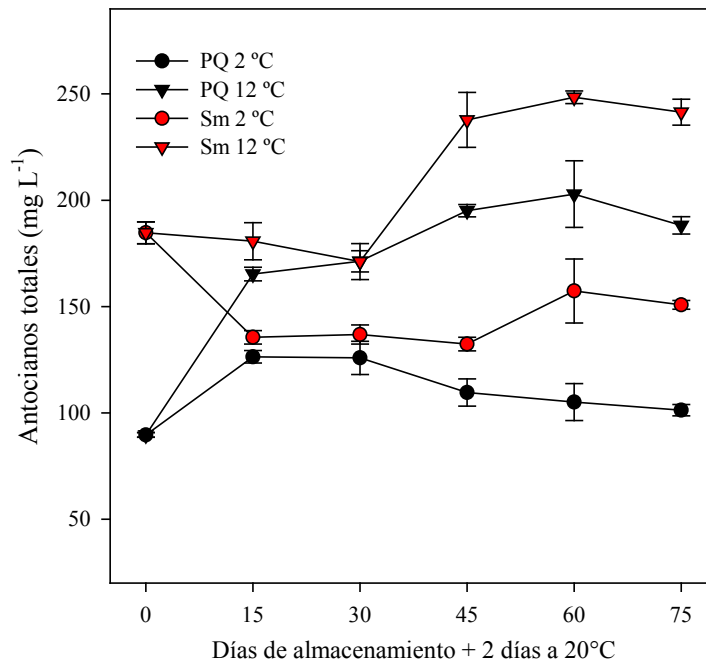


Figura 2.- Evolución de Antocianos totales en zumo de granada, de las variedades “Purple Queen” y “Smith” almacenadas durante 75 días + 2 días a 20 °C. Los datos son la media \pm ES (n=10).

¿Qué efecto sobre la calidad y vida útil tiene acelerar el desarrollo del limón en variedades tempranas?

V. Serna-Escolano ¹, M.J. Giménez ¹, M.E. García-Pastor ¹, A.I. Martínez-Vázquez ¹ y P.J. Zapata ¹.

¹. Departamento de Tecnología Agroalimentaria, Escuela Politécnica de Orihuela, Universidad Miguel Hernández, 03312 Alicante, España. vserna@umh.es

Resumen

Adelantar el inicio de la recolección del limón es un aspecto clave para que los productores puedan conseguir la máxima rentabilidad de sus cultivos. En este sentido, se utilizan unos portainjertos, variedades y técnicas agronómicas que buscan conseguir los calibres demandados por los mercados y consumidores en el menor tiempo posible. Este procedimiento tiene un efecto sobre el desarrollo del fruto en el árbol, que en post-cosecha, se traslada a su vida útil. En este trabajo se han seleccionado dos parcelas; una estrategia intensiva de riego y fertilización al inicio de campaña encaminada a recolectar la mayor cantidad de frutos lo antes posible, y otra, en la que no se realiza esta aplicación intensiva, por lo que se reduce el riego y fertilizantes aplicados. Se seleccionó el limón de la variedad 'Fino' injertada sobre *Citrus macrophylla*. y se analizaron los parámetros de calidad físico-química en el momento de la recolección y durante 35 días a 10 °C. Cada 7 días se les midieron las pérdidas de peso, firmeza, sólidos solubles totales y acidez titulable. Al mismo tiempo, estos resultados se completaron con el color y la incidencia de podredumbres. Los resultados mostraron unas menores pérdidas de peso y tasa de respiración en los limones de la parcela tratamiento, siendo la firmeza, sólidos solubles totales y acidez titulable también superiores a los limones de la parcela control. Finalmente, la producción de etileno e incidencia de podredumbres fue mayor en los frutos recolectados en la parcela control. Por lo tanto, aplicar estrategias excesivamente agresivas para adelantar el inicio de la campaña de recolección del limón afectaría negativamente a la calidad de los frutos, lo que incrementaría la aparición de podredumbres durante el almacenamiento refrigerado y con ello las reclamaciones por parte de los clientes.

Palabras clave: Limón, Pérdidas de peso, Firmeza, Podredumbres, Calidad.

INTRODUCCIÓN

El limón (*Citrus limon* L. Burm.f) es uno de los frutos con más superficie cultivada del mundo, siendo el tercer cítrico más importante en producción con 8,5 millones de toneladas en la campaña 2018, sólo por detrás de naranjas y mandarinas (FAO, 2018). Además, el limón es muy apreciado por consumidores de todo el mundo debido a su sabor único, alto valor nutricional y compuestos bioactivos. En España las principales variedades cultivadas son la 'Fino' y la 'Verna', cuya producción se inicia a finales de septiembre y finaliza a mediados de julio del año siguiente. Por lo tanto, la industria dedicada a la comercialización de limón en España depende de las importaciones durante aproximadamente dos meses al año. Esta situación junto a la necesidad de limones de mayor calidad y el aumento de los precios a principios de campaña hace que adelantar el inicio de la recolección sea un objetivo fundamental para la mayor parte de productores. Así, los agricultores diseñan sus plantaciones con variedades tempranas, siendo la 'Fino' injertada sobre el patrón *Citrus macrophylla* la mayoritaria en España. Además, se aplican unas estrategias de riego y fertilización que promueven el incremento de tamaño del fruto,

lo que tiene un efecto sobre la calidad final de los frutos (Romero et al., 2006). El agua es un recurso fundamental para el manejo de los cultivos, y cuando es aplicada en grandes cantidades puede acelerar el engorde del fruto. Sin embargo, la acumulación de agua en los frutos puede reducir el contenido en sólidos solubles totales, ácidos orgánicos y compuestos fenólicos (Di Matteo et al., 2021). El exceso de humedad también puede incrementar la incidencia de podredumbres y afectar a la sostenibilidad de la plantación, ya que el agua es un recurso limitado. La nutrición de la planta también se modifica para acelerar el incremento de tamaño de los frutos. En este sentido, el uso de nutrientes inorgánicos como el nitrógeno (N) y el potasio (K) son fundamentales, ya que ambos están involucrados en importantes etapas de la planta como el crecimiento y desarrollo, su productividad y la calidad de los frutos (Stefaniak et al., 2017). Sin embargo, se ha publicado que un exceso en la fertilización con N puede reducir la efectividad de los sistemas antioxidantes durante el proceso de detoxificación de compuestos reactivos del oxígeno (ROS) (Piikki y Stenberg, 2017). Mientras que un exceso de K se ha relacionado con una reducción en la asimilación de calcio en manzanas, lo que determinó la vida útil del fruto durante el almacenamiento refrigerado (Szewczuk et al., 2008). Por lo tanto, el presente estudio tuvo como objetivo esclarecer los efectos del incremento del riego y la fertilización (tratamiento intensivo) con N y K sobre la calidad físico-química del limón durante el almacenamiento refrigerado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y diseño experimental

El experimento se desarrolló en una finca comercial en Cartagena (Murcia, España). Se seleccionaron dos parcelas con árboles de la variedad ‘Fino’ injertados sobre *Citrus macrophylla* con una edad de 8 años y sistemas de fertirrigación independientes. El tratamiento fue aplicado desde mediados de junio hasta principios de septiembre coincidiendo con la etapa de crecimiento del fruto. Durante este periodo se incrementó el riego un 30 % y la fertilización con N y K un 70 % (tratamiento intensivo), comparado con la parcela control a la cual se le aplicaron $280 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$, 18 kg N h^{-1} y 40 kg K ha^{-1} . Los fertilizantes utilizados para este experimento fueron nitrógeno líquido orgánico y óxido de potasio, ambos aplicados mediante un sistema de fertirrigación.

Los limones fueron recolectados de tres bloques formados por 10 árboles distribuidos al azar en la parcela control y tratamiento el 10 de octubre de 2021. Estos frutos fueron primero desverdizados y luego divididos en seis lotes con 10 frutos y tres réplicas, manteniendo los bloques de campo. Los frutos seleccionados fueron homogéneos en color, tamaño y sin desperfectos físicos en la piel. Luego, fueron almacenados a una temperatura de $10 \text{ }^\circ\text{C}$ y una humedad relativa del 85 %. Tras 0, 7, 14, 21, 28 y 35 días de almacenamiento un lote de cada réplica fue cogido al azar para realizar las diferentes determinaciones analíticas.

Parámetros de calidad

Las pérdidas de peso (PP) fueron medidas utilizando una balanza Radwag WLC 2/A2 (Radwag wagi Elektroniczne; Radom, Polonia) con 2 cifras decimales de precisión. Los resultados se expresaron como el porcentaje (%) de pérdida de peso de cada lote con respecto a su peso inicial. La firmeza se midió con el analizador TX-XT2i (Stable Microsystems; Godalming, Reino Unido) acoplado a una sonda que presenta una placa con un disco de acero plano. Para determinar la firmeza del fruto el disco de acero de la sonda aplicó una fuerza constante sobre la superficie del fruto hasta producirle una deformación del 5 % respecto a su diámetro ecuatorial, expresando los resultados en N mm^{-1} . El color se midió en tres puntos de la zona ecuatorial del fruto utilizando un colorímetro Minolta (CRC200; Minolta, Osaka, Japón) y los resultados se expresaron

utilizando el parámetro a^* . Los sólidos solubles totales (SST) fueron medidos utilizando un refractómetro digital (Hanna Instruments, Rhode Island, USA) y la acidez titulable (AT) con un valorador automático (785 DMP Titrino, Metrohm, Herisau, Switzerland) donde 0,5 mL de zumo fueron neutralizados con NaOH 0,1 mM hasta pH 8,1. Los sólidos solubles totales y la acidez titulable fueron expresados como °Brix y g de ácido cítrico equivalentes en 100 mL, respectivamente. Finalmente, la incidencia de podredumbres se cuantificó calculando el porcentaje de fruta podrida (frutos con ablandamiento y/o crecimiento de micelio) para cada tratamiento. Los resultados de podredumbres se muestran respecto al porcentaje (%) de podridos acumulados. Todos los parámetros se midieron de forma individual en cada fruto de cada réplica, siendo los resultados la media \pm EE.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron expresados como la media \pm EE de tres réplicas al azar para cada parámetro analizado. Los datos obtenidos se sometieron al análisis de la varianza (ANOVA), y luego se aplicó el Test de Tukey para evaluar las diferencias significativas ($p < 0,05$) encontradas entre los tratamientos. Los análisis se realizaron utilizando SPSS, versión 22 (IBM Corp.; Armonk, Estados Unidos).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las pérdidas de peso (PP) es uno de los parámetros de calidad más importantes para la comercialización del limón. Los resultados mostraron que las PP en los limones tratados fueron un 25 % menores que en los controles (Tabla 1). Estos resultados coincidieron con los publicados por Pagán et al. (2011) en mandarinas sometidas a restricciones de riego, además, este estudio relacionó que los frutos con las menores PP presentaron una mayor integridad en la pared celular. En cuanto a los SST y la AT, fueron un 20 % y un 8 %, respectivamente, mayores en los tratamientos que en los controles en el momento de la recolección. Las diferencias iniciales se mantuvieron durante el almacenamiento refrigerado, a pesar de que tanto en el control como en el tratamiento los SST y la AT fueron disminuyendo (Tabla 1). Existe cierta controversia respecto al efecto que tiene la restricción del riego y los bajos niveles de fertilización con N/ K sobre los SST del fruto. Así, se ha publicado que elevados niveles de riego y fertilización redujeron los SST en tomates (Davies y Winsor, 1967). Mientras que, Javarina et al. (2012) publicó también en tomate que niveles elevados de K incrementaron el contenido en SST. Respecto a los efectos del exceso de riego y fertilización con N/ K sobre AT existe un mayor consenso, ya que dichas condiciones favorecen un descenso en la acidez de los frutos debido al catabolismo del ácido cítrico y al incremento del porcentaje de zumo (Navarro et al., 2010). La firmeza fue un 20 % mayor en los frutos procedentes de los árboles tratados comparado con los controles en el momento de la recolección, manteniéndose las diferencias durante el almacenamiento refrigerado (Tabla 1). Estas diferencias podrían estar relacionadas con la asimilación de calcio (Ca) en los frutos, ya que el exceso de fertilización con N/ K la reduce (Drake et al., 2002). Respecto al color, los resultados mostraron que el parámetro a^* en los frutos de árboles control fue de 3 a 5 veces mayor que en los tratados en el momento de la recolección y durante los 35 días de almacenamiento (Tabla 1). En este sentido, Wen et al. (2021) publicó que la fertilización con N/ K en naranjas aumentó la biosíntesis de carotenoides en la piel. Finalmente, la incidencia de podredumbres se redujo en los tratamientos un 75 % respecto a los controles (Tabla 1). Lo que se podría relacionar con el descenso en los sistemas antioxidantes del fruto, debido a un exceso de fertilización con N (Ibrahi et al., 2007).

CONCLUSIONES

En general, el incremento del riego y de los niveles de fertilización con N/ K disminuyeron la calidad de los limones durante el almacenamiento refrigerado, limitando así su vida útil. Sin embargo, estas estrategias son necesarias para alcanzar el tamaño comercial demandado, lo mejoran la competitividad del tejido productivo.

REFERENCIAS

- Faostat. (2018). Production statistics Disponible en: <http://faostat>. Accedido 5 mayo, 2022.
- Romero, P., Navarro, J. M., Pérez-Pérez, J. G., García-Sánchez, F., Gómez-Gómez, A., Porras, I., Martínez, V. and Botía, P. (2006). Effects of deficit irrigation on water relations, vegetative development, yield, fruit quality and mineral nutrition of clemenules mandarin on two rootstocks. *Tree Physiol.* 26: 1537–1548.
- Di Matteo, A., Di Rauso-Simeone, G., Cirillo, A., Rao, M.A. and Di Vaio, C. (2021). Morphological characteristics, ascorbic acid and antioxidant activity during fruit ripening of four lemon (*Citrus limon* (L.) Burm. F.) cultivars. *Sci. Hort.* 276: 109741.
- Stefaniak, J., Stasiak, A., Latocha, P. and Łata B. (2017). Effect of nitrogen fertilization on *Actinidia arguta* plants vigour and soil characteristics. *J Int Sci Publ Agric Food.* 5: 314–323.
- Piikki, K. and Stenberg, B. (2017). A modified delta yield approach for estimation of economic optimal nitrogen rate (EONR) for wheat (*Triticum aestivum* L.) and barley (*Hordeum vulgare* L.). *Agric Food Sci.* 26: 233–241.
- Szewczuk, A., Komosa, A. and Gudarowska, E. (2008). Effect of soil K levels and different K fertilizer forms on yield and storability of 'Golden delicious' apples. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cult.* 7: 53–59.
- Pagán, E., Pérez-Pastor, A., Pérez-Reverte, R., Provencio, A. B., Martínez-López, J. A., Domingo, R., Robles, J. M. and Fernández-Trujillo J. P. (2011). Regulated deficit irrigation in 'Fortune' mandarin trees improves the fruit quality at harvest and during storage. *Acta Hort.* 892: 19.
- Davies, J. N. and Winsor, G. W. (1967). Effect of nitrogen, phosphorus, potassium, magnesium and liming on the composition of tomato fruit. *J. Sci. Food Agric.* 18: 459-466.
- Javaria, S., Khan, M. Q. and Bakhsh, I. (2012). Effect of potassium on chemical and sensory attributes of tomato fruit. *J. Anim. Plant. Sci.* 22: 1081–1085.
- Navarro, J. M., Pérez-Pérez, J. G., Romero, P. and Botía, P. (2010). Analysis of the changes in quality in mandarin fruit, produced by deficit irrigation treatments. *Food Chem.* 4: 1591-1596.
- Drake, S. R., Raese, J. T. and Smith, T. J. (2002). Time of nitrogen application and its influence on 'golden delicious' apple yield and fruit quality. *J. Plant Nut.* 25: 143-157.
- Wen, M., Zhang, J., Zheng, Y. and Yi, S. (2021). Effects of combined potassium and organic fertilizer application on 'Newhall Navel' orange nutrient uptake, yield, and quality. *Agronomy.* 11: 1990.

Tabla 1. Efecto del tratamiento en las pérdidas de peso (PP), sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT), firmeza, color y podredumbres en limones almacenados a 10 °C.

Parámetros	Control		Tratamiento intensivo	
	0	35	0	35
Almacenamiento (días)	0	35	0	35
PP (%)		4,9 ± 0,3		6,6 ± 0,3
SST (° Brix)	9,1 ± 0,1	8,4 ± 0,1	7,0 ± 0,1	6,7 ± 0,2
AT (g 100 mL ⁻¹)	6,8 ± 0,1	6,5 ± 0,1	6,3 ± 0,1	5,8 ± 0,1
Firmeza (N mm ⁻¹)	14,5 ± 0,4	9,5 ± 0,2	11,7 ± 0,3	7,0 ± 0,4
Color (a*)	-1,5 ± 0,2	0,6 ± 0,1	-0,5 ± 0,1	3,5 ± 0,3
Podredumbres (%)		1,5 ± 0,3		6,1 ± 0,6

Efecto de la combinación de métodos de eliminación de etileno sobre la actividad antioxidante del albaricoque y el melocotón

R. Alonso-Salinas¹, S. López-Miranda¹ y JR. Acosta-Motos^{2,3}.

¹ Reconocimiento y Encapsulación Molecular (REM), Universidad Católica de Murcia (UCAM), Campus de los Jerónimos 135, Guadalupe, 30107, Murcia, España.

e-mail: ralonso4@alu.ucam.edu

² Cátedra de Emprendimiento en el Ámbito Agroalimentario UCAM-Santander.

³ Group of Fruit Tree Biotechnology, CEBAS-CSIC, 30100 Murcia, Spain.

Resumen

La actividad antioxidante denota la habilidad de ciertos compuestos bioactivos para mantener la estructura y función de las células llevando a cabo una correcta eliminación de radicales libres, inhibición de reacciones de peroxidación de lípidos o previniendo el daño celular. Esta actividad antioxidante, que caracteriza a las frutas, es también la base de los mecanismos de prevención de enfermedades como el cáncer, las reacciones inflamatorias y el envejecimiento.

La conservación de dichos compuestos bioactivos beneficiosos para la salud, como son los compuestos fenólicos y vitaminas (en concreto la C), es a su vez un marcador del nivel de senescencia de las frutas puesto que en los procesos propios de la maduración se producen destrucciones de tejidos que dan lugar a sustancias oxidantes. La combinación de eliminadores de etileno como el permanganato de potasio y la radiación UV, que actúan como oxidante de esta hormona, pueden ralentizar los procesos de maduración de la fruta, lo que puede contribuir a preservar dichos compuestos bioactivos.

Se estudió el efecto de la instalación de atrapadores de etileno, dentro de cámaras refrigeradas, sobre la cantidad de compuestos fenólicos, vitamina C y capacidad antioxidante (método ORAC) de albaricoque y melocotón durante un periodo de conservación postcosecha de 24 días. Los resultados mostraron que los frutos conservados con eliminación de etileno constante mantuvieron unos niveles de capacidad antioxidante, concentración de vitamina C y cantidad de compuestos fenólicos mayores que los que no tenían dicho sistema, llegando en algunos casos a ser el doble que en las muestras control.

Palabras clave: compuestos fenólicos; ácido ascórbico; calidad postcosecha; ORAC.

INTRODUCCIÓN

La maduración de la fruta es un proceso complejo que implica múltiples procesos que promueven diversos cambios, tanto físicos como fisiológicos, que conducen a un deterioro progresivo de los productos (Crisosto et al., 2001; Palou & Crisosto, 2003; Barry & Giovannoni, 2007; Argenta et al., 2016; Yildirim et al., 2018; Álvarez-Hernández et al., 2019). Este proceso, con la tecnología actual, no puede detenerse, pero si ralentizarse (Bower et al., 2003; Hiwasa et al., 2003; Horak et al., 2016). En frutas de hueso como el albaricoque Álvarez-Hernández et al., (2020) demostró que sin una eliminación de etileno correcta se produce una aceleración de los procesos de maduración de los frutos, incluyendo posibles pérdidas de componentes beneficiosos para la salud, entre ellos los antioxidantes.

Los compuestos antioxidantes de las frutas y hortalizas están sujetos a cambios cualitativos y cuantitativos durante el almacenamiento y la maduración que, en algunos casos, son negativos, disminuyendo la concentración de dichos compuestos (Villa-Rodriguez et al., 2015). Los frutos producen especies reactivas del oxígeno (ERO) dentro de su metabolismo normal, las cuales pueden aumentar durante periodos de estrés como puede ser el almacenamiento postcosecha (Noctor & Foyer, 1998). Las fuentes más comunes de ERO son la cadena de transporte de electrones en los cloroplastos y mitocondria, la fotorrespiración y la actividad de ciertas enzimas antioxidantes como las peroxidasas (Moller, 2001; Asada, 2006).

La producción de ERO es una característica intrínseca del proceso de maduración de frutas, importante en el proceso de deterioro oxidativo. Estas ERO dañinas para los tejidos vegetales son posiblemente amortiguadas con la acción antioxidante de la vitamina C y compuestos fenólicos entre otros, provocando su pérdida durante el proceso. Cuanto más avanzada esté la maduración menor concentración de compuestos antioxidantes estarán presentes.

En el proceso de maduración en tomates, Jimenez et al., (2002) registraron un incremento en la formación del radical superóxido, acumulación de peróxido de hidrógeno, aumento de la peroxidación lipídica y en los productos de oxidación de proteínas. También en tomate, Mansourbahmani et al., 2018 mostró en su estudio que mediante la eliminación de etileno se consiguió minimizar la pérdida de fenoles totales (Folin-Ciocalteu) y capacidad antioxidante (ORAC). Muzzaffar et al., 2018 reportó que mediante la eliminación de etileno por 1-MCP (molécula de síntesis que actúa como análogo del receptor del etileno bloqueando el acceso del etileno a su punto de recepción en las membranas celulares) se pudo retrasar la pérdida de compuestos responsables de la capacidad antioxidante del albaricoque durante el almacenamiento. Este autor concluyó que los albaricoques son una fuente excelente de carotenoides, vitamina C y polifenoles; el etileno es el principal factor interno que provoca un aumento brusco de la respiración, lo que conlleva una pérdida de estos compuestos bioactivos; su eliminación en este contexto se revela como clave.

Existen diversos métodos para asegurar una eliminación efectiva de etileno. Según Alonso-Salinas et al., (2022), Kim et al., (2019) y Wei et al., (2021), la eliminación del etileno por oxidación con permanganato potásico (KMnO_4) es el método más óptimo en términos de coste-efectividad. Esta molécula actúa como oxidante de etileno; para poner en contacto ambos compuestos se emplean materiales como nanoesferas, sepiolita y carbón activo entre otros (Janjarasskul & Suppakul, 2018).

La fotocatalisis también es una técnica adecuada para la eliminación del etileno (Ibhadon & Fitzpatrick, 2013; Keller et al., 2013; Kaewklin et al., 2018; Kim et al., 2019). Mansourbahmani et al., (2018) estudió el efecto de la eliminación de etileno mediante UV-C sobre la conservación de tomate, mostrando datos elevados de conservación en los parámetros: vitamina C, compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante.

El objetivo de este estudio es determinar el efecto de la combinación de métodos de eliminación de etileno (KMnO_4 y UV-C con longitud de onda de 254 nm) sobre la conservación postcosecha de la capacidad antioxidante de dos frutos de hueso como son el albaricoque y el melocotón. Los métodos empleados para determinar dicha actividad antioxidante fueron los siguientes: la determinación de vitamina C, compuestos fenólicos totales y método ORAC.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Cuarenta kilos de melocotón y albaricoque de las variedades ‘Romea’ y ‘Búlida’ fueron suministrados por La Vega de Cieza, S.C.A. (Cieza, Murcia, España) y la Sociedad Cooperativa Frutas Caravaca (Caravaca, Murcia, España) respectivamente. Ambos productos se cosecharon de forma tradicional y se conservaron a 1 ± 1 °C hasta su transporte al laboratorio para su posterior análisis.

Diseño experimental

Tanto en albaricoque como en melocotón se siguió el mismo diseño experimental. 40 kg de piezas de fruta se distribuyeron aleatoriamente en tres cámaras de conservación (CC) de 150 litros de volumen (Eurofred Cool Head RCG200, Eurofred S.A., Barcelona, Cataluña, España), estableciendo los tratamientos de eliminación del etileno de la siguiente manera:

- C: tratamiento control a 1 ± 1 °C
- F: tratamiento filtro de eliminación de etileno a 1 ± 1 °C
- FUv: tratamiento filtro de eliminación de etileno +UV a 1 ± 1 °C.

El sistema de eliminación de etileno fue diseñado y patentado por la empresa "Nuevas Tecnologías Agroalimentarias (KEEPCOOL) (Molina de Segura, Murcia, España)", patente nº 2548787 (2016). El método empleado consiste en una máquina (M-CAM 50) que fuerza el paso del aire a través de un filtro de KMnO_4 anclado en el centro activo de sepiolitas, la composición granulométrica de esta mezcla aparece detallada en la patente anteriormente mencionada. Este aparato fue modificado para incorporar una lámpara de luz UV-C (TUV 254 nm, Philips, Amsterdam, Holanda). Según (Yildirim et al., 2018), una desventaja derivada de este método es que la exposición a los rayos UV puede tener un efecto negativo en la calidad de los alimentos. Para evitar este posible efecto adverso, en este estudio se modificó el sistema de eliminación de etileno para que el haz de luz se centrara en el etileno forzado a pasar dentro de la máquina y no en los productos.

Parámetros analizados

La concentración de etileno (C_2H_4) expresada en $\text{nmol}^{-1} \text{kg}^{-1} \text{h}^{-1}$, dióxido de carbono (CO_2) expresada en $\text{nmol}^{-1} \text{kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ y oxígeno (O_2) expresada en % de las cámaras de conservación fue monitoreada diariamente usando un analizador de gases (Felix Three F-950, Felix Instruments, Camas, WA, USA).

Para la determinación de ácido ascórbico se llevó a cabo adaptando el método de 2,6 diclorofenol-indofenol de Nielsen, (2017) expresándolo en $\text{mg} \text{100 mL}^{-1}$. Para el análisis de compuestos fenólicos totales (CFT) se adaptó el método Folin-Ciocalteu descrito por Kidron et al., (1978) expresándolo en $\text{mg} \text{100 g}^{-1}$. En la determinación de la capacidad antioxidante se adaptó el método ORAC descrito por López-Miranda et al., (2016), expresándolo en $\mu\text{mol} \text{100 g}^{-1}$.

En la determinación de ácido ascórbico y fenoles totales se hicieron promedio de 8 mediciones en 8 frutos diferentes por cámara de almacenamiento y día; en el análisis de la capacidad antioxidante por método ORAC se realizaron un total de 16 mediciones por tratamiento, 2 por fruto. Los días de análisis fueron: 0, 4, 7, 12, 18 y 25.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1. Comparación de los valores medios inicial y final (25 días) de los diferentes tratamientos (control, 1 °C-C, eliminación de etileno con filtro de KMnO_4 , 1 °C-F, y eliminación de etileno con sistema completo, 1 °C-FUv) aplicados sobre melocotón y albaricoque. Se muestran los parámetros analizados: ácido

ascórbico, contenido total de fenoles y capacidad antioxidante por método ORAC. Letras diferentes para cada tratamiento representan diferencias estadísticamente significativas según el test de Tukey con el objetivo de ver la evolución de cada parámetro en cada tratamiento.

Parámetros analizados	MELOCOTÓN				ALBARICOQUE			
	Inicial	1 °C-C	1 °C-F	1 °C-FUv	Inicial	1 °C-C	1 °C-F	1 °C-FUv
Ac. Ascórbico (mg 100mL ⁻¹)	22.17 ^a	7.75 ^d	13.50 ^c	16.25 ^b	10.38 ^a	5.25 ^d	7.00 ^c	8.25 ^b
Fenoles totales (g kg ⁻¹)	0.59 ^a	0.29 ^c	0.37 ^b	0.40 ^b	0.35 ^a	0.31 ^b	0.34 ^a	0.36 ^a
ORAC (μmoles Trolox kg ⁻¹)	3.26 ^a	1.74 ^d	2.29 ^c	2.61 ^b	2.96 ^a	1.85 ^b	2.95 ^a	3.10 ^a

A partir de los resultados mostrados en la tabla 1 anterior se observa que el empleo del sistema completo de eliminación de etileno (1 °C-FUv) se diferenció a día final del tratamiento control en todos los parámetros analizados en ambas frutas. Con respecto a la cantidad inicial en melocotón, el contenido en ácido ascórbico en el tratamiento control (1 °C-C) se redujo un 65 %, mientras que para el tratamiento 1 °C-FUv la reducción en 25 días fue de un 25 %. De igual manera, los fenoles totales y la capacidad antioxidante del melocotón se redujeron en un 51 % y un 46 % respectivamente para el tratamiento Control, mientras que para el tratamiento 1 °C-FUv las pérdidas fueron del 32 % y del 19 % en ambos parámetros.

Una tendencia similar fue también observada en albaricoque. La reducción de ácido ascórbico, fenoles totales y capacidad antioxidante en el tratamiento control fue del 49 %, 11 % y del 38 % respectivamente, mientras que en el tratamiento 1 °C-FUv la reducción del contenido de ácido ascórbico fue del 20 %, mientras que el contenido en fenoles totales y capacidad antioxidante se ha mantenido prácticamente invariable durante todo el proceso de conservación con eliminación de etileno.

Por otro lado, el tratamiento 1 °C-FUv también mostró diferencias significativas con el tratamiento 1 °C-F en la concentración de ácido ascórbico de melocotón y albaricoque, ORAC en melocotón y cantidad de fenoles totales en albaricoque.

CONCLUSIONES

Los resultados anteriormente expuestos responden a la hipótesis planteada al inicio del estudio. Éstos sugieren que el empleo de una correcta eliminación de etileno puede suponer un retraso en la pérdida de capacidad antioxidante de los frutos tratados mediante el retraso de su maduración. En concreto, el sistema completo empleado (1 °C-FUv) fue más eficaz manteniendo las propiedades antioxidantes analizadas que el empleo exclusivo de filtros de KMnO₄. Dicho efecto se atribuye a una eliminación de etileno mayor gracias al empleo de luz UV-C y a una correcta circulación del aire.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Cátedra UCAM-Banco Santander de Emprendimiento en el Ámbito Agroalimentario y KEEP COOL por su financiación a través del proyecto CFE/KE/76-19 y a la Vega de Cieza, S.C.A y S. Coop. Frutas Caravaca de FECOAM (Federación de Cooperativas Agrarias de Murcia) por el suministro de los melocotones y albaricoques utilizados en este estudio respectivamente.

REFERENCIAS

- Alonso-Salinas, R., Acosta-Motos, J. R., Núñez-Delicado, E., Gabaldón, J. A., & López-Miranda, S. (2022). Combined Effect of Potassium Permanganate and Ultraviolet Light as Ethylene Scavengers on Post-Harvest Quality of Peach at Optimal and Stressful Temperatures. *Agronomy*, *12*(3).
- Álvarez-Hernández, M. H., Martínez-Hernández, G. B., Avalos-Belmontes, F., Castillo-Campohermoso, M. A., Contreras-Esquivel, J. C., & Artés-Hernández, F. (2019). Potassium Permanganate-Based Ethylene Scavengers for Fresh Horticultural Produce as an Active Packaging. *Food Engineering Reviews*, *11*(3), 159–183.
- Álvarez-Hernández, M. H., Martínez-Hernández, G. B., Avalos-Belmontes, F., Miranda-Molina, F. D., & Artés-Hernández, F. (2020). Postharvest quality retention of apricots by using a novel sepiolite-loaded potassium permanganate ethylene scavenger. *Postharvest Biology and Technology*, *160*, 111061.
- Argenta, L. C., Mattheis, J. P., Fan, X. T., & Amarante, C. V. T. (2016). Managing ‘Bartlett’ pear fruit ripening with 1-methylcyclopropene reapplication during cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, *113*, 125–130.
- Asada, K. (2006). Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiology*, *141*(2), 391–396.
- Barry, C. S., & Giovannoni, J. J. (2007). Ethylene and Fruit Ripening. *Journal of Plant Growth Regulation*, *26*(2), 143.
- Bower, J., Biasi, W., & Mitcham, E. (2003). Effect of ethylene in the storage environment on quality of ‘Bartlett pears’. *Postharvest Biology and Technology*, *28*, 371–379.
- Crisosto, C. H., Gugliuzza, G., Garner, D., & Palou, L. (2001). Understanding the role of ethylene in peach cold storage life. *Acta Horticulturae*, *553*, 287–288.
- Hiwasa, K., Kinugasa, Y., Amano, S., Hashimoto, A., Nakano, R., Inaba, A., & Kubo, Y. (2003). Ethylene is required for both the initiation and progression of softening in pear (*Pyrus communis* L.) fruit. *Journal of Experimental Botany*, *54*(383), 771–779.
- Horak, M., Golias, J., Balik, J., Nemcova, A., Snurkovic, P., & Koziskova, J. (2016). Changes in Asian and European pear cultivars fruit after harvest in various storage conditions. In D. Milatovic, J. Milivojevic, & D. Nikolic (Eds.), *III Balkan Symposium on Fruit Growing* (Vol. 1139, Issue 3rd Balkan Symposium on Fruit Growing, pp. 609–615).
- Ibhadon, A., & Fitzpatrick, P. (2013). Heterogeneous Photocatalysis: Recent Advances and Applications. *Catalysts*, *3*, 189–218.
- Janjarasskul, T., & Suppakul, P. (2018). Active and intelligent packaging: The indication of quality and safety. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *58*(5), 808–831.
- Jimenez, A., Creissen, G., Kular, B., Firmin, J., Robinson, S., Verhoeyen, M., & Mullineaux, P. (2002). Changes in oxidative processes and components of the antioxidant system during tomato fruit ripening. *Planta*, *214*(5), 751–758.
- Kaewklin, P., Siripatrawan, U., Suwanagul, A., & Lee, Y. S. (2018). Active packaging from chitosan-titanium dioxide nanocomposite film for prolonging storage life of tomato fruit. *International Journal of Biological Macromolecules*, *112*, 523–529.
- Keller, N., Ducamp, M.-N., Robert, D., & Keller, V. (2013). Ethylene Removal and Fresh

- Product Storage: A Challenge at the Frontiers of Chemistry. Toward an Approach by Photocatalytic Oxidation. *Chemical Reviews*, 113(7), 5029–5070.
- Kidron, M., Harel, E., & Mayer, A. M. (1978). Catechol Oxidase Activity in Grapes and Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 29(1), 30–35.
- Kim, S., Jeong, G. H., & Kim, S.-W. (2019). Ethylene Gas Decomposition Using ZSM-5/WO₃-Pt-Nanorod Composites for Fruit Freshness. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 7(13), 11250–11257.
- López-Miranda, S., Serrano-Martínez, A., Hernández-Sánchez, P., Guardiola, L., Pérez-Sánchez, H., Fortea, I., Gabaldón, J. A., & Núñez-Delicado, E. (2016). Use of cyclodextrins to recover catechin and epicatechin from red grape pomace. *Food Chemistry*, 203, 379–385.
- Mansourbahmani, S., Ghareyazie, B., Zarinnia, V., Kalatejari, S., & Mohammadi, R. S. (2018). Study on the efficiency of ethylene scavengers on the maintenance of postharvest quality of tomato fruit. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(2), 691–701.
- Moller, I. M. (2001). Plant mitochondria and oxidative stress: Electron Transport, NADPH Turnover, and Metabolism of Reactive Oxygen Species. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 52, 561–591.
- Muzzaffar, S., Bhat, M. M., Wani, T. A., Wani, I. A., & Masoodi, F. A. (2018). *Postharvest Biology and Technology of Apricot BT - Postharvest Biology and Technology of Temperate Fruits* (S. A. Mir, M. A. Shah, & M. M. Mir (eds.); pp. 201–222). Springer International Publishing.
- Nielsen, S. S. (2017). *Vitamin C Determination by Indophenol Method BT - Food Analysis Laboratory Manual* (S. S. Nielsen (ed.); pp. 143–146). Springer International Publishing.
- Noctor, G., & Foyer, C. H. (1998). Ascorbate and glutathione: Keeping Active Oxygen Under Control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49, 249–279.
- Palou, L., & Crisosto, C. H. (2003). Postharvest treatments to reduce the harmful effects of ethylene on apricots. *Acta Horticulturae*, 599, 31–38.
- Villa-Rodriguez, J. A., Palafox-Carlos, H., Yahia, E. M., Ayala-Zavala, J. F., & Gonzalez-Aguilar, G. A. (2015). Maintaining Antioxidant Potential of Fresh Fruits and Vegetables After Harvest. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(6), 806–822.
- Wei, H., Seidi, F., Zhang, T., Jin, Y., & Xiao, H. (2021). Ethylene scavengers for the preservation of fruits and vegetables: A review. *Food Chemistry*, 337, 127750.
- Yildirim, S., Röcker, B., Pettersen, M. K., Nilsen-Nygaard, J., Ayhan, Z., Rutkaite, R., Radusin, T., Suminska, P., Marcos, B., & Coma, V. (2018). Active Packaging Applications for Food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(1), 165–199.

Efecto de atrapadores de etileno y temperatura sobre la conservación postcosecha y gasto energético en pera de variedad ‘Ercolini’

R. Alonso-Salinas¹, S. López-Miranda¹ y JR. Acosta-Motos^{2,3}.

¹ Reconocimiento y Encapsulación Molecular (REM), Universidad Católica de Murcia (UCAM), Campus de los Jerónimos 135, Guadalupe, 30107, Murcia, España.

e-mail: ralonso4@alu.ucam.edu

² Cátedra de Emprendimiento en el Ámbito Agroalimentario UCAM-Santander.

³ Group of Fruit Tree Biotechnology, CEBAS-CSIC, 30100 Murcia, Spain

Resumen

Conservar los frutos manteniendo su calidad intacta durante más tiempo es uno de los mayores retos en la postcosecha. El empleo de eliminadores de etileno como el permanganato de potasio y la radiación UV es una de las alternativas más viables. Por otro lado, debido a la subida de precio de la electricidad, los costes de conservación se han incrementado notablemente.

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la combinación de los atrapadores de etileno y la temperatura de conservación sobre la calidad postcosecha de pera de la variedad Ercolina con Denominación de Origen Protegida (D.O.P) de Jumilla, así como del consumo energético requerido durante la conservación.

El estudio se llevó a cabo en diferentes cámaras de refrigeración (equipadas con y sin atrapadores de etileno) a dos temperaturas diferentes (1 ± 1 °C y 8 ± 1 °C) durante 28 días. Se realizaron análisis de parámetros cualitativos (peso, firmeza, acidez, grados brix, ácido ascórbico y capacidad antioxidante) los días 0, 7, 14, 21 y 28 de conservación, y se registró diariamente el gasto eléctrico de las diferentes cámaras de conservación. Las peras conservadas a menor temperatura (1 °C) presentaron parámetros más estables. Sin embargo, los resultados mostraron también que los frutos conservados a mayor temperatura (8 °C) con eliminación de etileno presentaron una evolución cualitativa postcosecha mejor que los conservados únicamente a baja temperatura (1 °C), pero con la ventaja de presentar un ahorro energético cercano al 10 %. Por tanto, el empleo de esta combinación de eliminadores de etileno fue clave para mantener a calidad postcosecha de la pera además de conseguir un notable ahorro energético.

Palabras clave: Ahorro eléctrico; Calidad de frutas; *Pyrus communis* L.

INTRODUCCIÓN

La maduración de la fruta es un proceso complejo que implica múltiples procesos que promueven diversos cambios, tanto físicos como fisiológicos, que conducen a un deterioro progresivo de los productos (Álvarez-Hernández et al., 2019; Argenta et al., 2016; Barry & Giovannoni, 2007; Crisosto et al., 2001; Palou & Crisosto, 2003; Yildirim et al., 2018). Este proceso, con la tecnología actual, no puede detenerse, pero si ralentizarse (Bower et al., 2003; Hiwasa et al., 2003; Horak et al., 2016). En frutas de hueso como el albaricoque Álvarez-Hernández et al., (2020) demostró que sin una eliminación de etileno correcta se produce una aceleración de la pérdida de peso, firmeza, TA, cualidades organolépticas y aumento de SSC entre otros. En pera Charoenchongsuk et al., (2018) mostraron una relación entre la pérdida de color debido a la alta exposición al etileno, la degradación de la clorofila y el ablandamiento de la pera de variedad ‘Russet’. Este efecto

puede estar relacionado con la posible producción de radicales libres en los procesos de degradación propios de la maduración.

En cuanto a la pera de la variedad tratada en este estudio ('Ercolina'), según el informe de la "DOP pera 'Ercolina' de Jumilla" realizado en 2011 por Jesús García Brunton, las peras de la variedad 'Ercolina' pertenecen al grupo de frutos climatéricos, caracterizándose por tener un tamaño medio, carne blanca y jugosa. Su piel es verde y se torna amarilla al madurar, proceso que se produce muy rápidamente. Por este último motivo, es imprescindible almacenarlos correctamente en atmósferas sin etileno. Su tiempo máximo de almacenamiento es de 3 semanas (Jesús García Brunton, 2011).

Existen diversos métodos para asegurar una correcta eliminación de etileno. Según (Alonso-Salinas et al., 2022; Kim et al., 2019; Wei et al., 2021), la eliminación del etileno por oxidación con permanganato potásico (KMnO_4) es el método más interesante en términos de coste-efectividad. Para poner en contacto el KMnO_4 y el etileno, este agente oxidante se ancla en los centros activos de materiales adsorbentes como las zeolitas, el carbón activado, las nanoesferas de carbón y el gel de sílice, entre otros (Janjarasskul & Suppakul, 2018). Estos materiales porosos se utilizan a menudo como ingredientes activos que se añaden al material de envasado como portadores de sistemas de eliminación de etileno (Esturk et al., 2014).

La fotocatalisis también es una técnica adecuada para la eliminación del etileno (Ibhadon & Fitzpatrick, 2013; Kaewklin et al., 2018; Keller et al., 2013; Kim et al., 2019). La luz UV se ha estudiado ampliamente como sistema de degradación del etileno gracias a su reactividad fotoquímica (Mansourbahmani et al., 2018).

El objetivo de este estudio es determinar el efecto de la propuesta de eliminación combinada de etileno (KMnO_4 y UV-C 254 nm) en la conservación postcosecha de la pera 'Ercolina' conservada a $1\text{ }^\circ\text{C}$ y $8\text{ }^\circ\text{C}$. Además, se evaluó si sería factible aumentar la temperatura de almacenamiento a $8\text{ }^\circ\text{C}$ manteniendo la calidad mediante el uso de dicha eliminación combinada de etileno. Ninguno de los puntos mencionados ha sido probado antes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Cuarenta kilos de pera de la variedad 'Ercolini' [*Pyrus communis* (L.)] fueron suministrados por la Cooperativa Hortofrutícola Campos de Jumilla (Jumilla, Murcia, España). Esta variedad tiene la certificación D.O.P. en Jumilla. Las peras se cosecharon de forma tradicional y se conservaron a $1 \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ hasta su transporte al laboratorio para su posterior análisis. Los índices de cosecha son los siguientes: peso medio ($116 \pm 10\text{ g}$), diámetro ecuatorial medio ($54.3 \pm 2.5\text{ mm}$), firmeza media ($52.6 \pm 4.5\text{ N}$), contenido en sólidos solubles CSS ($11.8 \pm 0.9\%$), acidez total AT ($0.35 \pm 0.06\%$), índice de madurez medio IM (33.71) y color medio (a^* : -10.9 ± 2.8 ; b^* : 40.3 ± 4.8 ; L^* : 70.1 ± 3.6).

Diseño experimental

Todas las peras disponibles fueron dispuestas aleatoriamente en seis cámaras de conservación (CC) de 150 litros de volumen (Eurofred Cool Head RCG200, Eurofred S.A., Barcelona, Cataluña, España). La eliminación del etileno y los tratamientos de temperatura se diseñaron de la siguiente manera:

- $1\text{ }^\circ\text{C-C}$: tratamiento control a $1 \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$
- $1\text{ }^\circ\text{C-F}$: tratamiento filtro de eliminación de etileno a $1 \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$

- 1 °C-FUV: tratamiento filtro de eliminación de etileno+UV a 1 ± 1 °C.
- 8 °C-C: tratamiento control a 8 ± 1 °C
- 8 °C-F: tratamiento filtro de eliminación de etileno a 8 ± 1 °C
- 8 °C-FUV: tratamiento filtro de eliminación de etileno+UV a 8 ± 1 °C

El sistema de eliminación de etileno fue diseñado y patentado por la empresa "Nuevas Tecnologías Agroalimentarias (KEEPCOOL) (Molina de Segura, Murcia, España)", patente nº 2548787 (2016). El método empleado consiste en una máquina (M-CAM 50) que fuerza el paso del aire a través de un filtro de KMnO₄ anclado en el centro activo de sepiolitas, la composición granulométrica de esta mezcla aparece detallada en la patente anteriormente mencionada. Este aparato fue modificado para incorporar una lámpara de luz UV-C (TUV 254 nm, Philips, Amsterdam, Holanda).

Parámetros analizados

La concentración de etileno (C₂H₄) expresada en nmol⁻¹ kg⁻¹ h⁻¹, dióxido de carbono (CO₂) expresada en nmol⁻¹ kg⁻¹ h⁻¹ y oxígeno (O₂) expresada en % de las cámaras de conservación fue monitoreada diariamente usando un analizador de gases (Felix Three F-950, Felix Instruments, Camas, WA, USA).

El peso se midió con una balanza de precisión (Gram RZ, Gram Group, L'Hospitalet de Llobregat, Cataluña, España) y se expresó en gramos. La firmeza se determinó con un texturómetro CT3 (AMETEK Brookfield, Middleboro, MA, USA) equipado con un cabezal de 35 mm de altura y 6 mm de diámetro mediante una punción en la zona ecuatorial de la pera de 10 mm a una velocidad de 0.5 mm s⁻¹, los resultados se expresaron en Newtons. El color se determinó de acuerdo al Sistema CieLab mediante un colorímetro (Hunterlab Colorflex EZ, Hunterlab Reston, VA, USA). Los valores de diferencia de color ΔE se calcularon de acuerdo a CIE 1976.

El contenido en sólidos solubles (CSS) se determinó a 20 °C mediante un refractómetro manual (Atago Manual master- α , Atago Tokyo, Japan) y se expresó en porcentaje. Para la determinación de acidez total (AT) se empleó el método de titulación descrito por Zhang et al., (2017) y se expresó en porcentaje. El índice de madurez (IM) se obtuvo mediante el cociente entre CSS y AT.

Para la determinación de ácido ascórbico se llevó a cabo adaptando el método de 2,6 diclorofenol-indofenol de Nielsen, (2017) expresándolo en mg 100 mL⁻¹. Para el análisis de compuestos fenólicos totales (CFT) se adaptó el método Folin-Ciocalteu descrito por Kidron et al., (1978) expresándolo en g kg⁻¹. En la determinación de la capacidad antioxidante se adaptó el método ORAC descrito por López-Miranda et al., (2016), expresándolo en μ moles kg⁻¹. En todos los parámetros analizados se hicieron promedio de 7 mediciones diferentes por cámara de almacenamiento y día, los días de análisis fueron: 0, 7, 14, 21 y 28.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1. Comparación de los valores medios inicial y final de los diferentes tratamientos aplicados (control, 1 y 8 °C-C, eliminación de etileno con filtro de KMnO₄, 1 y 8 °C-F, y eliminación de etileno con sistema completo, 1 y 8 °C-FUV). Se muestran los parámetros analizados más destacados: peso, firmeza, contenido en sólidos solubles (CSS), acidez titulable (AT), ácido ascórbico, contenido total de fenoles y capacidad antioxidante por método ORAC. Letras diferentes para cada tratamiento representan diferencias estadísticamente significativas según el test de Tukey con el objetivo de ver la evolución de cada parámetro en cada tratamiento.

Parámetros analizados	Inicial	1 °C-C	1 °C-F	1 °C-FUv	8 °C-C	8 °C-F	8 °C-FUv
Peso (%)	100	82.91 ^d	91.73 ^b	97.14 ^a	89.92 ^c	91.08 ^b	93.18 ^b
Firmeza (N)	48.95	34.37 ^b	43.43 ^a	44.96 ^a	26.10 ^d	33.00 ^c	37.39 ^b
CSS (%)	12.50	15.50 ^b	12.50 ^c	12.50 ^c	17.50 ^a	15.25 ^b	15.00 ^b
AT (%)	0.37	0.18 ^b	0.29 ^a	0.33 ^a	0.15 ^c	0.19 ^b	0.21 ^b
Ac. Ascórbico (mg 100 mL ⁻¹)	5.00	2.88 ^c	3.75 ^b	4.38 ^a	1.63 ^e	2.00 ^d	3.13 ^c
Fenoles totales (g kg ⁻¹)	0.49	0.26 ^c	0.35 ^b	0.39 ^a	0.21 ^d	0.29 ^c	0.36 ^b
ORAC (μmoles kg ⁻¹)	4.17	2.18 ^c	2.83 ^a	3.14 ^a	1.78 ^d	2.21 ^c	2.56 ^b

Tal y como se puede observar en la tabla 1 los productos tratados con el sistema completo de eliminación de etileno a temperaturas bajas (1 °C-FUv) registraron unos mejores resultados, concluyendo en una mejor conservación postcosecha.

Por otro lado, los tratamientos 1 °C-C y 8 °C-FUv no mostraron diferencias significativas entre ellos en los parámetros de firmeza, CSS, AT, y ácido ascórbico; en el peso, contenido total de fenoles y la capacidad antioxidante el tratamiento 8 °C-FUv presentó valores un 11 %, 38 % y 44 % superiores respectivamente. El consumo energético de las cámaras conservadas a 1 °C fue 48 Kw h⁻¹ de media, mientras que en las cámaras conservadas a 8 °C fue de 42 Kw h⁻¹, una diferencia del 12.5 %.

CONCLUSIONES

Los resultados mostrados sugieren que la aplicación de esta novedosa combinación de métodos de eliminación de etileno (tratamiento 1 °C-FUv) conservó la calidad postcosecha de la pera D.O.P. Jumilla más eficazmente comparado con el control. Además, se puede extraer la conclusión de que el aumento de temperatura hasta los 8 °C no tuvo un efecto degradante ni se observaron pérdidas de carácter microbiológico en el tratamiento 8 °C-FUv comparado con el tratamiento control (1 °C-C). Esta última conclusión supone disponer, después de 28 días, de peras de una buena calidad junto con un ahorro energético del 12.5 % al conservarlas a 8 °C, muy relevante teniendo en cuenta la situación actual.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Cátedra UCAM-Banco Santander de Emprendimiento en el Ámbito Agroalimentario y KEEPCOOL por su financiación a través del proyecto CFE/KE/76-19 y a Cooperativas Campos de Jumilla de FECOAM (Federación de Cooperativas Agrarias de Murcia) por el suministro de las peras utilizados en este estudio.

REFERENCIAS

- Alonso-Salinas, R., Acosta-Motos, J. R., Núñez-Delicado, E., Gabaldón, J. A., & López-Miranda, S. (2022). Combined Effect of Potassium Permanganate and Ultraviolet Light as Ethylene Scavengers on Post-Harvest Quality of Peach at Optimal and Stressful Temperatures. *Agronomy*, *12*(3).
- Álvarez-Hernández, M. H., Martínez-Hernández, G. B., Avalos-Belmontes, F., Castillo-Campohermoso, M. A., Contreras-Esquivel, J. C., & Artés-Hernández, F. (2019). Potassium Permanganate-Based Ethylene Scavengers for Fresh Horticultural Produce as an Active Packaging. *Food Engineering Reviews*, *11*(3), 159–183.
- Álvarez-Hernández, M. H., Martínez-Hernández, G. B., Avalos-Belmontes, F., Miranda-Molina, F. D., & Artés-Hernández, F. (2020). Postharvest quality retention of apricots by using a novel sepiolite-loaded potassium permanganate ethylene scavenger. *Postharvest Biology and Technology*, *160*, 111061.
- Argenta, L. C., Mattheis, J. P., Fan, X. T., & Amarante, C. V. T. (2016). Managing ‘Bartlett’ pear fruit ripening with 1-methylcyclopropene reapplication during cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, *113*, 125–130.
- Barry, C. S., & Giovannoni, J. J. (2007). Ethylene and Fruit Ripening. *Journal of Plant Growth Regulation*, *26*(2), 143.
- Bower, J., Biasi, W., & Mitcham, E. (2003). Effect of ethylene in the storage environment on quality of ‘Bartlett pears’. *Postharvest Biology and Technology*, *28*, 371–379.
- Charoenchongsuk, N., Matsumoto, D., Itai, A., & Murayama, H. (2018). Ripening Characteristics and Pigment Changes in Russeted Pear Fruit in Response to Ethylene and 1-MCP. *Horticulturae*, *4*(3).
- Crisosto, C. H., Gugliuzza, G., Garner, D., & Palou, L. (2001). Understanding the role of ethylene in peach cold storage life. *Acta Horticulturae*, *553*, 287–288.
- Esturk, O., Ayhan, Z., & Gokkurt, T. (2014). Production and Application of Active Packaging Film with Ethylene Adsorber to Increase the Shelf Life of Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*). *Packaging Technology and Science*, *27*.
- Hiwasa, K., Kinugasa, Y., Amano, S., Hashimoto, A., Nakano, R., Inaba, A., & Kubo, Y. (2003). Ethylene is required for both the initiation and progression of softening in pear (*Pyrus communis* L.) fruit. *Journal of Experimental Botany*, *54*(383), 771–779. <https://doi.org/10.1093/jxb/erg073>
- Horak, M., Golias, J., Balik, J., Nemcova, A., Snurkovic, P., & Koziskova, J. (2016). Changes in Asian and European pear cultivars fruit after harvest in various storage conditions. In D. Milatovic, J. Milivojevic, & D. Nikolic (Eds.), *III Balkan Symposium on Fruit Growing* (Vol. 1139, Issue 3rd Balkan Symposium on Fruit Growing, pp. 609–615).
- Ibhadon, A., & Fitzpatrick, P. (2013). Heterogeneous Photocatalysis: Recent Advances and Applications. *Catalysts*, *3*, 189–218.
- Janjarasskul, T., & Suppakul, P. (2018). Active and intelligent packaging: The indication of quality and safety. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *58*(5), 808–831.
- Jesús, G. B. (2011). *Región de Murcia*. 1–6.
- Kaewklin, P., Siripatrawan, U., Suwanagul, A., & Lee, Y. S. (2018). Active packaging from

- chitosan-titanium dioxide nanocomposite film for prolonging storage life of tomato fruit. *International Journal of Biological Macromolecules*, *112*, 523–529.
- Keller, N., Ducamp, M.-N., Robert, D., & Keller, V. (2013). Ethylene Removal and Fresh Product Storage: A Challenge at the Frontiers of Chemistry. Toward an Approach by Photocatalytic Oxidation. *Chemical Reviews*, *113*(7), 5029–5070.
- Kidron, M., Harel, E., & Mayer, A. M. (1978). Catechol Oxidase Activity in Grapes and Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, *29*(1), 30–35.
- Kim, S., Jeong, G. H., & Kim, S.-W. (2019). Ethylene Gas Decomposition Using ZSM-5/WO₃-Pt-Nanorod Composites for Fruit Freshness. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, *7*(13), 11250–11257.
- López-Miranda, S., Serrano-Martínez, A., Hernández-Sánchez, P., Guardiola, L., Pérez-Sánchez, H., Fortea, I., Gabaldón, J. A., & Núñez-Delicado, E. (2016). Use of cyclodextrins to recover catechin and epicatechin from red grape pomace. *Food Chemistry*, *203*, 379–385.
- Mansourbahmani, S., Ghareyazie, B., Zarinnia, V., Kalatejari, S., & Mohammadi, R. S. (2018). Study on the efficiency of ethylene scavengers on the maintenance of postharvest quality of tomato fruit. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *12*(2), 691–701.
- Nielsen, S. S. (2017). *Vitamin C Determination by Indophenol Method BT - Food Analysis Laboratory Manual* (S. S. Nielsen (ed.); pp. 143–146). Springer International Publishing.
- Palou, L., & Crisosto, C. H. (2003). Postharvest treatments to reduce the harmful effects of ethylene on apricots. *Acta Horticulturae*, *599*, 31–38.
- Wei, H., Seidi, F., Zhang, T., Jin, Y., & Xiao, H. (2021). Ethylene scavengers for the preservation of fruits and vegetables: A review. *Food Chemistry*, *337*, 127750.
- Yildirim, S., Röcker, B., Pettersen, M. K., Nilsen-Nygaard, J., Ayhan, Z., Rutkaite, R., Radusin, T., Suminska, P., Marcos, B., & Coma, V. (2018). Active Packaging Applications for Food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *17*(1), 165–199.
- Zhang, J., Cheng, D., Wang, B., Khan, I., & Ni, Y. (2017). Ethylene Control Technologies in Extending Postharvest Shelf Life of Climacteric Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*(34), 7308–7319.

Implementación de tecnología no destructiva para la determinación del momento óptimo de recolección de ciruela ‘Reina Claudia’

A.M. Fernández-León¹, M.J. Serradilla*¹, G. Pavón¹, A. Muñoz-Hormigo¹, M.J. Rodríguez-Gómez², B. Velardo-Micharet¹

¹Área de Postcosecha, Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, Avd. Adolfo Suárez s/n, 06007, Badajoz, España. Email: manuel.serradilla@juntaex.es

²Área de Vegetales. Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, Avd. Adolfo Suárez s/n, 06007, Badajoz, España

Resumen

La apertura reciente del mercado chino para la exportación de ciruela se ha convertido en una prioridad para los productores de ciruelo europeo (*Prunus domestica* L.), debido a la buena aceptación que esta ciruela tiene por sus características organolépticas. Para ser exportada a China, la ciruela europea debe reunir un mínimo de 18 °Brix y 3 kg.cm⁻² de presión. Debido a la variabilidad de los frutos y al carácter destructivo de estos índices de cosecha, el objetivo de este trabajo fue determinar este punto de maduración mediante la tecnología no destructiva DA-Meter (IAD) en el cultivar ‘Reina Claudia’. Para ello, se hizo un seguimiento de la maduración de los frutos en el árbol, desde 26 días antes de recolección comercial (RC) hasta 14 días después de RC, determinándose en cada fecha el peso, calibre, color de piel y pulpa, firmeza, sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT) e índice de maduración no destructivo (IAD). Los resultados revelaron que los estados de maduración más verdes estuvieron directamente relacionados con valores más elevados de IAD, firmeza y acidez titulable, mientras que los estados de maduración más avanzados estuvieron relacionados con el color de la piel, sólidos solubles y la relación SST/Acidez. Asimismo, se pudo comprobar que la firmeza y la concentración de SST deseados fueron alcanzadas 2 días después de la RC. En conclusión, el DA-Meter se ha mostrado como un equipo eficaz para determinar el momento óptimo de cosecha para exportación a China de forma no destructiva.

Palabras clave: DA-Meter, maduración, índice de cosecha, calidad

INTRODUCCIÓN

China se ha convertido en un mercado estratégico para la exportación de productos agroalimentarios debido a su elevado consumo, a las tasas de crecimiento de su clase media y a la demanda creciente de productos importados (ICEX, 2019). Para poder exportar fruta a China es necesaria la creación de protocolos de exportación que un reducido número de países consiguen tras largos procesos de negociación burocrática entre ambas partes. Las exportaciones de fruta española a China han crecido en los últimos años favorecidas por la entrada en vigor en 2016 de un nuevo protocolo para ciruela y melocotón y, posteriormente, en 2018 para uva de mesa. Las frutas de importación son percibidas en China como productos de cierta exclusividad, reservados a las clases media y alta, siendo muchas veces objetos de regalo (ICEX, 2019). En este sentido, la exportación de ciruela europea (*Punus domestica* L.), ya reconocida ampliamente por sus excelentes características organolépticas

en el mercado europeo, se ha convertido en una prioridad para los productores y comercializadores, ya que tienen la oportunidad de abarcar un mercado muy exigente con un producto muy valorado, con la consiguiente repercusión económica para el sector. En términos de calidad, para que la ciruela europea pueda ser exportada a China, debe reunir un mínimo de 18 °Brix y una firmeza de la pulpa de 3 kg.cm⁻² de presión de acuerdo con el protocolo de exportación establecido. Por tanto, es importante conocer el momento exacto de recolección de la fruta para que llegue con las características de calidad exigidas en destino.

El momento de la recolección se realiza según unos índices de cosecha, que en fruta de hueso generalmente son calibre, cobertura de color, firmeza y contenido en sólidos solubles totales. Estos índices de cosecha tradicionales, además de ser destructivos, no siempre son reproducibles, debido a que se ven influenciados por el cultivar, área y sistemas de producción y las condiciones edafoclimáticas (Crisosto et al., 2004; Usenik et al., 2008; Guerra y Casquero, 2009). De ahí la necesidad de implantar el uso de nuevas tecnologías no destructivas que permitan conocer el estado de maduración de forma fácil, fiable y reproducible. Entre estas tecnologías, se encuentra el DA-Meter, un instrumento portátil, que determina el índice de madurez (IAD) a través de la absorbancia en el rango activo de las clorofilas mediante espectroscopía visible e infrarrojo cercano (Vis/NIR) (Velardo-Micharet et al., 2021).

El objetivo de este trabajo fue determinar el momento exacto en el que la ciruela ‘Reina Claudia’ consigue ese punto de maduración exigido por el mercado chino mediante la tecnología no destructiva DA-Meter (IAD).

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal y diseño experimental

El ensayo se realizó en ciruela europea (*Prunus domestica*, L.) ‘Reina Claudia’ en una finca comercial de Jaraíz de la Vera (Cáceres). Se marcaron un total de 60 frutos procedentes de 3 árboles, sobre los que se realizó un seguimiento periódico de la maduración del fruto en el árbol, desde C1 (26 días antes de recolección comercial) a C8 (14 días después de recolección comercial), según se recoge en la Tabla 1. En cada fecha de muestreo se cogieron 10 frutos en un estado de maduración similar al de los marcados en los árboles para las determinaciones posteriores de calidad.

Métodos de análisis

El peso de cada fruto se determinó de forma individual usando una balanza electrónica (Mettler Toledo PB 1502). El calibre se determinó con un calibrador de lazo, expresándose los resultados en milímetros (mm). El color de piel y pulpa se realizó en las dos caras opuestas del fruto con un colorímetro portátil Minolta CR-400 empleándose las coordenadas de color CIE L*a*b*. Además, el índice CIRG (Usenik et al., 2008) fue también calculado. La firmeza se determinó con un texturómetro Stable Micro Systems TAXT2i, mediante ensayo de penetración con sonda de 8 mm de diámetro, expresándose la firmeza en Newton (N). Los sólidos solubles totales (SST) se midieron con un refractómetro digital portátil PR-01 (Atago CO., LTD, Tokyo, Japan), expresándose los resultados en °Brix. La acidez titulable (AT) se determinó con un valorador automático DL50 Graphix mediante valoración hasta pH 8,1, empleándose una disolución 0,1 N de

NaOH, expresándose los resultados en gramos de ácido málico por 100 gramos de muestra. El ratio STT/AT también fue calculado. El índice de madurez no destructivo (IAD) se determinó con el equipo DA-Meter (TrTuroni, SRL, Italia).

El tratamiento estadístico de los resultados se realizó con el programa informático SPSS 25.0 (IBM Statistics, Chicago, IL, USA). Se realizó un ANOVA y la comparación de medias se llevó a cabo mediante el test de Tukey ($p < 0,05$). La relación entre los parámetros estudiados con el índice IAD fue evaluada mediante el análisis del coeficiente de correlación de Pearson con un nivel de significación de $p < 0,01$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el proceso de maduración, los frutos aumentaron de forma significativa de peso y calibre (Fig.1), adquiriendo el tamaño definitivo en la cosecha 5 o recolección comercial (RC), con un peso medio de 30,23 g y un calibre de 38 mm de diámetro. De entre todos los parámetros de color medidos, el índice CIRG (Tabla 2) fue el que mostró una mayor información sobre los cambios de color ocurridos en la piel a lo largo del proceso de maduración, junto con los parámetros a^* y b^* (Fig. 2), mientras que en la pulpa el parámetro a^* fue el que mejor definió los cambios de color asociados a la maduración (Fig. 2). Es de destacar que los frutos conservaron la coloración verde de la piel (valores negativos de a^*) mientras permanecían en el árbol, a diferencia de la pulpa que adquirió tonalidades amarillas (valor positivo de a^*) en los frutos maduros (C8). Nuestros resultados coinciden con los descritos por Usenik et al. (2014), quienes afirmaban que los cambios de color de piel y pulpa eran menos evidentes que los de firmeza y SST durante la maduración de ciruelas europeas.

La firmeza descendió a medida que avanzaba la madurez de los frutos llegando a la recolección comercial (C5) con un valor de 32,79 N (Fig.1), produciéndose una bajada brusca en C7, 9 días después de la recolección comercial. Acorde a Guerra y Casquero (2008), las ciruelas europeas estarían para recolectar cuando su valor de a^* es de -12 y -13 y la firmeza de la pulpa es de 35-40 N.

Los SST aumentaron progresivamente a lo largo del proceso de maduración del fruto hasta C7, con valores de 21 °Brix. Por el contrario, la AT disminuyó significativamente ($p < 0,05$) a lo largo de la maduración (Tabla 2). La relación SST/AT aumentó progresivamente a medida que el fruto maduraba, siendo el valor medio de este índice en la recolección comercial de 15,54 (C5) frente 30,08 que fue el valor más alto alcanzado en los frutos madurados en el árbol (C8).

El índice de maduración obtenido con el DA-Meter (IAD) está relacionado con el contenido en clorofilas del fruto, el cual es elevado en etapas tempranas de desarrollo del fruto (valores elevados de IAD) y va disminuyendo a medida que avanza el proceso de maduración (valores inferiores de IAD). En ciruela 'Reina Claudia', los valores del índice IAD evolucionaron desde 2,28 en la C1, hasta 1,87 en recolección comercial y 1,25 en los frutos maduros y cosechados en C8, siguiendo una tendencia lineal descendente (Fig. 1). Estos valores distan mucho de los descritos en diferentes cultivares de ciruela japonesa (Velardo-Micharet et al., 2021), poniéndose de manifiesto la dificultad de obtener índices de cosecha generales.

Entre los parámetros estudiados, los que mejor se correlacionaron con el índice de madurez no destructivo IAD (Tabla 3) fueron el peso, calibre, a^* piel, b^* piel, CIRG piel, a^* pulpa, firmeza, SST y AT. Nuestros resultados coinciden con los descritos previamente

en nectarina (Bonora et al., 2014), melocotón (Pinto et al., 2015) y ciruela (Infante et al., 2011) sobre la buena correlación encontrada entre el IAD y los índices de cosecha tradicionales. Finalmente, se pudo comprobar que la firmeza y la concentración de SST deseados para exportación a China fueron alcanzadas 2 días después de la RC (C6).

CONCLUSIONES

El presente estudio confirma que el IAD puede ser utilizado como medida no destructiva para determinar el momento óptimo de cosecha para exportación a China del cultivar ‘Reina Claudia’, ya que existe una elevada correlación con los parámetros de cosecha tradicionales. Por lo tanto, el DA-meter proporciona una medida rápida y precisa, en tiempo real y adecuada del estado de madurez del fruto, pudiéndose utilizar tanto en campo como en las centrales frutícolas.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto INNOACE, Innovación Abierta e Inteligente en la EUROACE, financiado por el Programa Operativo de Cooperación Transfronteriza España Portugal (POCTEP) de la Unión Europea (2017-2019).

REFERENCIAS

- Bonora, E., Noferini, M., Stefanelli, S., Costa, G. (2014). A new simple modeling approach for the early prediction of harvest date and yield in nectarines. *Scientia Horticulturae* 172: 1–9
- Crisosto, C.H., Garner, D., Crisosto, G.M., Bowerman, E. (2004). Increasing “Black amber” plum (*Prunus salicina* Lindell) consumer acceptance. *Postharvest Biol. Technol.* 34: 237-244.
- Guerra, M., Casquero, P.A. (2009). Site and fruit maturity influence on the quality of European plum in organic production. *Scientia Horticulturae*, 122:540-544.
- ICEX (2019). El mercado de la fruta en China. <https://www.icex.es/icex/wcm/idc/groups/public/documents/documento/mde5/odi5/~e disp/doc2019829465.pdf> (Consultado enero 2022)
- Infante, R., Contador, L., Rubio, P., Mesa, K., Meneses, C. (2011). Non-destructive monitoring of flesh softening in the black-skinned Japanese plums ‘Angeleno’ and ‘Autumn beaut’ on-tree and postharvest. *Postharvest Biology and Technology*, 61 (1): 35-40.
- Pinto, C., Reginato, R., Shinya, P., Mesa, K., Díaz, M., Atenas, A., Infante, R. (2015). Skin color and chlorophyll absorbance: Indices for establishing a harvest date on non-melting peach. *Scientia Horticulturae* 192: 231–236
- Usenik, V., Kastelec, D., Verberic, R., Stampar, F. (2008). Quality changes during ripening of plums (*Prunus domestica* L.). *Food Chemistry*, 111:830-836.
- Usenik, V., Stampara, F., Kastelec, D. (2014). Indicators of plum maturity: When do plums become tasty? *Scientia Horticulturae*, 167: 127–134
- Velardo-Micharet, B., Fernández-León, A.M., Serradilla, M.J. (2021). Índices de cosecha en ciruela japonesa: Idoneidad del uso del DA-Meter frente a los métodos de calidad destructivos. *Fruticultura*, 60-69.

TABLAS

Tabla 1. Periodicidad y fecha de los diferentes momentos de recolección estudiados.

Cultivar	Cosecha	Fecha
Ciruela 'Reina Claudia'	C1	26 AC
	C2	19 AC
	C3	13 AC
	C4	5 AC
	C5	RC
	C6	2 DR
	C7	9 DR
	C8	14 DR

AC: antes de recolección comercial; RC: recolección comercial; DR: después de recolección comercial

Tabla 2. Evolución del índice CIRG en piel y pulpa, SST y AT de los frutos a lo largo de la maduración.

COSECHA	CIRG piel	CIRG pulpa	SST (°Brix)	Ácido málico (%)
C1	0,62±0,02de	0,94±0,07ab	12,53±0,52e	1,55±0,03a
C2	0,60±0,02e	0,74±0,03cd	13,47±0,03e	1,28±0,02c
C3	0,62±0,01de	1,03±0,06a	12,97±0,24e	1,38±0,02b
C4	0,66±0,01d	0,70±0,03d	15,60±0,62d	1,15±0,01d
C5(RC)	0,74±0,06c	0,83±0,03bc	16,40±0,46c	1,06±0,04e
C6	0,75±0,02c	0,80±0,05cd	18,03±0,59b	0,94±0,02f
C7	0,87±0,09b	1,01±0,18a	21,00±0,54a	0,79±0,02g
C8	0,96±0,06a	1,05±0,12a	21,47±0,27a	0,71±0,02h

Medias ± DS. Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas entre cosechas ($p \leq 0,05$)

Tabla 3. Correlación de los parámetros de peso, calibre, color piel y pulpa, firmeza, SST y AT con IAD.

Correlación de Pearson	IAD
Peso (g)	-0,755**
Calibre (mm)	-0,779**
a* piel	-0,861**
b* piel	-0,862**
CIRG piel	-0,923**
a* pulpa	-0,846**
Firmeza (N)	0,847**
SST(°Brix)	-0,925**
AT (% ác. málico)	0,925**
SST/AT	-0,948**

**La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

FIGURAS

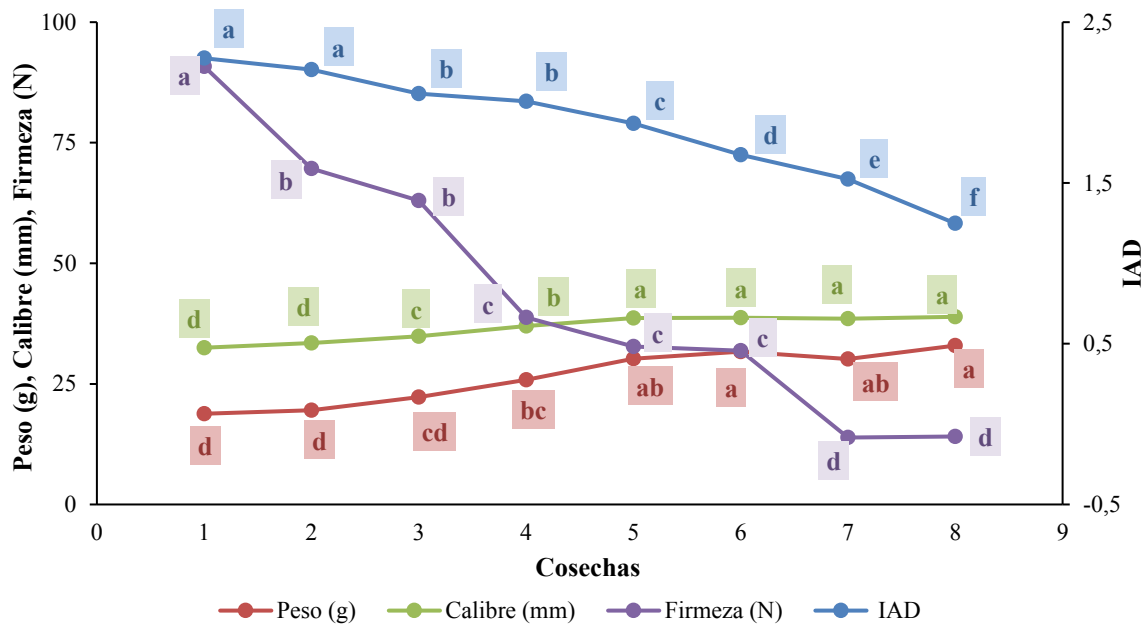


Fig. 1. Evolución del peso, calibre, firmeza e IAD de los frutos a lo largo de la maduración. Para cada variable, datos marcados con letras diferentes implican diferencias significativas entre fechas ($p < 0,05$ según el test de Tukey HSD).

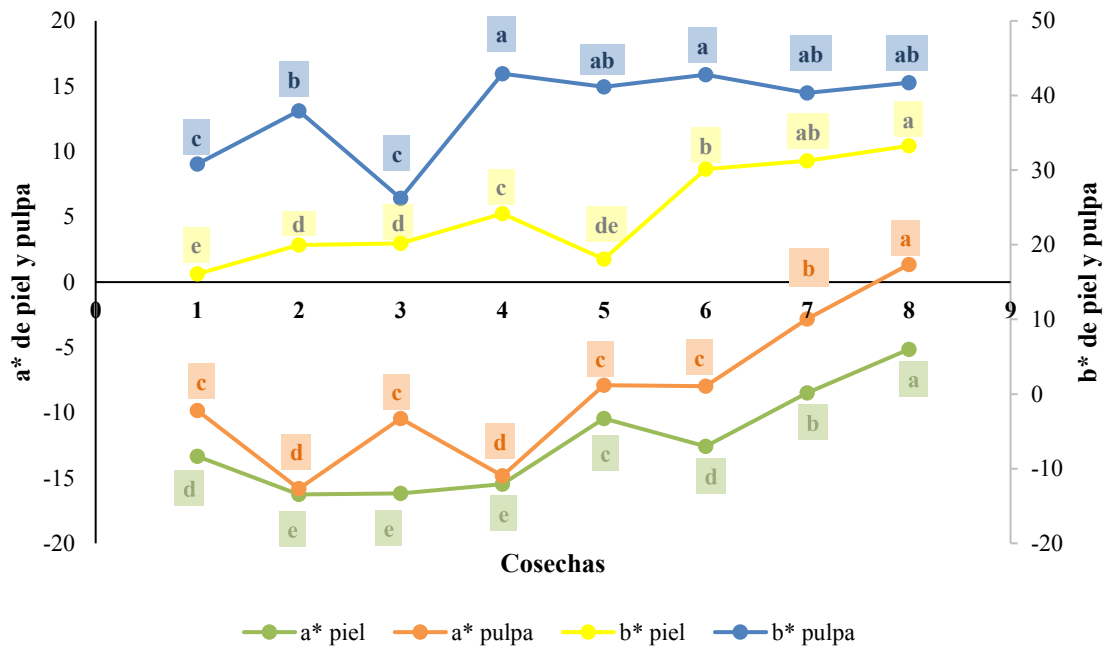


Fig.2 Evolución del color en piel y pulpa de los frutos a lo largo de la maduración. Para cada variable, datos marcados con letras diferentes implican diferencias significativas entre fechas ($p < 0,05$ según el test de Tukey HSD).

Interacción entre tolerancia al daño por frío, azúcares y ácidos orgánicos de seis variedades de granada

D. Martínez-Romero¹, M. Serrano², P.J. Zapata¹, S. Castillo¹, J.M. Valverde¹ y D. Valero¹

¹Departamento Tecnología Agroalimentaria, Universidad Miguel Hernández, Ctra. Beniel km. 3.2, 03312, Orihuela, Alicante. e-mail: dmromero@umh.es

²Departamento de Biología Aplicada, Universidad Miguel Hernández, Ctra. Beniel km. 3.2, 03312, Orihuela, Alicante.

Palabras clave: Chilling Injury, IonLeakage, Electrolitos, Cítrico, Málico, Sacarosa, *Punica granatum* L.

Resumen.

La granada es un fruto muy sensible a los daños por frío (DF) a temperaturas de almacenamiento inferiores a 7 °C. En este trabajo se ha evaluado la sensibilidad a los daños por frío de seis variedades de granada *Punica granatum* L. ('Wonderfull', 'Kingdom', 'Bigfull', 'Acco', 'Purple Queen' y 'Mollar de Elche') almacenadas a 2 °C y 10 °C durante 30 días. Se han cuantificado los DF externos e internos de la epidermis de los frutos y se han relacionado con la fuga de electrolitos (FE), contenido de sólidos solubles totales (SST) y acidez titulable (AT) antes del almacenamiento y a los 30 días de conservación. La FE en el día 30 de almacenamiento no ha sido el índice que mejor correlaciona la severidad de los daños por frío entre las 6 variedades. Sin embargo, la AT de los frutos y los daños de la epidermis se ajustaban a ecuaciones de tipo exponencial creciente ($r^2 > 0.97$), indicando que los frutos con una mayor AT son más sensibles a los DF y exhiben más daños internos. En este sentido, el ácido cítrico se acumuló en las granadas más sensibles ('Wonderfull', 'Kingdom'), mientras que el ácido málico se degradó. Los tres azúcares identificados en todas las variedades han sido sacarosa (~1%), glucosa (~49.5%) y fructosa (~49.5%). La sacarosa se ha degradado en las variedades muy sensibles al frío, mientras que en las menos sensibles al frío se ha acumulado. La concentración de glucosa y fructosa no se modificaron durante el almacenamiento frigorífico a 2 °C. En conclusión, la AT de estas seis variedades de granada en el momento de su recolección es un parámetro a considerar para predecir su sensibilidad a los DF, así como la acumulación de ácido cítrico y la degradación de ácido málico durante el almacenamiento.

INTRODUCCIÓN.

La granada es uno de los frutos de mayor interés en las comarcas de la Vega Baja del Segura y Elche, tanto por su productividad, rentabilidad como valor social. Es necesario intentar mejorar los sistemas de conservación y comercialización para ofrecer productos de una mayor calidad evitando las pérdidas de calidad postcosecha ocasionadas por podredumbres y daños. El daño por frío (DF) en postcosecha es una fisiopatía producida por el uso de temperaturas de conservación frigorífica no adecuadas a determinadas especies vegetales sin llegar a alcanzar temperaturas de congelación. Particularmente en la granada, esta fisiopatía ocasiona alteraciones tanto en la superficie como en el interior de la epidermis con la aparición de pardeamientos y depresiones, decoloración de los arilos y

pardeamientos de los segmentos blancos que separan los arilos (Sayyari et al., 2011). Esto conlleva a la depreciación del fruto cuando los DF se visualizan en el exterior de la epidermis. Sin embargo, si los DF son internos, los frutos dañados pueden llegar hasta el consumidor. En el caso de la granada, habitualmente se ha considerado que esta fisiopatía se produce a temperaturas de conservación inferiores a 7 °C. Es frecuente encontrar temperaturas inferiores a 7 °C en las cámaras frigoríficas cuando no existe una temperatura homogénea dentro de ellas, siendo menores en las zonas más bajas, o cuando no están bien diseñados los sistemas de producción y control de temperatura. No obstante, la sensibilidad de los frutos puede variar en función de la variedad. En este sentido se sabe que la sensibilidad a la aparición de DF de variedad de granada Wonderfull es mayor (<7 °C) que la de la variedad Mollar de Elche (<5 °C) (Pareek et al., 2015).

Se ha demostrado que la tolerancia a los DF está favorecida por la respuesta metabólica (carbohidratos, fenoles y fenilpropanoides) y de adaptación al estrés en variedades no sensibles a los DF (Kashash et al., 2019). Sin embargo, no se conoce la relación entre la sensibilidad a DF de diferentes variedades de granada y el contenido de ácidos orgánicos y azúcares.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño experimental.

Para realizar este trabajo, se han recolectado bajo criterios comerciales durante los meses de septiembre y octubre de 2019, seis variedades de granada (*Punica granatum* L) (Purple Queen - 4 septiembre; Acco y Bigfull - 10 septiembre; Kingdom, Mollar de Elche y Wonderfull - 11 de octubre) procedentes de una finca de Albaterra-Alicante. Las granadas se seleccionaron exentas de daños, podredumbres y fisiopatías. Para cada variedad se realizaron tres lotes de 3 réplicas de 10 frutos. El primer lote lo constituían los frutos recién recolectados y los otros dos se almacenaron durante 30 días a 10 y 2 °C y un 90% de HR, posteriormente se mantuvieron tres días a 20 °C. En cada uno de los frutos se le evaluaron los DF, tanto en la superficie como en el interior de la epidermis, se cuantificó la fuga de electrolitos, se analizó el contenido de SST, AT y se identificaron y cuantificaron los ácidos orgánicos y azúcares

Evaluación daños por frío.

El índice de DF se evaluó individualmente basándose en el porcentaje de la superficie afectada por síntomas (deshidratación, pardeamiento y picado). Se utilizó una escala hedónica de referencia de 5 puntos para evaluar el índice de daños por frío externa e interna de la siguiente manera: 1 (sin daños), 2 (0-10%), 3 (10-30%), 4 (30-50%) y 5 (>50%).

Evaluación de los sólidos solubles totales y acidez titulable, ácidos orgánicos y azúcares

La cuantificación de SST, AT y la determinación de ácidos orgánicos y azúcares se realizó conforme a Sayyari et al. (2011). Los ácidos orgánicos y azúcares se cuantificaron por HPLC Hewlett-Packard serie 1100. El sistema de elución consistió en ácido fosfórico al 0,1 % funcionando isocráticamente con un caudal de 0,5 ml min⁻¹. Los ácidos orgánicos y azúcares se eluyeron a través de una columna Supelco (Supelcogel C-610H, 30 cm × 7,8 mm, (Supelco Park, Bellefonte, EE. UU.). Los ácidos se detectaron por absorbancia a 210

nm mientras que los azúcares se detectaron mediante detector de índice de refracción. Para la cuantificación se utilizaron curvas estándar de ácidos y azúcares puros. Los resultados se expresaron como g 100 mL⁻¹ para los azúcares y los ácidos orgánicos.

Análisis estadístico

El efecto de las temperaturas de conservación sobre las diferentes variables determinadas en las seis variedades de granada, se ha estudiado mediante Análisis de la Varianza (ANOVA). Cuando las diferencias inducidas por los diferentes tratamientos han resultado significativas, las medias se han separado mediante el test de Tukey. Además, se han realizado regresiones lineales y no lineales de tipo exponencial entre las diferentes variables analizadas. Todos los análisis se han realizado con el software SPSS versión 11.0 para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos los frutos almacenados durante 30 días a 10 °C no sufrieron DF. Sin embargo, todos los frutos que fueron almacenados durante 30 días a 2 °C mostraron diferentes niveles de severidad a los DF, siendo las variedades 'Kingdom' y 'Wonderfull' las que más DF internos y externos manifestaron, seguidas de 'Acco' y 'Bigfull' y por último las menos sensibles fueron 'Purple Queen' y 'Mollar de Elche' ($p < 0.01$) (Fig 1). Además, los DF en la cara interna de la epidermis de todas las variedades analizadas fueron mayores que los de la exterior, pero siempre guardando la proporcionalidad del daño entre las variedades, como se puede comprobar con el alto nivel de correlación entre ellas ($r^2 = 0.89$) (Fig 1). En este sentido, se demuestra que existe una diferente tolerancia, respuesta metabólica y adaptación de las variedades de granada a los DF (Kashash et al., 2019).

La FE incrementó significativamente en las pieles de los frutos durante los 30 días de almacenamiento a 2 °C ($p < 0.01$). Además, la FE de los frutos almacenados durante 30 días a 2 °C no se correlacionó con los DF internos ($r^2 = 0.1$) y externos ($r^2 = 0.02$). Sin embargo, si hubo una alta correlación entre la FE de los frutos recién cosechados y los daños internos ($r^2 = 0.8$) y externos ($r^2 = 0.63$) de la piel de los frutos almacenados durante 30 días a 2°C (Fig 2). La FE de los frutos recién recolectados podría servir como predicción a los DF actuando como indicador del estado de la membrana de los frutos. Como se ha comprobado, la composición de las membranas puede ser determinante en la aparición de DF, la composición lipídica de la membrana de la epidermis se modifica como consecuencia de los DF, los ácidos grasos disminuyen y además la fracción de ácidos grasos poliinsaturados disminuye respecto a los ácidos grasos saturados (Mirdehghan et al., 2007).

El contenido de SST de todas las granadas estaba comprendido entre 13.5-16.3 °Brix, siendo las variedades 'Mollar de Elche', 'Kingdom' y 'Wonderfull' las que mostraban una mayor concentración de SST > 15 °Brix, mientras que 'Acco', 'Bigfull' y 'Purple Queen' tenían un contenido de SST < 14 °Brix. Los tres azúcares identificados en todas las variedades fueron sacarosa con una concentración inferior al 0.06 g 100 mL⁻¹ (1% del total de azúcares), glucosa y fructosa, con una concentración < 6 g 100 mL⁻¹ (~49.5% del total de azúcares respectivamente). La sacarosa se degradó en las variedades más sensibles al frío ('Kingdom' y 'Wonderfull'), mientras que en las variedades menos sensibles al frío ('Purple Queen' y 'Mollar de Elche') la sacarosa se acumuló.

La AT de los frutos fue significativamente diferente entre las diferentes variedades ($p < 0.01$). Las variedades más ácidas fueron 'Kingdom' y 'Wonderfull' con una AT superior a $1.2 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$. Mientras que las variedades 'Acco' y 'Bigfull' tenían una AT próxima a $0.7 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$ de ácido cítrico; por último, las variedades 'Purple Queen' y 'Mollar de Elche' su AT fue inferior a $0.4 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$ de ácido cítrico. De forma global, la AT de las variedades más sensibles al DF, 'Kingdom' y 'Wonderfull', incrementó significativamente ($p < 0.05$) durante el almacenamiento a $2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ debido principalmente a la acumulación de ácido cítrico. Sin embargo, en las variedades menos sensibles a DF ('Purple Queen' y 'Mollar de Elche') la AT no incrementó significativamente durante el almacenamiento a $2 \text{ }^{\circ}\text{C}$. En este sentido, los DF internos estaban correlacionados de forma exponencial con la AT de los frutos ($r^2 = 0.97$) y con el contenido de ácido cítrico en particular ($r^2 = 0.95$). El ácido málico, mayoritario en las variedades menos sensibles a DF, no estaba correlacionado con los DF. El ácido málico fue minoritario en las variedades más sensibles a los DF ($\sim 0.06 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$) y se degradó durante su almacenamiento frigorífico. Sin embargo, en las variedades más resistentes a DF ('Acco' y 'Mollar de Elche'), el ácido málico fue el mayoritario ($\sim 0.1 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$) y no se modificó durante el almacenamiento.

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos podemos concluir que el contenido de ácidos orgánicos, en particular ácido cítrico, también puede jugar un papel primordial sobre la estructura de las membranas y en la aparición de DF principalmente en la cara interna de la epidermis y en los segmentos blancos que separan los arilos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación de España a través del Proyecto RTI2018-09966-B-100 y la Comisión Europea con fondos FEDER.

REFERENCIAS

- Kashash, Y., Holland, D. and Porat, R. 2019. Molecular mechanisms involved in postharvest chilling tolerance of pomegranate fruit. *J. Sci. Food Agric.* 99: 5617-5623.
- Mirdehghan, S. H., Rahemi, M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Valverde, J. M., Zapata, P. J. and Valero, D. 2007. Reduction of pomegranate chilling injury during storage after heat treatment: role of polyamines. *Postharvest Biol. Technol.* 44: 19-25.
- Pareek, S., Valero, D. and Serrano, M. 2015. Postharvest biology and technology of pomegranate. *J. Sci. Food Agric.* 95: 2360-2379.
- Sayyari, M., Castillo, S., Valero, D., Díaz-Mula, H. M. and Serrano, M. 2011. Acetyl salicylic acid alleviates chilling injury and maintains nutritive and bioactive compounds and antioxidant activity during postharvest storage of pomegranates. *Postharvest Biol. Technol.* 60: 136-142.

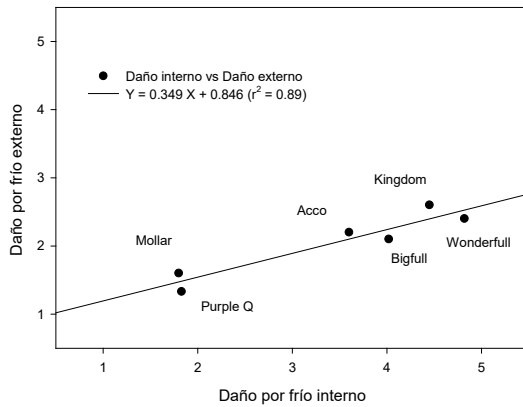


Fig. 1. Daño por frío interno y externo en la epidermis de 6 variedades de granadas.

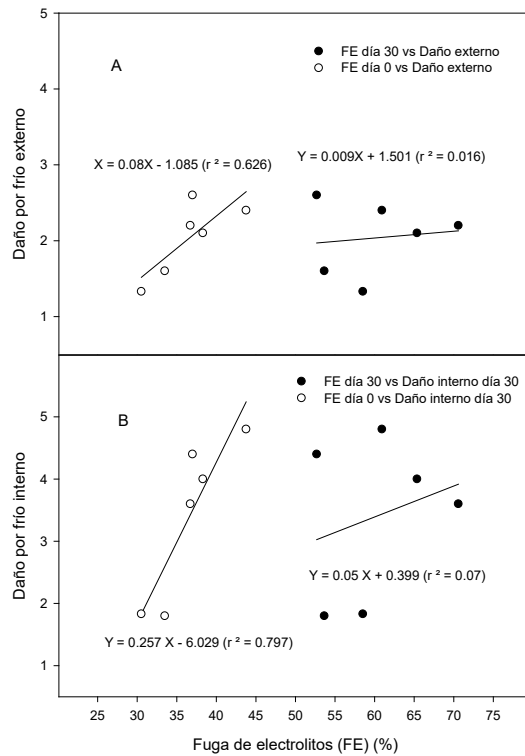


Fig. 2. Regresiones entre la fuga de electrolitos de las pieles de las 6 variedades de granada en el día 0 (○) y después de 30 días almacenadas a 2 °C (●) y la presencia de daños por frío en la cara exterior (A) e interior (B) de la epidermis.

Los tratamientos precosecha con melatonina incrementan la calidad y los sistemas antioxidantes en cerezas y retrasan su maduración postcosecha

A. Carrión-Antolí, S. Castillo, P.J. Zapata, D. Martínez-Romero, M. Serrano y D. Valero.

Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO), Universidad Miguel Hernández, Ctra. Beniel km 3.2, 03312, Orihuela, Alicante. alberto.antoli@umh.es

Resumen

Las cerezas son frutos muy valorados por los consumidores, pero son muy perecederos y tienen una reducida vida útil, incluso en condiciones de refrigeración. La melatonina es una hormona implicada en la respuesta a los distintos tipos de estrés en plantas y tiene una repercusión importante sobre la calidad de los frutos. El objetivo de este trabajo fue aumentar la calidad de la cereza en la recolección y durante la conservación mediante tratamientos del árbol con melatonina. El ensayo se llevó a cabo en una finca comercial de Murcia sobre las variedades ‘Prime Giant’ y ‘Sweet Heart’. Se aplicaron tres tratamientos de melatonina a concentraciones de 0,1, 0,3 y 0,5 mM, en los momentos claves del desarrollo del fruto. Las cerezas se recolectaron en estado de madurez comercial y posteriormente se conservaron a 2 °C durante 0, 7, 14 y 21 días, tras los que se realizaron las determinaciones analíticas. Los árboles tratados presentaron un mayor porcentaje de frutos comerciales respecto al control. En la recolección, los parámetros de calidad relacionados con el color, la firmeza, los sólidos solubles y la acidez, fueron mejorados con los tratamientos de melatonina. Durante la conservación frigorífica los frutos tratados tuvieron menores pérdidas de peso, acidez y firmeza y menor evolución de los sólidos solubles y del color. Los fenoles y las antocianinas presentaron valores más altos en las cerezas tratadas, tanto en el momento de la recolección como durante la conservación y la actividad de las enzimas antioxidantes se incrementó con los tratamientos. Como conclusión, la melatonina podría ser una herramienta eficaz para mantener la calidad de la cereza durante la conservación y reducir el proceso de senescencia.

Palabras clave: *Prunus avium*, acidez, enzimas antioxidantes, antocianinas, fenoles

INTRODUCCIÓN

La cereza es un fruto con una alta cantidad de compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes, destaca el contenido de fenoles, antocianinas y ácido ascórbico, los cuales tienen importantes beneficios para la salud de los consumidores (McCune et al., 2011). La cereza es un fruto muy perecedero y tienen una reducida vida útil, incluso en condiciones de refrigeración, por lo tanto, hay que emplear una tecnología precosecha y postcosecha adecuada para mantener la calidad hasta que llega al consumidor final. La melatonina es una hormona presente en diversos organismos, en 1995 se descubrió en plantas, esta hormona está implicada en el crecimiento y desarrollo, actúa como antioxidante directo y se trata de una molécula de señalización que se encuentra implicada en la respuesta a los distintos tipos de estrés tanto bióticos como abióticos. La aplicación

precosecha de esta hormona incrementa la producción de los cultivos, aumenta la tolerancia al estrés y activa el sistema de defensa de las plantas (Wang et al., 2020). Por lo tanto, el objetivo del trabajo es evaluar el efecto de la aplicación exógena de melatonina sobre la cereza y determinar los principales parámetros de calidad y compuestos bioactivos, tanto en el momento de la recolección como tras el almacenamiento postcosecha.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

El ensayo se realizó sobre cerezos de la especie *Prunus avium*, concretamente sobre las variedades ‘Prime Giant’ y ‘Sweet Heart’, las cuales estaban injertadas sobre un patrón ‘Santa Lucia 64’. El cultivo estaba ubicado en la finca comercial “Finca Toli” situada en Jumilla (Murcia). Se realizó un diseño de bloques aleatorios, cada bloque estaba formado por tres repeticiones de 3 árboles, dando lugar a 9 árboles por tratamiento. Se ensayaron tres dosis de melatonina 0,1 mM, 0,3 mM y 0,5 mM, los árboles controles se trataron solo con agua. Las aplicaciones foliares se realizaron mediante pulverización foliar utilizando un volumen de 2 litros por árbol, se aplicaron tres tratamientos durante el desarrollo de la cereza en el árbol coincidiendo con el endurecimiento de hueso, cambio de color y tres días antes de la recolección. Las cerezas se recolectaron en estado de madurez comercial siguiendo el criterio de la empresa, posteriormente se llevaron al laboratorio donde se analizaron a los 0, 7, 14 y 21 días de conservación a 2 °C.

Métodos analíticos

Las pérdidas de peso se evaluaron mediante diferencia de pesada entre el día inicial y el muestreo, expresando el valor en porcentaje. El color se midió con un colorímetro Minolta (CR200, Minolta Camera Co., Osaka, Japón) y se expresó en coordenadas CIELab como índice de color a^*/b^* . Los sólidos solubles totales (SST) se cuantificaron con un refractómetro digital (Atago PR-101, Atago Co. Ltd., Tokio, Japón) a 20 °C. La acidez total (AT) se determinó en el mismo zumo con un valorador automático (785 DMP Titrino, Metrohm) con NaOH 0,1 N hasta alcanzar un pH 8,1. La firmeza se determinó en cada cereza utilizando un analizador de textura TX-XT2i (Stable Microsystems, Godalming, Reino Unido), donde se aplicó una fuerza para conseguir un 3% de deformación del diámetro ecuatorial.

La extracción de polifenoles se realizó con 5 g de tejido congelado y 10 mL de agua:metanol (2:8, v:v), para las antocianinas totales se tomaron 2 g de tejido congelado en 10 mL de metanol:agua:HCl (80:19:1, v:v:v), las determinaciones analíticas se realizaron siguiendo el método propuesto por Giménez et al. (2016). Catalasa, peroxidasa y ascorbato peroxidasa se midieron a partir de 5 gramos de tejido congelado que se homogeneizaron con 10 mL de tampón fosfato de potasio 50 mM a pH 7,2, con 1% de polivinilpirrolidona y 1 mM de ácido etilendiaminotetraacético. La actividad catalasa se determinó como la bajada de absorbancia a 240 nm durante un minuto, la actividad peroxidasa se midió como el aumento de absorbancia a 470 nm durante un minuto, la actividad ascorbato peroxidasa se determinó como el descenso de absorbancia durante un minuto a 290 nm. Se define una unidad de actividad enzimática (U) como la variación de 0,01 unidades de absorbancia por minuto (Giménez et al., 2017).

Todos los valores se expresaron como la media \pm ES. El análisis estadístico se realizó con el software SPSS, versión 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Los datos se sometieron a un análisis de la varianza (ANOVA), las medias se compararon mediante el test de Tukey y las diferencias se consideraron significativas para un $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La aplicación de los tratamientos no afectó a la producción total en ninguna de las dos variedades. Las pérdidas de peso se incrementaron en ambas variedades tras 21 días de conservación, pero estas fueron mayores en los controles que en las cerezas tratadas con melatonina, la variedad 'Prime Giant' alcanzó valores de $10,86 \pm 0,36$ % en el control respecto al ≈ 7 % en los tratamientos, la variedad 'Sweet Heart' presentó valores de $6,69 \pm 0,64$ % en el control respecto al ≈ 5 % de los tratamientos. El índice de color a^*/b^* se incrementó en los tratamientos de melatonina tanto en el momento de la recolección como tras dos semanas de conservación, posteriormente disminuyó, pero los tratamientos se mantuvieron en valores superiores al control. La firmeza es un parámetro que disminuye durante el periodo de almacenamiento, pero tanto el día de la recolección como durante el periodo de conservación las cerezas tratadas con melatonina presentaron valores superiores al control. En la variedad 'Prime Giant' la acidez y los sólidos solubles fueron superiores en las cerezas tratadas con melatonina respecto al control, en el momento de la recolección y durante la conservación, en la variedad 'Sweet Heart' no hubo diferencias el día de la recolección, pero durante la conservación la acidez presentó niveles más altos que el control (datos no mostrados). El aumento de la calidad como consecuencia de la aplicación de elicitores también lo ha observado en cereza Martínez-Esplá et al. (2014).

Las antocianinas presentaron valores superiores en las cerezas de la variedad 'Prime Giant' y 'Sweet Heart' tratadas con melatonina respecto al control, este efecto se observó tanto en el momento de la recolección como durante el almacenamiento postcosecha, en el cual tras dos semanas de conservación los niveles tienden a bajar, pero los tratamientos mantuvieron valores más altos que el control. Los polifenoles totales tienen una dinámica similar a las antocianinas, ya que las antocianinas son los principales compuestos fenólicos presentes en la cereza. La aplicación de melatonina en frutos de granada también ha conseguido incrementar los compuestos bioactivos como fenoles y antocianinas, además de mejorar parámetros de calidad (Lorente-Mento et al., 2021). Las enzimas antioxidantes se han determinado en el control y en la dosis de melatonina 0,3 mM, ya que es la que ha presentado un mejor comportamiento en ambas variedades durante la conservación. En la variedad 'Prime Giant' la actividad catalasa y ascorbato peroxidasa fue superior en el tratamiento de melatonina 0,3 mM que en el control, pero durante el almacenamiento disminuyó, sin embargo, las cerezas tratadas mantuvieron valores superiores al control, respecto a la actividad peroxidasa incrementó durante la conservación, pero no hubo diferencias entre el tratamiento y el control. En la variedad 'Sweet Heart' la actividad catalasa aumentó durante la conservación en el control y en el tratamiento, pero la dosis de melatonina 0,3 mM presentó un incremento del 20 % respecto al control. La actividad ascorbato peroxidasa y peroxidasa se mantuvo más o menos estable durante la conservación, pero los tratamientos presentaron valores superiores al control (Tabla 1). Resultados similares ha obtenido Sharafi et al. (2021) consiguiendo un aumento de las enzimas antioxidantes, lo que permite mantener la integridad de la membrana durante su almacenamiento frigorífico.

CONCLUSIONES

Los tratamientos con melatonina en cereza mejoran los parámetros de calidad en el momento de la recolección y los mantiene durante su conservación frigorífica en niveles más altos respecto al control. Además, los compuestos como fenoles, antocianinas y enzimas antioxidantes presentan valores superiores en la fruta tratada con melatonina, lo que se traduce en un retraso de la senescencia y un mayor contenido de compuestos bioactivos con importantes beneficios para la salud de los consumidores.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido financiada por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades por medio de una subvención para la Formación de Profesorado Universitario (FPU) y por el proyecto RTI2018-099664-B-I00, financiado por dicho ministerio y por la Unión Europea (FEDER). También agradecemos a la empresa “Finca Toli” la ayuda técnica y cesión de las instalaciones.

REFERENCIAS

- Giménez, M. J., Serrano, M., Valverde, J. M., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Valero, D., & Guillen, F. (2017). Preharvest salicylic acid and acetylsalicylic acid treatments preserve quality and enhance antioxidant systems during postharvest storage of sweet cherry cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(4), 1220-1228.
- Giménez, M. J., Valverde, J. M., Valero, D., Zapata, P. J., Castillo, S., & Serrano, M. (2016). Postharvest methyl salicylate treatments delay ripening and maintain quality attributes and antioxidant compounds of ‘Early Lory’ sweet cherry. *Postharvest Biology and Technology*, 117, 102-109.
- Lorente-Mento, J. M., Guillén, F., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Valverde, J. M., Valero, D., & Serrano, M. (2021). Melatonin Treatment to Pomegranate Trees Enhances Fruit Bioactive Compounds and Quality Traits at Harvest and during Postharvest Storage. *Antioxidants*, 10(6), 820.
- Martinez-Espla, A., Zapata, P. J., Valero, D., Garcia-Viguera, C., Castillo, S., & Serrano, M. (2014). Preharvest application of oxalic acid increased fruit size, bioactive compounds, and antioxidant capacity in sweet cherry cultivars (*Prunus avium* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(15), 3432-3437.
- McCune, L. M., Kubota, C., Stendell-Hollis, N. R., & Thomson, C. A. (2011). Cherries and health: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(1), 1-12.
- Sharafi, Y., Jannatizadeh, A., Fard, J. R., & Aghdam, M. S. (2021). Melatonin treatment delays senescence and improves antioxidant potential of sweet cherry fruits during cold storage. *Scientia Horticulturae*, 288, 110304.
- Wang, S. Y., Shi, X. C., Wang, R., Wang, H. L., Liu, F., & Laborda, P. (2020). Melatonin in fruit production and postharvest preservation: A review. *Food Chemistry*, 320, 126642.

Tabla 1. Actividad catalasa, ascorbato peroxidasa y peroxidasa para las cerezas control y tratadas con melatonina 0,3 mM de la variedad ‘Prime Giant’ (P.G) y ‘Sweet Heart’ (S.H), en el momento de la recolección y tras 7, 14 y 21 días de conservación. Los datos son la media \pm ES.

Enzima	Días	Control	Melatonina 0,3 mM	
Actividad catalasa (U min ⁻¹ g ⁻¹)	P.G	0	135,08 \pm 9,64	182,93 \pm 6,11
		7	128,75 \pm 9,61	161,95 \pm 8,60
		14	117,02 \pm 7,26	149,79 \pm 8,06
		21	116,37 \pm 6,15	151,19 \pm 12,28
	S.H	0	83,91 \pm 10,41	107,29 \pm 7,14
		7	94,92 \pm 7,39	110,80 \pm 2,71
		14	99,50 \pm 6,73	120,20 \pm 6,06
		21	100,74 \pm 5,90	123,46 \pm 8,76
Actividad ascorbato peroxidasa (U min ⁻¹ g ⁻¹)	P.G	0	118,08 \pm 4,14	139,21 \pm 4,32
		7	108,51 \pm 5,02	129,84 \pm 5,11
		14	108,93 \pm 6,25	130,42 \pm 6,43
		21	107,28 \pm 6,15	125,19 \pm 4,38
	S.H	0	95,01 \pm 4,39	111,48 \pm 4,82
		7	102,05 \pm 2,69	109,37 \pm 6,71
		14	98,90 \pm 6,44	120,27 \pm 2,40
		21	93,10 \pm 6,14	110,33 \pm 4,32
Actividad peroxidasa (U min ⁻¹ g ⁻¹)	P.G	0	51,96 \pm 1,02	49,67 \pm 2,71
		7	67,62 \pm 2,94	73,13 \pm 0,71
		14	72,03 \pm 3,37	72,28 \pm 2,80
		21	70,06 \pm 1,98	76,07 \pm 1,80
	S.H	0	57,77 \pm 1,39	63,74 \pm 3,23
		7	60,50 \pm 0,33	63,45 \pm 2,06
		14	55,29 \pm 1,37	63,62 \pm 1,73
		21	55,42 \pm 0,72	65,80 \pm 0,83

Efecto del jasmonato de metilo sobre la conservación de bananas cv. Cavendish almacenadas a temperaturas subóptimas

M. I. M. Ilea¹, M. Serrano², M. C. Ruíz-Aracil³, D. Valero⁴, D. Martínez-Romero⁵, F. Guillén⁶

Grupo de Investigación en Post-recolección de Frutas y Hortalizas. CIAGRO, UMH. Carretera de Beniel, km 3.2. (Orihuela) Alicante. Email: mihalea.ilea@goumh.umh.es

Resumen

La banana es una fruta tropical que tiene una corta vida útil y sufre daños por frío que se pueden desarrollar tanto en la piel como en el interior del fruto. En este estudio evaluamos el incremento de la calidad y el efecto en la reducción de estos daños mediante la aplicación de vapores de jasmonato de metilo (JaMe) y 1-metilciclopropeno (1-MCP). Tras los tratamientos los frutos se almacenaron a 7°C. Los tratamientos aplicados de forma independiente mejoraron los parámetros de la calidad de los frutos tratados en comparación con los frutos control. Se obtuvieron menores pérdidas de peso y mayores niveles de firmeza, y una menor salida de electrolitos de la piel. Además, ambos tratamientos controlaron la incidencia de los daños por frío mostrando mejores resultados al combinar ambos tratamientos. Por tanto, la aplicación de compuestos de origen natural como el JaMe de forma individual o en combinación con 1-MCP podrían ser una herramienta eficaz a la hora de controlar la maduración y daños por frío en la banana.

Palabras clave: maduración, vida útil, refrigeración, postcosecha, daños por frío

Introducción

La banana (*Musa acuminata* Colla, grupo AAA) es una de las frutas tropicales de mayor importancia con respecto a su producción en distintas áreas productivas a nivel mundial. La cv. Johnson perteneciente al subgrupo Cavendish es una de las variedades más ampliamente distribuida en las Islas Canarias. El almacenamiento en frío es el tratamiento más eficaz para retrasar la maduración de la fruta. Sin embargo, las temperaturas de almacenamiento subóptimas pueden causar daños y pérdidas de calidad en los frutos. Distintos tratamientos se han utilizado para mantener la calidad y reducir los daños por frío, uno de estos tratamientos es el 1-metilciclopropeno (1-MCP) cuya acción es capaz de retrasar la pérdida de calidad y reducir los daños por frío (Watkins, 2006). Por otro lado, el jasmonato de metilo (JaMe) es una fitohormona derivada del ácido jasmónico que se encuentra presente de forma natural en el reino vegetal, actuando como elicitador en procesos fisiológicos y bioquímicos, así como frente al estrés producido por las condiciones de refrigeración (Sayyari et al., 2011). En este estudio, tratamos de dilucidar las posibilidades del JaMe y del 1-MCP solos o combinados entre sí, sobre los daños por frío y la vida útil.

Materiales y Métodos

Las bananas cv. Johnson perteneciente el subgrupo Cavendish (*Musa acuminata* Colla, grupo AAA) objeto de este estudio se recolectaron en estado inmaduro en la Isla de la Palma y fueron enviadas rápidamente a la península. A la llegada de las bananas se

aplicó etileno durante 24 h a $16 \pm 1^\circ\text{C}$. Seguidamente fueron transportados al laboratorio y seleccionadas. Tras la selección de 189 frutos, se agruparon en lotes o tratamientos de 9 bananas divididos en tres muestras de 3 bananas cada uno. Además, se seleccionaron otros 9 frutos para evaluar el día 0 y establecer así las condiciones en las cuales llegaron al laboratorio (datos no mostrados). Los tratamientos aplicados fueron vapores (JaMe 0.01 mM) y 1-MCP (300 ppb) durante 24 horas a 20°C . La dosis de 1-MCP óptima en estos frutos fue escogida de entre las ensayadas por Moradinezhad et al., (2010) mientras que la dosis de JaMe se seleccionó en base a estudios propios. Los tratamientos con 1-MCP se realizaron mediante la utilización de pastillas comerciales liberadoras de este compuesto a las dosis aplicadas, todo proporcionado por SmartFresh (AgroFresh Inc., Philadelphia, PA) en contenedores herméticos de 130 L. Todos los frutos se almacenaron a 7°C con una humedad relativa del 90 % para ser posteriormente muestreados tras diversos periodos de almacenamiento en frío más dos días más a 20°C para evaluar la vida útil. Los parámetros como la pérdida de peso, los sólidos solubles y la acidez total han sido evaluados según Serrano et al., (2009). Otros parámetros como la firmeza, el color, la fuga de electrolitos y los daños por frío fueron evaluados visualmente con ligeras modificaciones, utilizando el método descrito por Hao et al., (2019). Para los daños por frío se asignó una escala (0-4) donde 0: sin daños, el 1: daño ligero (del 1-20% de la superficie del fruto afectado), 2: daño moderado (21-50%), 3: daño severo (51-80%) y 4: daño muy severo (81-100%). El experimento se llevó a cabo en un diseño completamente aleatorio. Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) y los datos se estudiaron utilizando el paquete de software SPSS v. 20.0. para Windows. Cuando las diferencias mostradas por las distintas muestras han resultado ser significativas ($p < 0.05$) los valores de las medias \pm ES se compararon mediante el Test de Tukey.

Resultados y Discusión

Los resultados más relevantes obtenidos tras estudiar el efecto de los distintos tratamientos aplicados sobre las bananas tras 28 días a 7°C más un periodo adicional de 2 días a 20°C se muestran en la Tabla 1. Las pérdidas de peso tras el almacenamiento refrigerado alcanzaron los mayores valores en los frutos control ($10,11 \pm 0,69$ %) mientras que los distintos tratamientos fueron capaces de reducir de forma significativa ($p < 0.05$) obteniendo valores de pérdida de peso de $8,48 \pm 0,45$ y de $8,44 \pm 0,62$ % para las bananas tratadas con 1-MCP o con vapores de JaMe 0.01 mM respectivamente. Sin embargo, cuando se aplicaron los tratamientos de forma combinada (JaMe 0.01 mM + 1-MCP) se observó una pérdida de peso significativamente inferior ($p < 0.05$) con respecto a la obtenida cuando se aplican estos tratamientos por separado alcanzando valores de $6,91 \pm 0,84$ %. Las pérdidas de peso en frutas y hortalizas son provocadas por los procesos de respiración y transpiración. Tanto el JaMe como las aplicaciones con 1-MCP son capaces de reducir las pérdidas de peso mediante un mayor mantenimiento de la integridad de las membranas celulares, así como de retrasar su madurez y senescencia (Elbagoury et al., 2020). Todos los tratamientos ensayados mantuvieron mayores niveles de firmeza con respecto al control. Sin embargo, los mecanismos involucrados son diferentes. Está ampliamente documentado que el 1-MCP reduce el metabolismo de los frutos, retrasando la maduración y retrasando la degradación de las paredes celulares (Watkins, 2006). Asimismo, y de forma común en un amplio número de distintas especies vegetales, el JaMe es capaz de mantener la integridad de la membrana mediante una reducción del estrés oxidativo (Sun et al., 2013). Además, aporta energía adicional en el metabolismo celular frente a las mayores necesidades que experimentan las células vegetales conforme avanza la maduración y senescencia del fruto o su exposición a temperaturas subóptimas

(Aghdam et al., 2018). Por ello la reducción adicional en las pérdidas de peso obtenida al combinarse ambas tecnologías podría ser debido a un efecto aditivo entre los efectos positivos de ambas aplicaciones.

Con respecto al color de las bananas, pudimos comprobar que tanto el color L^* como el ángulo Hue* mostraron de forma significativa ($p < 0,05$) unos valores mayores en los frutos tratados con respecto a los frutos controles. En este sentido se observó un efecto positivo adicional en el ángulo Hue* y en el parámetro L^* cuando los tratamientos se aplicaron mediante combinación de estos (JaMe 0.01 mM + 1-MCP).

Tras evaluar el contenido en SST y AT, pudimos comprobar como las bananas mostraron diferencias en estos parámetros cuando se compararon los frutos controles con el resto de los tratamientos. Sin embargo, las bananas tratadas con JaMe + 1-MCP mostraron en general una mayor acidez y un menor contenido en sólidos solubles comparadas con las frutas control. En estudios previos y en consonancia con nuestros resultados se ha observado que el contenido en azúcares no se ve afectado por el tratamiento de las bananas con 1-MCP (Golding et al., 1998) mientras que sí se ve retrasado por la acción del JaMe (Elbagouri et al., 2020) al retardar la evolución de la madurez. En este sentido, tanto la acción del JaMe como la del 1-MCP aplicados de forma aislada o mediante combinación mostraron un retraso en el descenso de la AT durante el almacenamiento como se ha observado en distintos estudios previos en banana y otros frutos (Watkins, 2006; Wang et al., 2021). Pese a que no se observaron importantes diferencias tras 28 días de almacenamiento, sí se observó un retraso en la pérdida de AT en este estudio a lo largo del almacenamiento en muestreos previos (datos no mostrados).

Como el resto de las frutas tropicales, la banana es sensible a los daños por frío, provocando pardeamientos y depresiones en la piel. En este estudio las bananas mostraron daños por frío a partir de los primeros 7 días de almacenamiento a 7°C más dos días a 20°C como periodo de vida útil (datos no mostrados). Como se puede observar en la Tabla 1, los tratamientos basados en la aplicación de 1-MCP y JaMe 0.01 mM de forma independiente o como combinación de ambos, mostraron un efecto significativo ($p < 0,05$) reduciendo la incidencia de los daños por frío en las bananas, así como también la salida de electrolitos. Además, cuando evaluamos la fuga de electrolitos, pudimos comprobar como pese a que los tratamientos basados en la aplicación de forma aislada de 1-MCP y JaMe 0.01 mM redujeron de forma significativa ($p < 0,05$) el incremento de este parámetro en un 14,81 y un 10,15 % con respecto a los frutos control respectivamente. Sin embargo, la mayor reducción se obtuvo al aplicar 1-MCP + JaMe 0.01 mM reduciéndose la incidencia de los daños por frío con respecto a las bananas control hasta un 22,93 %. De forma similar, la combinación de tratamientos redujo de forma significativa ($p < 0,05$) la incidencia de pardeamientos en la piel de las bananas. Basándonos en los resultados, la menor salida de electrolitos estaría reflejando una mayor integridad de las membranas celulares debido a los tratamientos aplicados con 1-MCP y JaMe. Esta mayor integridad sería la responsable de la mayor firmeza de los frutos que a su vez estaría asociada a una menor incidencia de la evolución de los daños por frío. Esta relación ha sido observada también en otras variedades de banana tanto tras la aplicación de tratamientos con 1-MCP (Jiao et al., 2018) como tras aplicar JaMe en estas frutas (Elbagouri et al., 2020; Wang et al., 2021).

Conclusión

Los tratamientos aplicados fueron eficaces cuando se aplicaron por separado, sin embargo, al aplicarse de forma combinada, el impacto sobre la calidad fue superior, por

ello, la combinación de tratamientos basados en elicitores como el JaMe con tratamientos con 1-MCP podrían suponer una importante mejora sobre la calidad de las bananas especialmente si estas son almacenadas a bajas temperaturas.

Referencias

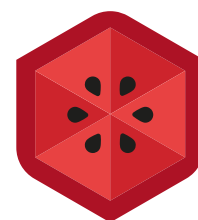
- Aghdam, M.S., Jannatizadeh, A., Luo, Z., Paliyath, G. (2018). Ensuring sufficient intracellular ATP supplying and friendly extracellular ATP signaling attenuates stresses, delays senescence, and maintains quality in horticultural crops during postharvest life. *Trends Food Sci. & Technol.* 76: 67-81.
- Elbagoury, M.M., Turoop, L., Runo, S., Sila, D.N. (2020). Regulatory influences of methyl jasmonate and calcium chloride on chilling injury of banana fruit during cold storage and ripening. *Food Sci. Nutr.* 20,9(2): 929-942.
- Golding, J.B., Shearer, D., Wyllie, S.G., McGlasson, W.B. (1998). Application of 1-MCP and propylene to identify ethylene-dependent ripening processes in mature banana fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 14: 87-98.
- Hao, J., Li, X., Xu, G., Huo, Y., Yang, Y. (2019). Exogenous progesterone treatment alleviates chilling injury in postharvest banana fruit associated with induction of alternative oxidase and antioxidant defense. *Food Chem.* 286: 329-337.
- Jiao, W., Xi, Y., Cao, J., Fan, X., Jiang, W. (2018). Regulatory effects of CaCl₂, sodium isoascorbate, and 1-methylcyclopropene on chilling injury of banana fruit at two ripening stages and the mechanisms involved. *J Food Process Preserv.* 42:e13442.
- Moradinezhad, F., M. Sedgley, A.J. Able. (2010). Effect of pre-ripening chilling temperatures on ripening, shelf life and quality of bananas treated with 1-methylcyclopropene. *Int. J. Food Sci. Technol.* 45(2):312–318.
- Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Serrano, M., Valero, D. (2011). Vapour treatments with methyl salicylate or methyl jasmonate alleviated chilling injury and enhanced antioxidant potential during postharvest storage of pomegranates. *Food Chem.* 124: 964-970.
- Serrano, M., Díaz-Mula, H. M., Zapata, P. J., Castillo, S., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Valverde, J. M., & Valero, D. (2009). Maturity Stage at Harvest Determines the Fruit Quality and Antioxidant Potential after Storage of Sweet Cherry Cultivars. *J.Agric. & Food Chem.* 57(8): 3240–3246.
- Sun D., Lu X., Hu Y., Li W., Hong K., Mo Y., Xie J. (2013). Methyl jasmonate induced defense responses increase resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4 in banana. *Sci. Hortic.* 164:484–491.
- Wang, S.Y., Shi, X.C., Liu, F.Q., Laborda, P. (2020). Effects of exogenous methyl jasmonate on quality and preservation of postharvest fruits: A review. *Food Chem.* 353:129-482.
- Watkins, C.B. (2006). The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables. *Biotechnol. Advances.* 24 (4): 389-409.

TABLAS

Tabla 1. Efecto del tratamiento postcosecha con JaMe y 1-MCP sobre la calidad de los plátanos durante el almacenamiento a 7°C durante 28 días más dos días de vida útil a 20 °C.

Parámetros	Control	1-MCP	JaMe 0.01 mM	JaMe 0.01 mM + 1-MCP
Pérdida de peso (%)	10,11 ± 0,69a	8,48 ± 0,45ab	8,44 ± 0,62ab	6,91 ± 0,84b
Firmeza (N mm⁻¹)	0,68 ± 0,01c	0,75 ± 0,01a	0,73 ± 0,02b	0,75 ± 0,01a
Color L*	49,57 ± 1,01c	59,32 ± 0,86ab	55,43 ± 0,92b	59,97 ± 0,87a
Ángulo Hue*	81,50 ± 0,87b	84,71 ± 0,70ab	84,56 ± 0,87ab	85,90 ± 0,56a
Sólidos solubles (%)	17,75 ± 0,20ab	18,08 ± 0,12a	17,08 ± 0,05c	17,25 ± 0,17bc
Acidez (%)	0,30 ± 0,014c	0,37 ± 6,31E ⁻³ a	0,33 ± 3,6E ⁻³ bc	0,35 ± 4,36E ⁻³ ab
Fuga de electrolitos (%)	26,60 ± 0,66a	22,96 ± 0,41b	23,90 ± 0,13b	20,52 ± 0,52c
Daño por frío (Escala 0-4)	3,19 ± 0,19a	2,44 ± 0,23b	2,66 ± 0,17ab	2,08 ± 0,12b

Los datos han sido expresados como la media ± SE. Para cada parámetro, diferentes letras dentro de la misma fila muestran diferencias significativas ($p < 0,05$)



POST
2022
ZARAGOZA



SESIÓN

3

Estrategias para reducir
las pérdidas postcosecha
por alteraciones fisiológicas,
patológicas y daños mecánicos

Efecto sobre la calidad y la incidencia de picado amargo de una fertirrigación con sulfato cálcico en manzana Golden delicious

F. Artés-Hernández, N. Castillejo, A. Riquelme, F. Artés*.

Grupo de Postrecolección y Refrigeración. Departamento de Ingeniería Agronómica–ETSIA e Instituto de Biotecnología Vegetal. Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT). Paseo Alfonso XIII, 48. 30203, Cartagena, Murcia, España.

*fr.artes@upct.es

Resumen

El picado amargo o “bitter pit” es una grave alteración fisiológica en manzana frecuentemente asociada a déficit de Ca durante la maduración. La forma convencional de aplicar Ca en fertirrigación es el nitrato cálcico [Ca(NO₃)₂ -NC-], pero por los problemas que ocasiona al contaminar suelos y acuíferos se estudia aplicarlo mediante sulfato cálcico natural micronizado (CaSO₄•2H₂O -SC-), que es sostenible y tiene otras ventajas frente al NC, como su menor coste. El objetivo del trabajo fue estudiar el efecto en manzana *Golden delicious* de un fertirriego con SC frente al realizado con NC, manteniendo igual el resto de fertilizantes, sobre la incidencia de picado amargo y los principales atributos de calidad (color, firmeza, sólidos solubles totales -SST-, pH y acidez titulable) en la recolección, tras 68 días a 1°C y tras 7 días adicionales a 20°C. El contenido de Ca en el fruto cosechado fue 36,8 y 32,8 mg Ca kg⁻¹ para NC y SC, respectivamente. El desarrollo de picado amargo tras la conservación fue menor del 3% sin diferencias entre tratamientos. La intensidad de color (Croma) aumentó un 13,7 y 13,1% en frutos bajo NC y SC respectivamente tras la frigoconservación y se duplicó tras la comercialización. La firmeza inicial fue de 43,2 y 41,1 N para frutos procedentes de NC y SC respectivamente y se preservó tras 68 días a 1°C. Los SST al cosechar fueron 15,3°Brix sin diferencias entre tratamientos. Como principal conclusión, al finalizar la vida comercial no hubo diferencias entre ambos tipos de fertirriego en la incidencia de picado amargo ni en los atributos de calidad del fruto, por lo que el SC podría sustituir ventajosamente al NC en una fertirrigación cálcica sostenible, sin aportar nitratos.

Palabras clave: abonado cálcico, postcosecha, conservación refrigerada, vida comercial.

INTRODUCCIÓN

La manzana es susceptible a daños en la postrecolección por deshidratación, alteraciones fúngicas y desórdenes fisiológicos, que llegan a impedir la aceptación por el consumidor. El picado amargo (“bitter pit” -BP-) constituye el principal problema fisiológico en el almacenamiento refrigerado de las manzanas a nivel mundial. La alteración se inicia en el árbol, pero se manifiesta principalmente en la frigoconservación. Está relacionada con la escasa asimilación de Ca y con su insuficiente acumulación en los frutos, apareciendo externamente como pequeñas depresiones de color verde intenso, que se transforman en depresiones separadas de 2 a 10 mm (según variedad), con zonas pardeadas, acorchadas, secas, esponjosas y amargas formando ligeras cavidades (Torres et

al., 2017a). También influyen en su desarrollo el contenido y la relación de otros nutrientes como B, Mg, N o K (De Freitas et al., 2015). Las “calciopatías” degradan la pulpa en zonas que contienen niveles más altos de Ca, Mg y K que los tejidos sanos, mayor actividad polifenoloxidasa y menor concentración de carbohidratos, sin conocerse tratamientos prácticos para prevenir o controlar su aparición (Val et al., 2011). La aplicación de Ca a las raíces durante el crecimiento del fruto podría minimizar el desarrollo de BP, pero el resultado en manzana Golden delicious no fue significativo (Torres et al., 2017b). El objetivo del presente trabajo ha sido evaluar el efecto de la fertilización con $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (SC) micronizado, aplicado en riego localizado por goteo, en comparación con el de la convencional a base de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (NC), sobre la calidad global de la manzana Golden delicious en la cosecha y durante la vida comercial, así como sobre el desarrollo de BP.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ensayos de campo se realizaron en la finca ubicada en el Polígono 87, Parcela 172, en la Cañada Tarragolla, en el T.M. de Caravaca de la Cruz, en la Región de Murcia. La fertirrigación con SC se llevó a cabo con Yescal 00, micronizado 80-120 μm , con 79% CaSO_4 y 21% H_2O , de Sulfato Cálcico del Mediterráneo S.L., mientras la de NC se hizo con Nova calcium 15,5-0-0 + 26,5 CaO de AICL. Los manzanos Golden delicious injertados sobre patrón M9, de unos 10 años, de los sectores fertirrigados con NC y con SC se recolectaron en el estado de madurez recomendado para largos periodos de almacenamiento, según el test del almidón (CTIFL, 1995). Se seleccionaron un total de 45 frutos de cada tratamiento y se conservaron en las cámaras frigoríficas del GPR en la Planta Piloto de Tecnología de Alimentos de la UPCT durante 68 días a 1°C y 95% humedad relativa -HR- (68d1C) seguido de una simulación del periodo de comercialización de 7 días a una temperatura de aproximadamente 20°C y 60 % HR (68d1C + 7d20C). La incidencia del BP se calculó como el porcentaje de frutos con dichos síntomas, empleando la siguiente gradación según el criterio de Torres et al. (2015): grado 0 (fruta sana), grado 1 (leve; entre 1 y 6 manchas en su epidermis), grado 2 (moderado; entre 7 y 15 manchas), grado 3 (severo; más de 15 manchas). Los principales atributos de calidad fueron realizados según la metodología descrita por Castillejo et al. (2022). El color de la epidermis se determinó por fotocolorimetría de reflexión sobre la piel de las manzanas con un equipo Minolta CR-400 en el espacio de color CIELAB. Los sólidos solubles totales (SST) por refractometría a temperatura ambiente y expresados en °Brix, pH con un pH-metro y la acidez titulable (AT) mediante un titulador automático y el resultado se expresó en g ácido cítrico 100 mL^{-1} . La firmeza se determinó con una prensa universal Ibertest a temperatura ambiente con un cilindro de 8 mm de diámetro y una superficie de 2,01 cm^2 que comprimió el fruto 5 mm a una velocidad de contacto de 10 mm s^{-1} y los resultados se expresaron en Newton (N). El diseño estadístico del experimento fue bifactorial (fertirriego y tiempo) sometiéndose a un análisis de varianza (ANOVA) usando el Statgraphics Plus software (vs. 5.1, Statpoint Technologies Inc, Warrenton, USA). La significación estadística se evaluó a nivel $P \leq 0,05$ y se usó test de rango múltiple de Tukey para comparar medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los tratamientos de fertirriego estudiados no indujeron diferencias significativas en el índice de severidad de BP, llegando a niveles máximos de 0,1 en los frutos SC (Figura

1). El contenido de Ca en el momento de la recolección fue ligeramente bajo ($36,8 \text{ mg kg}^{-1}$ en frutos fertirrigados con NC y de $32,8 \text{ mg kg}^{-1}$ con SC) y tras la aparición del BP durante la frigoconservación se observó un menor contenido de Ca en los frutos que presentaban dicha alteración. Torres et al. (2017b) reportaron que concentraciones de Ca superiores a $50\text{-}60 \text{ mg kg}^{-1}$ se acompañan con una baja incidencia del BP, sin embargo, depende también del cultivar y/o del año de cultivo. Tras 68d1C y tras la aparición del BP en algunos frutos, el contenido de Ca total en los frutos sanos fertirrigados con SC fue de $49,5 \text{ mg kg}^{-1}$ mientras en los que tenían síntomas de BP fue de $34,9 \text{ mg kg}^{-1}$. Esto no ocurrió en los frutos fertirrigados con NC. El porcentaje de frutos afectados por BP en la recolección fue menor del 3% en ambos tratamientos de fertirriego, alcanzando valores máximos del 30% tras 68d1C + 7d20C (Figura 2). En la Tabla 1 se observan los principales parámetros de calidad durante la conservación de la manzana. La firmeza inicial de los frutos fue $47,2 \pm 0,5$ y $48,0 \pm 0,5 \text{ N}$ bajo SC y NC respectivamente y no se observaron diferencias significativas durante su almacenamiento, pero se observó una disminución tras la comercialización. El índice Croma es un indicador de la evolución de la maduración y, como cabía esperar, tras 68d1C se observó un aumento del 14 y 13 % en los frutos bajo NC y SC respectivamente con respecto al día inicial, siendo aún mayor (24 y 21%, respectivamente) tras 68d1C + 7d20C. Esto se vio correlacionado con los valores de pH, AT y SST que aumentaron ligeramente tras 68d1C y tras 68d1C + 7d20C.

CONCLUSIONES

La fertirrigación con CaSO_4 micronizado en manzana Golden delicious, puede reemplazar a la convencional aportación de Ca mediante $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ sin diferencias relevantes en la calidad global de los frutos ni, en particular, en la aparición del picado amargo. A la ventaja de ser un producto sostenible en la fertilización cálcica, apto para cultivo ecológico, se le suma su menor precio.

AGRADECIMIENTOS

A Sulfato Cálcico del Mediterráneo S.L., por la financiación del desarrollo de las experiencias mediante los contratos de investigación con la UPCT Ref. 5279/18IAEA y 6106/19IA. Se agradece a D. Pedro Juan Torres Martínez su aportación desinteresada de las parcelas de cultivo y la colaboración en los ensayos de campo.

REFERENCIAS

- Castillejo, N., Martínez-Zamora, L. and Artés-Hernández, F. (2022). Postharvest UV radiation enhanced biosynthesis of flavonoids and carotenes in bell peppers. *Postharvest Biology and Technology* 184: 111774.
- Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes (1995). Escala de regresión del almidón para manzana Golden Delicious y otras variedades con decoloración de tipo radial (EC-Eurofru). *Official Journal of the European Union*.

- De Freitas, S.T., Do Amarante, C.V.T. and Mitcham, E.J. (2015). Mechanisms regulating apple cultivar susceptibility to bitter pit. *Scientia Horticulturae* 186: 54-60.
- Torres, E., Recasens, I., Ávila, G., Lordan, J. and Alegre, S. (2017a). Early stage fruit analysis to detect a high risk of bitter pit in 'Golden smoothie'. *Scientia Horticulturae* 219: 98-106.
- Torres, E., Recasens, I., Lordan, J. and Alegre, S. (2017b). Combination of strategies to supply calcium and reduce bitter pit in 'Golden delicious' apples. *Scientia Horticulturae* 217: 179-188.
- Torres, E., Recasens, I., Peris, J.M. and Alegre, S. (2015). Induction of symptoms pre-harvest using the 'passive method': An easy way to predict bitter pit. *Postharvest Biology and Technology* 101: 66-72.
- Val, J., Blanco, A. y Fernández, V. (2011). Avances en el control del Bitter Pit. Disponible en http://digital.csic.es/bitstream/10261/40128/1/ValJ_VidaRural_2011 Acceso el 19/05/2022

TABLAS Y FIGURAS

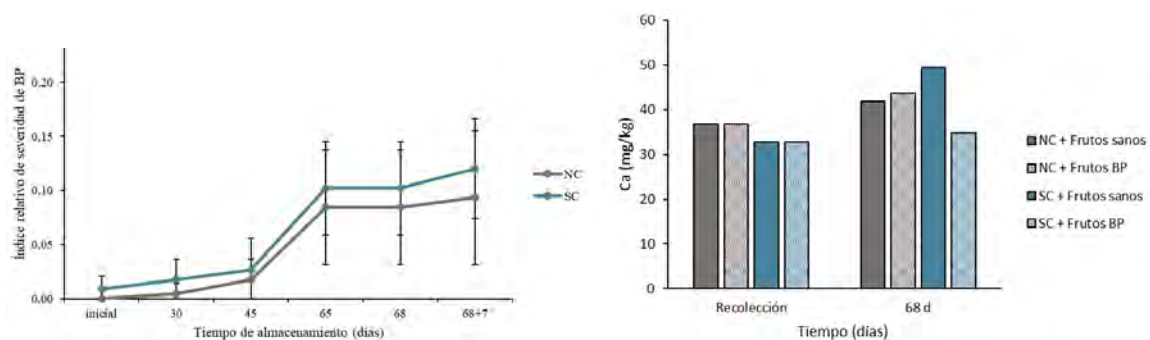


Figura 1. Índice de severidad del picado amargo (Bitter pit -BP-) y contenido de calcio en manzana Golden delicious inicial, tras una conservación de 68 días a 1°C y 95% HR y una comercialización de 7 días a 20°C y 62% HR.

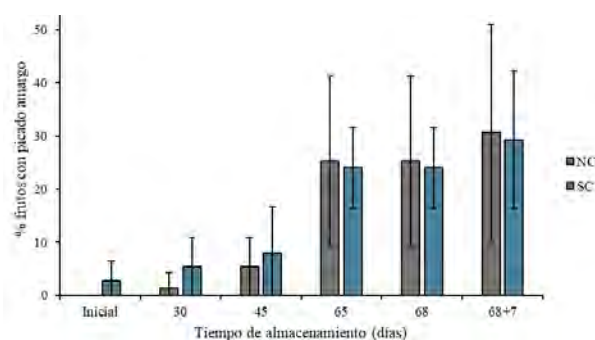


Figura 2. Porcentaje de frutos con Bitter pit (BP) en manzana Golden delicious inicial, tras una conservación de 68 días a 0/1°C y 95% HR y una comercialización de 7 días a 20°C y 62% HR.

Tabla 1. Porcentaje de frutos con Bitter pit (BP) en manzana Golden delicious inicial, tras una conservación de 68 días a 1°C y 95% HR y una comercialización de 7 días 20°C y 62% HR.

	Conservación	NC	SC
Croma	Inicial	43,2±2,6 ^{Aa}	41,1±2,9 ^{Aa}
	68d1C	37,7±5,2 ^{Aa}	38,9±2,8 ^{Aa}
	68d1C + 7d20C	33,6±1,2 ^{Ab}	32,1±1,3 ^{Aa}
Firmeza (N)	Inicial	47,2±0,5 ^{Ac}	48,0±0,5 ^{Ac}
	68d1C	53,7±0,8 ^{Ab}	54,3±0,9 ^{Ab}
	68d1C + 7d20C	58,3±0,6 ^{Aa}	58,2±0,6 ^{Aa}
SST	Inicial	15,3±0,8 ^{Ab}	15,3±0,1 ^{Ac}
	68d1C	16,2±1,1 ^{Aab}	17,8±0,3 ^{Aa}
	68d1C + 7d20C	17,7±0,4 ^{Aa}	16,1±0,4 ^{Bb}
pH	Inicial	3,42±0,03 ^{Ab}	3,42±0,05 ^{Ab}
	68d1C	3,67±0,04 ^{Aa}	3,74±0,04 ^{Aa}
	68d1C + 7d20C	3,72±0,07 ^{Aa}	3,74±0,05 ^{Aa}
AT	Inicial	0,68±0,03 ^{Aa}	0,74±0,08 ^{Aa}
	68d1C	0,69±0,14 ^{Aa}	0,67±0,09 ^{Aa}
	68d1C + 7d20C	0,60±0,10 ^{Aa}	0,67±0,07 ^{Aa}

Susceptibilidad a patologías postcosecha y su relación con la anatomía de la cutícula en una colección de variedades locales de melocotón

CM. Cantin^{1,2,3*}, J Val^{1,3}, MA Moreno^{1,3}, D Laya⁴, J Barriuso^{5,3}

¹Estación Experimental de Aula Dei-CSIC, Avda. Montañana 1005, 50059, Zaragoza

²Unidad de Hortofruticultura, CITA, Avda. Montañana 930, 50059, Zaragoza

³Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Zaragoza.

⁴Centro de Transferencia Agroalimentaria. Departamento de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente. Gobierno de Aragón

⁵Departamento de Ciencias Agrarias y del Medio Natural, Universidad de Zaragoza

*E-mail: cmcantin@eead.csic.es

Resumen

La podredumbre parda, causada por el hongo *Monilinia* spp., es actualmente la enfermedad que mayores pérdidas ocasiona en fruta de hueso. Actualmente *M. fructicola* y *M. laxa* son las especies con mayor incidencia en España, y *M. fructicola* se ha convertido en la especie dominante en el Valle del Ebro. Por otro lado, en los últimos años, se han intensificado los daños producidos por la ‘mancha corchosa’, una fisiopatía que provoca un pardeamiento tanto externo como interno del fruto. La cutícula del fruto es la primera barrera de protección frente a las agresiones externas, por lo que puede tener un papel clave en la susceptibilidad a estas fisiopatías.

En este trabajo se ha estudiado la susceptibilidad de los frutos a la incidencia de mancha corchosa, así como a la infección *Monilinia fructicola* (G. Winter) Honey en 71 cultivares locales de melocotón (*Prunus persica* L., Batsch) de la Colección Nacional de Referencia de melocotonero existente en CITA de Aragón (Zaragoza). Además, se ha estudiado la relación de la morfología de la cutícula con la susceptibilidad a estas patologías.

Los resultados han mostrado una amplia variabilidad en la susceptibilidad tanto a la infección por *M. fructicola* como a la ‘mancha corchosa’ entre las variedades de melocotón estudiadas, lo que abre las puertas a la selección de material menos susceptible para su uso en mejora, así como la búsqueda de zonas genómicas que influyan en el control de la tolerancia a estas patologías. Por otro lado, la cutícula del fruto ha mostrado una influencia clara sobre la incidencia de estos desórdenes, lo que señala su papel clave en la resistencia natural del melocotón frente a patologías postcosecha.

Palabras clave: Monilia, mancha corchosa, germoplasma, calidad de fruto, resistencia

INTRODUCCIÓN

La podredumbre parda, causada por *Monilinia* spp. es una de las enfermedades económicamente más importantes en frutas de hueso. En España, *M. laxa* y *M. fructicola* han sido los patógenos más recurrentes desde la desaparición de *M. fructigena* de España

en 2010. *M. fructicola* es actualmente la especie predominante en el Valle del Ebro. Se estima que la infección por podredumbre parda puede causar la pérdida de más del 60% de la cosecha (Villarino et al., 2016), lo que representa enormes pérdidas económicas para los productores.

Por otro lado, en los últimos años se ha observado un aumento de la incidencia de la ‘mancha corchosa’ (Fig. 1), una fisiopatía de la que se tiene muy poca información, y que se caracteriza por la aparición de unas manchas marrones tanto en piel como en pulpa, acompañadas por un tejido de aspecto corchoso. La incidencia de esta fisiopatía es muy elevada en algunas variedades de melocotón amarillo tardío muy cultivados en la zona del Valle del Ebro.

La tolerancia o la susceptibilidad reducida es la estrategia más segura y sostenible para el medio ambiente para reducir la incidencia de las fisiopatías postcosecha y las infecciones fúngicas en frutales. En el caso de podredumbre parda, se ha observado cierto grado de tolerancia frente a *Monilinia* spp. en la variedad local brasileña ‘Bolinha’, así como en algunas selecciones avanzadas (Martínez-García et al., 2013). En el caso de la ‘mancha corchosa’ hay una clara influencia de la variedad, puesto que los daños se observan de forma mucho más intensa en un pequeño grupo de variedades de melocotón amarillo tardío.

Sin embargo, ni los mecanismos de tolerancia a la podredumbre parda ni a la ‘mancha corchosa’ están claros. En el caso de la ‘mancha corchosa’, no existen estudios previos. En el caso de la podredumbre parda, estudios previos han relacionado los altos niveles de fenoles y la actividad de la enzima polifenol oxidasa, así como cutículas más gruesas con una menor susceptibilidad a *Monilinia* spp. (Gradziel et al., 2003; Villarino et al., 2013).

MATERIAL Y MÉTODOS

Las evaluaciones se llevaron a cabo durante tres campañas (2019-2021) utilizando 71 cultivares españoles (2 árboles por cultivar) de la colección nacional de melocotonero del CITA (Zaragoza). Los árboles se plantaron en 2010, injertados sobre el híbrido melocotón x almendro ‘Garnem’.

Los frutos fueron cosechados en madurez comercial. La susceptibilidad del fruto a la infección por *Monilinia fructicola* (Winter) Honey se evaluó mediante inoculación controlada. La cepa utilizada en este estudio (CPMC3) fue proporcionada por el grupo de Patología Postcollita del IRTA (Lleida, Cataluña, España). Para las inoculaciones se usaron veinte frutos sin defectos de cada árbol y madurez similar. La inoculación sin herida se realizó siguiendo el protocolo de Martínez-García et al. (2013). Los diámetros de las lesiones (mm) se registraron 5 días después de la inoculación y tras incubación a 20 °C en oscuridad y alta humedad (100%). Para cada variedad se calculó el índice de severidad de la enfermedad (DSI) siguiendo el protocolo de Fu et al., (2021) con modificaciones, y se promedió para los dos árboles por variedad.

Para la evaluación de la susceptibilidad al desarrollo de ‘mancha corchosa’, se puso a punto un protocolo de inducción mediante la incubación de la fruta en vacío en una solución 0.05M de MgCl₂. Tras 14 días de conservación a 0.5°C, la incidencia de mancha corchosa se evaluó en cada fruto mediante una escala visual categórica del 1 al 4 (0, fruto sano; 3, >30% superficie del fruto afectada). Esta evaluación se llevó a cabo durante 2 campañas (2020 y 2021).

Para las evaluaciones de la cutícula, se seleccionaron 3 frutos sin defectos por árbol y se cortaron 5 discos epidérmicos de 13 mm de diámetro de cada fruto con un sacacorchos. Para el análisis anatómico (grosor y densidad), las cutículas se aislaron enzimáticamente mediante incubación en tampón de pectinasa y celulasa (Belge et al., 2014). Las cutículas aisladas se secaron a temperatura ambiente y luego se evaluaron gravimétricamente para calcular la densidad. Para la observación de cutículas, se fijaron, deshidrataron e incluyeron en parafina siguiendo la metodología de Alcaraz et al. (2013). Las secciones transversales se cortaron con un micrótomo, se tiñeron con diferentes tinciones y se examinaron con microscopía óptica. Para medir el grosor de la cutícula a partir de micrografías se utilizó el software gratuito ImageJ (versión 1.47r).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados mostraron una variabilidad significativa en la susceptibilidad a la infección por *M. fructicola* entre las variedades de melocotonero españolas estudiadas (Fig. 2), mientras que no se observaron diferencias significativas entre distintas campañas. 'Rojo de Tudela' fue la variedad menos susceptible, junto con 'La Escola' y 'Gallur', mientras que 'Borracho de Jarque' mostró la mayor susceptibilidad, seguido de dos tipos de paraguayos. Cabe destacar que cuatro accesiones diferentes de 'Calabacero' se encontraron entre los diez cultivares más susceptibles de la colección. Los DSI obtenidos en este trabajo están en el rango de otros trabajos que trabajan con inoculación sin herida y protocolos similares (Baró-Montel et al., 2019; Martínez-García et al., 2013).

La densidad de la cutícula del fruto osciló entre 12,2 y 55,1 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ (Fig. 3), lo que demostró la alta variabilidad existente en el grosor de la cutícula entre diferentes variedades. La densidad de cutícula se situó en el rango de los datos previos obtenidos por Belge et al. (2014) para las variedades 'October Sun' y 'Jesca' (16 y 17 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$, respectivamente), aunque algunas de las variedades de nuestro trabajo mostraron densidades dos veces mayores. Por otro lado, observamos que la densidad de la cutícula fue constante a lo largo de las diferentes campañas, lo que apunta hacia un alto control genético de este carácter.

El grosor de la cutícula también mostró una variabilidad considerable entre las variedades estudiadas (Fig. 4). Las cutículas más delgadas se observaron en dos clones de la variedad 'Pomar', con cutículas de aprox. 6 μm . Por su parte, 'Sudanell' exhibió la cutícula más gruesa, con un promedio de 13,01 μm .

La susceptibilidad al desarrollo de 'mancha corchosa' tras la aplicación de un protocolo de inducción mediante incubación en una solución de MgCl_2 , también resultó variable entre las variedades analizadas (Fig. 5). Las variedades más susceptibles fueron los paraguayos 'Niqui', 'Almudi', y 'Jota', así como la variedad 'Jerónimo', 'Villamayor', 'Deja-3' y 'Sudanell'. Entre las variedades menos susceptibles se encontraron 'Calabacero Deleite', 'Calabacero Candelo' y 'Jerónimo Paraíso'.

El grosor y la densidad de la cutícula mostraron una correlación positiva significativa ($r = 0,624$, $p < 0,01$). La susceptibilidad a la inducción de 'mancha corchosa' no mostró una correlación significativa con la densidad y el grosor de cutícula. Sin embargo, la susceptibilidad a la infección por podredumbre parda mostró una correlación negativa significativa tanto con la densidad de la cutícula ($r = -0,293$, $p < 0,01$) como con el grosor de la cutícula ($r = -0,398$, $p < 0,01$), lo que indica que los frutos con cutículas menos densas y más delgadas muestran una mayor susceptibilidad a la infección. Estos resultados indican el efecto protector de la anatomía de la cutícula de la fruta sobre la infección del melocotón por *M. fructicola*, de forma similar a lo reportado en estudios

previos (Baró-Montel et al., 2019; Fu et al., 2018). Sin embargo, también indica que hay otros factores que hacen que la tolerancia a la podredumbre parda sea un carácter complejo controlado por múltiples factores, como lo han demostrado recientemente los muchos genes candidatos identificados asociados con este rasgo (Fu et al., 2021).

CONCLUSIONES

Este estudio demuestra que existe una variabilidad natural significativa en la susceptibilidad a la podredumbre parda causada por *M. fructicola*, así como en la susceptibilidad al desarrollo de ‘mancha corchosa’ en el germoplasma de melocotonero español. Asimismo, el análisis de la anatomía de la cutícula del fruto y su relación con la tolerancia a la podredumbre parda, señala claramente a la cutícula como primera barrera contra la infección, mientras que parece no ser un factor clave que afecte al desarrollo de ‘mancha corchosa’. Se necesita seguir profundizando en la comprensión de las bases fisiológicas que están bajo la fisiopatía de la mancha corchosa, así como de los mecanismos subyacentes a la acción de la cutícula frente a la infección por *Monilia* spp.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se enmarca en el proyecto RTI-2018-094176-R-C31/C32/C33, financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y por “ERDF A way of making EUROPE”. Los autores agradecen al Dr. J. M. Alonso, responsable del banco de germoplasma de melocotón del CITA, y al grupo de Patología Postcosecha del IRTA por proporcionar la cepa de *M. fructicola*.

REFERENCIAS

- Alcaraz, M. L., Hormaza, J. I., & Rodrigo, J. (2013). Pistil starch reserves at anthesis correlate with final flower fate in avocado (*Persea americana*). PLoS ONE, 8(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078467>
- Baró-Montel, N., Eduardo, I., Usall, J., Casals, C., Arús, P., Teixidó, N., & Torres, R. (2019). Exploring sources of resistance to brown rot in an interspecific almond × peach population. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(8). <https://doi.org/10.1002/jsfa.9640>
- Belge, B., Llovera, M., Comabella, E., Graell, J., & Lara, I. (2014). Fruit cuticle composition of a melting and a non-melting peach cultivar. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(15). <https://doi.org/10.1021/jf5003528>
- Fu, W., da Silva Linge, C., & Gasic, K. (2021). Genome-wide association study of brown rot (*Monilinia* spp.) tolerance in peach. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.635914>
- Gradziel, T. M., Bostock, R. M., & Adaskaveg, J. E. (2003). Resistance to brown rot disease in peach is determined by multiple structural and biochemical components. *Acta Horticulturae*, 622. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.622.34>
- Martínez-García, P. J., Parfitt, D. E., Bostock, R. M., Fresnedo-Ramírez, J., Vazquez-Lobo, A., Ogundiwin, E. A., Gradziel, T. M., & Crisosto, C. H. (2013). Application of genomic and quantitative genetic tools to identify candidate resistance genes for brown rot resistance in peach. PLoS ONE, 8(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078634>
- Villarino, M., Melgarejo, P., & de Cal, A. (2016). Growth and aggressiveness factors affecting *Monilinia* spp. survival peaches. *International Journal of Food Microbiology*, 227, 6–12. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.01.023>

FIGURAS



Fig. 1. Aspecto externo e interno de mancha corchosa en melocotón amarillo tardío.

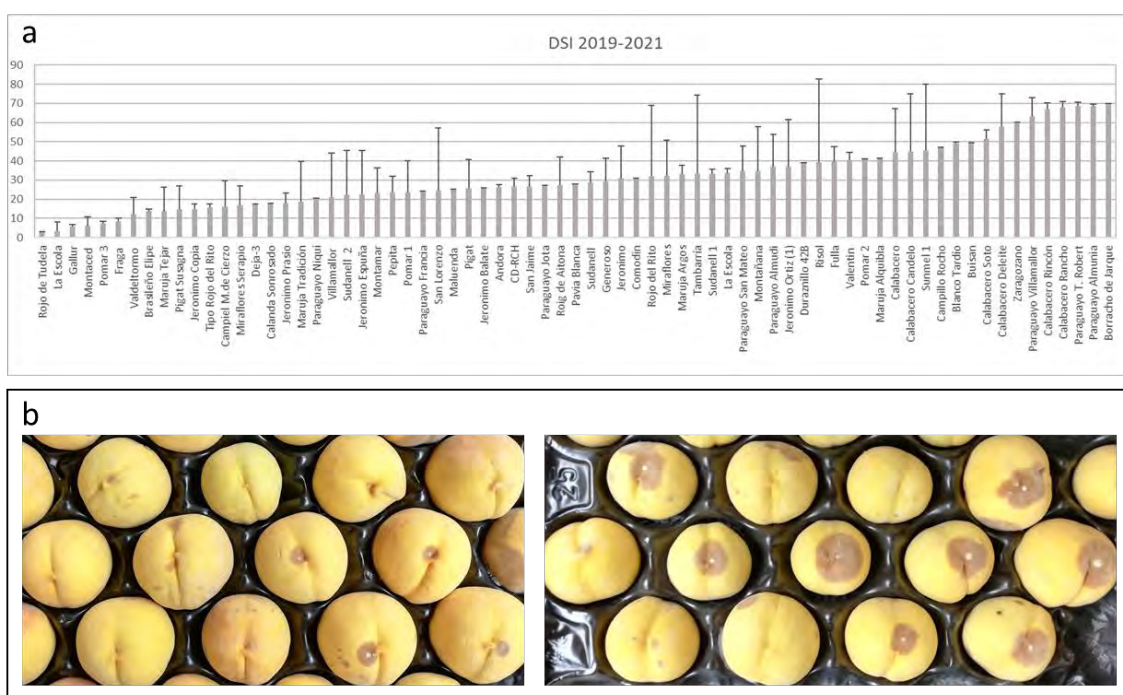


Fig. 2. Figura 1. a) Índice de severidad de podredumbre parda (DSI) observado en frutos sin herida de variedades de la Colección Nacional de melocotonero del CITA durante tres campañas (2019-2021) (media y DS). b) Reacción a la inoculación por *M. fructicola* en variedades de baja (izquierda) y media (derecha) susceptibilidad tras 5 días de incubación a 20°C y 100% de humedad relativa.

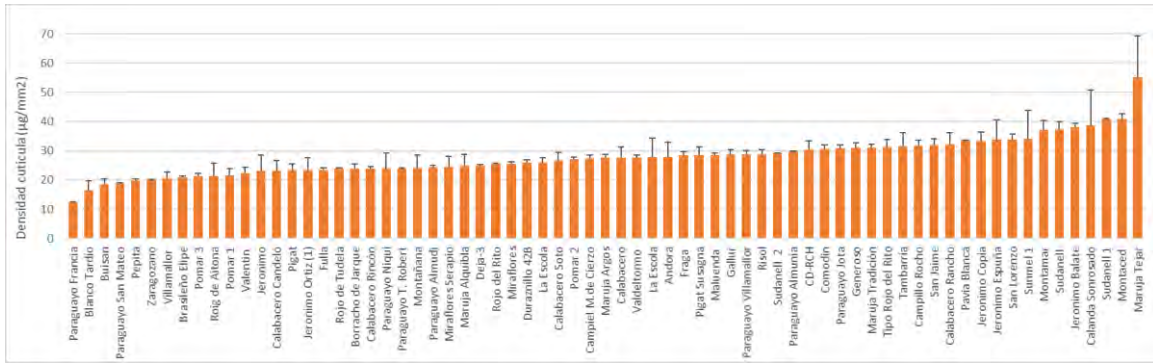


Fig. 3. Densidad de cutícula ($\mu\text{g}/\text{mm}^2$) en el fruto de las variedades españolas de la colección Nacional de melocotonero del CITA durante tres campañas (2019-2021) (media y DS).

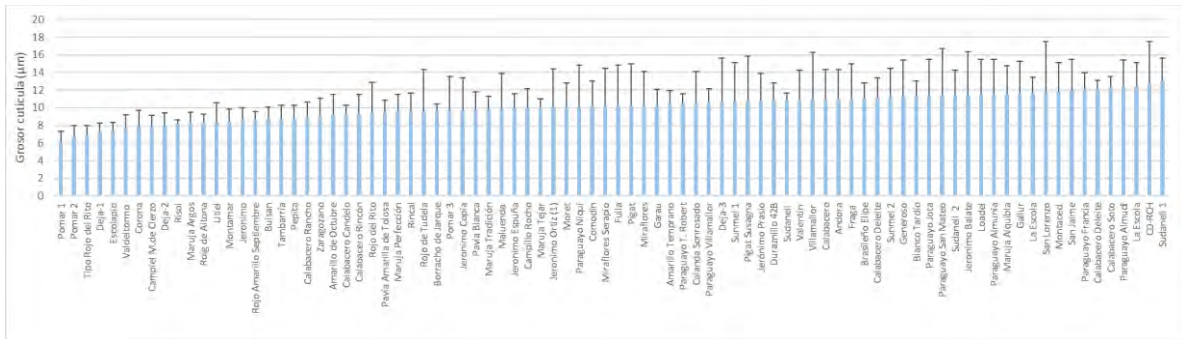


Fig. 4. Grosor de cutícula (μm) del fruto de las variedades españolas de la colección Nacional de melocotonero del CITA durante tres campañas (2019-2021) (media y DS).

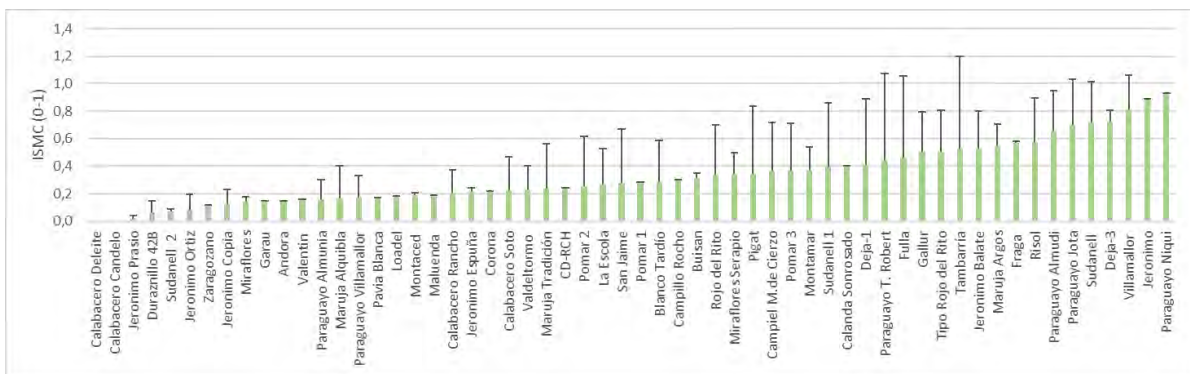


Fig. 5. Índice de susceptibilidad a la ‘mancha corchosa’ (ISMC; 0-1) en los frutos de las variedades españolas de la colección Nacional de melocotonero del CITA durante dos campañas (2020-2021) (media y DS).

Agentes de biocontrol y bioestimulantes como alternativa al uso de fungicidas de síntesis química en el cultivo de cerezo

A.P. Gracia, E. Arias y M.E. Venturini

Grupo de Investigación Alimentos de Origen Vegetal. Instituto Agroalimentario de Aragón– IA2 -(Universidad de Zaragoza-CITA), Miguel Servet, 177. 50013, Zaragoza.
E-mail: ugeventu@unizar.es

RESUMEN

Los fungicidas precosecha como el tebuconazol y fluopiram tienen acción preventiva y curativa ya que actúan como erradicantes, destruyendo el micelio del hongo antes y después de la aparición de signos visibles de la enfermedad. Pese a sus ventajas, urge la búsqueda de métodos alternativos a su uso para evitar pérdidas tanto en cosecha como en postcosecha, ya que están incluidos en la lista comunitaria de sustancias activas candidatas a su sustitución del Reglamento (CE) 1107/2009. Para ello se evaluó la capacidad de dos agentes de biocontrol (*Bacillus velezensis* BUZ-14, Amylo-x WG®) y un prototipo de bioestimulante (Induc-23) sobre el control de la podredumbre marrón durante el cultivo y la conservación postcosecha de cereza. Durante el cultivo se aplicaron 5 tratamientos coincidiendo con las fenologías del cultivo más susceptibles a la infección. En postcosecha se planteó un estudio de vida útil durante 10 días en refrigeración a 1 °C (T10F0) y un posterior periodo de simulación de la comercialización de 2 días a 20 °C (T10F2). Se analizó la presencia de podredumbres y la calidad comercial del fruto en T10F0 y en T10F2. Como control en precosecha, se aplicó el fungicida Luna Experience® y al comienzo del estudio de conservación, todos los lotes fueron higienizados con una solución de hipoclorito sódico (100 ppm) a 4 °C.

En el momento de la recolección (T0), la firmeza de los frutos tratados con los tratamientos alternativos fue significativamente superior a la de los frutos tratados con el fungicida de síntesis, destacando el alto contenido de sólidos solubles totales de los tratamientos que incorporaban Induc-23, manteniendo la firmeza elevada. En T10F0 el lote de cerezas tratadas con Luna Experience®, presentó una mayor incidencia de podredumbres (16,0%). En ninguno de los lotes alternativos se superó el 3,5%. Del mismo modo, en T10F2, el lote Luna Experience® presentó una incidencia de podredumbres más elevada que el resto de tratamientos (33,1 %), destacando la baja incidencia del lote Amylo-x WG®+Induc-23 (5,6 %). Respecto a la calidad de los frutos destacó la mayor firmeza en los tratados con las alternativas a Luna Experience®.

Palabras clave: *B. velezensis*, *M. fructicola*, *M. laxa*, control biológico.

INTRODUCCIÓN

La cereza dulce (*Prunus avium*) es una fruta perecedera muy susceptible al ataque de hongos fitopatógenos durante su cultivo y almacenamiento. Los principales agentes responsables de estos daños son *Monillinia* spp y *Botrytis cinerea* y ocasionalmente *Alternaria alternata*, *Penicillium expansum* y *Rhizopus stolonifer* (Feliziani et al., 2013). Tradicionalmente, los tratamientos con fungicidas de síntesis química han sido el principal medio para el control de dichas enfermedades tanto en precosecha como en postcosecha, pero pese a sus ventajas, el uso de estos productos cada vez es más restringido y muchos de ellos están incluidos en la lista comunitaria de sustancias activas candidatas a su sustitución del Reglamento (CE) 1107/2009, como es el caso de tebuconazol y fluopiram utilizados en precosecha. Por ello, es necesario encontrar tratamientos alternativos que, además de ser capaces de combatir las enfermedades

causadas por hongos fitopatógenos, presenten otros beneficios en comparación con los fungicidas sintéticos, como un menor riesgo de desarrollo de resistencias, un coste menor de producción y una posible aplicación cercana a la cosecha, además de reducir el impacto sobre el medioambiente y sobre la salud humana (Feliziani et al., 2013). Un ejemplo de estos métodos alternativos es el uso de microorganismos antagonistas, que tienen la capacidad de ejercer un efecto de control biológico sobre diferentes patógenos y pueden utilizarse para controlar enfermedades en frutas y hortalizas y/o el uso de bioestimulantes producidos a base de sustancias naturales que además permiten mejorar la eficiencia nutricional, la tolerancia al estrés abiótico y/o los atributos de calidad del cultivo (du Jardin, 2015).

El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad de dos agentes de biocontrol y un prototipo de bioestimulante en precosecha (*Bacillus velezensis* BUZ-14, Amylo-x WG® y el bioestimulante Induc-23) sobre el control de la podredumbre marrón causada por *Monillinia* spp. en el cultivo y durante la conservación postcosecha de la cereza.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

El presente estudio se llevó a cabo en una parcela de cerezos de la variedad Brooks, de 4,1 Ha de superficie, ubicada en la localidad de Albalate de Cinca (Huesca), 41°43'55.1"N 0°08'19.4"E.

Aplicación de los tratamientos precosecha en la parcela

De la superficie total de la parcela, se utilizaron 0,27 Ha para la aplicación de los cuatro tratamientos con sustancias alternativas. Los tratamientos aplicados fueron:

- *Bacillus velezensis* BUZ-14: Producto líquido formulado a base de la cepa BUZ-14. Cepa aislada por el Grupo de Investigación Alimentos de Origen Vegetal (GIAOVE) de la Universidad de Zaragoza. El producto se aplicó sin diluir, conteniendo 108 ufc ml⁻¹ a una dosis de 1000 L Ha⁻¹.
- Amylo-x WG® (CERTIS BV Europe. Elche, Alicante): basado en la cepa *Bacillus amyloliquefaciens* subs. *plantarum* D747 a una concentración de 25% y que contiene 10¹² ufc g⁻¹. La dosis utilizada fue de 2 Kg de granulado dispersable en 1000 L de agua Ha⁻¹.
- Bioestimulante Induc-23: se trata de un prototipo de bioestimulante de Grupo Ñesta (Novelda, Alicante), elaborado a base de extractos de plantas, vitaminas, minerales y aminoácidos que además de potenciar el rendimiento del cultivo, actúa como inductor de defensas de las plantas. Se aplicó a una dosis de 8 L Ha⁻¹ en combinación con cada uno de los agentes de biocontrol.

En el resto de la parcela se aplicó Luna Experience® (Bayer Hispania Crop Science S.L. Sant Joan Despí, Barcelona), fungicida de síntesis a base de tebuconazol y fluopiram a una dosis de 0,38 L Ha⁻¹ diluido en 1000 L de agua.

Mientras que los tratamientos alternativos se aplicaron con un pulverizador aplicador de fitosanitarios con batería (Matabi evolution 15 ltc), el tratamiento convencional de Luna Experience® se aplicó con la ayuda de una cuba de atomización siguiendo las directrices establecidas por el fabricante del fungicida de síntesis. Las fechas de aplicación de los tratamientos y el estado fenológico de la planta en el que se aplicaron se recogen en la tabla 1.

Recolección de los frutos y estudio de vida útil

Los frutos se recolectaron el 28 de mayo de 2021, se almacenaron en cajas de 5 Kg y se conservaron durante 10 días en refrigeración a 1 °C y 95 % de HR y un posterior

periodo de simulación de la comercialización de 2 días a 20 °C. Todos los lotes fueron higienizados con una solución de hipoclorito sódico (100 ppm) a 4 °C. Este tratamiento higienizante fue aplicado con un drencher.

Para evaluar la calidad comercial, se tomaron 150 frutos (3 réplicas de 50) de cada lote de tratamiento y se realizaron las siguientes determinaciones tanto en el momento de la recolección (T0), como trascurrido el tiempo de conservación en refrigeración (T10F0) y posterior periodo de simulación de la comercialización (T10F2). Para la evaluación de la incidencia de podredumbres se tomaron 750 frutos (3 réplicas de 250 frutos):

- Firmeza (unidades Durofel): mediante método no destructivo con un durómetro digital modelo AGROSTA 100 (Durofel DFT 100) usando una sonda de 8 mm
- Sólidos solubles totales: (°Brix) El contenido en sólidos solubles totales se determinó mediante refractometría con un equipo digital (KERN Optics, modelo ORF45BM), con un corrector automático de temperatura. Los resultados se expresan en ° Brix a 20°C.
- Acidez total (g ácido málico/Kg p.f.): El contenido total en ácidos orgánicos se determinó en zumos elaborados a partir de porciones de 25 cerezas, mediante valoración con una solución de NaOH 0,1N, con un equipo automático modelo CRISON Compact Titrator. Para ello 10 mL de zumo se mezclaron con 90 mL de agua destilada. El valor de la acidez se expresó como gramos de ácido málico/Kg p.f.
- Incidencia de podredumbres: se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{Incidencia (\%)} = (\text{n}^\circ \text{ frutos con podredumbre} / \text{n}^\circ \text{ total de frutos analizados}) * 100$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de los atributos de calidad de cerezas cv. Brooks durante el estudio de vida útil

En el momento de la cosecha (T0) todos los frutos correspondientes a los tratamientos alternativos presentaron una mayor firmeza que los del tratamiento convencional (63,1 unidades durofel), especialmente los frutos tratados con BUZ-14 (72,4 unidades durofel). Destacar también que los frutos de los lotes tratados con los ABCs + Induc-23, tuvieron una firmeza ligeramente inferior que las cerezas trazadas únicamente con los ABCs, pero con valores próximos a 70 unidades durofel. Si observamos todos los datos en conjunto, se detecta que esta menor firmeza en el lote con tratamiento convencional y en los lotes tratados con ABCs+Induc-23 está relacionada con un mayor contenido en sólidos solubles y una menor acidez lo que podría estar relacionado con una maduración más temprana (comparada con los árboles tratados solo con los ABCs) (ver tabla 2).

En la tabla 3, se puede observar como a lo largo del almacenamiento durante 10 días a 1 °C, la firmeza de los frutos no sufrió cambios significativos respecto al inicio de la conservación, excepto los tratados con Amylo-x WG[®], en los que se comprobó un descenso de las unidades Durofel de 70 a 64,3. Los frutos con mayor firmeza siguen siendo los tratados con las alternativas a Luna Experience[®], detectándose diferencias significativas entre los frutos de este lote y los tratados con *B. velezensis* BUZ-14, *B. velezensis* BUZ-14 + Induc – 23 y Amylo-x WG[®] + Induc – 23. Como generalmente ocurre tras periodos de conservación, el contenido de sólidos solubles totales aumentó en todos los tratamientos, y ya no se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos. Estas diferencias tampoco se detectaron en la acidez total, que se redujo desde el inicio de la conservación,

hecho que también se ha comprobado en distintas variedades de cereza (Guyer et al. 1993), en frambuesa roja (Haffner et al. 2002) y en dátiles (Bhatt y Jampala, 2020).

Tras los 2 días de almacenamiento a 20 °C (ver tabla 4), la firmeza de los frutos se ve sensiblemente reducida, excepto en los frutos tratados con *B. velezensis* BUZ-14 en campo. Pese a que la firmeza del fruto se mantuvo, se detectó que el contenido en sólidos solubles totales aumentó considerablemente a lo largo de los 2 días de simulación del periodo de la comercialización, hecho contrario al que reportó Gonçalves et al. (2020) en cerezas de la variedad Staccato tratadas con distintas combinaciones de bioestimulantes, y cuya firmeza era menor cuanto mayor era el contenido en sólidos solubles totales. Este hecho podría estar relacionado con la capacidad del agente de biocontrol para activar mecanismos de inhibición de la actividad de enzimas relacionados con la degradación de la pared celular o de la movilización de sustancias como el ácido salicílico, que actúa como elicitador y es capaz de ejercer dicha inhibición (Kazemi et al., 2011).

Efectividad de los tratamientos sobre el desarrollo de *Monillinia* spp. en conservación

En la tabla 4 se observa que, tras 10 días de almacenamiento en frío, el lote de cerezas tratadas con Luna Experience® en campo, presentó una mayor incidencia de podredumbres (16,0%). En ninguno de los lotes tratados con tratamientos alternativos se superó el 3,5% de infección, por lo que el control de la enfermedad fue muy similar para los 4 tipos de tratamiento ensayados, pero significativamente superior al observado en el lote de Luna Experience®. Del mismo modo que ocurría a la salida de frío, tras el periodo de simulación de la comercialización de 2 días a 20 °C, las cerezas tratadas con Luna Experience® en pre cosecha presentaron una incidencia de podredumbres mucho más elevada que la detectada en el resto de tratamientos (33,1 %). Destacar, en este caso, la baja incidencia observada en las cerezas del lote Amylo-x WG® + Induc-23 (5,6 %). Este mismo efecto de control de las podredumbres, lo observaron Madbouly et al. (2020) en manzana, Karabulut et al., 2004 en fresa o Bhatt & Jampala (2020) en dátiles.

CONCLUSIONES

El uso de los tratamientos precosecha alternativos al Luna Experience®, permitió obtener frutos con una mayor firmeza y que esta, no disminuyese significativamente durante la frigoconservación y tras el periodo de simulación de la comercialización. Asimismo, son capaces de controlar y reducir la incidencia de podredumbres hasta el fin de periodo de conservación.

REFERENCIAS

- Bhatt, K., & Jampala, S. S. M. (2020). Influence of pre-harvest foliar spray of fungal culture filtrates on post-harvest biology of date fruit harvested at Khalal stage. *Postharvest Biology and Technology*, 166, 111220.
- Feliziani, E., Santini, M., Landi, L., & Romanazzi, G. (2013). Pre- and postharvest treatment with alternatives to synthetic fungicides to control postharvest decay of sweet cherry. *Postharvest Biology and Technology*, 78, 133–138.
- du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196, 3–14.
- Guyer, D. E., Sinha, N. K., Chang, T. S., & Cash, J. N. (1993). Physicochemical and sensory characteristics of selected michigan sweet cherry (*Prunus-avium* L) cultivars. *Journal Of Food Quality*, 16(5), 355–370.
- Haffner, K., Rosenfeld, H. J., Skrede, G., & Wang, L. X. (2002). Quality of red raspberry *Rubus idaeus* L. cultivars after storage in controlled and normal atmospheres. *Postharvest Biology and Technology*, 24(3), 279–289.

Karabulut, O. A., Tezcan, H., Daus, A., Cohen, L., Wiess, B., & Droby, S. (2004). Control of preharvest and postharvest fruit rot in Strawberry by *Metschnikowia fructicola*. *Biocontrol Science and Technology*, 14(5), 513–521.

Kazemi, M., Aran, M., & Zamani, S. (2011). Effect of salicylic acid treatments on quality characteristics of apple fruits during storage. *American Journal of Plant Physiology*, 6(2), 113–119.

Madbouly, A. K., Abo Elyousr, K. A. M., & Ismail, I. M. (2020). Biocontrol of *Monilinia fructigena*, causal agent of brown rot of apple fruit, by using endophytic yeasts. *Biological Control*, 144.

TABLAS

Tabla 1. Fecha de aplicación y estado fenológico de la planta en el que se aplicaron los tratamientos alternativos y Luna Experience® en cerezos cv. Brooks

Tratamientos alternativos	Nº de aplicación	Fecha	Estado fenológico
	1	23.03.2021	D/E botón floral
	2	07.04.2021	G plena floración
	3	22.04.2021	I/J cuajado y crecimiento del fruto
	4	04.05.2021	J crecimiento de fruto (post-lluvias)
	5	13.05.2021	K fruto coloreado/próximo a recolección
Luna Experience®	Nº de aplicación	Fecha	Estado fenológico
	1	20.03.2021	D/E botón floral
	2	03.04.2021	G plena floración
	3	09.05.2021	K fruto coloreado/próximo a recolección

Tabla 2. Efecto de los tratamientos precosecha (Luna Experience® (tebuconazol 20 % + fluopiram 20 %, 0,38 L Ha⁻¹), *B. velezensis* BUZ-14 (10⁸ ufc mL⁻¹, 1000 L Ha⁻¹), *B. velezensis* BUZ-14 (10⁸ ufc mL⁻¹, 1000 L Ha⁻¹) + Induc-23 (8 L Ha⁻¹), Amylo-x WG® (10¹⁰ ufc g⁻¹, 2 Kg Ha⁻¹) y Amylo-x WG® (10¹⁰ ufc g⁻¹, 2 Kg Ha⁻¹) + Induc-23 (8 L Ha⁻¹)) sobre la firmeza (unidades durofel), sólidos solubles totales (° Brix), acidez total (mg ac. málico/kg p.f) e índice de madurez (IM = sólidos solubles totales / acidez total) de cerezas cv Brooks en el momento de la cosecha. Los resultados de la tabla corresponden a la media ± desviación estándar del análisis de 50 frutos. Valores seguidos de letras diferentes muestran diferencias significativas entre los distintos tratamientos (P < 0,05) de acuerdo al test de Duncan.

Tratamiento precosecha	Firmeza (unidades Durofel)	Sólidos solubles totales (°Brix)	Acidez total (mg ác. málico/kg p.f)	Índice de madurez
Luna Experience®	63,1 ± 6,6a	17,9 ± 0,3a	6,3 ± 0,3a	2,9
<i>B. velezensis</i> BUZ-14	72,5 ± 4,2c	14,2 ± 0,3b	8,6 ± 0,4b	1,7
<i>B. velezensis</i> BUZ-14 + induc-23	69,3 ± 4,8b	18,4 ± 0,7a	6,9 ± 0,4a	2,7
Amylo-x WG®	70,0 ± 3,7b	15,3 ± 0,3b	8,2 ± 0,7b	1,9
Amylo-x WG®+ Induc-23	67,98 ± 2,4b	18,1 ± 0,6a	6,8 ± 0,2a	2,7

Tabla 3. Incidencia de podredumbres (%) en cerezas cv Brooks tratadas con Luna Experience® (tebuconazol 20 % + fluopiram 20 %, 0,38 L Ha⁻¹), *B. velezensis* BUZ-14 (10⁸ ufc mL⁻¹, 1000 L Ha⁻¹), *B. velezensis* BUZ-14 (10⁸ ufc mL⁻¹, 1000 L Ha⁻¹) + Induc-23 (8 L Ha⁻¹), Amylo-x WG® (10¹⁰ ufc g⁻¹, 2 Kg Ha⁻¹) y Amylo-x WG® (10¹⁰ ufc g⁻¹, 2 Kg Ha⁻¹) + Induc-23 (8 L Ha⁻¹) tras 10 días de almacenamiento a 1 °C (T10) y 10 días de almacenamiento a 1°C + 2 días de almacenamiento a 20 °C (T10F2).

Tratamiento precosecha	Podredumbres (%) ¹	
	T10	T10F2
Luna Experience®	16,0±3,4a	33,1±5,6a
<i>B. velezensis</i> BUZ-14	3,5±0,8b	10,6±2,9b
<i>B. velezensis</i> BUZ-14 + Induc-23	2,5±b1,1	11,7±3,4b
Amylo-x WG®	3,5±b1,3	12,9±4,1b
Amylo-x WG® + Induc-23	2,5±0,3b	5,6±1,1c

Tabla 4. Efecto de los tratamientos precosecha (Luna Experience® (tebuconazol 20 % + fluopiram 20 %, 0,38 L Ha⁻¹), *B. velezensis* BUZ-14 (10⁸ ufc mL⁻¹, 1000 L Ha⁻¹), *B. velezensis* BUZ-14 (10⁸ ufc mL⁻¹, 1000 L Ha⁻¹) + Induc-23 (8 L Ha⁻¹), Amylo-x WG® (10¹⁰ ufc g⁻¹, 2 Kg Ha⁻¹) y Amylo-x WG® (10¹⁰ ufc g⁻¹, 2 Kg Ha⁻¹) + Induc-23 (8 L Ha⁻¹)) sobre la firmeza (unidades durofel), sólidos solubles totales (° Brix), acidez total (mg ac. málico/kg p.f) e índice de madurez (IM = sólidos solubles totales / acidez total) de cerezas cv Brooks tras 10 días de almacenamiento a 1 °C (T10). Los resultados de la tabla corresponden a la media ± desviación estándar del análisis de 50 frutos. Valores seguidos de letras diferentes muestran diferencias significativas entre los distintos tratamientos (P <0,05) de acuerdo al test de Duncan.

Tratamiento precosecha	Firmeza (Unidades Durofel)	Sólidos Solubles Totales (° BRIX)	Acidez total (g ác. málico/Kg.p.f)	Índice de madurez
Luna Experience®	62,7 ± 4,3a	18,8 ± 1,2a	5,7 ± 0,2a	3,3
<i>B. velezensis</i> BUZ-14	72,4 ± 4,8b	16,7 ± 0,7a	6,1 ± 0,1a	2,7
<i>B. velezensis</i> BUZ-14 + Induc-23	67,2 ± 2,4b	18,4 ± 0,5a	5,6 ± 0,1a	3,3
Amylo-x WG®	64,3 ± 3,3a	18,1 ± 0,9a	5,8 ± 0,1a	3,1
Amylo-x WG® + Induc-23	68,2 ± 4,2b	18,3 ± 2,1a	6,3 ± 0,1a	2,9

Tabla 5. Efecto de los tratamientos precosecha (Luna Experience® (tebuconazol 20 % + fluopiram 20 %, 0,38 L Ha⁻¹), *B. velezensis* BUZ-14 (10⁸ ufc mL⁻¹, 1000 L Ha⁻¹), *B. velezensis* BUZ-14 (10⁸ ufc mL⁻¹, 1000 L Ha⁻¹) + Induc-23 (8 L Ha⁻¹), Amylo-x WG® (10¹⁰ ufc g⁻¹, 2 Kg Ha⁻¹) y Amylo-x WG® (10¹⁰ ufc g⁻¹, 2 Kg Ha⁻¹) + Induc-23 (8 L Ha⁻¹)) sobre la firmeza (unidades durofel), sólidos solubles totales (° Brix), acidez total (mg ac. málico/kg p.f) e índice de madurez (IM = sólidos solubles totales / acidez total) de cerezas cv Brooks tras 10 días de almacenamiento a 1 °C + 2 días de almacenamiento a 20 °C (T10F2). Los resultados de la tabla corresponden a la media ± desviación estándar del análisis de 50 frutos. Valores seguidos de letras diferentes muestran diferencias significativas entre los distintos tratamientos (P <0,05) de acuerdo al test de Duncan.

Tratamiento precosecha	Firmeza (Unidades Durofel)	Sólidos Solubles Totales (° BRIX)	Acidez total (g ác. málico/Kg.p.f)	Índice de madurez
Luna Experience®	61,4 ± 7,2a	19,9 ± 0,7a	4,9 ± 0,2a	4,0
<i>B. velezensis</i> BUZ-14	71,3 ± 3,7b	21,3 ± 4,4a	6,0 ± 0,1a	3,6
<i>B. velezensis</i> BUZ-14 + Induc-23	65,9 ± 5,6a	19,1 ± 0,6a	5,4 ± 0,2a	3,5
Amylo-x WG®	60,6 ± 4,3a	18,6 ± 0,6a	5,1 ± 0,1a	3,6
Amylo-x WG® + Induc-23	63,8 ± 3,9a	19,0 ± 0,9a	5,8 ± 0,1a	3,3

Aceites esenciales y extractos naturales de plantas como ingredientes antifúngicos de recubrimientos comestibles a base de pectina para controlar la podredumbre verde y mantener la calidad poscosecha de naranjas 'Valencia'

M.V. Alvarez ¹, L. Palou ², V. Taberner ², R.F.L. Souza ², M.B. Pérez-Gago ²

¹ Grupo Investigación en Ingeniería en Alimentos, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Mar del Plata, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET, CCT Mar del Plata), Argentina.

² Centro de Tecnología Poscosecha (CTP), Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), 46113 Moncada, Valencia, España. e-mail: perez_mbe@gva.es

Resumen

Se han desarrollado nuevos recubrimientos comestibles antifúngicos a base de pectina y cera de abeja con aceites esenciales y extractos de plantas para reducir las pérdidas de poscosecha en naranjas 'Valencia'. En ensayos *in vitro*, los aceites esenciales de *Satureja montana*, *Cinnamomum zeylanicum* (CN), *Commiphora myrrha* (MY), eugenol (EU), geraniol (GE), y extractos de vainillina y propóleo fueron los más efectivos inhibiendo el crecimiento radial de *Penicillium digitatum* (inhibición de 90-100%). Estos agentes se incorporaron a los recubrimientos a concentraciones entre 0,2-2% (p/p) y se evaluó la actividad curativa en naranjas inoculadas artificialmente e incubadas durante 8 días a 20 °C. Posteriormente, se evaluó el efecto de los recubrimientos seleccionados en el control de la podredumbre verde y la calidad fisicoquímica y sensorial de la fruta durante 8 semanas de almacenamiento a 5 °C más 1 semana a 20 °C. Después de 8 días de incubación a 20 °C, los recubrimientos que contenían 0,2% GE, 0,8% EU o 1,5% MY redujeron la incidencia de la podredumbre verde entre 40-60%, mientras que el formulado con 0,8% CN fue el más efectivo reduciendo la severidad de la enfermedad. Los recubrimientos con 0,2% GE y 0,8% EU también redujeron la incidencia de la enfermedad en más del 50% a las 4 semanas en frío. Además, el recubrimiento con 0,8% EU fue el más efectivo reduciendo la pérdida de peso y proporcionó el mayor brillo a las naranjas recubiertas, lo que demuestra su potencial para reducir las pérdidas en poscosecha de cítricos.

Palabras clave: cítricos, *Penicillium digitatum*, control de enfermedades

INTRODUCCIÓN

La podredumbre verde, causada por *Penicillium digitatum* (PD), es una de las enfermedades de poscosecha más importantes a nivel mundial en cítricos, causando grandes pérdidas económicas. Además, las pérdidas de calidad durante poscosecha causadas por deshidratación y alteraciones fisiológicas como los daños por frío también dificultan la comercialización del fruto. Los recubrimientos comestibles (RCs) pueden reducir el deterioro al crear una barrera semipermeable a gases y vapor de agua, reduciendo así la respiración y la pérdida de peso. Además, pueden actuar como soporte de sustancias activas, como agentes antimicrobianos naturales, que permiten el control de enfermedades, alargando la vida útil del fruto. El uso de aceites esenciales (AEs) y extractos naturales

tienen actividad antimicrobiana frente a un amplio espectro de microorganismos y, como están clasificados como sustancias GRAS ('generally recognized as safe'), pueden utilizarse para fines alimentarios. Así, el objetivo de este trabajo fue desarrollar nuevos RCs con actividad antifúngica a base de pectina (PEC) con AEs y extractos naturales para controlar la podredumbre verde y mantener la calidad poscosecha de naranjas 'Valencia' durante frigoconservación.

MATERIAL Y MÉTODOS

En ensayos *in vitro* se evaluaron los AEs de ajedrea (SM; *Satureja montana* L.), canela (CN; *Cinnamomum zeylanicum*), lemongrass (LG; *Cymbopogon citratus*), eugenol (EU), geraniol (GE), mirra (MY; *Commiphora myrrha*), y los extractos secos de té verde (GT; *Camellia sinensis*), vainillina (VA) y propóleo (PRO). Para evaluar el crecimiento de PD frente a los AEs se utilizó la metodología de 'exposición a los componentes volátiles' descrito por Plaza et al. (2004); mientras que para los compuestos no volátiles se utilizó el método de 'dilución en medio agar' según Martínez-Blay et al. (2020). Los compuestos volátiles se aplicaron a las dosis de 10, 20 y 40 μL empapando discos de papel de filtro estériles colocados en la tapa de placas Petri con medio PDA inoculadas con PD (20 μL ; 10^6 esporas mL^{-1}). Los extractos secos y el AE de MY, que no mostró efectividad en la fase de vapor, se evaluaron incorporados al medio PDA a las concentraciones que se muestran en la Fig. 1. El crecimiento micelial a los 7 días de incubación a 25 °C se evaluó calculando la media de dos diámetros perpendiculares de la colonia fúngica. Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición respecto al control (placas inoculadas y sin sustancia activa). Los AEs y extractos más efectivos se incorporaron a concentraciones entre 0,2-2% (p/p) como ingredientes antifúngicos de un RC formulado a base de PEC (2%) y cera de abeja (0,7%). Todas las emulsiones contenían glicerol como plastificante y una mezcla de los ácidos grasos oleico y palmítico (1:1) como emulsificantes.

El estudio curativo *in vivo* de los RCs se realizó en naranjas 'Valencia' inoculadas con una suspensión de 10^6 esporas mL^{-1} de PD. Tras 24 h de incubación a 20 °C, los frutos fueron recubiertos manualmente y se incubaron a 20 °C y 90 % HR por 12 días. Durante este periodo, se determinaron la incidencia (% frutos infectados) y la severidad (diámetro de lesión, en mm) de la enfermedad. Posteriormente, los RCs con 0,8% CN, 0,8% EU, 0,2% GE y 1,5% MY fueron seleccionados para evaluar su actividad antifúngica durante 6 semanas de almacenamiento a 5 °C y 90 % HR. Además, se evaluó la calidad fisicoquímica (pérdida de peso, firmeza, índice de madurez, etanol y acetaldehído en zumo) y sensorial (calidad global, malos sabores, brillo) de la fruta tras 4 y 8 semanas de almacenamiento a 5 °C y 90 % HR más una semana de vida útil a 20 °C, siguiendo la metodología de Martínez-Blay et al. (2020). Todos los resultados se procesaron mediante análisis de varianza (ANOVA). Para la separación de medias se utilizó la prueba de la Mínima Diferencia Significativa de Fisher (MDS) al 95% de confianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los ensayos *in vitro*, SM y EU (a una dosis de 10 μL), CN y GN (a una dosis de 20 μL), VA (0,125%) y PRO (0,5%) fueron los agentes más efectivos para inhibir el crecimiento micelial de PD (90-100%). El AE de MY no mostró un efecto inhibitor cuando se ensayó por el método de exposición a los compuestos volátiles, mientras que incorporado

al medio agar mostró un efecto inhibidor moderado (Fig. 1). Los resultados muestran que la eficacia dependió de la dosis y de la composición de los AEs y los extractos ensayados. Normalmente, la actividad antifúngica de estos agentes se debe a un efecto combinado de los diferentes compuestos químicos presentes en los mismos (Kuorwel et al., 2011).

En los ensayos *in vivo* con fruta inoculada e incubada durante 8 días a 20 °C, los RCs formulados con 0,4% y 0,8% EU, 0,2% GE y 1,5% MY redujeron significativamente la incidencia de PD en más del 40%, mientras que se observó una reducción de la severidad de la enfermedad superior al 45% con 0,4% EU, 0,8% CN y todas las concentraciones ensayadas de GE (Fig. 2). Los RCs con 0,2% GE y 0,8% EU también redujeron la incidencia de la enfermedad en más del 50% a las 4 semanas en frío (Fig. 3). Sin embargo, al final del periodo de almacenamiento, no se observaron diferencias significativas con el control sin recubrir. En el caso de la severidad de la enfermedad, todos los RCs, excepto PEC-1,5% MY, inhibieron significativamente el crecimiento fúngico durante todo el periodo de almacenamiento en frío, con reducciones que alcanzaron el 40-50% después de 6 semanas. Estos resultados confirman que el efecto de estos agentes naturales es fungistático, tal y como se ha descrito en otros trabajos en cítricos en los que se han incorporado sales GRAS, AEs o extractos naturales a RCs (Martínez-Blay et al., 2020).

Al final del almacenamiento, la aplicación de los RCs con 0,8% UE o 1,5% MY redujeron significativamente la pérdida de peso respecto al control. El resto de parámetros de calidad fisicoquímica evaluados no se vieron modificados por la aplicación de los RCs, a excepción del contenido de etanol y acetaldehído, que fue mayor en naranjas recubiertas, mostrando la capacidad de los RCs para modificar la composición gaseosa interna de la fruta (datos no mostrados). Sin embargo, las propiedades sensoriales de las naranjas no se vieron afectadas negativamente por la aplicación de los RCs (datos no mostrados).

CONCLUSIONES

Entre los diferentes RCs evaluados, PEC-0,8% EU podría ser un tratamiento comercial prometedor para reducir la podredumbre verde y mantener la calidad poscosecha de los cítricos, proporcionando una alternativa segura a las ceras convencionales formuladas con fungicidas químicos de síntesis.

REFERENCIAS

- Kuorwel, K.K., Cran, M.J., Sonneveld, K., Miltz, J. and Bigger, S.W. (2011). Essential oils and their principal constituents as antimicrobial agents for synthetic packaging films. *J. Food Sci.* 76: R164–R177.
- Martínez-Blay, V., Pérez-Gago, M.B., de la Fuente, B., Carbó, R. and Palou, L. (2020). Edible coatings formulated with antifungal GRAS salts to control citrus anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* and preserve postharvest fruit quality. *Coatings* 10: 730.
- Plaza, P., Torres, R., Usall, J., Lamarca, N. and Viñas, I. (2004). Evaluation of the potential of commercial post-harvest application of essential oils to control citrus decay. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 79: 935–940.

FIGURAS

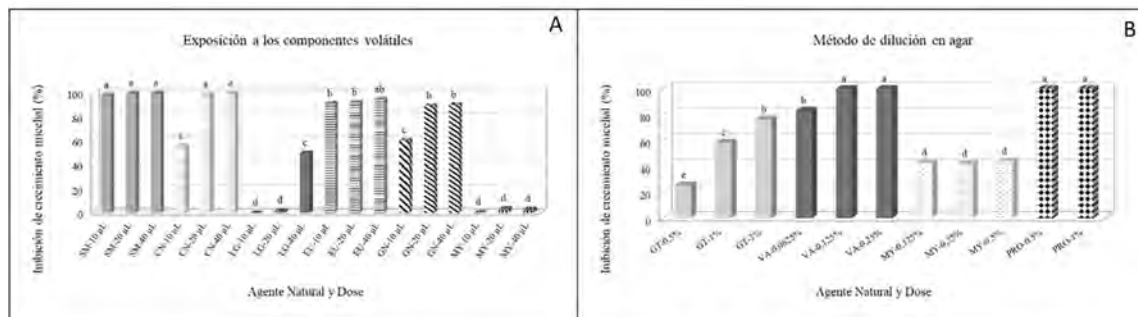


Fig. 1. Reducción del crecimiento micelial *in vitro* de *Penicillium digitatum* frente a compuestos volátiles (A) y extractos naturales (B) tras 7 días de incubación a 25 °C. Medias de tratamientos con letras diferentes son estadísticamente distintas según la prueba MDS ($p < 0,05$).

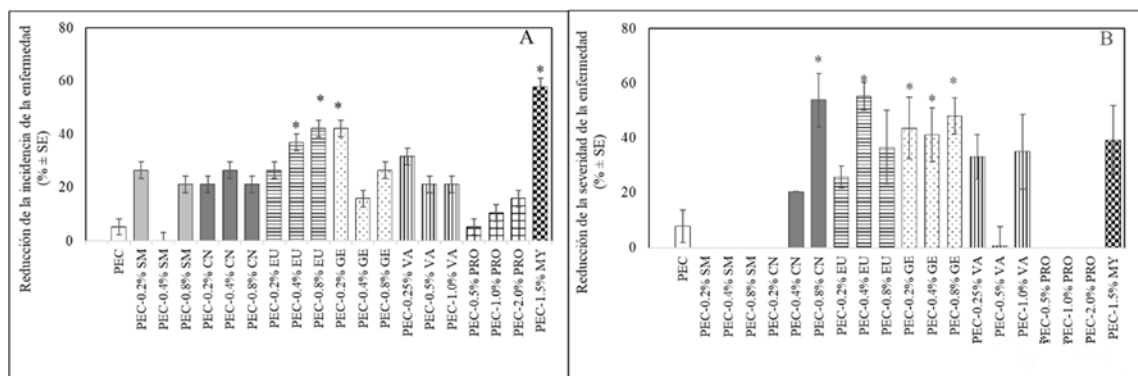


Fig. 2. Porcentaje de reducción de la incidencia (A) y severidad (B) de la podredumbre verde respecto al control sin recubrir en naranjas 'Valencia' inoculadas artificialmente con *Penicillium digitatum* y recubiertas 24 h después con un recubrimiento a base de pectina (PEC) y diferentes AEs o extractos naturales, tras 8 días de incubación a 20 °C. * indica medias significativamente menores que el recubrimiento de PEC sin agente antifúngico según la prueba MDS ($p < 0,05$).

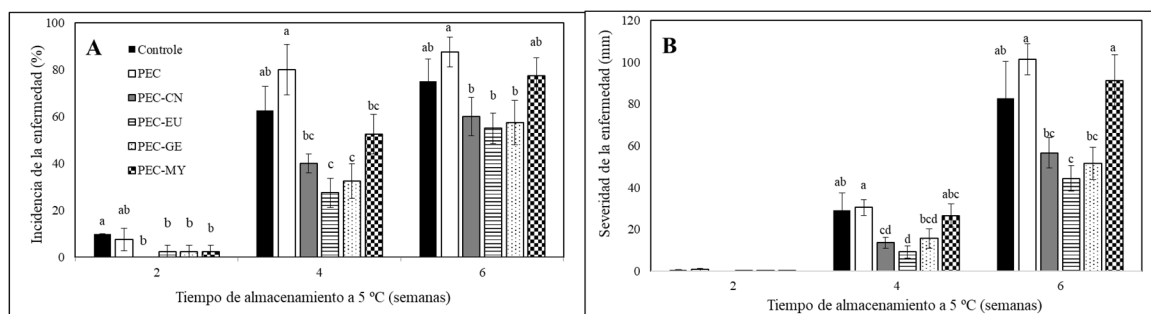


Fig. 3. Incidencia y severidad de la podredumbre verde en naranjas 'Valencia' inoculadas artificialmente con *Penicillium digitatum* 24 h antes aplicar recubrimientos a base de pectina (PEC) y diferentes AEs, durante almacenamiento en frío a 5 °C y 90% RH durante 6 semanas. El control corresponde a fruta inoculada sin recubrir. Para cada tiempo de almacenamiento, medias de tratamientos con diferentes letras son estadísticamente distintas según la prueba MDS ($p < 0,05$).

Optimización de técnicas de fenotipado para la susceptibilidad/tolerancia a *Penicillium expansum* en accesiones de manzana conservadas en frío

S.R.R. Benzai¹, L. Mestre², R. Giménez¹, P. Mignard¹, C. Julián², V. González², M.A. Moreno^{1*}.

¹ Departamento de Pomología, Estación Experimental de Aula Dei, EEAD-CSIC, Avda. Montañana 1005, E-50059 Zaragoza. *mmoreno@eead.csic.es

² Sistemas Agrícolas, Forestales y Medio Ambiente, Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón, Instituto Agroalimentario de Aragón—IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza

Resumen

La investigación sobre la tolerancia natural de los frutos a las podredumbres de almacenamiento requiere el uso de un protocolo de cribado óptimo. El *Penicillium expansum* es un agente etiológico causante de la ‘podredumbre húmeda de corazón’ en manzanas. En este trabajo y con el objetivo de optimizar un protocolo de bioensayo para la evaluación de la susceptibilidad/tolerancia frente a *P. expansum*, se inocularon 29 accesiones de manzana de la Estación Experimental de Aula Dei. Se incubaron durante 14 días y se midió el diámetro de la lesión y el diámetro de cada fruto y se calcularon 4 nuevos parámetros de fenotipado. Se compararon los parámetros entre sí y con el diámetro de la lesión en cuanto a la estabilidad según el cultivar, la detección de efectos significativos de parámetros bioquímicos y la correlación con el diámetro del fruto. Los resultados indicaron que la profundidad calculada de la lesión era el mejor parámetro ensayado, ya que no estaba influida por el tamaño del fruto, era estable dentro de una misma accesión y resultaba en más correlaciones significativas con otros parámetros bioquímicos medidos.

Palabras clave: *Malus x domestica*, germoplasma, Moho azul, protocolo, podredumbre.

INTRODUCCIÓN

El estudio de la susceptibilidad de distintas accesiones de manzano (*Malus x domestica* Borkh) a la infección por *Penicillium expansum* Link es de gran interés, no solo por las pérdidas económicas en la fase de poscosecha, sino también por el peligro para la salud humana, dadas las toxinas secretadas por el hongo. La búsqueda y explotación de fuentes naturales de tolerancia a *P. expansum* constituye un método natural y sostenible de protección contra el hongo. Para un bioensayo preciso, se debe tener en cuenta tres aspectos claves de este: el control de los distintos efectos que pueden influir sobre el fenotipado, la planificación del experimento y el fenotipado en sí.

En primer lugar, es imperativo disponer y cosechar todos los genotipos a evaluar en el mismo nivel de madurez, dado que el estado de madurez de los frutos influye directamente sobre la susceptibilidad a *P. expansum* (Vilanova et al., 2014). En este sentido, y para una planificación óptima del experimento, se aconseja almacenar los frutos en frío antes de inocularlos, en vez de hacerlo justo después de la cosecha. Así, nos aseguramos la obtención de más diferencias significativas entre accesiones. Este es el caso en las infecciones por *Colletotrichum fioriniae* (Marcelino & Gouli) Pennycook, que resultan más diferenciadas en los frutos almacenados durante 3 meses a 2°C que en los frutos recién cosechados (Grammen et al., 2019). También Vilanova et al. (2012)

encontraron más diferencias en cuanto a la susceptibilidad frente a *P. expansum* en manzanas almacenadas a 0°C que a 20°C. Finalmente, para un fenotipado preciso, el uso de un parámetro no influido por la forma y el tamaño del fruto es imprescindible. El parámetro más comúnmente usado es el diámetro de la lesión. No obstante, este parámetro se ve muy influido por el tamaño del fruto. Además, esta medida está siempre limitada a las lesiones que son más pequeñas que el diámetro del fruto inoculado. Este trabajo trata de poner a punto un protocolo de cribado fenotípico de resistencia al hongo, poniendo el énfasis sobre la búsqueda de parámetros de fenotipado precisos y no influidos por el tamaño del fruto.

MATERIAL Y MÉTODOS

En 2021, se cosecharon 29 accesiones de manzano del Banco de Germoplasma de la Estación Experimental de Aula Dei-CSIC (Aragón, Zaragoza) para su posterior análisis. Fueron almacenadas en una cámara fría a 1.5-2°C durante 4 meses antes de su inoculación. Las variedades fueron inoculadas mediante punción en un punto alrededor del eje central y una posterior infiltración con 5 µl de una solución conidial. La solución proviene del aclarado de un cultivo de *P. expansum* en placas y contiene 6.1×10^7 con/mL. Tras la inoculación, los frutos artificialmente infectados fueron incubados en la oscuridad durante 14 días a 25°C y con una humedad relativa (HR) de 40-60%.

El diámetro de la lesión (DL) se midió, tras dos semanas de incubación, en sectores perpendiculares (sectores longitudinales y latitudinales de los frutos cuando las lesiones no eran perfectamente circulares) con un calibre digital. También se estimó el diámetro del fruto para calcular cuatro parámetros más: la profundidad de la lesión (PL) (Ecuación (1)), el arco de la lesión (AR) (Ecuación (2)), la proporción del arco de la lesión en relación a la circunferencia del fruto (PAR) (Ecuación (3)), y finalmente la proporción entre el volumen de la lesión y el volumen del fruto (PV), que se calculó considerando la lesión como una media esfera, cuyo radio es la profundidad de lesión y considerando que la manzana es una esfera, cuyo diámetro es el de la manzana en la zona ecuatorial (Ecuación (4)) (Figuras 1 y 2). Estos parámetros se utilizaron en la determinación de la gravedad de las lesiones para la evaluación de la tolerancia/susceptibilidad de las accesiones.

$$PL = D \cdot \sin(180 - 2 \cdot (\arccos(A/D))) / 4 \quad (1)$$

$$AR = D \cdot \pi \cdot ((180 - 2 \cdot (\arccos(A/D))) / 360) \quad (2)$$

$$PAR = C / (D \cdot \pi) \quad (3)$$

$$PV = (\pi \cdot (D/2)^3) - ((\pi \cdot B^3) / 2) \quad (4)$$

Para evaluar la fiabilidad de cada parámetro calculado, se establecieron los siguientes criterios y se realizaron las pruebas correspondientes para evaluarlos. Así, se definió que un buen parámetro para el fenotipado debe tener y/o cumplir:

1. Correlación baja o nula con el tamaño del fruto (bajo sesgo de tamaño del fruto).
2. Baja desviación estándar normalizada entre las réplicas de una misma accesión.
3. Correlaciones significativas con varios parámetros químicos.

Tras definir el tipo de parámetros de fenotipado y la relación entre todos ellos, paralelamente se llevaron a cabo varios análisis bioquímicos de partida en los frutos no inoculados. Se analizó el contenido en fenoles totales (TPC) con el método Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965), el contenido en flavonoides totales (TFC) con

el método colorimétrico especificado por Zhishen et al. (1999) y el contenido en ácido ascórbico (AsA) según Zaharieva y Abadía (2003). Además, la actividad enzimática de la Fenilalanina amonio-liasa (PAL) fue determinada con el método descrito por Tovar et al. (2002), y las actividades de la Peroxidasa (POX) y de la Polifenol oxidasa (PPO) fueron determinadas respectivamente con los métodos de Dann y Deverall (2000) y de Galeazzi et al. (1981). Finalmente, el contenido en proteínas fue determinado según Bradford (1976). Los valores del índice de madurez (IM) y del contenido en sólidos solubles (CSS) provienen de los datos de Mignard et al. (2021) sobre las mismas variedades.

El efecto de los diferentes genotipos y de los parámetros bioquímicos sobre el DL y otros parámetros fenotípicos, desarrollados en cada fruto tras la inoculación, se analizó estadísticamente mediante un análisis de correlación de Pearson. A continuación, se calculó la desviación estándar normalizada de cada parámetro de fenotipado, y se calculó la correlación de Pearson de cada parámetro con el diámetro del fruto inoculado. Todos los análisis estadísticos se hicieron mediante el lenguaje R (v.4.2.0) (R Core Development Team, 2019).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evaluación de los distintos parámetros fenotípicos observados según los tres criterios (número de correlaciones significativas con parámetros bioquímicos, estabilidad e independencia del tamaño del fruto) queda recogida en la Tabla 1. El análisis mostró que varios parámetros bioquímicos mostraron un efecto significativo sobre los parámetros fenotípicos medidos. Las correlaciones de Pearson entre los parámetros de fenotipado y los parámetros bioquímicos cuantificados se presentan en la Tabla 2. Los análisis mostraron que la profundidad de la lesión (PV) y la proporción del arco de la lesión (PAR) solo presentaron una correlación significativa con solo uno de los parámetros bioquímicos analizados. Así, la PAR se correlacionó con el ácido ascórbico ($r=0,45$) y la PV con el contenido en proteínas ($r=0,39$). El arco de lesión (AR) y el diámetro de la lesión (DL) mostraron dos correlaciones significativas, pero no con los mismos parámetros: el DL con la actividad de la PPO ($r=-0,42$) y con el contenido en sólidos solubles (CSS) ($r=-0,4$), y el AR con la actividad de la PPO ($r=-0,4$) y con el AsA ($r=0,37$). Finalmente, la profundidad de la lesión (PL) se correlacionó significativamente con tres parámetros bioquímicos: la actividad de la PPO ($r=-0,42$), el CSS ($r=-0,38$) y el IM ($r=-0,36$). La desviación estándar normalizada del DL, de la PL y del AR fueron respectivamente de 4,1%, 5,59% y 6,61%, lo que es aceptable. Por otra parte, la PAR y la PV mostraron una alta variación según el cultivar, con valores de 9,26% y 13,05% respectivamente. En cuanto a la correlación con el tamaño del fruto, el DL, la PAR y la PV, mostraron una correlación altamente significativa (DL $r=0,73$; PAR $r=-0,49$; PV $r=-0,52$). Sin embargo, el AR y la PL no se correlacionaban con el diámetro del fruto, lo que les convierte en parámetros independientes del tamaño del fruto, y por ello, en mejores parámetros.

CONCLUSIONES

Tras el análisis de los resultados obtenidos, se concluyó que la profundidad de lesión (PL) y el arco (AR) de ésta fueron parámetros no influidos por el diámetro del fruto, al contrario que el diámetro de la lesión. Además, fueron bastante estables dentro de las distintas accesiones inoculadas artificialmente. El arco de la lesión no mostró una correlación significativa con el contenido en sólidos solubles (CSS), al contrario que el diámetro de la lesión y su profundidad. Sin embargo, el arco de la lesión (AR) fue el

único de los parámetros no influidos por el tamaño del fruto y además se correlacionó con el ácido ascórbico (AsA). Finalmente, la profundidad de la lesión resultó significativamente correlacionada con los mismos parámetros que el diámetro de la lesión (la actividad de la PPO y el CSS) y con un parámetro más (el índice de madurez). Por todo ello se propone la profundidad de lesión calculada como parámetro de fenotipado alternativo al diámetro de la lesión, y el arco de la lesión como complemento para poder permitir un mejor fenotipado en futuros trabajos de evaluación de susceptibilidad/tolerancia frente a *P. expansum*.

REFERENCIAS

- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
- Dann, E.K., y Deverall, B. J. (2000). Activation of systemic disease resistance in pea by an avirulent bacterium or a benzothiadiazole, but not by a fungal leaf spot pathogen. *Plant Pathology*, 49(3), 324–332. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2000.00457.x>
- Galeazzi, M.A.M., Sgarbieri, V. C., y Constantinides, S. M. (1981). Isolation, purification and physicochemical characterization of polyphenoloxidases (PPO) from a dwarf variety of banana (*Musa cavendishii*, L). *Journal of Food Science*, 46(1), 150–155. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1981.tb14551.x>
- Grammen, A., Van Campenhout, J., Geeraerd, A., y Keulemans, W. (2019). Susceptibility of apple fruits (*Malus x domestica* Borkh.) to the postharvest pathogen *Colletotrichum fioriniae*: cultivar differences and correlation with fruit ripening characteristics. *European Journal of Plant Pathology / European Foundation for Plant Pathology*, 155(3), 801–816. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01812-0>
- Mignard, P., Beguería, S., Reig, G., Font i Forcada, C., y Moreno, M. A. (2021). Genetic origin and climate determine fruit quality and antioxidant traits on apple (*Malus x domestica* Borkh). *Scientia Horticulturae*, 285, 110142.
- Singleton, V.L., y Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158.
- Tovar, M.J., Romero, M.P., Girona, J., y Motilva, M. J. (2002). L-Phenylalanine ammonia-lyase activity and concentration of phenolics in developing olive (*Olea europaea* L cv Arbequina) fruit grown under different irrigation regimes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(8), 892–898.
- Vilanova, L., Wisniewski, M., Norelli, J., Viñas, I., Torres, R., Usall, J., Phillips, J., Droby, S., y Teixidó, N. (2014). Transcriptomic Profiling of Apple in Response to Inoculation with a Pathogen (*Penicillium expansum*) and a Non-pathogen (*Penicillium digitatum*). *Plant Molecular Biology Reporter / ISPMB*, 32(2), 566–583.
- Zaharieva, T. B., y Abadía, J. (2003). Iron deficiency enhances the levels of ascorbate, glutathione, and related enzymes in sugar beet roots. *Protoplasma*, 221(3-4), 269–275.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., y Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555–559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)

TABLAS

Tabla 1. Resumen de la evaluación de cada parámetro de fenotipado.

Parámetro	DL	AR	PAR	PV	PL
N	2	2	1	1	3
Coefficiente de variación	4,10%	6,61%	9,26%	13,05%	5,59%
Correlación con el diámetro del fruto	0,73***	ns	-0,49**	-0,52**	ns

Estadísticamente significativo a *: $P \leq 0,05$; **: $P \leq 0,01$; ***: $P \leq 0,001$ y ns, no significativo. Abreviaciones: N, número de correlaciones significativas con parámetros bioquímicos, DL, diámetro de la lesión, AR, arco de la lesión, PAR, proporción del arco de la lesión sobre la circunferencia del fruto, PV, proporción del volumen de la lesión sobre el volumen del fruto, PL, profundidad de la lesión

Tabla 2. Correlaciones de Pearson entre parámetros fenotípicos y bioquímicos para las 29 accesiones de manzana evaluadas.

Parámetros	DL	AR	PAR	PV	PL
TPC (mg GAE.g-1 PS)	- 0,068	- 0,041	0,033	0,077	- 0,038
TFC (μg CAT.g-1 PS)	- 0,10	- 0,02	0,1	0,15	- 0,03
AsA (μg AsA.g-1 PS)	0,054	0,370*	0,454**	0,358	0,204
Proteínas (mg.g-1 PS)	0,109	0,242	0,324	0,392*	0,249
PAL (U.g-1 proteína)	0,045	- 0,084	- 0,252	- 0,351	- 0,082
POX (U.g-1 proteína)	- 0,013	- 0,173	- 0,232	- 0,217	- 0,114
PPO (U.g-1 proteína)	- 0,421*	- 0,401*	- 0,192	- 0,148	- 0,426*
IM (Mignard et al., 2021)	- 0,28	- 0,29	- 0,22	- 0,29	- 0,36*
CSS ($^{\circ}\text{Brix}$)(Mignard et al., 2021)	- 0,40*	- 0,31	- 0,11	- 0,14	- 0,38*

Estadísticamente significativo a *: $P \leq 0,05$; **: $P \leq 0,01$; ***: $P \leq 0,001$ y ns, no significativo. Abreviaciones: DL, Diámetro de la lesión, AR, Arco de la lesión, PAR, Proporción del arco de la lesión sobre la circunferencia del fruto, PV, Proporción del volumen de la lesión sobre el volumen del fruto, PL, Profundidad de la lesión, TFC, Contenido en Fenoles Totales; GAE, Equivalente de ácido gálico; PS, Peso seco; TFC, Contenido en Flavonoides Totales; CAT, Catequina; AsA, Ácido ascórbico; PAL, Fenilalanina amonio liasa; U, Unidades de actividad enzimática; POX, Peroxidasas; PPO, Polifenol Oxidasa; IM, Índice de madurez; CSS, Contenido en Sólidos Solubles.

FIGURAS

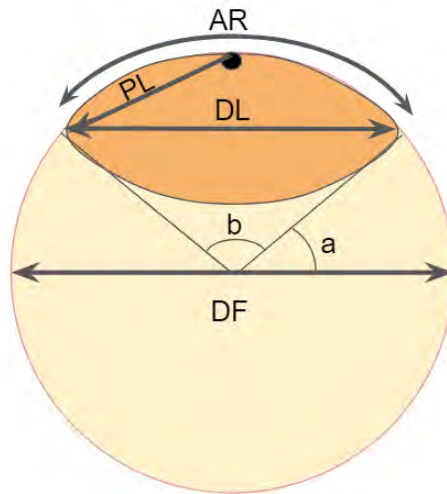


Figura 1. Representación de los parámetros de fenotipado medidos en un corte latitudinal de manzana: DL= diámetro de la lesión, PL= profundidad de la lesión, AR= arco de la lesión, DF= diámetro del fruto.



Figura 2. Corte longitudinal de una manzana inoculada artificialmente con *P. expansum* tras 14 días de incubación.

Desarrollo de recubrimientos comestibles con aditivos alimentarios antifúngicos para el control de *Penicillium* spp. y la conservación de mandarina ‘Orri’

L. Soto-Muñoz^{1,2}, M.M. Fuentes-González,² L. Palou², V. Taberner², H. Miravet-Segarra², M.B. Pérez-Gago²

¹ Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Ambiental, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro. Las Campanas 76010, Querétaro, México.

² Centro de Tecnología Poscosecha (CTP), Instituto Valenciano Investigaciones Agrarias (IVIA), 46113 Moncada, Valencia, España. fuentes_margon@gva.es

Resumen

Recubrimientos comestibles compuestos a base de goma arábica (AG), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) o almidón de patata (S) en combinación con cera de abeja (BW), gliceril monoestearato (GME) o cera de carnauba (CW) fueron formulados con dos aditivos alimentarios o sales GRAS (‘generally recognized as safe’) con propiedades antifúngicas: benzoato de sodio (SB, 2% p/p) o sorbato de potasio (PS, 2% p/p). Los efectos de los recubrimientos sobre la calidad de mandarinas ‘Orri’ se evaluaron tras un almacenamiento a 20 °C de 14 días. Posteriormente, se evaluó la actividad curativa de los recubrimientos seleccionados en el control de las podredumbres verde y azul, causadas respectivamente por *Penicillium digitatum* y *P. italicum*, en mandarinas inoculadas artificialmente 24 h antes e incubadas a 20 °C durante 7 días. Las emulsiones a base de AG con BW y CW mostraron valores bajos de viscosidad (4,54-26,34 mPa·s), pero aumentaron la pérdida de peso (WL) de las mandarinas. Las formulaciones a base de HPMC-BW y HPMC-CW fueron estables, con valores de viscosidad de 18 mPa·s, pero aportaron poco brillo. El recubrimiento a base de S-GME, con viscosidad de 58,91 mPa·s, redujo significativamente la WL sin afectar negativamente la apariencia de la fruta. La adición de PS a los recubrimientos aumentó significativamente la WL del fruto. El recubrimiento S-GME con 2% SB fue el más efectivo para controlar las podredumbres causadas por *Penicillium* spp. y redujo la incidencia y la severidad de las enfermedades en un 40 y 35%, respectivamente. Además, redujo también la WL de las mandarinas durante el almacenamiento a 20 °C, lo que demuestra su potencial para la conservación de la mandarina ‘Orri’ en poscosecha.

Palabras clave. Sales GRAS, cítricos, podredumbre

INTRODUCCIÓN

La extensión mediante frigoconservación del periodo comercial de los cítricos puede incidir negativamente en la calidad de la fruta y aumentar la incidencia de enfermedades de poscosecha como la podredumbre azul y verde, causadas por los hongos *Penicillium italicum* y *P. digitatum*, respectivamente, causando importantes pérdidas en poscosecha. La aplicación de ceras comerciales formuladas con fungicidas químicos de síntesis es la tecnología más ampliamente utilizada por la industria cítrica para

minimizar las pérdidas de poscosecha. Sin embargo, cada vez resultan más necesarios métodos de control alternativos debido a los problemas de salud y ambientales asociados a los residuos químicos. Entre las posibles alternativas no contaminantes, los recubrimientos comestibles (RCs) antifúngicos están ganando importancia últimamente. A excepción de biopolímeros como el quitosano y el *Aloe vera*, el carácter antifúngico de los RCs viene dado por la incorporación a las formulaciones de sustancias activas con carácter antimicrobiano (Valencia-Chamorro et al., 2011). Entre estas sustancias, algunos trabajos previos de nuestro grupo han demostrado la efectividad de aditivos alimentarios o sales GRAS ('generally recognized as safe'), como el benzoato de sodio (SB) y el sorbato de potasio (PS) frente a las podredumbres verde y azul en cítricos (Palou, 2018). Por tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la efectividad de estas sales incorporadas a distintas matrices de biopolímeros y lípidos en el control de las podredumbres verde y azul, así como su efecto en la calidad de mandarinas 'Orri' tras un almacenamiento a 20 °C de 14 días.

MATERIAL Y MÉTODOS

En una primera etapa, se formularon RCs con tres biopolímeros diferentes, goma arábiga (AG), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) y almidón de patata (S), en combinación con cera de abeja (BW), gliceril monoesterato (GME) o cera de carnauba (CW) como componentes hidrofóbicos. En todos ellos se utilizó glicerol como plastificante y distintos emulsificantes. La composición de los RCs se muestra en la Tabla 1. Las formulaciones se caracterizaron según el pH, viscosidad y estabilidad de las mismas, tal y como se describe en Martínez-Blay et al. (2020). Además, en mandarina 'Orri', se evaluó el aspecto y 'pegajosidad' al tacto de los frutos recubiertos, así como la pérdida de peso de los frutos durante 7 y 14 días de almacenamiento a 20 °C.

En una segunda fase, a los RCs formulados con GME y BW (seleccionados en el ensayo previo) se les incorporó benzoato de sodio (SB) o sorbato potásico (PS) a una concentración del 2% (p/p) y se evaluó la pérdida de peso en mandarina 'Orri' recubierta durante 7 y 14 días de almacenamiento a 20 °C.

Finalmente, se evaluó la capacidad de control de las podredumbres verde y azul del RCs a base de S-GME formulado con SB en mandarinas 'Orri' inoculadas artificialmente, mediante una herida (1x2 mm) en la zona ecuatorial del fruto con un punzón sumergido en una suspensión de 10^5 esporas mL⁻¹ de *P. digitatum* y *P. italicum*. Tras 24 h a 20 °C, los frutos se recubrieron por inmersión (10 s). Cada tratamiento se aplicó a 4 réplicas de 5 frutos. El control se realizó con frutos inoculados sin recubrir. También se evaluó el efecto de la matriz de RC (sin SB) y la solución acuosa de 2% SB. Se determinó la incidencia (% de frutos infectados) y la severidad de la enfermedad (diámetro de la lesión, mm) tras 7 días de incubación a 20 °C y 90% de humedad relativa (HR).

Los resultados se procesaron mediante análisis de varianza (ANOVA) y el test de la Mínima Diferencia Significativa de Fisher (MDS) al 95% de confianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En general, todas las emulsiones presentaron una viscosidad baja (4,54-59 mPa.s), a excepción de S-CW y AG-GME (Tabla 2). Además, todas las formulaciones fueron estables, excepto la emulsión de S-BW. Por otra parte, los RCs de S-CW y AG-CW impartieron pegajosidad a la fruta recubierta, mientras que la formulación de HPMC-CW dejó residuos blanquecinos en la superficie del fruto. De todos los RCs, los formulados con S-GME y HPMC-BW fueron los que mantuvieron una menor pérdida de peso de la fruta durante el almacenamiento a 20 °C (Tabla 2). Estos RCs base se formularon con PS y SB. La incorporación de PS afectó negativamente a la pérdida de peso de la fruta recubierta, aumentando respecto al control sin recubrir (no se muestran datos). Teniendo en cuenta estos resultados, se seleccionó el RC de S-GME-SB para evaluar su capacidad de controlar las podredumbres verde y azul en mandarinas ‘Orri’ inoculadas artificialmente y se obtuvieron reducciones del 45 y 30% de la incidencia y del 75 y 50% de la severidad (Fig. 1).

CONCLUSIONES

Los resultados muestran que el RC de S-GME formulado con 2% SB podría ser una alternativa no contaminante para el control de la podredumbre verde y azul y mantener la calidad poscosecha de mandarina ‘Orri’ durante conservación a 20 °C. Futuros estudios deberán evaluar el efecto de la aplicación de este RC antifúngico a escala comercial y en condiciones de frigoconservación.

AGRADECIMIENTOS

La actividad investigadora de la Dra. Lourdes Soto-Muñoz ha sido financiada por el IVIA a través del proyecto 51910 y el CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México) con la beca postdoctoral (160058). Agradecemos a Fontestad S.A. (Valencia) la fruta proporcionada.

REFERENCIAS

- Palou L. (2018). Postharvest treatments with GRAS salts to control fresh fruit decay. *Horticulture* 4: 46.
- Martínez-Blay V., Pérez-Gago M.B., de la Fuente B., Carbó R., Palou L. (2020a). Edible coatings formulated with antifungal GRAS salts to control citrus anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporoides* and preserve postharvest fruit quality. *Coatings* 10: 730.
- Valencia-Chamorro, S.A.; Palou, L.; Del Río, M.A.; Pérez-Gago, M.B. (2011). Antimicrobial edible films and coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 51: 872–900.

TABLAS

Tabla 1. Formulación de recubrimientos comestibles a base de biopolímeros y lípidos (concentración, g/100 g de agua)

Recubrimiento	Biopolímero	Lípido	Plastificante*	Contenido sólido	Emulsificante
S-GME	2,0	1,0	0,5	4,5	Lecitina, EMG
S- BW	2,0	1,0	0,5	4,0	Tween 80, Span 80
S- CW	2,0	2,0	1,0	5,4	Ácido oléico
HPMC- GME	2,0	1,0	0,5	4,3	Ácido esteárico
HPMC- BW	2,0	1,0	0,5	3,7	Ácido esteárico
HPMC- CW	2,0	2,0	1,0	5,4	Ácido esteárico
AG- GME	2,0	0,8	0,7	4,3	Ácido esteárico
AG-BW	3,0	1,0	1,0	5,4	Lecitina, EMG
AG-CW	3,0	2,0	1,0	6,4	Ácido esteárico

*Se utilizó glicerol como plastificante

S = almidón; HPMC = hidroxipropilmetilcelulosa; AG= goma arábiga; GME= gliceril monoestearato; BW= cera de abeja; CW= cera de carnauba; EMG: éster de monodiglicéridos

Tabla 2. Caracterización de recubrimientos comestibles a base de biopolímeros y lípidos

Tratamientos	Caracterización de la emulsión			Caracterización del film	Fruta recubierta		Pérdida peso (%)	
	pH	Viscosidad (mPa·s)	Estabilidad		Pegajosidad	Apariencia	7 días a 20 °C	14 días a 20 °C
S-GME	3,23	58,91	estable	flexible	nula (0)	buena	2,04±0,40	3,65±0,54
S- BW	5,09	45,17	inestable	homogéneo	nula (0)	buena	2,62±0,60	4,46±0,84
S- CW	4,92	160,00	estable	flexible	media (2)	buena	2,35±0,58	4,61±1,10
HPMC- GME	3,23	55,13	estable	flexible	nula (0)	brillante	2,19±0,50	4,02±0,88
HPMC- BW	4,63	18,35	estable	homogéneo	nula (0)	buena	1,85±0,42	3,52±0,62
HPMC- CW	4,92	18,29	estable	no homogéneo	nula (0)	residuos	2,58±0,54	4,69±0,98
AG- GME	3,83	448,00	estable	homogéneo	alta (3)	brillante	2,91±0,52	4,95±0,85
AG-BW	4,77	26,34	estable	flexible	baja (1)	buena	2,44±0,62	4,42±0,89
AG-CW	4,67	4,54	estable	quebradizo	alta (2,5)	buena	2,85±0,66	5,37±0,82
Control	-	-	-	-	-	-	2,60±0,81	4,36±1,19

FIGURAS

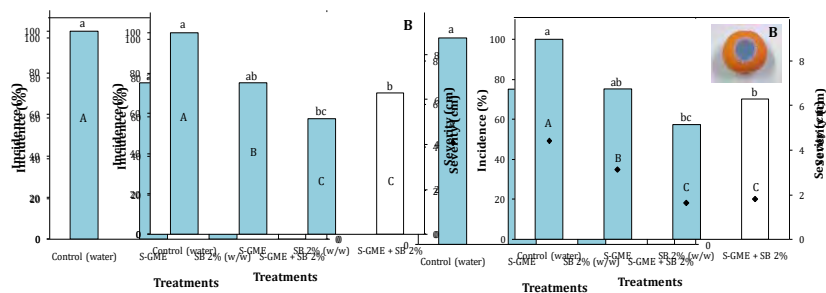


Fig. 1. Incidencia y severidad de la podredumbre verde (A) y azul (B) en mandarinas 'Orri' inoculadas artificialmente con *Penicillium digitatum* o *P. italicum* 24 h antes de aplicar un RC a base de almidón (S) y gliceril monoestearato (GME) con y sin incorporar benzoato de sodio (SB) o la solución acuosa de SB, y tras 7 días de incubación a 20 °C y 90% HR. El control corresponde a fruta inoculada sin tratar.

Efecto de la aplicación precosecha de melatonina y ácido oxálico sobre la calidad estándar y bioactiva de cereza en poscosecha

D. Cortés-Montaña^{1*}, B. Velardo-Micharet¹, A. Fernández-León¹, M.J. Bernalte-García², P. Bañuls³, M.J. Serradilla¹.

¹ Área de Postcosecha, Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, Avenida Adolfo Suárez s/n, 06007, Badajoz.

² Departamento de Biología Vegetal, Ecología y Ciencias de la Tierra, Escuela de Ingenierías agrarias, Universidad de Extremadura Avd. Adolfo Suárez s/n, 06007, Badajoz.

³ Centro de Agricultura Ecológica y de Montaña, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, Avda. España, nº 43. 10600 Plasencia, Cáceres.

*daniel.cortes@juntaex.es

Resumen

El cerezo es un cultivo estratégico para el sector frutícola extremeño en términos de producción y comercialización. En la actualidad, la mayor parte de la producción se destina a la exportación a mercados europeos e internacionales, los cuales precisan de largos periodos de almacenamiento postcosecha bajo condiciones de refrigeración. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación precosecha de diferentes concentraciones de melatonina y ácido oxálico, sobre la calidad estándar y bioactiva de cerezas del cultivar temprano ‘Samba’ sometido a un largo periodo de almacenamiento postcosecha. Para ello, se realizaron aplicaciones precosecha de melatonina (0,3 y 0,5 mM) y de ácido oxálico (2 y 5 mM) en tres momentos claves del proceso de desarrollo y maduración de los frutos (endurecimiento de hueso, cambio de color y cinco días antes de recolección comercial). Tras la recolección comercial, las cerezas fueron almacenadas durante 28 días a 1 °C y 90-95 % de humedad relativa, analizándose la calidad estándar (peso, calibre, firmeza, color de piel y pulpa, sólidos solubles totales y acidez) y bioactiva (compuestos fenólicos) al inicio y final del almacenamiento. La conclusión principal de este estudio fue que los tratamientos con melatonina y ácido oxálico mantuvieron la calidad estándar y mejoraron las propiedades bioactivas de las cerezas después de 28 días de almacenamiento en refrigeración, en comparación con los frutos del lote control.

Palabras clave: *Prunus avium* L, elicitores, refrigeración, calidad, fitoquímicos.

INTRODUCCIÓN

Para el sector frutícola extremeño, el cerezo (*Prunus avium*, L) es un cultivo estratégico en términos de producción y comercialización. La mayor parte de la producción se exporta a mercados europeos e internacionales, y ello requiere largos periodos de almacenamiento bajo condiciones de refrigeración. Los cultivares tempranos son de especial interés, porque debido a su precocidad alcanzan elevados precios en los mercados.

La aplicación precosecha de elicitores como herramienta para mantener la calidad de los productos vegetales ha despertado un gran interés entre la comunidad científica. Diferentes estudios han concluido que la aplicación de melatonina (MT) en cereza tiene

una repercusión sobre la tasa respiratoria, firmeza, contenido en compuestos bioactivos, así como sobre la actividad antioxidante química y enzimática (Xu et al., 2019; Carrión-Antolí et al., 2022). De igual modo, aplicaciones de ácido oxálico (AO) entre 0,5 y 2 mM en precosecha en cereza han dado lugar a un incremento en el tamaño y en el contenido de compuestos bioactivos (Martínez-Esplá et al., 2014).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación precosecha de diferentes concentraciones de MT y AO, sobre la calidad estándar y compuestos bioactivos de cerezas del cultivar temprano ‘Samba’ sometido a 28 días de almacenamiento poscosecha.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal y diseño experimental

Se utilizaron cerezas del cultivar ‘Samba’ procedente de árboles con trece años de edad, injertados sobre el patrón ‘Rebollo’ (*Prunus avium*, L.), localizados en una finca comercial a 400 m de altitud en el término municipal de Cabrero (Cáceres, España). Se emplearon 3 árboles por tratamiento (CO (control), MT (0,3 y 0,5 mM) y AO (2 y 5 mM)). Las aplicaciones se realizaron mediante pulverización foliar, en los momentos claves de desarrollo y maduración de los frutos (endurecimiento del hueso, cambio de color y cinco días antes de la recolección comercial).

Tras la recolección, las cerezas fueron trasladadas a la central hortofrutícola mediante transporte refrigerado. Se realizó una selección en base al calibre, color de piel y ausencia de defectos mediante clasificación electrónica (Cherryway, MAFRODA, Valencia, España). Además, se sometieron a un preenfriamiento por “hydrocooling” mediante inmersión en agua a 3 °C, conteniendo 60 ppm de cloro (pH=7), pasando la pulpa de la cereza de 20 °C a 3 °C. Las muestras se analizaron por triplicado. Se tomó una muestra al azar de 15 frutos, por tratamiento, para la caracterización inicial. El resto, se dividió en lotes homogéneos y se almacenaron en condiciones de atmósfera ordinaria en cámara frigorífica a 1 °C y 90-95% HR durante 28 días.

Calidad estándar

El peso se determinó con una balanza electrónica Mettler Toledo PB 1502 (Mettler Toledo, Madrid, España). Para el calibre se tomaron las medidas a la altura de los hombros de las cerezas (calibre máximo) con un calibrador “ABS Digimatic” digital. La acidez titulable (AT) y el contenido en sólidos solubles (CSS) se evaluó en 3 homogenizados por tratamiento (n=3). Para la AT se pesaron 3 g de homogenizado y se añadió agua destilada hasta un volumen de 60 mL. Las valoraciones se llevaron a cabo con un valorador automático Mettler Toledo T-50 Graphix (Mettler Toledo, Coslada, Madrid, España), empleando una disolución 0,1 N de NaOH, y los resultados se expresaron en g de ácido málico por 100 g de muestra fresca. Para cuantificar el CSS se empleó un refractómetro digital portátil PR-01 (Atago CO., LTD, Tokyo, Japan), expresándose los resultados en °Brix. La determinación de la firmeza se realizó mediante un ensayo de compresión al 3% sobre fruto entero, con un plato de 25 mm de diámetro y base plana, utilizando un Texturómetro Stable Micro Systems TAXT2i (Aname, Pozuelo, Madrid, España). La velocidad de desplazamiento fue de 0,2 mm·s⁻¹, se registró la fuerza máxima (N) y, a partir de la curva de fuerza-deformación, se calculó la pendiente de la curva (N·mm⁻¹). Se determinó el color, de piel y pulpa, en las dos caras opuestas del fruto con un

colorímetro de reflectancia Minolta CR-400 (Minolta Cámara Co, Osaka, Japón) (Iluminación de 65/0° observador estándar 0,8 cm puerto/área de visualización).

Compuestos bioactivos

El análisis de los compuestos bioactivos se realizó a partir de frutos congelados a -80 °C. La identificación y cuantificación de compuestos fenólicos se realizaron por HPLC-DAD/FLD siguiendo el método descrito por Manzano et al., (2020).

Análisis estadístico

Los resultados fueron sometidos a un análisis de la varianza (ANOVA) mediante el programa SPSS 21.0 para Windows. En los casos en los que presentaron diferencias significativas, se realizó el test Tukey, para comparación múltiple de medias. Se empleó un nivel de confianza del 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las cerezas fueron seleccionadas por calibre, utilizándose para el estudio las superiores a 24 mm. Presentaron un peso y calibre medios de 10 g y 28 mm a día 0, sin mostrar diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos a lo largo del almacenamiento (datos no mostrados). En el momento de la recolección comercial, no hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos para los parámetros AT y CSS. La AT media fue de 0,58 g de ácido málico/100 g y el CSS medio 15,9 °Brix. Nuestros resultados coinciden con los obtenidos por Tijero et al. (2019) con aplicaciones precosecha de MT y por Martínez-Esplá et al. (2014) con AO. Sin embargo, después de 28 días de almacenamiento, solamente se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) a nivel de AT entre AO5 y CO (Tabla 1). Una menor pérdida de acidez es indicativa de un retraso en la senescencia. Por otro lado, la textura no se vio afectada por los tratamientos precosecha. El valor medio de la firmeza fue de 1,27 ($N \cdot mm^{-1}$) el día 0 y 1,74 ($N \cdot mm^{-1}$) después de 28 días de almacenamiento. En cuanto al color (Tabla 1) en el caso de la piel, no se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos. Sin embargo, para la pulpa a día 0, el color de CO fue más intenso y con diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al AO2. Tras 28 días de almacenamiento, la pulpa de las cerezas CO perdió intensidad de color, con diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a MT05 y AO2, los cuales poseían pulpas más pigmentadas.

En cuanto los compuestos bioactivos, dentro de los ácidos hidroxicinámicos se identificaron el neoclorogénico (NC), clorogénico y p-cumárico (Fig. 1). El NC fue el mayoritario y característico de este cultivar. Además, se identificaron un total de cuatro antocianinas, la cianidina 3-*O*-glucósido, cianidina 3-*O*-rutinósido (C-3-R), peonidina 3-*O*-glucósido y peonidina 3-*O*-rutinósido, siendo la mayoritaria la C-3-R. Finalmente, dentro de los flavonoles, sólo se identificó y cuantificó la quercetina 3-*O*-rutinósido o rutina. A día 0, el contenido en ácidos hidroxicinámicos fue mayor ($p < 0,05$) para el tratamiento MT0,5. Las cerezas de los tratamientos MT0,3, MT0,5 y AO5 tuvieron un menor contenido en antocianinas, con diferencias significativas ($p < 0,05$) respecto a CO. Esta menor síntesis de pigmentos podría estar relacionada con un retraso en la maduración. Tijero et al. (2019) mostraron que la aplicación de melatonina en precosecha provoca un retraso en la acumulación de antocianinas, lo que confirma el papel regulador e inhibidor sobre la maduración de esta fruta. Además, el contenido en flavonoles fue significativamente menor para MT0,5 y AO5. Al final del almacenamiento, todos los tratamientos consiguieron mantener, o incluso incrementar, el contenido en compuestos

bioactivos con respecto al CO, el cual disminuyó su contenido. Los tratamientos precosecha con MT y AO mostraron un mayor contenido en compuestos fenólicos, especialmente en ácidos hidroxicinámicos, con diferencias significativas ($p < 0,05$) respecto a CO, tras 28 días de almacenamiento. Por otro lado, está descrito que los tratamientos con MT mejoran la conservación postcosecha de la cereza debido al incremento de la actividad antioxidante enzimática y no enzimática (Xu et al., 2019). También, Martínez-Esplá et al. (2014) demostraron que los tratamientos con AO consiguen incrementar las características bioactivas de las cerezas debido al aumento de los compuestos fenólicos y de la actividad antioxidante. Está demostrado el efecto beneficioso que ejercen los compuestos fenólicos sobre la salud y sobre el retraso de los procesos oxidativos (Serradilla et al., 2017). Por ello, incrementar la presencia de estos compuestos en los alimentos y en la dieta puede contribuir a una mejora de la salud y de la calidad de vida.

CONCLUSIONES

La aplicación precosecha de MT y de AO mediante pulverización foliar se plantea como una herramienta eficaz para mantener y mejorar la calidad estándar y la composición bioactiva de cerezas tempranas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Junta de Extremadura y al Fondo Europeo de Desarrollo Regional por el apoyo económico a través del Proyecto GR21193. Daniel Cortés Montaña contó con un contrato predoctoral asociado al proyecto RTA2017-000092 y a la ayuda PRE2018-084891 MCIN/AEI /10.13039/501100011033 y por FSE invierte en tu futuro.

REFERENCIAS

- Carrión-Antolí, A.; Lorente-Mento, J.M.; Valverde, J.M.; Castillo, S.; Valero, D.; Serrano, M. 2022. "Effects of Melatonin Treatment on Sweet Cherry Tree Yield and Fruit Quality". *Agronomy*, Vol. 12, 3.
- Manzano Durán R., E. Fernández Sánchez J., Velardo-Micharet B., Rodríguez Gómez M.J. 2020. "Multivariate optimization of ultrasound-assisted extraction for the determination of phenolic compounds in plums (*Prunus salicina* Lindl.) by HPLC", *Instrumentation Science & Technology*, Vol. 48:2, 113-127.
- Martínez-Esplá, A., Zapata, P.J., Valero, D., García-Viguera, C., Castillo, S., Serrano, M., 2014. Preharvest application of oxalic acid increased fruit size, bioactive compounds and antioxidant capacity in Sweet Cherry cultivars (*Prunus avium* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62: 3432–3437.
- Serradilla, M.J., Aksic, M.F., Manganaris, G.A., Ercisli, S., González-Gómez, D., Valero, D. 2017. "Fruit chemistry, nutritional benefits and social aspects of cherries", en: Quero-García, J., Iezzoni, A., Pulawska, J., Lang, G. (Eds.), *Cherries: Botany, Production and Uses*. CABI:Wallingford, UK; pp. 420–441.
- Tijero V., Muñoz P., Munné-Bosch S. 2019. "Melatonin as an inhibitor of sweet cherries ripening in orchard trees", *Plant Physiology and Biochemistry*, Vol. 140, pp 88-95.
- Xu T., Chen Y., Kang H. 2019. "Melatonin is a potential target for improving post-harvest preservation of fruits and vegetables". *Frontiers in Plant Science* Vol.10:1–14.

Tabla 1. Valores medios \pm error estándar de acidez titulable (AT), contenido en sólidos solubles (CSS), firmeza (N/mm) y color de piel y pulpa (a*/b*). Para cada día de análisis, letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, según el test de Tukey.

	Día	Control	Melatonina (0,3 mM)	Melatonina (0,5 mM)	A. Oxálico (2 mM)	A. Oxálico (5 mM)
AT (% Ác. Málico)	0	0,586 \pm 0,005	0,577 \pm 0,004	0,567 \pm 0,007	0,585 \pm 0,002	0,579 \pm 0,005
	28	0,486 \pm 0,003 ^{bc}	0,510 \pm 0,014 ^{ab}	0,487 \pm 0,004 ^{bc}	0,483 \pm 0,017 ^c	0,544 \pm 0,011 ^a
CSS (°Brix)	0	16,900 \pm 0,100	15,567 \pm 0,437	15,600 \pm 0,058	15,800 \pm 0,643	15,700 \pm 0,173
	28	14,367 \pm 0,033	14,200 \pm 0,458	15,000 \pm 0,404	15,433 \pm 0,176	14,000 \pm 0,208
Firmeza (N/mm)	0	1,330 \pm 0,046	1,259 \pm 0,041	1,307 \pm 0,044	1,195 \pm 0,044	1,244 \pm 0,040
	28	1,798 \pm 0,136	1,714 \pm 0,089	1,667 \pm 0,074	1,758 \pm 0,077	1,750 \pm 0,051
Color de piel (a*/b*)	0	3,035 \pm 0,061	3,023 \pm 0,081	3,092 \pm 0,056	2,922 \pm 0,054	3,024 \pm 0,083
	28	2,463 \pm 0,111	2,497 \pm 0,066	2,496 \pm 0,068	2,389 \pm 0,044	2,639 \pm 0,034
Color de pulpa (a*/b*)	0	2,054 \pm 0,082 ^a	1,881 \pm 0,087 ^a	1,723 \pm 0,129 ^{ab}	1,464 \pm 0,110 ^b	1,669 \pm 0,089 ^{ab}
	28	1,695 \pm 0,067 ^c	1,758 \pm 0,050 ^{bc}	2,177 \pm 0,068 ^a	2,001 \pm 0,075 ^{ab}	1,734 \pm 0,046 ^c

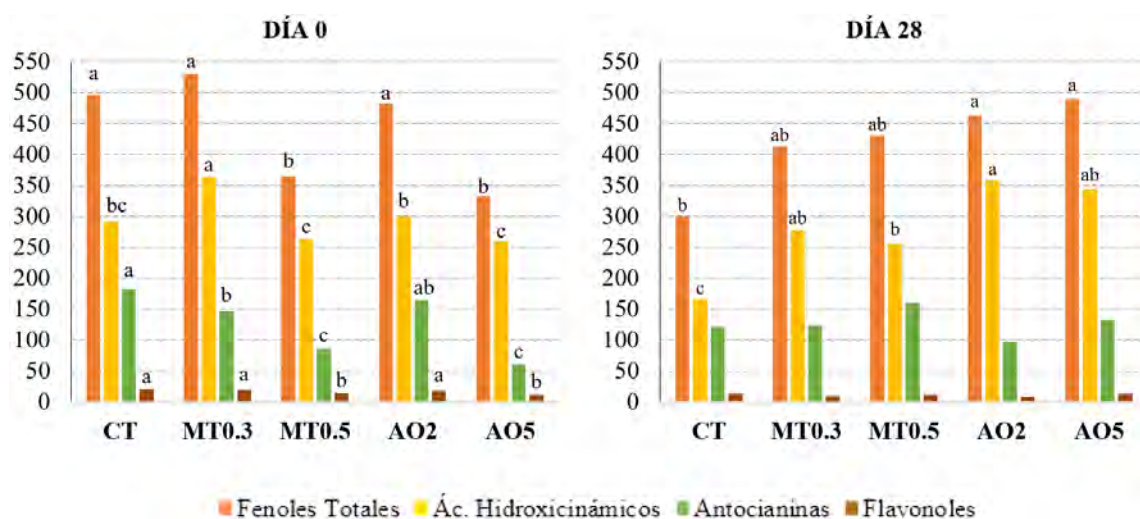


Fig.1. Valores medios expresados en $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de fenoles totales, ácidos hidroxicinámicos totales, antocianinas totales y flavonoles totales, obtenidos mediante HPLC. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos para cada una de las variables de estudio y fecha, según el test de Tukey.

Evaluación de la calidad y perfil de ácidos orgánicos de cultivares de ciruela japonesa tratados vía foliar con ácido oxálico

Cortés-Montaña, D.^{1*}, Bernalte-García, M.J.², Serradilla, M.J.¹, Velardo-Micharet, B.¹

¹ Área de Postcosecha, Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, Avenida Adolfo Suárez s/n, 06007, Badajoz.

² Departamento de Biología Vegetal, Ecología y Ciencias de la Tierra, Escuela de Ingenierías agrarias, Universidad de Extremadura Avd. Adolfo Suárez s/n, 06007, Badajoz.

*daniel.cortes@juntaex.es

Resumen

El cultivo del ciruelo japonés tiene un alto valor socioeconómico en Extremadura, debido a su elevado volumen de producción y exportación. Entre las ciruelas de piel y pulpa roja destacan los cultivares ‘Black Splendor’ (maduración temprana) y ‘Prime Time’ (maduración media) y entre las de piel negra y pulpa amarilla están ‘John W’ y ‘Angeleno’ (maduración tardía). Existe un gran número de publicaciones que proponen al ácido oxálico como un elicitador capaz de mejorar la calidad global de distintos productos vegetales. El objetivo de este estudio fue analizar el efecto de la aplicación precosecha de distintas concentraciones de ácido oxálico (2, 3 y 5 mM) sobre la calidad fisicoquímica y el perfil de ácidos orgánicos de los 4 cultivares de ciruela citados anteriormente. Las aplicaciones se realizaron mediante pulverización foliar en 3 momentos claves del crecimiento y desarrollo del fruto (endurecimiento del hueso, cambio de color y 5 días antes de la recolección comercial). Tras la recolección comercial, se analizó el contenido en sólidos solubles (CSS), la acidez titulable (AT) y el perfil de ácidos orgánicos (málico, quínico, succínico, cítrico, oxálico, tartárico y fumárico) mediante HPLC-DAD. Se observó que la aplicación de ácido oxálico no incrementó el contenido endógeno del mismo, ni alteró el perfil de ácidos orgánicos en los 4 cultivares estudiados. Sin embargo, las ciruelas tratadas con ácido oxálico presentaron un mayor contenido en ácidos málico y quínico, especialmente la concentración de 2 mM, aunque sin diferencias significativas ($p \geq 0,05$). Por otro lado, se observó un retraso de la maduración (mayor AT y un menor CSS) en la fruta tratada lo que permitió una ampliación en la ventana de recolección.

Palabras clave: *Prunus salicina* Lindl., elicitador, sólidos solubles, acidez, ácidos orgánicos

INTRODUCCIÓN

Extremadura, con 6.764 hectáreas, es la primera región en cuanto a superficie de ciruela japonesa (*Prunus salicina* Lindl.), lo que representa el 47 % del total de la superficie nacional. La región lidera la producción con 77.600 toneladas, de las cuales gran parte va destinada a exportación (MAPA., 2021). La campaña de ciruela en Extremadura se extiende desde finales del mes de mayo hasta septiembre, encontrando ciruelas con diferentes características organolépticas. Entre los cultivares de piel y pulpa roja destacan ‘Black Splendor’ (maduración temprana) y ‘Prime Time’ (maduración media) y en los de piel

negra y pulpa amarilla se encuentran ‘John W’ y ‘Angeleno’ (maduración tardía), siendo todas ellas climatéricas, a excepción de ‘Angeleno’ que es climatérica suprimida.

El pacto verde acordado por la Comisión Europea está impulsando el uso de elicitores y biorreguladores con el fin de transformar el sector hortofrutícola hacia una agricultura más sostenible y respetuosa con el medio ambiente. Los elicitores son moléculas que, a bajas concentraciones, desencadenan los mecanismos de resistencia sistémica frente a estreses bióticos y abióticos. También promueven las rutas metabólicas relacionadas con la producción de metabolitos secundarios en las plantas, induciendo cambios fisiológicos, morfológicos y acumulación de compuestos fitoquímicos (Viacava et al., 2018). El ácido oxálico es un ácido orgánico que está presente de forma natural en los tejidos vegetales y está considerado como elicitor. Se ha utilizado en aplicaciones postcosecha para reducir la incidencia de podredumbres y daños por frío en distintos tipos de fruta. En precosecha ha sido aplicado en cerezas (Martínez-Esplá et al. (2014); Cortés-Montaña et al. (2020)) y en ciruelas (Martínez-Esplá et al (2019), observándose mejoras en la calidad y sistemas antioxidantes del fruto tras un periodo de almacenamiento postcosecha. El consumo elevado de ácido oxálico puede producir deficiencias nutricionales, entre otros efectos, debido a la capacidad que posee para unirse a minerales como el calcio, hierro, sodio, potasio o magnesio (Çaliskan 2000). Las personas sanas pueden consumir alimentos con cantidades pequeñas de ácido oxálico sin que afecte a su salud, pero no es recomendable para las propensas a sufrir cálculos renales, gota o artritis.

El objetivo del ensayo fue estudiar el efecto de las aplicaciones precosecha de ácido oxálico (2, 3 y 5 mM) sobre el contenido en sólidos solubles, acidez titulable y perfil de ácidos orgánicos, más concretamente, sobre el contenido endógeno de ácido oxálico en diferentes cultivares de ciruelas producidos en Extremadura.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal y diseño experimental

El estudio se llevó a cabo en una finca comercial situada en las Vegas Altas del Guadiana (Entrerriós, Badajoz, España). Con la intención de cubrir la ventana comercial de las ciruelas producidas en Extremadura, se seleccionaron cultivares tempranos, medios y tardíos, además de cultivares de piel y pulpa roja, y de piel negra y pulpa amarilla, así como ciruelas con diferente producción de etileno (climatéricas y climatéricas suprimidas). Se emplearon 3 árboles para cada concentración de ácido oxálico establecida (AO, 2, 3 y 5 mM)). Los resultados obtenidos fueron comparados con ciruelas procedentes de árboles que no recibieron aplicaciones de AO (Control, CO). Los tratamientos se llevaron a cabo al atardecer mediante pulverización foliar, en los tres momentos claves de desarrollo y maduración de los frutos (endurecimiento del hueso, cambio de color y cinco días antes de la recolección comercial). El día de la recolección comercial, se cogió una muestra al azar de 30 frutos por árbol (90 frutos por tratamiento) para la caracterización físico-química en el laboratorio.

Calidad estándar

Para la determinación de la calidad estándar se cuantificó el contenido en sólidos solubles (CSS) y la acidez titulable (AT). Para cada cultivar y tratamiento se realizaron 3 homogenizados de fruta (n=3) a partir de los 30 frutos de cada árbol. CSS se cuantificó a

20°C con un refractómetro digital portátil PR-01 (Atago CO., LTD, Tokyo, Japan), expresándose los resultados en °Brix. La AT fue medida a partir de 3 g de homogenizado que fueron llevados a un volumen final de 60 mL con agua destilada. Para ello, se empleó un valorador automático T-50 Graphix (Mettler Toledo, Coslada, Madrid, España), y una disolución 0,1 N de NaOH hasta pH 8,1. La AT se expresó en g de ácido málico por 100 g de peso fresco.

Perfil de ácidos orgánicos

Para la identificación y cuantificación de los ácidos orgánicos se utilizó un equipo HPLC Agilent 1200 infinity con columna Rezex Organic Acid, ROA-Organic Acid H⁺ de 300 x 7,8 mm (Phenomenex), acoplado a un detector Diodo Array. La longitud de onda para la identificación y cuantificación fue de 210, 8 nm. Para la fase móvil se utilizó agua / H₂SO₄ 0.005 N. El volumen de inyección fue de 10 µL y la velocidad de flujo fue de 0,5 mL/min. La temperatura de la columna se mantuvo a 55°C usando un horno de columna.

Análisis estadístico

El tratamiento estadístico de los resultados se realizó con el programa SPSS 25 (IBM Statistics, Chicago, IL, USA). Los resultados fueron sometidos a un análisis de la varianza (ANOVA). En los casos en los que presentaron diferencias significativas, se realizó el test Tukey, para comparación múltiple de medias. Se empleó un nivel de confianza del 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los valores medios de CSS y AT de los diferentes cultivares de ciruela estudiados. Podemos observar que el CSS y el pH fue mayor en los cultivares tardíos, mientras que la AT más elevada fue registrada en los más tempranos. Se observó una mayor AT y un menor CSS en la fruta tratada, en los 4 cultivares de ciruela, poniendo de manifiesto un ligero retraso de la maduración. Si bien, no se encontraron diferencias significativas ($p \geq 0,05$) entre los tratamientos de ácido oxálico (2, 3 y 5 mM) y el control. Nuestros resultados van en sintonía con los de Martínez-Esplá et al. (2014) y Martínez-Esplá et al. (2018), quienes tampoco encontraron diferencias significativas a nivel de los sólidos solubles totales y la acidez titulable entre las cerezas y ciruelas tratadas en precosecha con ácido oxálico y los controles. Asimismo, también observaron una tendencia en el retraso de la maduración de la fruta que fue tratada con ácido oxálico.

Se identificaron y cuantificaron un total de 7 ácidos orgánicos (málico, quínico, succínico, cítrico, oxálico, tartárico y fumárico). El perfil fue similar en todos los cultivares a excepción del cultivar tardío 'Angeleno', que también presentó ácido tartárico. La presencia y concentración de estos compuestos está muy influenciado por el genotipo (Usenik et al., 2008). No se encontraron diferencias significativas ($p \geq 0,05$) en el contenido en ácidos orgánicos entre las ciruelas no tratadas (CO) y las tratadas con las concentraciones 2, 3 y 5 mM de ácido oxálico. (Figura 1). Los tres ácidos orgánicos mayoritarios fueron el málico, el quínico y el succínico, representando entre los tres más de 97,5 % del total. El cultivar 'Black Splendor' mostró el porcentaje más elevado de ácido málico con un 78,6 %, seguido por 'John W' con un 67,3%, 'Prime Time' un 63,2 y 'Angeleno' con un 51,3% en. Las ciruelas tratadas con ácido oxálico mostraron un mayor contenido en málico y quínico, especialmente aquellas en las que se empleó la concentración de 2 mM, aunque sin diferencias significativas ($p \geq 0,05$).

El ácido oxálico representó el 0,20 % en 'Black Splendor', 0,09 % en 'Prime Time', 0,14 % en 'John W' y 0,24% en 'Angelino'. Debido a que no hubo diferencias significativas en este ácido entre la fruta tratada con ácido oxálico y el control, se puede afirmar que la utilización de este elicitor en precosecha es seguro, ya que en ningún caso hubo un incremento del contenido endógeno de este ácido debido a las aplicaciones realizadas durante el proceso de desarrollo y maduración de los frutos.

CONCLUSIONES

El ácido oxálico indujo un retraso de la maduración de las ciruelas, manifestado por una mayor AT y un menor CSS respecto al control. Las ciruelas tratadas con ácido oxálico presentaron un mayor contenido en ácidos málico y quínico, especialmente la concentración de 2 mM, aunque sin diferencias significativas ($p \geq 0,05$) con la fruta sin tratar. La aplicación por vía foliar de ácido oxálico no incrementó el contenido endógeno del mismo en los frutos, ni alteró el perfil de ácidos orgánicos en ninguno de los 4 cultivares de ciruela estudiados, haciendo seguro su implementación entre las técnicas agrícolas y permitiendo ampliar la ventana comercial, especialmente de los cultivares tardíos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Junta de Extremadura y al Fondo Europeo de Desarrollo Regional por el apoyo económico a través del Proyecto GR21193. Daniel Cortés Montaña contó con un contrato predoctoral asociado al proyecto RTA2017-000092 y a la ayuda PRE2018-084891 MCIN/AEI /10.13039/501100011033 y por FSE invierte en tu futuro.

REFERENCIAS

- Çalışkan, M. 2000. The Metabolism of Oxalic Acid. Turkish Journal of Zoology, 24: 103–106.
- Cortés-Montaña, D., Serradilla, M. J., Bernalte-García, M. J., Bañuls, P., Fernández-León, A., Velardo-Micharet, B. 2020. Ácido oxálico, el elicitor que mejora la calidad y la vida útil de cerezas tempranas. Horticultura, 4-349: 16-20.
- Martínez-Esplá, A., Zapata, P.J., Valero, D., García-Viguera, C., Castillo, S., Serrano, M. 2014. Preharvest application of oxalic acid increased fruit size, bioactive compounds and antioxidant capacity in Sweet Cherry cultivars (*Prunus avium* L.). J. Agric. Food Chem, 62: 3432–3437.
- Martínez-Esplá A, Serrano M, Martínez-Romero D, Valero D, Zapata PJ. 2019. Oxalic acid preharvest treatment increases antioxidant systems and improves plum quality at harvest and during postharvest storage J Sci Food Agric. 15; 99(1): 235-243.
- M.A.P.A. 2021. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Consultado por última vez en 12/05/2022: https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/producciones-agricolas/boletinfrutadehueso2020n20-2020_tcm30-544449.pdf
- Usenik, V., Kastelec, D., Veberič, R., Štampar, F. 2008. Quality changes during ripening of plums (*Prunus domestica* L.). Food chemistry, 11: 830–836.
- Viacava, G.E., Goyeneche R., Goñi G. M., Roura, S. I., Agüero, M. V. 2018. Natural elicitors as preharvest treatments to improve postharvest quality of Butterhead lettuce. Scientia Hort. 228: 145–152.

Tabla 1. Valores medios \pm desviación del contenido en sólidos solubles (CSS) y acidez titulable (AT) para los cultivares de ciruela estudiados.

	‘Black Splendor’	‘Prime Time’	‘John W’	‘Angeleno’
CSS (°Brix)*	9,90 \pm 1,85	11,31 \pm 1,44	14,83 \pm 1,55	15,45 \pm 0,82
AT (% Ác. Málico)*	1,85 \pm 0,05	1,44 \pm 0,07	1,55 \pm 0,10	0,82 \pm 0,09

*Valor medio de todos los tratamientos (control y ácido oxálico 2, 3 y 5 mM) para cada cultivar de estudio.

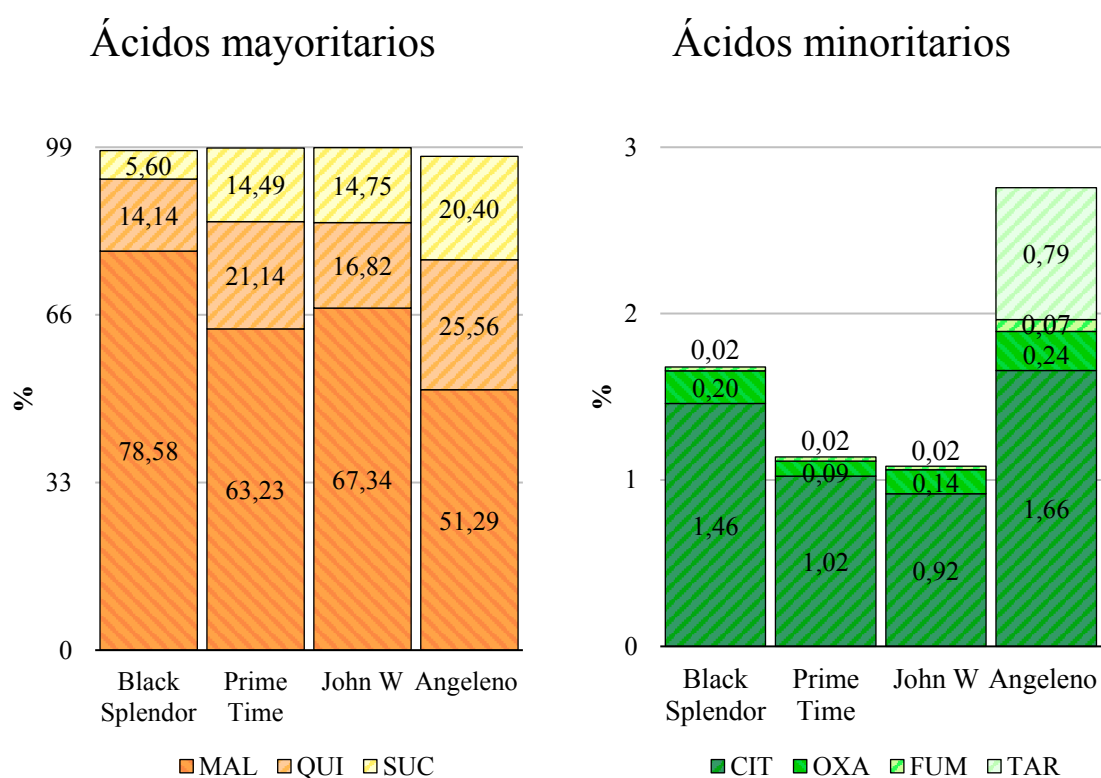


Fig.1. Valores medios de ácidos orgánicos, expresados en porcentaje (%), para los cultivares de ciruela estudiados. Málico (MAL), quínico (QUI), succínico (SUC), cítrico (CIT), oxálico (OXA), fumárico (FUM) y tartárico (TAR).

The use edible nanocoatings to increase storage time in 'Rohde' orange

Custódia Gago^{1*}, Adriana Guerreiro², Dulce Antunes¹

¹University of Algarve, MED, FCT, edf. 8 Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal, email: cgago@ualg.pt

²University of Algarve, CEOT, FCT, edf. 2 Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal

Abstract

Edible nanocoatings formulations have been developed to increase shelf-life of some horticultural products. The goal of this research was to study the effect of edible coatings based on carnauba wax at 1% (w/w) [CW 1%], carnauba wax at 1% + lemongrass essential oil 1.25% (w/w) [CW_LG1.25%] and carnauba wax 1% + xanthan gum 0.15 (w/w) + lemongrass essential oil (1.25 (w/w) [CW_XG_LG1.25%] to preserve the quality of 'Rohde' oranges during cold storage and ensuing shelf-life. Orange fruits were sprayed with those nanoemulsions, and then stored at 5 °C in open plastic boxes. Control consisted of uncoated fruit. At harvest (0 d), after 1, 2 and 3 months of cold storage (5 °C, RH 90%) and after 7 days of shelf-life (22 °C, RH 65%) samples were taken to perform analysis of firmness, soluble solids content (SSC), titratable acidity (TA), electrolyte leakage, weight loss, and external appearance. Color parameters (L*, a*, b*) were not significantly affected by the nano-coatings. Through storage time, firmness decreased in all fruits, but control maintained highest value at end of cold storage. The ripening index (RI) and the electrolyte leakage (EL) values increases throughout storage in all fruits, but RI increased slower in coated fruits and EL in control. The first symptoms of chilling injury appeared after 1 month of cold storage followed by 7 days of shelf-life and at the end of cold storage chilling injury index had the lowest values in CW1% coated oranges.

Keywords: carnauba wax, lemongrass essential oil, ripening index, chilling injury

INTRODUCTION

'Rohde' orange is a cultivar very similar to 'Lane Late', but supposedly less prone to fruit drop near ripening, which allows for a later harvest (Duarte, 2012). However, its susceptibility to cold damage is high, and it is necessary to find strategies to preserve and/or transport this fruit in the cold, guaranteeing its quality.

Fruits cold damage can be minimized by heat treatment, storage in controlled or modified atmosphere, covering with waxes and application of 1-methylcyclopropene (1-MCP). However, some of them showed contradictory results in citrus (Porat et al., 2004; Ghasemnezhad et al., 2008). For this reason, it is urgent to find alternative technologies that can effectively reduce these damages, and edible coatings can be a good option. Carnauba wax is obtained from the Brazilian palm tree *Copernicia cerifera* and is regarded as a GRAS ingredient. Therefore, it might be used as a coating for fruits and vegetables destined for fresh consumption with the intent to improve appearance, giving glow and reducing weight losses and volatiles (Hagenmaier and Baker, 1994).

The objective of this work was to study the effects of edible nano-coatings based on carnauba wax at 1% (w/w) [CW 1%], carnauba wax at 1% + lemongrass essential oil 1.25% (w/w) [CW_LG1.25%] and carnauba wax 1% + xanthan gum 0.15 (w/w) + lemongrass essential oil (1.25 (w/w) [CW_XG_LG1.25%] on quality and chilling injury symptoms in 'Rohde' oranges through 3 months storage at 5°C.

MATERIAL AND METHODS

Nanoemulsions based on carnauba wax (1%, w/w) were prepared by completely melting the wax at 90°C. Afterwards, all other components were added according to Gago et al., (2021).

The characterization of nanoemulsions, particle size, polydispersity and z-potential were determined by dynamic-light-scattering (DLS) and phase-analysis light scattering (PALS) according to Gago et al. (2021). To avoid multiple scattering effects, samples were diluted prior to analysis with Milli-Q water (1:10).

Cultivar 'Rohde' orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] were harvested in an orchard located in Conceição de Faro, Algarve, Portugal, when they were in the commercial ripening stage (IM >8). Each group of fruits was sprayed with one of the nanoemulsions carnauba wax at 1% (w/w) [CW 1%], carnauba wax at 1% + lemongrass essential oil 1.25% (w/w) [CW_LG1.25%] and carnauba wax 1% + xanthan gum 0.15 (w/w) + lemongrass essential oil (1.25 (w/w) [CW_XG_LG1.25%], which afterward were allowed to drip and dry on the surface of the fruits for 2h at room temperature (25°C). Uncoated fruit were used as a control (CT). Eighteen fruit per treatment were placed in 4 plastic crates and stored at 5°C with relative humidity 95%. After coatings application and after 1, 2 and 3 month of storage, three replicates per treatment (6 fruit/repetition) were sampled for quality parameters, as well as after 7 d shelf-life at ~22°C and 70% RH.

The quality parameters, citrus color index (CCI), firmness (Fm), soluble solids content (SSC), titratable acidity (TA) and ripening index (IM= SSC/TA) were measured and calculated according to Pires et al. (2016).

The visual assessment, aimed at detecting damage on the orange peel, lasted up to 3 months of storage at 5°C, and was carried out by elements of the laboratory team. Results were expressed as a chilling injury index (CI index) according to Ghasemnezhad et al. (2008).

Statistical analysis was performed using SPSS 25.0 software (IBM, Corp., Amonk, NY, USA). One-way ANOVA and Duncan's Mean Comparison Test (P<0.05) were used for comparison of treatments and sampling dates.

RESULTS AND DISCUSSION

All formulations studied are considered in the nano range (<500 nm) since their droplet size showed values between 135.13 and 173.35 nm (Table 1). Polydispersity values below 0.2 indicate uniformity among oil droplet sizes or monomodal distributions and therefore better stability, whereas values close to 1 indicate a heterogeneous distribution (McClements et al., 2012). Particles with zeta potential values above (+/-) 30 mV are usually considered to be stable, since electrical charge of droplets is strong enough to

assume that repulsive forces between droplets are pre-dominant in the nanoemulsion (Salvia-Trujillo et al., 2015a).

In our work, carnauba wax based nanoemulsions without lemongrass essential oil presented the lower droplet size, lower polydispersity, while the lower zeta potential values were present in CW_XG_LG1.25% (Table 1). All studied carnauba wax nanoemulsions had larger size droplets, higher polydispersity and zeta potential values than those reported by Jo et al. (2014) and (Ohashi et al., 2015).

The qualitative attributes of 'Rohde' oranges were influenced by coating treatments. After 1 month storage, differences in CI index were observed among treatments, reflecting the incidence and intensity of the symptoms. Oranges coated showed lower CI index (Fig. 1). Our results are in agreement with those reported by Dou (2004) and Mejía-Torres et al. (2009) in grapefruit and tomato, respectively, in which coatings containing carnauba wax reduced chilling injury symptoms. However, with storage time, CI index values increased and differences between treatments disappeared.

The CCI values were significantly lower for the control fruits on day 0 and during storage at 5 °C and following shelf life, which suggests that all coatings had effect on the orange color (Fig. 2A). Fruits coated with CW1% and CW_XG_LG1.25% increased CCI values in shelf life, which could be associated with the ripening of those fruits.

The orange ripening index was affected by the coatings applied, the storage time at 5°C and the shelf life (Fig. 2B). The ripening index increased during storage at 5°C and following shelf life in all treatments, however the tested coatings seem to delay the ripening since the control fruit almost always tended to present highest ripening index values.

During storage, firmness decreased in all coated and uncoated fruits. However, after 1 month and until the end of storage, uncoated oranges tend to remained firmer than coated ones (Fig. 3A). The same pattern is present in the shelf life period.

The changes in EL can be used as indicator of cellular membrane integrity during storage and shelf-life, and usually increase gradually during ripening (Antunes and Sfakiotakis, 2008). Effectively, during storage and also in shelf life, there was an increase in EL values (Fig. 3B). However, unexpectedly the uncoated fruits tended to present similar or lower EL values than the coated fruits.

CONCLUSION

The nanoemulsions used in this work as a coating for 'Rohde' oranges seems to have some effect on slowing down the ripening process, coated fruits showed lower ripening index than control. Similarly, promote lower weight loss than control from 2 months storage plus shelf life. Although with small effect, coatings did show lower chilling disorders as compared to control fruits till 2 months storage. More research is needed on the concentrations of the edible coatings components to find an appropriate coating that effectively reduce chilling injury in stored oranges.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research received financial support from the EU (FEDER funds through COMPETE) and National Funds (Fundação para a Ciência e Tecnologia, Ministério da Educação e Ciência, and Universidade do Algarve) through 'Concurso Estímulo ao

Emprego Científico na Modalidade de Apoio Institucional' CEECINST/00146/2018/CP1493/CT0003 and MED strategic project UIDP/05183/2020.

REFERENCES

- Antunes, M.D.C. and Sfakiotakis, E.M., 2008. Changes in fatty acid composition and electrolyte leakage of 'Hayward' kiwifruit during storage at different temperatures. *Food Chem.* 110, 891–896. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2008.02.089>
- Dou, H. (2004). Effect of coating application on chilling injury of grapefruit cultivars. *HortScience* 39 (3), 558–561 <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.39.3.558>.
- Duarte, A., 2012. Breves notas sobre a citricultura portuguesa. *Agrotec*, Julho: 40-44
- Gago C., Guerreiro A., Faleiro M. L., Miguel M. G. and Antunes M. D., 2021. Stored 'Galia' melon quality affected by edible nano-coatings enriched with essential oils. *Acta Hortic.*, 1327, 583-589. DOI 10.17660/ActaHortic.2021.1327.77.
- Ghasemnezhad, M., Marsh, K., Shilton, R., Babalar, M. and Woolf, A. 2008. Effect of hot water treatments on chilling injury and heat damage in “satsuma” mandarins: Antioxidant enzymes and vacuolar ATPase, and pyrophosphatase. *Postharvest Biol. Technol.* 48: 364–371. doi:10.1016/j.postharvbio.2007.09.014
- Hagenmaier, R.D., and Baker, R.A., 1994. Wax microemulsions and emulsions as citrus coating. *J. Agric. Food Chem.* 42, 899–902 <https://doi.org/10.1021/jf00040a012>.
- Jo, W.S., Song, H.Y., Song, N.B., Lee, J.H., Min, S.C., and Song, K., 2014. Quality and microbial safety of "Fuji" apples coated with carnauba-shellac wax containing lemongrass oil. *Lebensm. Wiss. Technol.* 55 (2), 490–497 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.10.034>.
- McClements, D.J., Henson, L., Popplewell, L.M., Decker, E.A., and Choi, S.J., 2012. Inhibition of Ostwald ripening in model beverage emulsions by addition of poorly water soluble triglyceride oils. *J. Food Sci.* 77 (1), C33–C38 <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02484.x>. PubMed
- Mejía-Torres, S., Vega-García, M., Valverde-Juárez, J., López-Valenzuela, J., and Caro-Corrales, J., 2009. Effect of wax application on the quality, Lycopene content and chilling injury of tomato fruit. *J. Food Qual.* 32 (6), 735–746 <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2009.00284.x>.
- Ohashi, T. L., Pilon, L., Spricigo, P. C., Miranda, M., Corrêa, D., Souza, and Ferreira, M. D., 2015. Postharvest quality of 'golden' Papayas (*Carica papaya* L.) coated with carnauba wax nanoemulsions. *Rev. Iberoam. Tecnol. Postcosecha* 16 (2), 199–209.
- Otoni, C.G., Avena-Bustillos, R.J., Olsen, C.W., Bilbao-Sáinz, C. and McHugh, T.H. 2016. Mechanical and water barrier properties of isolated soy protein composite edible films as affected by carvacrol and cinnamaldehyde micro and nanoemulsions. *Food Hydrocoll.* 57: 72–79. doi:10.1016/j.foodhyd.2016.01.012
- Pires, R., Afonso, A.M., Cavaco, A.M., Panagopoulos, T. and Guerra, R. 2016. A possible upgrade of the Algarve Citrus protected geographical indication norm. *Actas Port. Hortic.* 28: 159–166.

Porat, R., Weiss, B., Cohen, L., Daus, A. & Aharoni, N. 2004. Reduction of postharvest disorders in citrus fruit by modified atmosphere packaging. *Postharvest Biol. Technol.* 33: 35–43. doi:10.1016/j.postharvbio.2004.01.010

Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, A., Soliva-Fortuny, R., and Martín-Belloso, O. (2015). Physicochemical characterization and antimicrobial activity of food-grade emulsions and nanoemulsions incorporating essential oils. *Food Hydrocoll.* 43, 547–556 <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.07.012>.

TABLES

Table 1. Droplet size, polydispersity index and zeta potential of nanoemulsions base in carnauba wax alone (CW1%), enriched with lemongrass (CW_LG1.25%) or together with xanthan gum and enriched with lemongrass (CW_XG_LG1.25%).

	Droplet size (nm)	Polydispersity index	Zeta potential (mV)
CW1%	135.13 b	0.23 b	-10.85 a
CW_LG1.25%	173.35 a	0.25 b	-11.58 a
CW_XG_LG1.25%	163.48 a	0.45 a	-13.95 b

Means in same column with different letters are significantly different at $p < 0.05$.

Table 2. Weight loss of ‘Rohde’ orange treated with nanoemulsions coatings carnauba wax at 1% (w/w) [CW 1%], carnauba wax at 1% + lemongrass essential oil 1.25% (w/w) [CW_LG1.25%] and carnauba wax 1% + xanthan gum 0.15 (w/w) + lemongrass essential oil (1.25 (w/w) [CW_XG_LG1.25%] and control (fruit as it comes from the field). The weight loss was calculated in the same fruit samples through storage, while for shelf-life was used the weight loss of the fruit that were removed from storage.

Measured parameter	Coating treatment	Storage period							
		At harvest		1 month		2 months		3 months	
		0d	7d	0d	7d	0d	7d	0d	7d
Weight loss	CW1%	0.0	4.2 a		3.7 a		4.3 a	7.9 a	5.3 a
	CW_LG1.25%	0.0	4.0 a	n.m.	3.2 ab	n.m.	4.5 a	14.3 a	5.4 a
	CW_XG_LG1.25%	0.0	3.6 a		3.7 a		5.6 a	23.3 a	5.9 a
	Control	0.0	2.5 b		2.1 b		7.1 a	19.2 a	8.3 a

Means in same column with different letters are significantly different at $p < 0.05$. n.m.-not measured

FIGURES

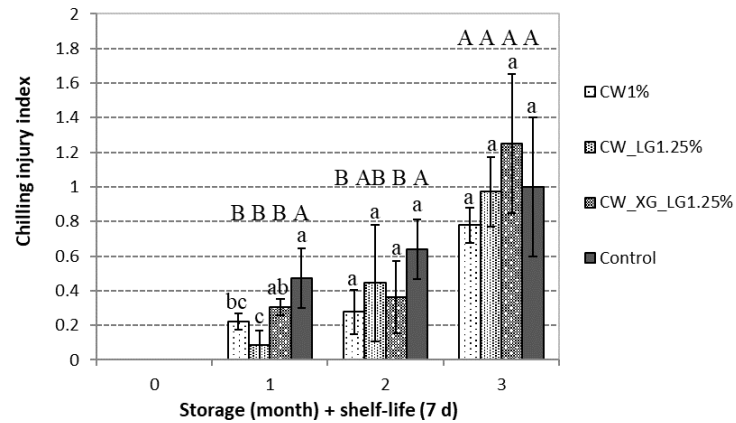


Fig. 1. Chilling injury index in ‘Rohde’ orange treated with nanoemulsions containing carnauba wax at 1% (w/w) [CW 1%], carnauba wax at 1% + lemongrass essential oil 1.25% (w/w) [CW_LG1.25%], carnauba wax 1% + xanthan gum 0.15 (w/w) + lemongrass essential oil (1.25 (w/w) [CW_XG_LG1.25%] and control (fruit as it comes from the field), after 0, 1, 2 and 3 months of cold storage plus 7 days shelf life. Bars with the same lower case in the same sampling date, and the same bar-treatment with the same upper case are not significantly different by Duncan’s multiple range test, at $p < 0.05$.

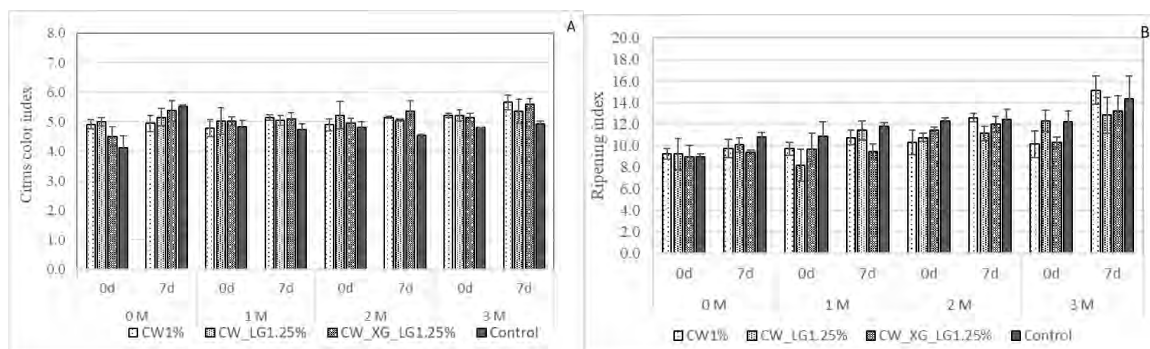


Fig. 2. Citrus color index (A) and ripening index (B) of ‘Rohde’ orange treated with nanoemulsions containing carnauba wax at 1% (w/w) [CW 1%], carnauba wax at 1% + lemongrass essential oil 1.25% (w/w) [CW_LG1.25%], carnauba wax 1% + xanthan gum 0.15 (w/w) + lemongrass essential oil (1.25 (w/w) [CW_XG_LG1.25%] and control (fruit as it comes from the field), after 0, 1, 2 and 3 months of cold storage plus 7 days shelf life.

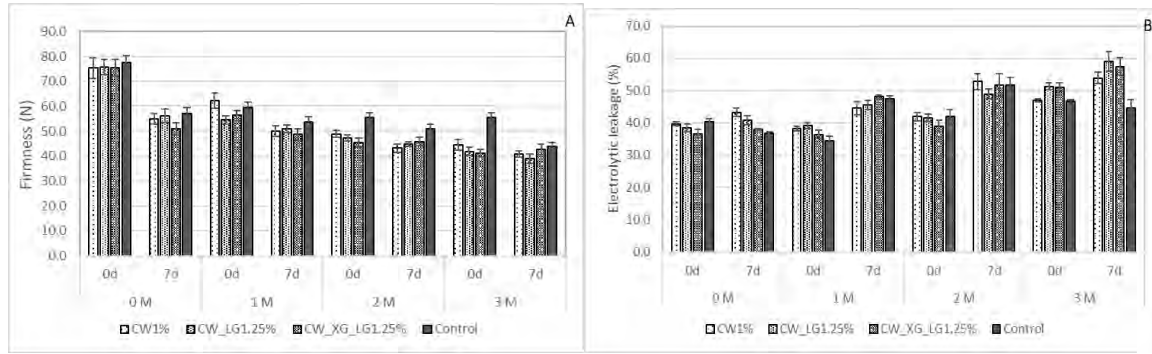


Fig. 3. Firmness (A) and electrolytic leakage (B) of ‘Rohde’ orange treated with nanoemulsions containing carnauba wax at 1% (w/w) [CW 1%], carnauba wax at 1% + lemongrass essential oil 1.25% (w/w) [CW_LG1.25%], carnauba wax 1% + xanthan gum 0.15 (w/w) + lemongrass essential oil (1.25 (w/w) [CW_XG_LG1.25%] and control (fruit as it comes from the field), after 0, 1, 2 and 3 months of cold storage plus 7 days shelf life.

Control de podredumbre ácida inducida por *Geotrichum citri-aurantii* en limones mediante timol encapsulado

V. Serna-Escolano¹, P.J. Zapata¹, S. Castillo¹, J.M. Valverde¹, M.J. Giménez¹, D. Martínez-Romero¹.

¹ Departamento de Tecnología Agroalimentaria, Centro de Investigación e Innovación Agroalimentario y Agroambiental. Universidad Miguel Hernández. Ctra. Beniel km. 3.2, 03312, Orihuela, Alicante jm.valverde@umh.es

Las restricciones al uso de fungicidas de síntesis química están forzando la búsqueda de alternativas eficientes y sostenibles. Especialmente necesarias en la postcosecha de la agricultura ecológica. El cultivo ecológico de limón tiene una gran importancia económica en el Levante Español y el uso de aceites esenciales como antifúngicos se ha demostrado eficaz. Sin embargo, pueden producir alteraciones fisiológicas por fitotoxicidad y cambios organolépticos en los frutos al aportar aromas y sabores desagradables. Un modo de evitar estos efectos indeseables es aplicar el aceite esencial en modo encapsulado, ya que así se produce una emisión paulatina. En este trabajo, se estudia previamente la técnica de encapsulación y su efecto in vitro, posteriormente se estudia el efecto de dos dosis de timol aplicado en forma de encapsulados en ciclodextrinas sobre limones inoculados con *Geotrichum citri-aurantii*. Los tratamientos fueron realizados tanto en modo preventivo como curativo. Se comprobó que las dos dosis fueron eficaces en reducir la severidad de las pudriciones provocadas por *Geotrichum* en los dos modos de aplicación. Además, a mayor dosis de timol se observó una mayor reducción de la pudrición ácida, así como una menor tasa respiratoria y pérdida de peso de los frutos. También, se comprobó que aumentaba el contenido de fenoles y la actividad de enzimas antioxidantes. Se concluye que, el uso de timol encapsulado puede ser una herramienta eficaz para el control de *Geotrichum citri-aurantii* al reducir las podredumbres y mantener la calidad de los limones en postcosecha.

Palabras clave: antifúngico, podredumbre, ciclodextrina, bioactivos

INTRODUCCIÓN

La citricultura tiene una gran importancia económica en el Levante Español, la Región de Murcia es la mayor productora de limón, junto con zonas limítrofes de Alicante y Almería. Así mismo, la producción ecológica de limón está teniendo un fuerte incremento en los últimos años. Durante la postcosecha las principales podredumbres son producidas por hongos del género *Penicillium digitatum* y *P. italicum*, pero también se ha constatado una elevada incidencia de *Geotrichum citri-aurantii*. El fungicida sintético propiconazol es el recomendado para control de *Geotrichum spp.* (McKay et al., 2012). Los fungicidas de síntesis están siendo cada vez más limitados en la postcosecha de los cítricos convencionales, además, en agricultura ecológica está prohibido su uso. Es por ello, que es necesario implementar tecnologías eficientes y autorizables para su aplicación en la postcosecha de limones.

Los terpenos, como el timol, procedentes de aceites esenciales de plantas aromáticas han demostrado su eficacia como agentes antifúngicos. Sin embargo, su aplicación presenta problemáticas, especialmente debido a su alta volatilidad, su efecto es muy intenso, pero

poco prolongado, pueden producir fitotoxicidad en los tejidos vegetales y aportarles cambios organolépticos en el aroma (Navarro et al., 2011). Las ciclodextrinas son capaces de retener moléculas y producir una paulatina liberación de las mismas. El objetivo de este trabajo ha sido estudiar el efecto del timol encapsulado mediante dos técnicas, microondas (MO) y slurry (S) inhibiendo el crecimiento de *G. citri-aurantii* *in vitro* e *in vivo* en limones tanto en modo preventivo como curativo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Encapsulación del timol y aislamiento de *Geotrichum*. El timol fue complejado con hidroxipropil- β -ciclodextrinas (HP- β -CDs) utilizando dos metodologías de inclusión diferentes, microondas (MO) y ‘Slurry’ (S), descritas por Rodríguez-López et al., (2018). El hongo fitopatógeno *G. citri-aurantii* fue aislado de limones ‘Fino’ ecológicos con síntomas de pudrición ácida en una central hortofrutícola de Orihuela (Alicante). Se realizó una identificación morfológica y genómica, la extracción se realizó mediante kit comercial DNeasy Plant Mini (Qiagen) y la PCR se desarrolló siguiendo el protocolo publicado por White et al. (1990). Luego, las muestras fueron purificadas y secuenciadas (IpatimUp, Portugal). La identificación se realizó comparando la secuencia obtenida con la base de datos GenBank, NCBI. Se preparó una suspensión de esporas de 10^5 ml⁻¹ para realizar los ensayos *in vitro* e *in vivo* descritos a continuación:

Ensayos *in vitro*. Se realizaron estudios turbidimétricos en micro y macro cultivos de la suspensión de esporas conteniendo timol encapsulado a diferentes concentraciones 2,5, 5, 12, 25 y 50 mM. Se determinó la dosis efectiva (DE₅₀), que es la concentración de timol necesaria para reducir el crecimiento del hongo un 50 %, la concentración inhibitoria mínima (CIM) o concentración fungistática a la cual se inhibe el crecimiento del microorganismo un 90 %, y la concentración mínima fungicida (CMF) que es la que disminuye un 99,9 % el crecimiento del hongo.

Para calcular la inhibición del crecimiento microbiano (ICM) se utilizó el método de crecimiento de discos de hongos. Para ello se utilizaron placas Petri con PDA con distintas concentraciones de aceites esenciales encapsulados, siguiendo el método descrito por Fraternali et al. 2003. Determinando la concentración mínima para reducir el crecimiento del micelio del hongo en la placa hasta un 90 % de diámetro (Serna-Escolano et al., 2019).

Ensayos *in vivo*. Se utilizaron limones ecológicos variedad ‘Fino’ sanos y recién recolectados de una parcela en Orihuela (Alicante). Se aplicó timol-HP- β -CD a concentraciones de 25 y 50 mM, antes (preventivo) y después (curativo) de realizar la inoculación con *G. citri-aurantii*. Se utilizó propiconazol como fungicida de referencia. Las condiciones de almacenamiento fueron oscuridad, 20 °C y 80 % humedad relativa, los limones se evaluaron cada 5 días durante 15 días (Serna-Escolano et al. 2020). Se determinó incidencia y severidad de podredumbres, pérdidas de peso, tasa respiratoria y contenido en fenoles totales (CFT). Además, la actividad de las enzimas antioxidantes (CAT, POD y APX) en el flavedo se cuantificó según lo descrito por Zapata et al. (2014), Valverde et al. (2015) y Martínez-Esplá et al. (2017).

Todos los resultados son el promedio de 3 repeticiones. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA), test de múltiple rango Duncan y HSD Tukey. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas en $p < 0,05$. Se utilizó el software SPSS v.22.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento, identificación y preparación del inóculo. Conforme a las características morfológicas observadas en colonias aisladas el hongo fue identificado como *Geotrichum spp.* Tras la extracción y secuenciación del ADN los fragmentos amplificados mostraron una similitud del 99 % y 97 % respectivamente con la combinación de cebadores, ITS5 + ITS4 y ITS1 + ITS4 al ser comparados con la secuencia de la cepa *G. citri-aurantii* del GenBank con nº EU131181.1

Ensayos *in vitro*: El timol encapsulado mediante el método MO fue más efectivo que el S inhibiendo el hongo (Tabla 1). Mostrando una dosis efectiva ($ED_{50} = 1.16$ mM) más baja que S ($ED_{50} = 2.07$ mM). También, resultó más eficaz el método MO en la concentración inhibitoria mínima (CIM = 5,06 mM para MO respecto a CIM = 9,47 mM para S) y la concentración mínima fungicida (CMF = 52,6 mM para MO y CMF = 67,7 mM para S). Así mismo, el timol encapsulado con MO fue más efectivo reduciendo un 90% del diámetro del crecimiento del micelio en placa (ICM) (5,0 mM) respecto a S (5,5 mM). Además, en ambos casos, los encapsulados mostraron un efecto más persistente que el timol en su forma natural. Este efecto coincide con la revisión de estudios anteriores con este aceite esencial sin encapsular donde la persistencia fue más baja (Martínez-Romero et al., 2007; Castillo et al., 2014).

Ensayos *in vivo*: Las dos concentraciones de 25 y 50 mM se compararon con el fungicida químico propiconazol. Se realizaron experimentos para estudiar el efecto preventivo, donde primero se aplicó el timol y posteriormente se realizó la inoculación del hongo en limones, y experimentos para estudiar el efecto curativo, donde primero se inoculó el hongo en los limones y después se aplicaron los tratamientos con timol encapsulado. Ambas dosis produjeron una reducción dosis dependiente en la incidencia y severidad del desarrollo de *G. citri-aurantii* en los limones almacenados. El tratamiento preventivo y curativo con 50 mM ($25,67 \pm 2,99$ %, $40,33 \pm 10,79$ %) fue el más efectivo, reduciendo la pudrición ácida incluso más que el propiconazol ($55,00 \pm 00,1$ %, $62,33 \pm 2,99$). Los tratamientos también redujeron la tasa de respiración y la pérdida de peso en el almacenamiento (Tabla 2). Además, el timol incrementó la concentración de fenoles totales (CFT) ($5,37 \pm 0,04$ g kg⁻¹ para 25 mM y $5,89 \pm 0,27$ g kg⁻¹ para 50 mM, equivalentes de ácido gálico), así como la actividad de los enzimas antioxidantes como ascorbato peroxidasa (APX), catalasa (CAT) y peroxidasa (POD) en la piel de los limones, obteniendo los mayores niveles en los limones tratados con 50 mM.

CONCLUSIONES

El método de inclusión por microondas (MO) en HP- β -CDs resultó más efectivo que el método Slurry (S) para inhibir el crecimiento del hongo durante los estudios *in vitro*. La dosis de 50 mM de timol encapsulado en HP- β -CDs por el método microondas (MO) puede ser una herramienta eficaz y sostenible, sustitutiva de los fungicidas químicos como el propiconazol, para el control de *G. citri-aurantium* en limones.

REFERENCIAS

Castillo, S., Pérez-Alfonso, C.O., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Serrano, M. and Valero, D. (2014). The essential oils thymol and carvacrol applied in the packing

- lines avoid lemon spoilage and maintain quality during storage. *Food Control* 35, 132-136.
- Fraternale, D., Giamperi, L., and Ricci, D. (2003). Chemical composition and antifungal activity of essential oil obtained from in vitro plants of *Thymus mastichina* L. *Journal of Essential Oil Research* 15(4), 278-281.
- Kader, A. A. (1995). Regulation of fruit physiology by controlled modified atmospheres. *Acta Horticulturae* 398, 6.
- McKay, A. H., Förster, H. & Adaskaveg, J. E. (2012). Efficacy and application strategies for propiconazole as a new postharvest fungicide for managing sour rot and green mold of citrus fruit. *Plant Disease* 96, 235-242.
- Journal of Food Microbiology, 151, 241-246. Martínez-Esplá, A., Serrano, M., Valero, D., Martínez-Romero, D., Castillo, S., and Zapata, P. J. (2017). Enhancement of antioxidant systems and storability of two plum cultivars by preharvest treatments with salicylates. *International Journal of Molecular Sciences* 18, 1911.
- Martínez-Romero, D., Guillén, F., Valverde, J.M., Bailén, G., Zapata, P.J., Serrano, M., Castillo, S. and Valero, D. (2007). Influence of carvacrol on survival of *Botrytis cinerea* inoculated in table grapes. *International Journal of Food Microbiology* 115, 144–148.
- Navarro, D., Díaz-Mula, H.M., Guillén, F., Zapata, P. J., Castillo, S., Serrano, M., Valero, D., Martínez-Romero, D. (2011). Reduction of nectarine decay caused by *Rhizopus stolonifer*, *Botrytis cinerea* and *Penicillium digitatum* with *Aloe vera* gel alone or with the addition of thymol. *International Journal of Food Microbiology* 151(2), 241-246.
- Rodríguez-López, M. I., Mercader-Ros, M. T., López-Miranda, S., Pellicer, J. A., Pérez-Garrido, A., Pérez-Sánchez, H., Núñez-Delicado, E., and Gabaldón, J. A. (2019). Thorough characterization and stability of HP- β -cyclodextrin thymol inclusion complexes prepared by microwave technology: A required approach to a successful application in food industry. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 99, 1322-1333.
- Serna-Escolano, V., Serrano, M., Valero, D., Rodríguez-López, M. I., Gabaldón, J. A., Castillo, S., Guillén, F., Zapata, P. J., and Martínez-Romero, D. (2019). Effect of thymol and carvacrol encapsulated in HP- β -cyclodextrin by two inclusion methods against *Geotrichum citri-aurantii*. *Journal of Food Science* 84(6), 1513-1521.
- Serna-Escolano, V., Serrano, M., Valero, D., Isabel Rodríguez-López, M., Gabaldón, J. A., Castillo, S., Valverde, J. M., Zapata, P. J., Guillén, F., and Martínez-Romero, D. (2020). Thymol encapsulated into HP- β -cyclodextrin as an alternative to synthetic fungicides to induce lemon resistance against sour rot decay. *Molecules* 25(18), 4348.
- Valverde, J. M., Giménez, M. J., Guillén, F., Valero, D., Martínez-Romero, D., and Serrano, M. (2015). Methyl salicylate treatments of sweet cherry trees increase antioxidant systems in fruit at harvest and during storage. *Postharvest Biology and Technology* 109, 106-113.

- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In PCR Protocols A Guide to Methods and Applications. Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sminsky, J. J., and White, T. J., (Eds). Academic Press (Cambridge). 315-322.
- Zapata, P. J., Martínez-Esplá, A., Guillén, F., Díaz-Mula, H. M., Martínez-Romero, D., Serrano, M., and Valero, D. (2014). Preharvest application of methyl jasmonate (MeJA) in two plum cultivars. 2. Improvement of fruit quality and antioxidant systems during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology* 98, 115-122.

TABLAS

Tabla 1. Dosis efectiva ED₅₀, concentración inhibitoria mínima CIM, concentración mínima fungicida CMF, inhibición de crecimiento de micelio 90% ICM del timol encapsulado con HP-β-CDs (mM).

	MO	S
ED ₅₀	1,16	2,07
CIM	5,06	9,47
CMF	52,6	67,7
ICM	5,0	5,5

Tabla 2 Pérdida de peso (%) y tasa respiratoria ($\mu\text{g kg}^{-1} \text{s}^{-1}$) de los limones tratados con timol encapsulado con HP-β-CDs y propiconazol, ensayo preventivo tras 15 días a 20 °C.

	% pérdida peso	tasa respiratoria
Control	17,55 ± 0,92	19,00 ± 1,95
25 mM	14,81 ± 0,18	8,25 ± 0,19
50 mM	13,91 ± 0,31	8,70 ± 0,26
Propiconazol	16,32 ± 0,31	9,82 ± 0,39

Efecto del tratamiento de cerezos con GABA sobre la calidad de la cereza en la recolección y durante la conservación

M. Serrano¹, A. Carrión-Antolí², F. Guillén², D. Martínez-Romero², J.M. Valverde², D. Valero²

¹Dpto. Biología Aplicada, Escuela Politécnica Superior-CIAGRO, Universidad Miguel Hernández, Ctra. Beniel, km 3,2, 03312, Orihuela (Alicante), Spain. m.serrano@umh.es

²Dpto. Tecnología Agroalimentaria, Escuela Politécnica Superior-CIAGRO, Universidad Miguel Hernández, Ctra. Beniel, km 3,2, 03312, Orihuela (Alicante), Spain.

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del tratamiento de los cerezos de la variedad ‘Prime Giant’ con GABA (10, 50 y 100 mM), en tres momentos clave del desarrollo del fruto, sobre la calidad de las cerezas en el momento de la recolección y durante su conservación posterior a 2 °C. El experimento se realizó en dos años consecutivos, 2019 y 2020. Los resultados mostraron que los tratamientos con GABA incrementaron la concentración de sólidos solubles y la firmeza en el momento de la recolección, de manera dosis dependiente, y estas diferencias se mantuvieron durante la conservación. Las pérdidas de firmeza y de acidez, que ocurrían durante la conservación fueron significativamente menores en las cerezas procedentes de los árboles tratados. Finalmente, la concentración de fenoles y de antocianinas totales fue mayor en las cerezas tratadas que en las control, tanto el día de la recolección como durante todo el periodo de conservación, aunque los mayores efectos incrementos se encontraron en las tratadas con GABA 50 mM. Por tanto, se concluye que los tratamientos con GABA, a 50 mM, podrían ser una herramienta eficaz y sin riesgos para el medioambiente para mantener la calidad de las cerezas durante su conservación post-recolección, así como su contenido en compuestos bioactivos con beneficios para la salud.

Palabras clave: *Prunus avium* L., acidez, firmeza, antocianinas, fenoles.

INTRODUCCIÓN

La cereza es un fruto muy apreciado por los consumidores, por su elevada calidad organoléptica (Carrión-Antolí et al., 2022a) y su alto contenido en compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes y beneficios para la salud (Blando et al., 2019; Faienza et al., 2020). Sin embargo, las cerezas son frutos muy perecederos y pierden su calidad rápidamente durante la conservación, por lo que es necesario encontrar tratamientos y/o tecnologías de conservación adecuadas que permitan incrementar sus posibilidades de conservación con una calidad óptima. Algunos efectos beneficiosos se han obtenido con recubrimientos comestibles (Díaz-Mula et al., 2012) o tratamientos con salicilatos en post- (Valero et al., 2011) o en pre-recolección (Giménez et al., 2017).

El ácido γ -amino-aminobutírico (GABA) es un aminoácido no proteico, con un grupo amino en el carbono γ , que tiene diferentes efectos sobre el desarrollo vegetal, fundamentalmente induciendo la resistencia de la planta frente a estreses ambientales, como salinidad, sequía, calor y frío (Shelp et al., 2017; Li et al., 2021). Además, el GABA tiene efectos beneficiosos sobre la post-recolección de los frutos, como retrasar su

senescencia e incrementar su tolerancia a los daños por frío, con el consiguiente mantenimiento de su calidad durante el almacenaje (Aghdam et al., 2019; Shelp et al., 2017; Niazi et al., 2021; Ge et al., 2018). Sin embargo, no existe información sobre su posible efecto en la calidad de la cereza, bien aplicado en pre- o en post-recolección. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del tratamiento con GABA (10, 50 y 100 mM) de los cerezos de la variedad ‘Prime Giant’, en tres momentos clave del desarrollo del fruto, sobre la calidad de las cerezas en el momento de la recolección y durante su conservación a 2 °C.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y diseño de los experimentos: Los experimentos se realizaron en una finca comercial, localizada en Jumilla (Murcia, Spain, UTMX: 463.700 UTM Y: 4.268.900) con la variedad ‘Prime Giant’ (*Prunus avium* L.), injertada sobre SL-64 en los años 2019 y 2020. Se usaron 3 bloques al azar de 3 árboles para cada uno de los tratamientos (control y GABA a 10, 50 y 100 mM). Los tratamientos se aplicaron con una máquina pulverizadora manual (3 L por árbol) y en tres momentos claves del desarrollo del fruto (cuaje, cambio de color y 3 días antes de la recolección). Las cerezas se recolectaron en estado de maduración y una muestra de cada tratamiento se llevó al laboratorio donde se hicieron lotes de 20 frutos para su conservación a 2 °C.

Determinaciones analíticas: Las pérdidas de peso se determinaron en cada lote y el color y la firmeza individualmente en cada fruto, según se indica en Carrión-Antolí, 2022-b). Después las cerezas de cada lote se trocearon para obtener una muestra homogénea en la que se midió por duplicado su contenido en sólidos solubles totales, acidez total, fenoles y antocianinas según la metodología descrita en trabajos previos (Giménez et al., 2017; Carrión-Antolí et al., 2022a; b).

Análisis estadístico: Se realizó un análisis ANOVA, utilizando el SPSS v. 22.0, para cada año y las fuentes de variación fueron tratamiento y tiempo de almacenaje. Se calcularon las diferencias mínimas significativas, (LSD) a $p < 0.05$ y los valores se muestran en las figuras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los tratamientos con GABA disminuyeron las pérdidas de peso durante la conservación, que alcanzaron valores próximos al 10% en los frutos de los árboles control del 6-7% en los de los árboles tratados al final del periodo de almacenaje. Los valores de SST en el momento de la recolección fueron significativamente más altos ($p < 0.05$) en las cerezas de los árboles tratados que en las de los controles y aunque sólo aumentaron ligeramente durante la conservación, se mantuvieron en valores más elevados hasta el último día de almacenaje (datos no mostrados). Los niveles de AT en la recolección también fueron incrementados por los tratamientos y disminuyeron durante la conservación, aunque estas pérdidas de acidez se vieron retrasadas significativamente ($p < 0.05$) por los tratamientos con GABA, sin diferencias significativas entre las tres concentraciones ensayadas (datos no mostrados). Asimismo, el tratamiento con GABA incrementó los valores de firmeza en el momento de la recolección y retrasaron significativamente ($p < 0.05$) las pérdidas de firmeza durante la conservación, en los dos

años estudiados (Figura 1). Estos resultados muestran que los tratamientos con GABA incrementan los parámetros de calidad organoléptica de las cerezas en el momento de la recolección, ya que se obtienen frutos con mayor dulzor, mayor acidez y frescura y mayor firmeza. Además, las pérdidas de peso, de firmeza y de acidez, características de la evolución de la senescencia de estos frutos (Valero et al., 2011; Díaz-Mula et al., 2014, Giménez et al., 2017; Carrión-Antolí et al., 2022b) también se vieron retrasadas en las cerezas de los árboles tratados con respecto a los controles.

Por otra parte, la concentración de antocianinas totales fue significativamente mayor ($p < 0.05$) en las cerezas de los árboles tratados con GABA que en las de los árboles control, tanto en el momento de la recolección como durante su conservación en frío, en los dos años y siendo la concentración más efectiva la 50 mM (Figura 2). Un efecto similar se encontró sobre la concentración de fenoles totales (datos no mostrados). No existen publicaciones previas sobre el efecto de los tratamientos precosecha con GABA sobre los parámetros de calidad y el contenido en compuestos bioactivos de los frutos, aunque sí que existen algunos en los que el GABA se ha aplicado en postcosecha. Así por ejemplo, el tratamiento con GABA mediante inmersión durante unos minutos incrementó el contenido en fenoles y antocianinas en uva de mesa, lo que se atribuyó a una menor actividad polifenol oxidasa (Asgarian et al., 2022). Asimismo, los tratamientos con GABA por inmersión mantuvieron mayores niveles de fenoles y de antocianinas en la naranja sanguina (Habibi et al, 2020) durante el almacenaje en frío y en frutos de cornejo macho (*Cornus mas L.*) (Aghdam et al., 2019), y esos efectos fueron atribuidos a una mayor actividad de la enzima fenilalanina amonio liasa. Así pues, el tratamiento con GABA conllevaría un aumento de las propiedades antioxidantes y beneficios para la salud por incrementar estos compuestos bioactivos (Blando et al., 2019; Faienza et al., 2020).

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio permiten concluir que los tratamientos de los cerezos con GABA a 50 mM en momentos claves del desarrollo del fruto podrían ser una herramienta eficaz para incrementar los parámetros de calidad en el momento de la recolección y retrasan los procesos de senescencia durante su conservación en frío, manteniendo la calidad y el contenido en compuestos antioxidantes con beneficios para la salud.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación del proyecto RTI2018-099664-B-I00 al Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades la y a los Fondos Europeos de Desarrollo Regional (FEDER), al Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades la beca predoctoral de A. Carrión-Antolí y a la empresa Fincas Toli Frutas S.L. la disposición de las parcelas para realizar los experimentos.

BIBLIORAFÍA

Aghdam, M.S., Kakavand, F., Rabiei, V., Zaare-Nahandi, F., Razavi, F., 2019. γ -Aminobutyric acid and nitric oxide treatments preserve sensory and nutritional quality

- of cornelian cherry fruits during postharvest cold storage by delaying softening and enhancing phenols accumulation. *Sci. Hort.* 246, 812-817. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.11.064>
- Asgarian, Z.S., Karimi, R., Ghabooli, M., Maleki, M., 2022. Biochemical changes and quality characterization of cold-stored 'Sahebi' grape in response to postharvest application of GABA. *Food Chem.* 373, 131401. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131401>
- Blando, F., Oomah, B.D. 2019. Sweet and sour cherries: origin, distribution, nutritional composition and health benefits. *Trends Food Sci. Technol.* 86, 517-529. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.052>
- Carrión-Antolí, A., Lorente-Mento, J.M., Valverde, J.M., Castillo, S., Valero, D., Serrano, M. 2022a. Effects of melatonin treatment on sweet cherry tree yield and fruit quality. *Agronomy*, 12(1),3. <https://doi.org/10.3390/agronomy12010003>
- Carrión-Antolí, A., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Zapata, P.J., Serrano, M., Valero, D. 2022b. Melatonin pre-harvest treatments leads to maintenance of sweet cherry quality during storage by increasing antioxidant systems. *Frontiers Plant Sci.* 13,863467. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.863467>
- Díaz-Mula, H.M., Serrano, M., Valero, D. (2012). Alginate coatings preserve fruit quality and bioactive compounds during storage of sweet cherry fruit. *Food Bioprocess Tech.* 5, 2990-2997. DOI 10.1007/s11947-011-0599-2.
- Faienza, M.F., Corbo, F., Carocci, A., Catalano, A., Clodoveo, M.L., Grano, M., Wang, D.Q.H. D'Amato, G., Muraglia, M., Franchini, C., Brunetti, G., Portincasa, P. 2020. Novel insights in health-promoting properties of sweet cherries. *J. Funct. Foods*, 69, 103945. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103945>
- Ge, Y., Duan, B., Li, C., Tang, Q., Li, X., Wei, M., Chen, Y., Li, J., 2018. γ -Aminobutyric acid delays senescence of blueberry fruit by regulation of reactive oxygen species metabolism and phenylpropanoid pathway. *Sci. Hort.* 240, 303-309. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.06.044>
- Giménez, M.J., Serrano, M., Valverde, J.M., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Valero, D., Guillén, F. 2017. Preharvest salicylic acid and acetylsalicylic acid treatments preserve quality and enhance antioxidant systems during postharvest storage of sweet cherry cultivars. *J. Sci. Food Agric.* 97, 1220-1228. <https://doi.org/publicaciones.umh.es/10.1002/jsfa.7853>
- Li, L., Dou, N., Zhang, H., Wu, C., 2021. The versatile GABA in plants. *Plant Signal. Behav.* 16, 862565. <https://doi.org/publicaciones.umh.es/10.1080/15592324.2020.1862565>
- Niazi, Z., Razavi, F., Khademi, O., Aghdam, M.S., 2021. Exogenous application of hydrogen sulfide and γ -aminobutyric acid alleviates chilling injury and preserves quality of persimmon fruit (*Diospyros kaki*, cv. Karaj) during cold storage. *Sci. Hort.* 285, 110198. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110198>
- Shelp, B. J., Bown, A. W., Zarei, A., 2017. γ -Aminobutyrate (GABA): A metabolite and signal with practical significance. *Botany*. 95, 1015-1032. <https://doi.org/10.1139/cjb-2017-0135>

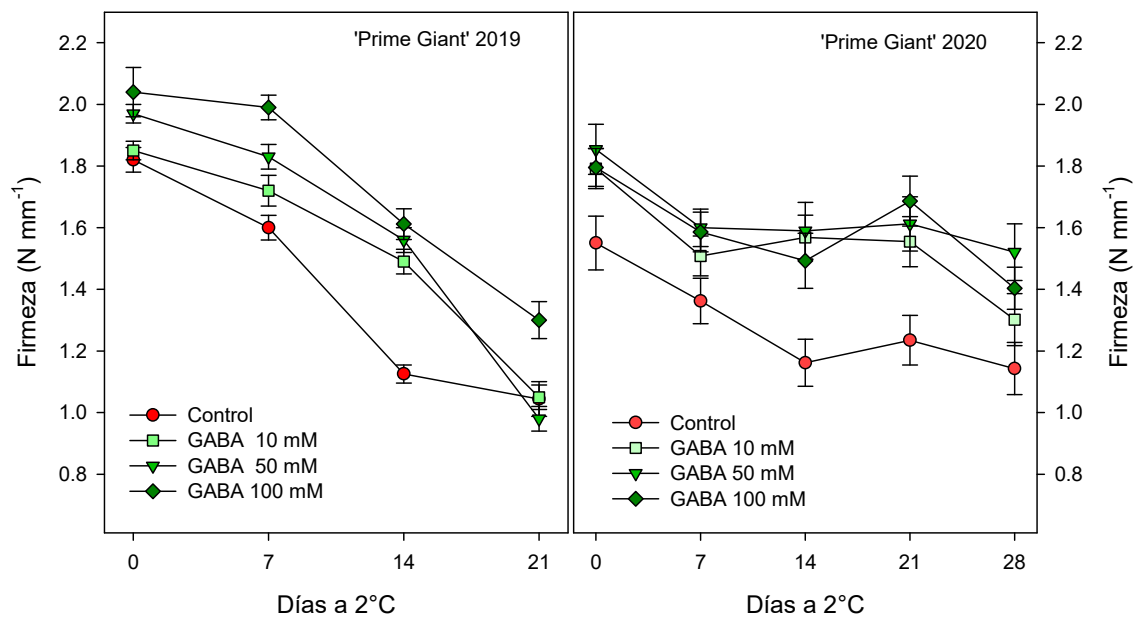


Figura 1: Evolución de la firmeza de las cerezas procedentes de los árboles control o de los tratados con γ -amino-aminobutírico (GABA) durante su conservación. Los datos son la media \pm SE. LSD=0,034 y 0,057 para 2019 y 2020, respectivamente.

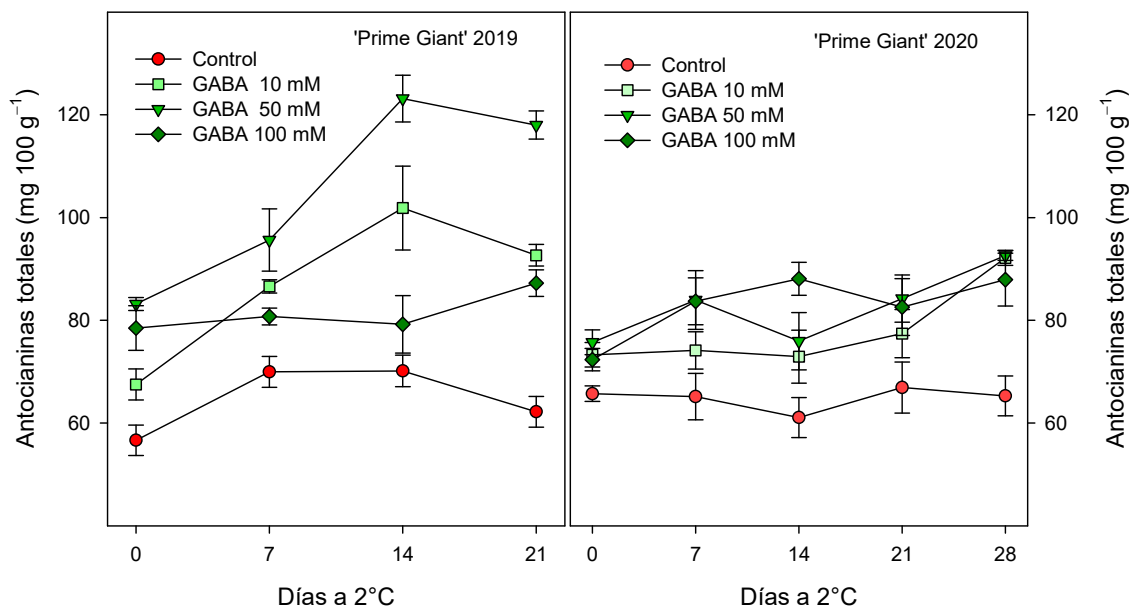


Figura 2: Evolución del contenido en antocianinas totales en las cerezas procedentes de los árboles control o de los tratados con γ -amino-aminobutírico (GABA) durante su conservación. Los datos son la media \pm SE. LSD=2,94 y 3,19 para 2019 y 2020, respectivamente.

Calidad del fruto y daños por frío en la colección de melocotonero de la Estación Experimental de Aula Dei-CSIC

A. Navarro, R. Giménez, C.M. Cantín, J. Val, M.A. Moreno*

Estación Experimental de Aula Dei (Consejo Superior de Investigaciones Científicas),
Avda. Montañana 1005, 50059 Zaragoza, *mmoreno@eead.csic.es

Resumen

Los melocotones y nectarinas son frutos climatéricos que maduran y se deterioran rápidamente. Su conservación en cámaras frigoríficas a baja temperatura puede aumentar el periodo de conservación. Sin embargo, es muy frecuente la aparición de los conocidos ‘daños por frío’ que se manifiestan cuando el fruto llega al consumidor. La variabilidad genética existente en una colección de germoplasma de melocotonero y nectarina puede contribuir a determinar las variedades con una menor susceptibilidad, así como profundizar en los mecanismos responsables de dichas anomalías. Por ello, el objetivo de este estudio fue la evaluación de la susceptibilidad a sufrir daños por frío y la caracterización de los síntomas que presentan tanto variedades autóctonas españolas como otras extranjeras, que se encuentran recogidas en la colección de germoplasma de la Estación Experimental de Aula Dei (EEAD-CSIC). Así, en 108 variedades se determinó la aparición e intensidad de dichos síntomas, tras dos y cuatro semanas de almacenamiento de la fruta en cámara frigorífica a 5°C, como temperatura inductora de daños por frío. Además, se determinaron los parámetros básicos de calidad del fruto (acidez valorable, firmeza, contenido en sólidos solubles), compuestos bioquímicos (contenido total de fenoles y antocianinas) y actividad enzimática de la fenilalanina amonio-liasa (PAL), tanto en el momento de la cosecha como tras su conservación en cámara frigorífica. La relación de las anomalías observadas con los compuestos bioquímicos determinados en las 108 variedades consideradas demostró la influencia de su origen y base genética en la incidencia de los desórdenes fisiológicos observados en el fruto.

Palabras clave: antocianinas, fenoles, harinosidad, pardeamiento, PAL

INTRODUCCIÓN

Los melocotones [*Prunus persica* (L.) Batsch] y nectarinas [*P. persica* (L.) Batsch, var. nectarina] son frutos climatéricos que maduran a temperatura ambiente una vez separados del árbol. Para evitar su deterioro y aumentar la vida comercial, se almacenan a bajas temperaturas. Sin embargo, es frecuente la aparición de anomalías (pardeamiento, enrojecimiento de piel y pulpa, harinosidad, granulosis, cuerosidad y falta de sabor del fruto) conocidas como daños por frío (Lurie y Crisosto, 2005).

Dada la importancia económica del melocotón, es necesaria la selección de variedades menos susceptibles a los daños por frío. Anteriores estudios han caracterizado la diversidad fenotípica de la colección de melocotonero en la EEAD-CSIC, encontrando diferencias en el comportamiento agronómico, parámetros básicos de calidad y compuestos antioxidantes (Font i Forcada et al., 2014, 2019) y por tanto, demostrando la existencia de oportunidades genéticas para la mejora. Sin embargo, se necesita profundizar en el

conocimiento y estudios en post-cosecha para determinar el efecto de las variedades en función de sus características.

MATERIAL Y MÉTODOS

En la colección de germoplasma de la EEAD-CSIC, se han estudiado 108 variedades (51 españolas y 57 extranjeras), injertadas en el patrón 'Adesoto 101'.

Para cada variedad, se cosecharon muestras de 60 frutos procedentes de 3 árboles en el momento de su maduración fisiológica. Tras la conservación en frío, durante 14 y 28 días a 5°C más dos días de frutero, se evaluó visualmente el pardeamiento, con una escala de 1 a 6; la harinosidad, de 1 a 3; y la cuerosidad, en tanto por 1 (Lurie y Crisosto, 2005).

Además, se analizaron los parámetros de calidad básica: firmeza (N), contenido en sólidos solubles (°Brix) y acidez valorable (mg ácido málico/g peso seco); y parámetros bioquímicos: contenido total de fenoles (mg de ácido gálico equivalentes/g PS) y contenido en antocianinas (μg cianidina-3-glucóxico equivalentes/g PS). También se determinó la actividad de la fenilalanina amonio-liasa (PAL) y se expresó en unidades de actividad enzimática (U). Una U equivale a un aumento de 0,01 de absorbancia por minuto.

Las diferencias observadas según el origen de los genotipos y los tratamientos en cámara frigorífica a 5°C se analizaron estadísticamente mediante el programa IBM SPSS Statistics 27.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encontraron diferencias significativas tanto para el efecto del origen del genotipo como para el de tratamiento de conservación en frío, en gran parte de los parámetros estudiados (Tabla 1), como ya fue mencionado por Fabiane et al. (2015).

Las variedades españolas presentaron ligeramente mayor harinosidad y las extranjeras mayor cuerosidad (Figuras 1C y 1D). Además, el pardeamiento y harinosidad se correlacionaron positivamente ($r=0,300^{**}$) de acuerdo con Cantín et al. (2010).

El contenido en sólidos solubles (CSS) y la acidez valorable (AV) disminuyeron durante la conservación en frío ya que los ácidos orgánicos son consumidos en la respiración. Además, la AV en la cosecha se correlacionó negativamente con el pardeamiento a 28d ($r=-0,300^{**}$).

El contenido en fenoles (CTF) fue menor, en general, en las variedades extranjeras, pero para ambos grupos (españolas y extranjeras) disminuyó con el almacenamiento a 5°C. El descenso puede ser debido a su oxidación. Sin embargo, no hubo diferencias significativas para el pardeamiento, a pesar del mayor contenido en fenoles de las variedades españolas (Figuras 1A y 1B). Por otro lado, el CTF en el momento de cosecha se correlacionó positivamente con la harinosidad a 14 ($r=0,587^{**}$) y 28d ($r=0,449^{**}$).

El contenido en antocianinas (CA) aumentó con el tratamiento, posiblemente debido al enrojecimiento de la pulpa por el almacenamiento en frío. Además, los valores de antocianinas eran mayores a los 14 que a los 28 días, y las variedades locales mostraron mayor tendencia a sufrir enrojecimiento. El CA en el momento de la cosecha, se correlacionó positivamente con el enrojecimiento observado a 14d ($r=0,311^{**}$) y la harinosidad a 28d ($r=0,307^{**}$).

La actividad de la enzima PAL aumentó con el periodo de conservación probablemente como respuesta al estrés oxidativo. La PAL es una enzima implicada en la biosíntesis de compuestos fenólicos. Por ello se correlacionó positivamente con el CTF ($r=0.512^{**}$) y con el pardeamiento ($r=0.306^{**}$) a 14d.

Otros compuestos en curso de análisis, como el contenido total de flavonoides y vitamina C, así como la actividad enzimática de otras enzimas, como la POX y PPO, o el perfil en azúcares y ácidos orgánicos, ayudarán a la comprensión del comportamiento de las variedades estudiadas frente a los daños por frío.

CONCLUSIONES

El origen de las variedades estudiadas ha demostrado ser significativo para el contenido en antioxidantes, la actividad enzimática de la PAL, así como para algunos de los daños por frío en post-cosecha. El pardeamiento no fue estadísticamente significativo según dicho origen. Sin embargo, se observó una ligera mayor harinosidad en variedades españolas y una mayor cuerosidad en extranjeras.

Algunos de los parámetros estudiados en el momento de la cosecha se correlacionaron con los daños por frío observados en post-cosecha, demostrando la posibilidad de su control en fases anteriores.

Esta información será de gran utilidad para futuros programas de mejora en el desarrollo de variedades con menor susceptibilidad a daños por frío y con una buena calidad de fruto.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido financiado por el proyecto RTI-2018-094176-R-C33 financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033, cofinanciado por “ERDF una manera de hacer Europa”, y por el Gobierno de Aragón (A44, T07_17R, A22_20R).

BIBLIOGRAFÍA

- Cantín, C., Crisosto, C.H., Ogundiwin, E., Gradziel, T., Torrents, J., Moreno, M.A. y Gogorcena, Y. (2010). Chilling injury susceptibility in an intra-specific peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] progeny. *Postharvest Biol. Technol.* 58. <http://79-87.10.1016/j.postharvbio.2010.06.002>.
- Fabiane K.C., Reig G., Dotto M., Wagner A. y Moreno M.A. (2015). Comportamiento y susceptibilidad a los daños por frío en postcosecha de variedades españolas de melocotonero. *Actas de Horticultura* 71, 316-319.
- FAOSTAT (2022). Food and Agricultural Organization. <https://faostat.fao.org/>.
- Font i Forcada, C., Gradziel, T.M., Gogorcena, Y. y Moreno, M.A. (2014). Phenotypic diversity among local Spanish and foreign peach and nectarine [*Prunus persica* (L.) Batsch] accessions. *Euphytica* 197, 261–277. <http://doi.org/10.1007/s10681-014-1065-9>.
- Font i Forcada, C., Guajardo, V., Chin-Wo, S.R. y Moreno, M.A. (2019). Association mapping analysis for fruit quality traits in *Prunus persica* using SNP markers. *Front. Plant Sci.* 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.02005>.

Lurie, S. y Crisosto, C.H. (2005). Chilling injury in peach and nectarine. *Postharvest Biol. Technol.* 37, 195–208. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.04.012>

Tabla 1. ANOVA bidireccional para los daños por frío y parámetros relacionados.

	Origen	Tratamiento	Origen x Tratamiento
Índice de pardeamiento	ns	***	ns
Índice de harinosidad	*	*	ns
Índice de cuerosidad	*	ns	ns
Firmeza (N)	ns	ns	ns
CSS (mg SS/ g PS)	ns	*	ns
AV (mg AM/ g PS)	ns	***	ns
CTF (mg AGE/ g PS)	***	***	ns
CA (μ g C3GE/ g PS)	*	**	*
PAL (U/ g proteína)	**	ns	ns

* indica $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$ y ns, no significativo. N indica Newtons; PS, Peso Seco; CSS, Contenido en Sólidos Solubles; AV, Acidez Valorable; AM, Ácido Málico; CTF, Contenido total de fenoles; AGE, Ácido Gálico Equivalentes; CA, Contenido en Antocianinas; C3GE, Cyanidina-3-Glucóxico Equivalentes; PAL, Fenilalanina Amonio-Liasa; y U, Unidades de actividad enzimática.

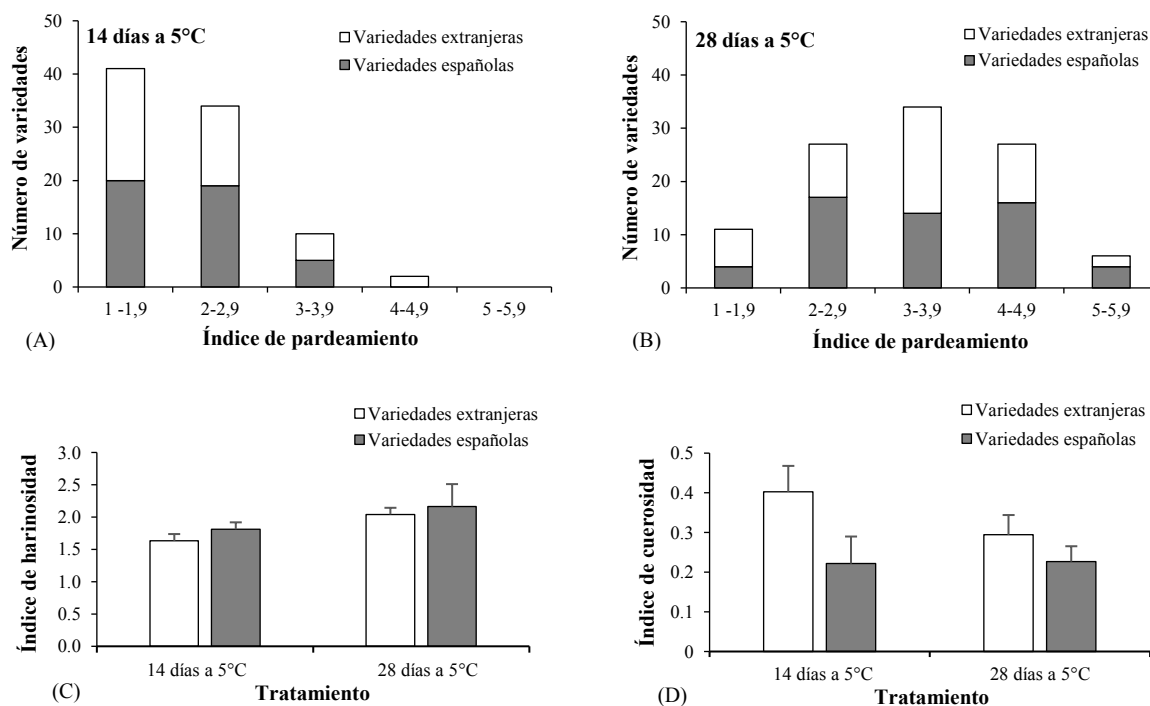


Fig. 1. Daños por frío en variedades de melocotón y nectarina dependiendo del origen (españolas o extranjeras) tras 14 y 28 días a 5°C, más 2 días de frutero. (A) Índice de pardeamiento a 14 días. (B) Índice de pardeamiento a 28 días. (C) Índice de harinosidad a 14 y 28 días. (D) Índice de cuerosidad a 14 y 28 días.

Los tratamientos precosecha con putrescina reducen el agrietado y mejoran la calidad de las cerezas (*Prunus avium* L.)

M.C. Ruiz-Aracil, J.M. Valverde, J.M. Lorente-Mento, A. Carrión-Antolí, Domingo Martínez-Romero, F. Guillén

Grupo de Investigación en Post-recolección de Frutas y Hortalizas. CIAGRO, Universidad Miguel Hernández. Carretera de Beniel, km 3.2. (Orihuela) Alicante. maria.ruiza@umh.es.

Resumen

Las cerezas son frutas con una alta importancia a nivel nacional cuya producción es destinada para el consumo en fresco. Sin embargo, las producciones de esta fruta sufren importantes mermas debido a la susceptibilidad que presentan al agrietado (cracking) especialmente en las variedades de recolección temprana. La aparición de lluvias en estados avanzados de desarrollo compromete la integridad de la cereza y su calidad, ocasionando importantes pérdidas económicas. La contribución de este trabajo se centra en el uso de tratamientos de origen natural aplicados en momentos clave del desarrollo en las variedades ‘Prime Giant’ y ‘Sweet Heart’ con el objetivo de aportar soluciones a la problemática del agrietado de la cereza en el momento de la recolección y valorar su impacto en la calidad tras la recolección. Tras analizar los resultados comprobamos que la aplicación de putrescina 1 mM en precosecha fue capaz de reducir el impacto del agrietado de las cerezas. Además, este tratamiento fue exitoso a la hora de incrementar los niveles de firmeza, aumentando también los niveles de coloración de los frutos y manteniendo mayores niveles de acidez y sólidos solubles tras la recolección de los frutos. En este sentido, los tratamientos precosecha con putrescina podrían constituir una estrategia efectiva a la hora de incrementar la producción además de obtener frutos con mayores niveles de calidad durante su posterior almacenamiento postcosecha.

Palabras clave: Prime Giant, Sweet Heart, poliaminas, cracking, almacenamiento.

INTRODUCCIÓN

Las cerezas son frutos altamente perecederos y con vida útil reducida tras la recolección. La pérdida de calidad se debe fundamentalmente a cambios en atributos como acidez, firmeza, cambios de color y la aparición de podredumbres de tipo fúngico (Serrano et al., 2009; Serradilla et al., 2010).

Las cerezas procedentes de la IGP “Cerezas de la Montaña de Alicante”, están expuestas a un mayor número de precipitaciones debido a la orografía. Este alto número de precipitaciones puede afectar al rajado de las cerezas especialmente si las lluvias se producen en estadios del fruto cercanos a la cosecha. Este hecho incrementa la vulnerabilidad del cerezo dando lugar a pérdidas económicas cada año, ya que estos fenómenos abióticos comprometen tanto la floración de los cerezos como la integridad de los frutos (Knoche, 2015).

Se ha comprobado que la aplicación precosecha de hormonas vegetales propias de las plantas como las poliaminas es capaz de afectar a multitud de procesos metabólicos, fisiológicos y de respuesta al estrés (Fawole et al., 2020). Las poliaminas más comunes

son la putrescina, espermidina y espermina, son policationes alifáticas de bajo peso molecular cargados positivamente que están presentes en los organismos vivos. Se ha descrito, que las poliaminas son agentes antisenescentes y se ha demostrado que su aplicación reduce el ablandamiento en varias frutas. Algunos estudios demuestran que la aplicación de poliaminas no solo aumenta la vida útil de los frutos, si no que promueve el aumento del contenido de carotenoides, la reducción de la pérdida de peso y retraso en la pérdida de textura durante el almacenamiento (Singh et al., 2019; Kibar et al; 2021).

En este estudio evaluamos las posibilidades precosecha de las aplicaciones con putrescina en cerezas a la hora de reducir el agrietado de los frutos durante el desarrollo en el árbol, además de los posibles efectos beneficiosos en la calidad durante el posterior almacenamiento postcosecha.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se ha realizado en parcelas de la empresa Mas de Roc Cooperativa Valenciana pertenecientes a la IGP “Cerezas de la Montaña de Alicante” situadas en Alcoy (Alicante) en el año 2021. Mediante pulverización foliar se aplicaron los tratamientos control y putrescina 1 mM en cerezas *Prunus avium* L. de la variedad ‘Sweet Heart’ (SH) y ‘Prime Giant’ (PG) en 9 árboles (3 L/árbol). Los tratamientos se realizaron en cuatro momentos clave del desarrollo de la cereza: botón floral, plena floración, endurecimiento del hueso y cambios de color. El agrietado de los frutos en precosecha se evaluó mediante el conteo de 50 frutos por árbol en ramas marcadas a ambos lados del mismo. Además, en el momento de la cosecha se evaluó el índice de agrietado a través de inmersiones en agua de 50 frutos por tratamiento y variedad (n=3), siguiendo la metodología descrita por Christensen (1996). El día de la recolección se seleccionaron los frutos con tamaño y color homogéneo, descartándose los frutos con daños o fisiopatías. Todos los frutos se almacenaron a 2 °C y fueron evaluados tras 28 días de almacenamiento. En el estudio postcosecha, 3 muestras de 20 cerezas por lote y día de muestreo fueron sometidas a las siguientes determinaciones descritas por Serrano et al., (2009): el peso, color y la firmeza del fruto se determinaron individualmente en cada réplica de 20 cerezas (n=3). Los sólidos solubles y la acidez titulable fueron evaluados por duplicado (n=3). Finalmente, la evaluación de la calidad del pedicelo se estimó visualmente aplicando una escala de 5 puntos: 0 (ausencia de pardeamiento) y 4 (pedicelo 100% pardeado) (n=3). En este estudio se ha utilizado un diseño completamente aleatorio. Las diferencias entre los distintos tratamientos se han estudiado mediante análisis de la varianza. Cuando las diferencias mostradas por las distintas muestras han resultado ser significativas ($P < 0.05$), las medias se han separado mediante la prueba de Tukey. Todos los análisis se han realizado con el Software SPSS v. 20.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tras estudiar el porcentaje de frutos afectado por el agrietado en precosecha, así como por el agrietado inducido artificialmente en el momento de la cosecha, pudimos comprobar como las aplicaciones con putrescina fueron efectivas a la hora de reducir esta fisiopatía significativamente ($P < 0,05$) en ambas variedades (Tabla 1). Además, se observó que los valores de agrietado más bajos se obtuvieron para la variedad SH. Esta variedad es de recolección más tardía que la variedad PG, por lo que experimentó una menor exposición a las lluvias en estadios del desarrollo especialmente sensibles al agrietado. Además, la sensibilidad al agrietado de la cereza está directamente relacionado

con el genotipo y la cutícula de cada variedad (Michailidis et al., 2020; Pereira et al., 2020). Asimismo, la menor incidencia del agrietado en las cerezas tratadas con putrescina podría estar relacionado con el mantenimiento de la integridad de las membranas celulares provocado por esta poliamina, así como la reducción en la concentración de las especies reactivas de oxígeno (Serrano et al., 2016).

Una vez evaluados los resultados obtenidos tras 28 días de almacenamiento en condiciones de refrigeración, pudimos comprobar como los tratamientos fueron positivos a la hora de retrasar las pérdidas de peso durante el almacenamiento refrigerado en ambas variedades. La reducción en las pérdidas de peso podría ser debido a una mayor integridad de las membranas estructurales de las células que reducirían las pérdidas de agua (Bal y Ürün, 2021). Con respecto al color del fruto, el ángulo Hue* desciende significativamente para aquellas cerezas tratadas en precosecha con putrescina en PG y SH, indicando que la intensidad del tono rojo fue más oscura para estos frutos. Este descenso en el ángulo Hue* está relacionado con la síntesis de pigmentos de color rojo característicos de la cereza, y con el posterior oscurecimiento del fruto (Serrano et al., 2009).

Con respecto a la firmeza de los frutos durante el almacenamiento postcosecha, pudimos observar un efecto significativo ($P < 0,05$) en la variedad PG en el mantenimiento de este parámetro en los frutos que se trataron en precosecha con putrescina. La acción antisenescente de las poliaminas podría ser una de las causas por las que se mantienen este parámetro bien tras su aplicación precosecha (Valero, Martínez-Romero y Serrano, 2002). Además, la putrescina a la dosis aplicada en el árbol, incrementó de forma significativa ($P < 0,05$) los niveles de sólidos solubles en ambas variedades, mientras que en la acidez total de los frutos solo se observan diferencias significativas con respecto al control en la variedad SH. Un mayor contenido tanto en sólidos solubles como en acidez está relacionado con una mayor aceptación por parte del consumidor.

Con respecto a la calidad del pedicelo, pudimos observar un efecto importante en el retraso de la pérdida de calidad de este órgano en las cerezas tratadas con putrescina para la variedad 'Prime Giant'. La frescura y color verde del pedicelo es un importante parámetro de calidad de la cereza. Además, esta calidad se reduce durante el almacenamiento principalmente por la deshidratación y el pardeamiento que sufren los tejidos del pedicelo. Es por tanto un síntoma importante de la pérdida de calidad y, por lo tanto, el pedicelo verde se utiliza a menudo como un indicador de la frescura general de la cereza (Zhao et al., 2021).

CONCLUSIONES

Tras el estudio de los parámetros analizados podemos concluir que el tratamiento precosecha con putrescina, podría ser una alternativa de origen natural, capaz de mejorar la resistencia al rajado de los frutos y de retrasar la senescencia, mejorando su vida útil y la calidad general de la cereza.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración de Mas de Roc Cooperativa Valenciana.

REFERENCIAS

- Bal, E. and Ürün, B. A. (2021). Effects of chitosan coating with putrescine on bioactive compounds and quality of strawberry cv. san andreas during cold storage. *Erwerbs-Obstbau*. 63(1): 7-14.
- Christensen, J. V. (1996). Rain-induced cracking of sweet cherries: Its causes and prevention. *Cherries*. 297-327.
- Fawole, O. A., Atukuri, J., Arendse, E. and Opara, U. O. (2020). Postharvest physiological responses of pomegranate fruit (cv. Wonderful) to exogenous putrescine treatment and effects on physico-chemical and phytochemical properties. *Food Sci. Hum. Wellness*. 9(2): 146-161.
- Kibar, H., Taş, A. and Gündoğdu, M. (2021). Evaluation of biochemical changes and quality in peach fruit: Effect of putrescine treatments and storage. *J. Food Compos. Anal.* 102: 104048.
- Knoche, M. (2015). Water uptake through the surface of fleshy soft fruit: barriers, mechanism, factors, and potential role in cracking. *Abiotic stress biology in horticultural plants*. 147-166.
- Michailidis, M., Karagiannis, E., Tanou, G., Sarrou, E., Karamanoli, K., Lazaridou, A., Martens, S. and Molassiotis, A. (2020). Sweet cherry fruit cracking: follow-up testing methods and cultivar-metabolic screening. *Plant Methods*. 16 (1): 1-14.
- Pereira, S., Silva, V., Bacelar, E., Guedes, F., Silva, A.P., Ribeiro, C. and Gonçalves, B. (2020). Cracking in Sweet Cherry Cultivars Early Bigi and Lapins: Correlation with Quality Attributes. *Plants*. 9 (11): 1557.
- Serradilla, M. J., Martin, A., Hernandez, A., Lopez-Corrales, M., Lozano, M. and Córdoba, M. D. G. (2010). Effect of the commercial ripening stage and postharvest storage on microbial and aroma changes of ‘Ambrunés’ sweet cherries. *J. Agric. Food Chem.* 58(16): 9157-9163.
- Serrano, M., Díaz-Mula, H.M., Zapata, P.J., Castillo, S., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Valverde, J.M. and Valero, D. (2009). Maturity stage at harvest determines the fruit quality and antioxidant potential after storage of sweet cherry cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 57(8): 3240-3246.
- Serrano, M., Zapata, P. J., Martínez-Romero, D., Díaz-Mula, H. M. and Valero, D. (2016). Polyamines as an ecofriendly postharvest tool to maintain fruit quality. *Eco-friendly technology for postharvest produce quality*. 219-242.
- Singh, V., Jawandha, S. K., Gill, P. P. S. and Gill, M. S. (2019). Suppression of fruit softening and extension of shelf life of pear by putrescine application. *Sci. Hortic.* 256: 108623.
- Valero, D., Martínez-Romero, D. and Serrano, M. (2002). The role of polyamines in the improvement of the shelf life of fruit. *Trends Food Sci. Technol.* 13(6-7): 228-234.
- Zhao, H., Fu, M., Du, Y., Sun, F., Chen, Q., Jin, T., Zhang, Q. and Liu, B. (2021). Improvement of fruit quality and pedicel color of cold stored sweet cherry in response to pre-storage 1-methylcyclopropene and chlorine dioxide treatments: combination treatment of 1-MCP plus ClO₂ improves post-harvest quality of sweet cherry fruit. *Sci. Hortic.* 277: 109806.

TABLAS

Tabla 1. Efecto del tratamiento precosecha sobre el agrietado de los frutos en árbol y el índice de agrietado en el momento de la recolección y sobre la calidad de las cerezas tras un almacenamiento de 28 días a 2°C.

Parámetros	‘Prime Giant’		‘Sweet Heart’	
	Control	Putrescina 1 mM	Control	Putrescina 1 mM
Agrietado en árbol (%)	12,83 ± 2,31a	5,60 ± 2,22b	5,21 ± 0,61a	2,45 ± 0,44b
Índice de agrietado	15,41 ± 1,15a	6,63 ± 2,25b	10,45 ± 1,42a	2,61 ± 1,11b
Pérdida de peso (%)	11,70 ± 0,61a	9,46 ± 1,12b	9,85 ± 0,16a	9,33 ± 0,11b
Ángulo Hue*	15,47 ± 0,24a	14,82 ± 0,22b	16,06 ± 0,16a	13,26 ± 0,28b
Acidez (%)	0,78 ± 0,01a	0,76 ± 0,01a	1,29 ± 0,02a	1,35 ± 0,01b
Sólidos solubles (%)	18,91 ± 0,14b	19,98 ± 0,17a	21,36 ± 0,16b	21,95 ± 0,15a
Firmeza (N/mm)	0,97 ± 0,04a	1,21 ± 0,05b	1,16 ± 0,03a	1,15 ± 0,05a
Calidad del pedicelo (Escala 0-4)	2,59 ± 0,14a	1,91 ± 0,13b	2,15 ± 0,11a	2,14 ± 0,13a

Los datos han sido expresados como la media ± SE. Para cada parámetro, diferentes letras dentro de la misma fila muestran diferencias significativas $P < 0,05$.

Innovaciones tecnológicas y agronómicas en la cereza de Aragón para alcanzar mercados lejanos

Díaz A¹, Del Río Sara¹, Cantín C.M¹., Pérez M.², Alcusón G.² & Val J¹

¹ Estación Experimental de Aula Dei (EEAD-CSIC), Avda Montañana 1005. 50059 Zaragoza, España.

² Fundación de Innovación y Transferencia Agroalimentaria de Aragón (FITA), Avda Montañana 930. 50193. Zaragoza, España

RESUMEN

Aragón y Extremadura suponen el 58% de la producción nacional de cereza en España. En los últimos años, las exportaciones de este producto han aumentado significativamente debido a su gran potencial de comercialización y a su consumo creciente en Europa, América y Asia. Estos mercados son particularmente exigentes en términos de calidad y exigen frutas de excelentes características como color intenso, gran calibre, pulpa firme y crocante y alto contenido de sólidos solubles. Por otra parte, la cereza tiene una vida útil extremadamente breve, entrando rápidamente en senescencia, por lo que partir de cerezas de excelente calidad hará más viable su conservación y su llegada a los mercados de destino en condiciones óptimas.

La materia seca es un indicador muy útil para predecir el periodo de vida útil de la cereza tras su recolección. Para aumentar el valor de este parámetro, hemos aplicado estrategias de riego deficitario controlado y programas de fertilización foliar para potenciar el aporte de calcio, boro y cinc. Además, en el cultivo del cerezo, es imperativo mantener un estatus nutricional óptimo, especialmente tras la recolección, puesto que las reservas acumuladas en la estación en curso serán rápidamente transformadas en órganos vegetativos y generativos (raíces, brotes, hojas, flores y frutos) en el siguiente ciclo del cultivo, por lo que la nutrición foliar con calcio es necesaria.

En este trabajo se exponen los resultados de la primera campaña del proyecto del Grupo de Cooperación ‘Cereza+i’ del Gobierno de Aragón, en el que mediante la aplicación de la tecnología Ca-CSIC (Val, 2017) junto con riego deficitario controlado se ha obtenido un aumento significativo de la firmeza de las cerezas, y en la absorción de micronutrientes esenciales como Ca, B y Zn en tejidos vegetales como flor, hoja y fruto, en distintas fases del ciclo vegetativo. El efecto de esta nueva tecnología en la vida útil postcosecha de la cereza se dilucidará tras el análisis de los resultados de la actual campaña (2022).

Palabras clave: Fertilización foliar, tecnología Ca-CSIC, riego deficitario controlado, calidad de fruto, vida útil.

INTRODUCCIÓN

El cultivo del cerezo está ampliamente extendido en todas las zonas frutícolas de España, destacando por su importancia en cuanto al volumen de producción las regiones de Aragón y Extremadura, que juntas aportan el 58% de la producción nacional. Concretamente en

Aragón, la superficie de cerezo cultivada ha ido en aumento en los últimos años hasta alcanzar, en 2021, 10.698 ha de cultivo, con una producción de 44.741 t (MAPA, 2021).

Aunque la mayor parte de la producción está destinada al mercado nacional, año tras año aumentan las exportaciones de este producto, representando actualmente el 15% de la producción nacional debido a su gran potencial de comercialización y a su consumo creciente en Europa, América y Asia. Estos mercados son particularmente exigentes en términos de calidad y exigen frutas de excelentes características como color intenso, gran calibre, pulpa firme y crocante y alto contenido de sólidos solubles. Por otra parte, la cereza es un producto que una vez recolectado tiene una vida útil extremadamente breve, entrando rápidamente en senescencia y empeorando sus atributos de calidad, por lo que la obtención de una cereza de mayor calidad, así como con una capacidad de vida útil mayor, permitirá abastecer los mercados lejanos con las condiciones de calidad requeridas.

La calidad del fruto está determinada por distintos atributos como la firmeza, la crocancia, sólidos solubles y acidez, y su materia seca. Este último atributo ha demostrado ser un buen predictor del periodo de vida útil de estos frutos en condiciones óptimas. Este concepto de “materia seca” engloba la cantidad total de nutrientes minerales del fruto, el contenido total de azúcares (solubles y estructurales) y vitaminas, de modo que valores más altos de materia seca en fruto están relacionados con una vida útil más extensa. Algunos de los factores que proporcionan a los frutos alto contenido de materia seca son una gestión de riego optimizada y programas nutricionales adecuados, ricos en potasio, calcio y magnesio, además del control de la fertilización nitrogenada.

Además, uno de los factores diferenciales del cultivo de la cereza en relación a otras especies frutales es el ciclo fenológico del fruto. Tras la recolección, la masa foliar del árbol y sus raíces prosiguen su ciclo metabólico produciendo fotosintatos que se distribuirán por la planta y se acumularán en los órganos y tejidos de reserva, y que darán lugar, durante la siguiente campaña, a las hojas, flores y nuevos brotes. Así pues, es imperativo mantener un estatus nutricional óptimo del cultivo, especialmente tras la recolección.

El objetivo de este proyecto es demostrar el efecto de mantener un equilibrio nutricional óptimo en cerezos de la variedad ‘Santina’, durante todo el ciclo fenológico de la planta, con el fin de mejorar la calidad del fruto en cosecha y durante el periodo postcosecha. Para ello, hemos utilizado la estrategia de fertilización foliar desarrollada por el grupo de NPCF de la EEAD-CSIC (Val et al., 2021), que permite aplicar los macro y micronutrientes (Ca, B y Zn) de forma localizada en el fruto mediante aspersión foliar, ajustando el volumen necesario de materia activa que ofrezca las condiciones más adecuadas para el cultivo en cada etapa del ciclo, siendo así más sostenible.

MATERIAL Y MÉTODOS

En la primera campaña del proyecto ‘Cereza+i’ (2021) se llevó a cabo un ensayo en una plantación de cerezo de la variedad ‘Santina’, situada en el término municipal de Caspe (Zaragoza). Los resultados que se presentan en este trabajo pertenecen a la primera de un total de las tres campañas de experimentación que abarca el proyecto. Para el estudio se realizó un diseño experimental en bloques al azar, con 4 tratamientos y 3 repeticiones, con 3 árboles por unidad experimental. Los tratamientos fueron: **T1** ó Testigo (riego y fertilización foliar convencional de la plantación con B y Zn); **T2** (fertilización foliar con B y Zn hasta senescencia con estrategia Ca-CSIC); **T3** (riego deficitario controlado

postcosecha 50% y fertilización foliar convencional con B y Zn); y T4 (fertilización foliar con B y Zn hasta senescencia con estrategia Ca-CSIC y riego deficitario controlado postcosecha 50%). Los tratamientos foliares con B y Zn, tanto convencional como en combinación con la estrategia de Ca-CSIC, comenzaron tras la recolección de fruto en la campaña 2020 previo a la senescencia y caída de hojas (06/10/2020), y continuaron en la campaña 2021 con un total de 4 aplicaciones previas a la recolección, desde botón floral hasta cuajado y formación de fruto (entre el 26/02 y el 31/3 del 2021), y 2 tratamientos foliares adicionales previos a la senescencia y caída de hojas (03 y 21 de septiembre del 2021).

A lo largo del ciclo de cultivo se realizaron diagnósticos nutricionales de distintos tejidos en distintos momentos del ciclo, concretamente: en flor, coincidiendo con el momento de plena floración (marzo 2021); dos en tejido foliar realizados en julio de 2021 y en octubre de 2021 y, por último, coincidiendo con la recolección, un último diagnóstico nutricional en recolección se determinaron los parámetros fisicoquímicos relacionados con la calidad de fruto, tanto no destructivos (peso, calibre, firmeza Durofel y coordenadas color CieLab), como destructivos (sólidos solubles totales y acidez).

La metodología para la determinación de parámetros de calidad de fruto se ha descrito en otros trabajos (Val et al., 2018, Val et al., 2021).

Para la estimación de vida útil, se analizaron la incidencia de podredumbres y el grado de *pitting* en recolección y tras 7, 14, 21 y 28 días de conservación a 1.5°C. El grado de *pitting* se evaluó mediante una clasificación visual en cuatro grados de severidad (G1: leve, G2: moderado, G3: severo, G4: muy severo).

RESULTADOS.

El análisis nutricional de flor mostró diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (Tabla 1) de modo que, el contenido de B y Zn en flor en los árboles que habían recibido fertilización foliar (FF) con la estrategia Ca-CSIC, fue superior al de aquellos que habían recibido la FF convencional con los mismos nutrientes. No se observaron diferencias en el contenido de Ca.

En el diagnóstico nutricional en hoja, se observaron diferencias estadísticamente significativas en julio (90 DTPF), con una concentración de Zn superior en aquellos tratamientos que habían recibido el elemento mediante la estrategia Ca-CSIC respecto de los que lo habían recibido por FF convencional. En el muestreo previo a la senescencia y caída de hojas, no se observaron diferencias estadísticamente significativas, si bien los valores muestran tendencias similares. Tampoco se encontraron diferencias significativas para Ca y B en ninguno de los dos muestreos.

El B y Zn en la pulpa de los frutos que habían sido tratados con la estrategia Ca-CSIC fueron significativamente más altos (Tabla 2) que los tratados con B y Zn de forma convencional. Por otra parte, los frutos tratados con la estrategia Ca-CSIC mostraron un contenido de Ca en piel significativamente superior que los que se habían tratado con la FF convencional.

En cuanto a calidad de fruto, los valores de firmeza Durofel fueron más altos significativamente en los frutos que habían recibido la estrategia foliar Ca-CSIC respecto a los que habían recibido FF convencional (Tabla 3). Por otra parte, el contenido en materia

seca de los frutos tratados con la estrategia Ca-CSIC mostró ser ligeramente más elevada que en los frutos tratados por FF convencional, aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas.

Durante la conservación, se observó que a partir del día 14 de almacenamiento en frío, los frutos tratados con la estrategia Ca-CSIC presentaron una menor incidencia de *pitting* frente a los testigos, tendencia que se mantuvo hasta el final de su conservación. Además, las cerezas tratadas con la estrategia de Ca-CSIC presentaron una menor incidencia de podredumbres respecto a los frutos control, lo que demuestra un claro efecto en el periodo de vida útil.

CONCLUSIONES.

La mejora de la calidad de la cereza y su mantenimiento durante el periodo postcosecha resultan aspectos clave para prolongar la vida útil del producto y, por ende, mejorar su potencial de exportación a mercados lejanos. Este trabajo demuestra que la gestión de los estatus nutricional e hídrico durante el periodo precosecha son claves para obtener cerezas de óptima calidad. Además, la tecnología Ca-CSIC desarrollada por el grupo NPCF de la EEAD-CSIC, ha demostrado como vector que cataliza la absorción por parte del cultivo en flor, hoja y fruto de nutrientes clave en la calidad de fruto como B, Zn y Ca.

AGRADECIMIENTOS.

El presente trabajo se ha financiado mediante el grupo de cooperación “*Cereza+i: Innovaciones tecnológicas y agronómicas en cereza aragonesa para alcanzar mercados lejanos*”, del Programa de Desarrollo Rural 2014-2020 del Gobierno de Aragón.

BIBLIOGRAFIA.

MAPA (2021). Superficies y producciones anuales de cultivos.

VAL, J.; PEREZ, M.; DEL RÍO, S.; DIAZ, A. (2021). Tratamientos pre cosecha para la mejora de la calidad de la manzana Golden de Valdejalón. *Revista de fruticultura*, 80: 8–23.

Val, J. (2017) Formulación para tratamientos foliares de calcio en especies frutales de ciclo largo, procedimiento y de preparación y protocolo de aplicación de la misma. *Secreto industrial*: 6401/2017.

Val, J.; Del Río, S.; Redondo, D.; Díaz, A. (2018) Novel exogenous calcium treatment strategies effectively mitigate physiological disorders in late season peach cultivars. *Acta Horticulturae*, 1194: 617-622.

TABLAS

Tabla 1. Concentración de nutrientes en flor y hoja, aportados mediante fertilización foliar.

Tejido	Nº Tto.	Tratamiento	Ca (g/100g)	B (mg/kg)	Zn (mg/kg)
FLOR	T1	Fertilización convencional	0,416 ± 0,099	41,980 ^a ± 3,764	48,658 ^a ± 5,756
	T2	Riego habitual + estrategia Ca-CSIC	0,456 ± 0,029	65,506 ^b ± 3,853	61,044 ^b ± 6,133
	T3	Fertilización convencional + RDC	0,372 ± 0,039	35,599 ^a ± 3,376	47,847 ^a ± 4,146
	T4	Estrategia Ca-CSIC + RCD	0,475 ± 0,017	83,462 ^{bc} ± 4,658	79,69 ^{bc} ± 6,012
<i>Significación</i>			<i>ns</i>	0,001	0,001
HOJA (90 DTPF)	T1	Fertilización convencional	1,574 ± 0,354	40,706 ± 3,625	23,715 ^a ± 7,373
	T2	Riego habitual + estrategia Ca-CSIC	1,551 ± 0,187	41,176 ± 5,400	31,593 ^b ± 2,744
	T3	Fertilización convencional + RDC	1,427 ± 0,113	36,549 ± 2,836	21,541 ^a ± 3,202
	T4	Estrategia Ca-CSIC + RCD	1,376 ± 0,064	40,850 ± 5,007	24,260 ^a ± 2,585
<i>Significación</i>			<i>ns</i>	<i>ns</i>	0,017
HOJA (Pre-senescencia)	T1	Fertilización convencional	2,587 ± 0,161	46,584 ± 0,433	64,909 ± 1,675
	T2	Riego habitual + estrategia Ca-CSIC	2,536 ± 0,084	40,099 ± 5,851	74,688 ± 7,960
	T3	Fertilización convencional + RDC	2,702 ± 0,125	43,196 ± 3,689	67,133 ± 5,474
	T4	Estrategia Ca-CSIC + RCD	2,821 ± 0,096	47,335 ± 2,117	75,027 ± 5,847
<i>Significación</i>			<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>

* Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos al nivel de significación del 95%.

Tabla 2. Concentración de algunos nutrientes en tejidos de fruto en el momento de la recolección. La fertilización foliar realizada en distintas fechas se realizó con Ca, B y Zn.

Tejido	Nº Tto.	Tratamiento	Ca (g/100g)	B (mg/kg)	Zn (mg/kg)
PULPA	T1	Fertilización convencional	10,268 ± 1,771	0,350 ^{ab} ± 0,052	0,151 ^a ± 0,022
	T2	Riego habitual + estrategia Ca-CSIC	16,773 ± 5,814	0,430 ^b ± 0,069	0,337 ^{bc} ± 0,137
	T3	Fertilización convencional + RDC	10,979 ± 2,530	0,295 ^a ± 0,027	0,200 ^{ab} ± 0,054
	T4	Estrategia Ca-CSIC + RCD	10,409 ± 1,999	0,377 ^b ± 0,035	0,235 ^b ± 0,030
<i>Significación</i>			<i>ns</i>	0,05	0,05
PIEL	T1	Fertilización convencional	24,922 ^a ± 1,634	0,270 ± 0,026	0,188 ± 0,055
	T2	Riego habitual + estrategia Ca-CSIC	26,181 ^b ± 1,945	0,309 ± 0,072	0,156 ± 0,060
	T3	Fertilización convencional + RDC	23,515 ^a ± 1,930	0,278 ± 0,062	0,169 ± 0,053
	T4	Estrategia Ca-CSIC + RCD	29,207 ^b ± 1,704	0,382 ± 0,035	0,236 ± 0,022
<i>Significación</i>			0,025	<i>ns</i>	<i>ns</i>

*Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos al nivel de significación del 95%.

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos de calidad de fruto en recolección.

Punto análisis	Tratamiento	materia seca (%)		Firmeza (durofel)		Carta color		SS (°Brix)		ácido málico (g/kg)	
		media	d.s.	media	d.s.	media	d.s.	media	d.s.	media	d.s.
	T1 (fertilización convencional)	79,38 ± 0,83		59,34 ^a ± 15,22		5,24 ± 0,63		18,99 ± 0,59		7,20 ± 0,82	
T0 Recolección (24/05/2021)	T2 (riego habitual + estrategia Ca-CSIC)	80,55 ± 1,69		67,91 ^{ab} ± 10,43		5,18 ± 0,48		17,65 ± 0,29		6,64 ± 0,72	
	T3 (fertilización convencional + RDC)	78,80 ± 0,70		66,37 ^{ab} ± 9,16		5,16 ± 0,60		19,63 ± 0,99		8,08 ± 0,42	
	T4 (estrategia Ca-CSIC + RDC)	80,04 ± 0,99		69,10 ^b ± 10,13		5,07 ± 0,48		18,79 ± 0,33		6,95 ± 0,47	
<i>Significación</i>		<i>ns</i>		<i>0,05</i>		<i>ns</i>		<i>ns</i>		<i>ns</i>	

*Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos al nivel de significación del 95%.

FIGURAS

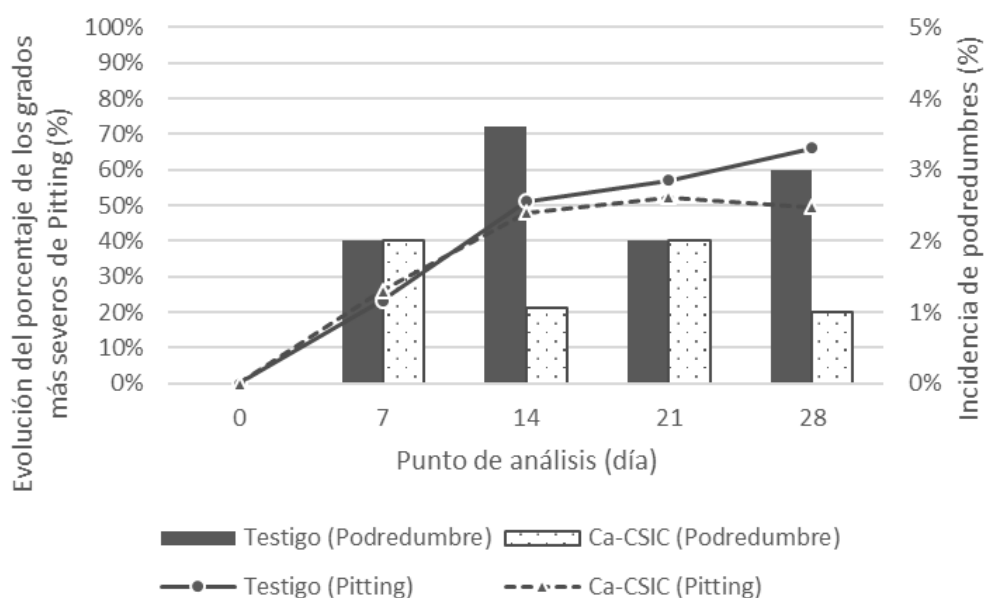


Fig. 1. Incidencia de podredumbres y evolución de *pitting* en los frutos testigo y tratados con la estrategia Ca-CSIC, durante la conservación a 1.5°C.

Ácidos grasos de membrana y osmoprotectores: respuesta diferencial a baja temperatura y alto CO₂ en tejidos de uva de mesa

M.I. Escribano; M. Vazquez-Hernandez; M.T. Sanchez-Ballesta; C. Merodio

Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN), CSIC, José Antonio Novais 10, 28040, Madrid, e-mail: escribano@ictan.csic.es

Resumen

En este trabajo hemos evaluado la respuesta de los tejidos de la baya de uva de mesa cv. Autumn Royal tras la exposición prolongada a baja temperatura y el efecto residual de la aplicación postcosecha de tratamientos cortos con altos niveles de CO₂ durante la conservación frigorífica. Los resultados revelan una alteración ultraestructural de orgánulos celulares, asociada a una elevada tasa de generación de peróxido de hidrógeno y de peroxidación lipídica. Estos hechos están asociados, principalmente en la piel, con una disminución en la proporción de ácidos grasos insaturados/saturados en la fracción de lípidos polares. Tratamientos con altos niveles de CO₂ contrarrestan el daño ultraestructural, reduciendo la severidad del estrés oxidativo a nivel celular y de membrana e incrementando los niveles de insaturación en la fracción de lípidos polares en células de la piel, por descenso en los niveles del ácido palmítico e incremento en los niveles de los ácidos linoleico y α -linolénico. Además se observa una activación tisular diferencial de la síntesis de trehalosa y GABA en la piel, y de prolina y glicina-betaína en la pulpa, osmolitos funcionalmente implicados en la homeostasis hídrica y redox celular. Estas biomoléculas protectoras están positivamente correlacionadas con la reparación del daño metabólico y la restauración de la integridad y funcionalidad de las membranas celulares durante la conservación prolongada a baja temperatura, siendo el mecanismo de defensa activado por altas concentraciones de CO₂ dosis dependiente.

Palabras clave: GABA; glicina-betaína; prolina; trehalosa

INTRODUCCIÓN

La uva de mesa es un fruto no climatérico con una tasa respiratoria relativamente baja, sin embargo está sujeto a importantes pérdidas de agua, pardeamientos e infecciones fúngicas durante la poscosecha. Trabajos previos han demostrado la eficacia del pretratamiento con un 20 kPa de CO₂ durante 3 días en el mantenimiento de la calidad de la uva de mesa durante la conservación frigorífica y posterior periodo de vida útil (Goñi et al., 2011; Vazquez-Hernandez et al., 2018). Recientemente hemos revelado que la aplicación de un segundo tratamiento a corto plazo con 20 kPa de CO₂ se mostró más eficaz en mantener la calidad intrínseca en uvas de mesa apirenas cv. Autumn Royal, conservadas a 0 °C por 41 días, mostrando un mayor control de la deshidratación de los racimos, del oscurecimiento del raquis y de la podredumbre (Vazquez-Hernandez et al., 2020).

La exposición prolongada a bajas temperaturas puede causar un desequilibrio metabólico que conduce a la acumulación celular de metabolitos tóxicos, promotores del estrés oxidativo y a la pérdida de integridad de los sistemas de membrana, lo que puede conducir a la alteración de la homeostasis celular y el funcionamiento de los orgánulos y dar como resultado una salida de iones, pérdida de presión osmótica, descompartimentación subcelular, interrupción de las rutas de señalización celular y pérdida de funcionalidad en proteínas críticas de defensa integral (Ge et al., 2019). En este contexto, la integridad de las membranas celulares es esencial para reducir el deterioro postcosecha asociados a la deshidratación y susceptibilidad a la infección por hongos, y más aún durante un período prolongado de conservación a baja temperatura.

En este trabajo se examina la relación entre la integridad ultraestructural de las membranas a nivel subcelular (microscopía electrónica de transmisión, TEM), el estado oxidativo a nivel celular (generación de H₂O₂) y de membrana (acumulación de malondialdehído, MDA) y la calidad postcosecha de uvas de mesa (*Vitis vinifera* L.) cv. Autumn Royal. Asimismo, se evalúa la respuesta de los tejidos de la baya, exocarpio y mesocarpio, a nivel de la composición de ácidos grasos de membrana (fracción de lípidos polares) y osmolitos crioprotectores durante la conservación prolongada a 0 °C y el efecto residual de la aplicación de tratamientos cortos con 20 kPa de CO₂ durante la conservación frigorífica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Racimos de uvas de mesa apirena cv. Autumn Royal (*Vitis vinifera* L.), procedentes de una finca comercial en Abarán (Murcia), con valores de 12.9% de sólido solubles totales y 0.46% de ácido tartárico, fueron divididos en tres lotes, almacenados en contenedores herméticos hasta 41 días, en oscuridad, a 0 ± 0.5 °C y 90-95% de humedad relativa, bajo flujo de aire continuo (Aire), bajo una mezcla de gases que contenía 20 kPa CO₂ + 20 kPa O₂ + 60 kPa N₂ durante 3 días al inicio de la conservación frigorífica (CO₂) o expuesto a un segundo tratamiento por 3 días con 20 kPa de CO₂ tras 13 días de almacenamiento a baja temperatura (CO₂/CO₂). Después de los tratamientos con CO₂, los racimos se transfirieron al aire bajo las mismas condiciones que el lote sin tratar hasta el final del período de conservación. En cada lote se separó la piel y la pulpa, se congelaron en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80 °C.

Los análisis ultraestructurales de los tejidos del pericarpio de las bayas se realizaron mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) según protocolo descrito por Vazquez-Hernandez et al. (2020). El producto final de la peroxidación lipídica, malondialdehído (MDA), se analizó utilizando el método del ácido tiobarbitúrico (Ederli et al., 1997). El contenido de peróxido de hidrógeno en las bayas de uva se midió espectrofotométricamente después de la reacción con KI siguiendo el método descrito por Alexieva et al. (2001). La extracción y cuantificación de trehalosa (HPAEC-PAD) y de los aminoácidos prolina, glicina-betaína y GABA (Q-TOF LC-MS) en tejidos de la baya se realizaron siguiendo el método descrito por Vazquez-Hernandez et al. (2018). Los resultados se expresaron como el incremento relativo en μmol por kg de peso fresco respecto a los niveles encontrado en los frutos recién recolectados. La extracción de los lípidos totales y el estudio de la composición de los ácidos grasos de las diferentes fracciones lipídicas (polar, libre y neutra) en la piel y la pulpa fueron realizados según el método descrito por Blanch et al. (2019). Los resultados fueron expresados en mg por kg

de peso fresco. Diferentes relaciones se usaron para indicar el grado de insaturación de los ácidos grasos en la fracción de lípidos polares: índice de ácidos grasos insaturados (IUFÁ) calculado por la fórmula: $[(18:1) \times 1 + (18:2) \times 2 + (18:3) \times 3]$ y el grado de insaturación de los ácidos grasos C18 calculados por la fórmula: $(18:1) + (18:2) + (18:3) / (18:0)$. Los datos representan la media de dos análisis con tres diferentes muestras biológicas (ANOVA, SPSS Statistics IBM Corporation, nivel de significancia $P \leq 0.05$)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis a nivel celular y subcelular del pericarpio de bayas de uva de mesa Autumn Royal tras 41 días de conservación a 0 °C revela la desorganización del citoplasma que se manifiesta en la alteración de la ultraestructura de orgánulos celulares energéticos, mitocondrias y cloroplastos, y núcleo, asociados con una elevada tasa de generación de peróxido de hidrógeno y de peroxidación lipídica (Fig. 1A y 1B). Estos resultados muestran evidencias citológicas del daño oxidativo, a nivel celular y de membrana, que se produce en los frutos tras la exposición prolongada a bajas temperaturas, como consecuencia del desequilibrio metabólico que conduce a la acumulación celular de metabolitos tóxicos, promotores del estrés oxidativo y pérdida de integridad celular. A diferencia de las uvas no tratadas, aquellas que han recibido un tratamiento por 3 días con un 20 kPa de CO₂ retienen la integridad celular, siendo la aplicación de un segundo tratamiento con altas concentraciones de CO₂ más eficaz en cuanto al mantenimiento de la ultraestructura de los orgánulos celulares, así como del control del daño oxidativo a nivel celular y de membrana (Fig. 1A y 1B). Estudios previos habían puesto de manifiesto el efecto beneficioso de las aplicaciones cíclicas de calentamiento intermitente para mejorar la conservación de frutos a largo plazo (Liu et al., 2015). El mantenimiento de la microestructura celular y la integridad de mitocondrias, cloroplastos y del núcleo en frutos tratados pondría de manifiesto la funcionalidad de estos orgánulos y por tanto de la maquinaria celular implicada en la reparación del daño metabólico y en las respuestas de defensa frente a estreses abióticos y bióticos durante la postcosecha.

Los lípidos son constituyentes esenciales de las membranas celulares, por lo que cualquier modificación de la composición de los mismos puede alterar las propiedades biofísicas y bioquímicas de las membranas, incrementando la permeabilidad y la pérdida de compartimentación celular. El daño celular por bajas temperaturas ha sido atribuido a una pérdida de integridad de los sistemas de membrana, a la actividad lipoxigenasa y a la peroxidación lipídica. Por ello, entre los mecanismos reparadores que se activan y que ayudan a minimizar las alteraciones fisiológicas y celulares, cabe destacar cambios en la composición de ácidos grasos en los lípidos polares de las membranas (Ge et al., 2019). El análisis de las diferentes fracciones lipídicas en piel y pulpa de uvas de mesa recién recolectada reveló que la fracción de lípidos polares es la mayoritaria en ambos tejidos, conteniendo el 64-60% de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), entre el 4-3% de monoinsaturados (MUFA) y entre el 32-37% de saturados (SFA), respectivamente (Fig. 2). A fin de evaluar la extensión del daño en la membrana causado por el frío durante periodos largos de conservación postcosecha, se estudiaron los cambios en los índices de insaturación de los ácidos grasos de las fracciones de lípidos polares en cada uno de los tejidos de las bayas en frutos no tratados y tratados con CO₂ después de 41 días a 0 °C. Cabe destacar que el efecto de las bajas temperaturas y de los tratamientos cortos con

altos niveles de CO₂ fue diferente para cada tejido. En la pulpa de frutos tratados y no tratados descienden los niveles de SFA, principalmente ácido palmítico e incrementan los niveles de MUFA y PUFA, principalmente ácido linoleico, lo que se traduce en un incremento en los índices de insaturación (Fig. 3 y 4). Por el contrario, en la piel el metabolismo de ácidos grasos se modifica por efecto de los tratamientos postcosecha. En este tejido y en frutos no tratados, hay una pérdida de ácidos grasos insaturados oleico, linoleico y α -linolénico e incrementan los saturados como el ácido palmítico, por lo que desciende drásticamente el valor IUFA (Fig. 3 y 4). En los frutos tratados, los niveles de PUFA incrementan, principalmente linoleico y α -linolénico, mientras que descienden los de SFA, mayoritariamente los de ácido palmítico, incrementando notablemente el índice de insaturación IUFA (Fig. 3 y 4). La aplicación de un segundo tratamiento con alto CO₂ aumenta marcadamente el grado de insaturación de los ácidos grasos de los lípidos de membrana en la piel de las bayas. El incremento de los niveles de estos marcadores de tolerancia frente al daño por bajas temperaturas (Cao et al., 2011) podría explicar el mantenimiento de la microestructura celular y el sistema antioxidante más eficiente en el pericarpio de las uvas de mesa Autumn Royal tratadas, puesto que la desaturación y elongación de ácidos grasos son factores implicados en el mecanismo de tolerancia al frío (Zhang y Tian, 2009).

Otra respuesta adaptativa común de las plantas para contrarrestar el daño de los estreses ambientales es la redirección del metabolismo hacia la síntesis de moléculas orgánicas de baja masa molecular, las cuales además de actuar como osmoprotectores celulares, pueden proteger directamente a las macromoléculas del daño, ya sea mediante la eliminación de especies reactivas de oxígeno o estabilizando las membranas celulares y la estructura terciaria de proteínas, actuando como crioprotectores (Alberdi y Corcuera, 1991; Zhu, 2001). Durante la conservación a 0 °C incrementa la concentración de metabolitos protectores en la piel y la pulpa de uva de mesa Autumn Royal, principalmente trehalosa en la piel, y prolina y GABA, tanto en piel como en pulpa, pero con diferente tasa de acumulación (Fig. 5). Cabe destacar que en los frutos tratados se observa una activación tisular diferencial de la síntesis de trehalosa y GABA en la piel, y de prolina y glicina-betaína en la pulpa. La aplicación en uva de mesa Autumn Royal de un segundo tratamiento con 20 kPa CO₂ durante 3 días ejerce un efecto más marcado en el incremento de los niveles de estos osmolitos funcionalmente implicados en la homeostasis hídrica y redox celular (Fig. 5). La respuesta metabólica en términos de reactividad a estímulos externos es diferente entre los diferentes tejidos, reflejando la especialización y el papel funcional específico del exocarpio y el mesocarpio dentro del fruto. La prolina podría contribuir más eficazmente al control osmótico celular en la pulpa, donde es más crítico, mientras que el disacárido trehalosa como potente crioprotector actuaría en la piel preservando la integridad de la bicapa lipídica y el funcionamiento de enzimas bajo condiciones de baja temperatura.

CONCLUSIONES

Tratamientos con altos niveles de CO₂ contrarrestan el daño ultraestructural, reduciendo la severidad del estrés oxidativo a nivel celular y de membrana e incrementando los niveles de insaturación en la fracción de lípidos polares en células del exocarpio, por descenso en los niveles del ácido palmítico e incremento en los niveles de los ácidos linoleico y α -linolénico. Además, se observa una activación tisular diferencial

de la síntesis de trehalosa y GABA en la piel, y de prolina y glicina-betaína en la pulpa, osmolitos funcionalmente implicados en la homeostasis hídrica y redox celular. Estas biomoléculas protectoras están positivamente correlacionadas con la reparación del daño metabólico y la restauración de la integridad y funcionalidad de las membranas celulares durante la conservación prolongada a baja temperatura, siendo el mecanismo de defensa activado por altas concentraciones de CO₂ dosis dependiente.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto AGL2017-85291-R financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033/ y por FEDER Una manera de hacer Europa y Proyecto PID2020-113965RB-I00 financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033.

REFERENCIAS

- Alberdi, M., Corcuera, L.J. (1991). Cold acclimation in plants. *Phytochemistry* 30: 3177-3184.
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., Karanov, E. (2001). The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant Cell Environ.* 24: 1337-1344.
- Blanch, M., Alvarez, I., Sanchez-Ballesta, M.T., Escribano, M.I., Merodio, C. (2019). Involvement of fatty acids in the response to high CO₂ and low temperature in harvested strawberries. *Postharvest Biol. Technol.* 147: 196-205.
- Cao, S., Zheng, Y., Wang, K., Jin, P., Rui, H. (2009). Methyl jasmonate reduces chilling injury and enhances antioxidant enzyme activity in postharvest loquat fruit. *Food Chem.* 115: 1458-1463.
- Ederli, L., Pasqualini, S., Batini, P., Antonielli, M. (1997). Photoinhibition and oxidative stress: effects on xanthophyll cycle, scavenger enzymes and abscisic acid content in tobacco plants. *J. Plant Physiol.* 151: 422-428.
- Ge, W., Kong, X., Zhao, Y., Wei, B., Zhou, Q., Ji, S. (2019). Insights into the metabolism of membrane lipid fatty acids associated with chilling injury in post-harvest bell peppers. *Food Chem.* 295: 26-35.
- Goñi, O., Fernandez-Caballero, C., Sanchez-Ballesta, M.T., Escribano, M.I., Merodio, C. (2011). Water status and quality improvement in high-CO₂ treated table grapes. *Food Chemistry* 128: 34-39.
- Liu, L., Wei, Y., Shi, F., Liu, C., Liu, X., Ji, S. (2015). Intermittent warming improves postharvest quality of bell peppers and reduces chilling injury. *Postharvest Biol. Technol.* 101: 18-25.
- Vazquez-Hernandez, M., Navarro, S., Sanchez-Ballesta, M.T., Merodio, C., Escribano, M.I. (2018). Short-term high CO₂ treatment reduces water loss and decay by modulating defense proteins and organic osmolytes in Cardinal table grape after cold storage and shelf-life. *Sci. Hortic.* 234: 27-35.
- Vazquez-Hernandez, M., Blanch, M., Sanchez-Ballesta, M.T., Merodio, C., Escribano, M.I. (2021). High CO₂ alleviates cell ultrastructure damage in Autumn Royal table

grapes by modulating fatty acid composition and membrane and cell oxidative status during long-term cold storage. . *Postharvest Biol. Technol.* 160: 111037.

Zhang, C., Tian, S. (2009). Crucial contribution of membrane lipids' unsaturation to acquisition of chilling-tolerance in peach fruit stored at 0 °C. *Food Chem.* 115: 405-411.

Zhou, Q., Zhang, C.L., Cheng, S.C., Wei, B.D., Liu, X.Y., Ji, S.J. (2014). Changes in energy metabolism accompanying pitting in blueberries stored at low temperature. *Food Chem.* 164. 493-501.

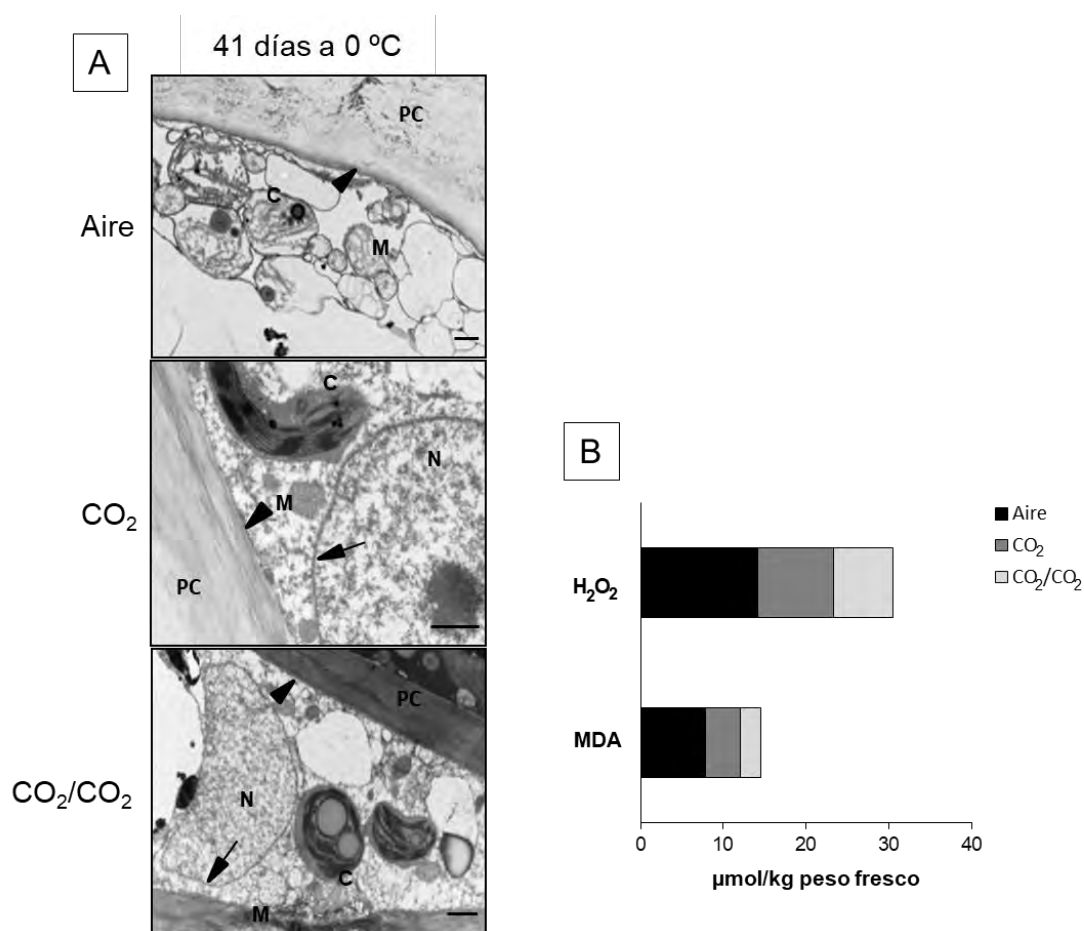


Fig. 1. A) Micrografías del pericarpio obtenidas por TEM. M: mitocondrias; C: cloroplastos; N: núcleo; PC: pared celular; Punta de flecha: membrana plasmática; Flecha: membrana nuclear. Las barras de escala representan 1 μm. B) Niveles de peróxido de hidrógeno y peroxidación lipídica, incremento relativo respecto a los niveles hallados en frutos recién recolectados, en uvas de mesa cv. Autumn Royal tratadas y no tratadas con altas concentraciones de CO₂ al final del periodo de conservación a 0 °C.

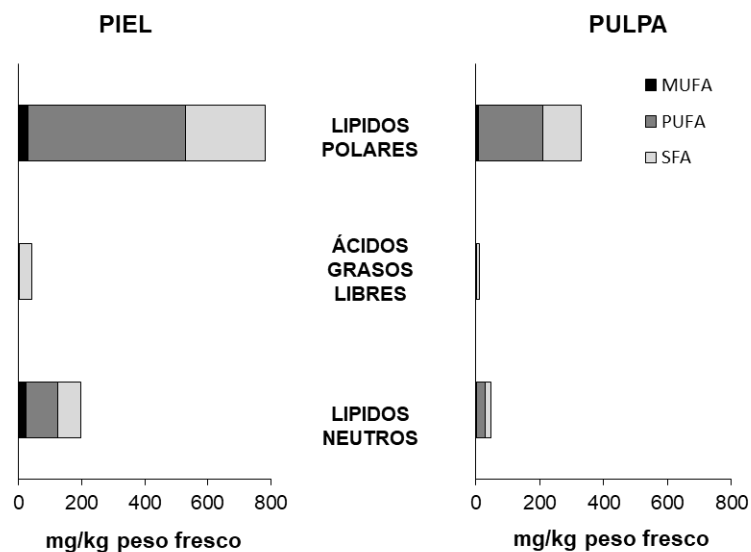


Fig. 2. Contenido en MUFA, PUFA y SFA en las fracciones de lípidos polares, ácidos grasos libres y neutros en piel y pulpa de uvas de mesa cv. Autumn Royal recién recolectadas.

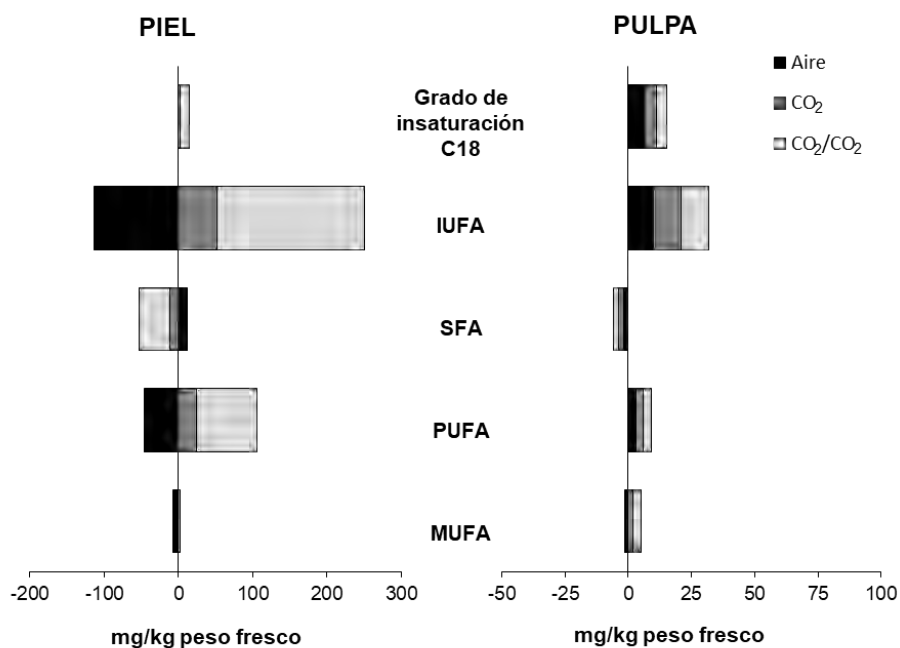


Fig. 3. Cambio relativo en la concentración de MUFA, PUFA y saturados SFA y en el valor de los índices de insaturación de los ácidos grasos en la fracción de lípidos polares en piel y pulpa de uvas de mesa cv. Autumn Royal tratadas y no tratadas con altas concentraciones de CO₂ al final del periodo de conservación a 0 °C con respecto a los valores hallados en frutos recién recolectados.

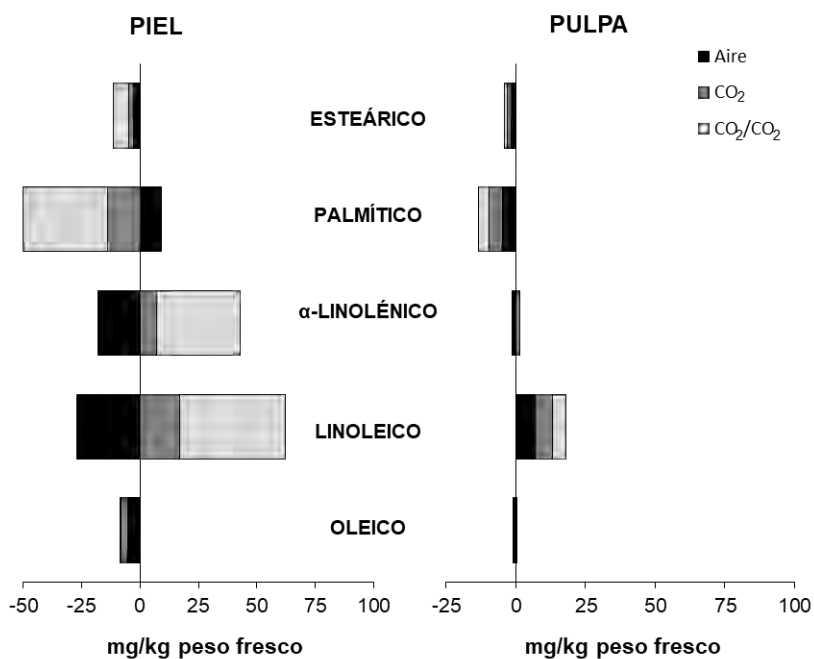


Fig. 4. Cambio relativo en los niveles de ácidos grasos en piel y pulpa de uvas de mesa cv. Autumn Royal tratadas y no tratadas con altas concentraciones de CO₂ al final del periodo de conservación a 0 °C con respecto a los valores hallados en frutos recién recolectados.

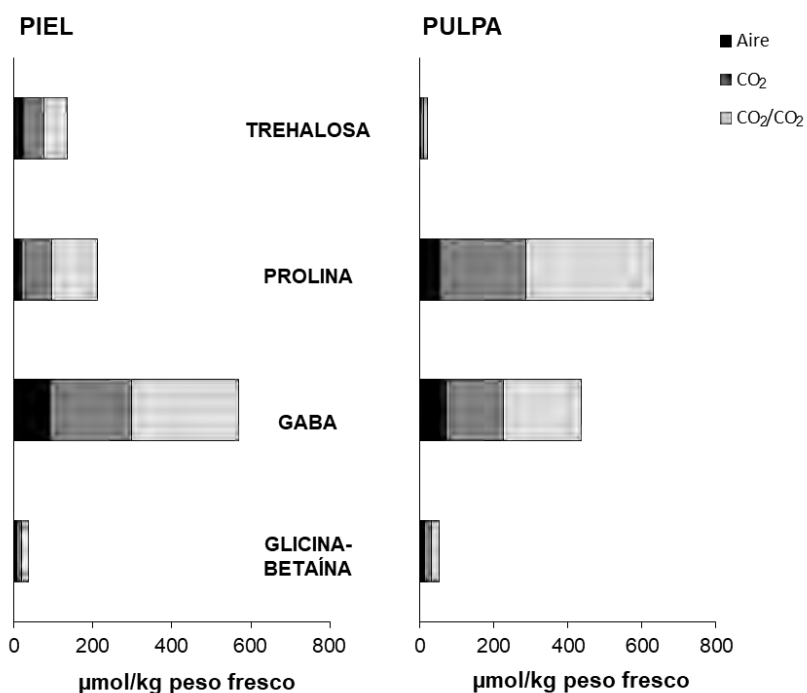


Fig. 5. Cambio relativo en los niveles de osmolitos en piel y pulpa de uvas de mesa cv. Autumn Royal tratadas y no tratadas con altas concentraciones de CO₂ al final del periodo de conservación a 0 °C con respecto a los valores hallados en frutos recién recolectados.

Estrategias precosecha para reducir mermas de producción en el melocotón tardío de Aragón

J. Val, C. M. Cantín, A. Díaz, S. del Río.

Estación Experimental de Aula Dei (EEAD-CSIC). Avda. Montañana 1005. 50059 Zaragoza. Grupo “Nutrición y postcosecha de cultivos frutales” (NPCF)

Resumen

Se estima que un 20-25% de la producción total de melocotón tardío cosechado en el Bajo Aragón se desecha previamente a la comercialización, conllevando una importante merma de rentabilidad. Estas pérdidas se deben, entre otras, a alteraciones fisiológicas del fruto de origen abiótico (fisiopatías) y relacionadas con el metabolismo del calcio. Entre estas últimas, destaca la mancha corchosa. El objetivo de este trabajo es la utilización del manejo racional del agua de riego (riego deficitario controlado en determinadas fases del cultivo) y el empleo de una novedosa estrategia de fertilización foliar desarrollada por el CSIC, como herramientas para reducir la incidencia de esta fisiopatía, a la vez que se reducen sustancialmente el gasto de agua y otros insumos.

Para ello, en las campañas 2019/2020/2021 se realizaron ensayos en variedades susceptibles de melocotón tardío (‘58GC’) localizadas en Calanda (Teruel). Durante la fase de endurecimiento de hueso, se aplicaron distintos regímenes de riego (100% y 50% de la dotación estándar). A lo largo del ciclo de la planta se monitorizó el estatus fisiológico de los árboles (potencial hídrico, SPAD y fluorescencia). En cosecha se evaluaron distintos parámetros de calidad de fruto (peso, calibre, color, firmeza, contenido en sólidos solubles y acidez), así como su vida útil tras conservación en frío.

Los resultados mostraron que el riego deficitario controlado y la estrategia de fertilización foliar CSIC-Ca puede mitigar la incidencia de este tipo de fisiopatía entre un 5 y un 20% sin comprometer la calidad del fruto ni su conservación posterior.

Palabras clave: melocotón, fisiopatía, riego, calcio, calidad.

INTRODUCCIÓN

El cultivo del melocotón en España tiene gran importancia, con una superficie cercana a las 44.000 ha, que en 2021 produjeron 753.204t (Anuario de Estadística MAPA 2021). Sólo la Comarca aragonesa del Bajo Aragón-Caspe produce más de 50,000t de melocotón tardío, con una calidad muy definida y bien diferenciada, caracterizada por una textura firme y sabor muy dulce. Sin embargo, esta tipología de melocotón es susceptible a al desarrollo de alteraciones fisiológicas (fisiopatías) cuya incidencia se está agravando en los últimos años, provocando la desaparición de numerosas plantaciones de algunas variedades. La fisiopatía predominante es la denominada “mancha corchosa” o “corky spot”, que se caracteriza por un oscurecimiento en zonas concretas del mesocarpio y pericarpio del fruto similares a una sobremaduración, visibles externamente y de un color marrón que se va tornando más oscuro a medida que avanza el desarrollo de la fisiopatía, así como un aspecto muy deshidratado. La manifestación externa de la mancha corchosa se

aprecia una vez recolectado el fruto tras la retirada de la bolsa durante su confección en central y, evoluciona en la cámara de conservación hasta desarrollarse en su totalidad aproximadamente a la semana de la recolección. Esta fisiopatía ocasiona graves pérdidas económicas, no sólo por la merma de producción, sino por los costes derivados de labores culturales como el embolsado de frutos, la recolección o el coste del almacenamiento en cámara de frío.

El riego deficitario controlado (RDC) es una práctica agronómica cada vez más extendida, que consiste en reducir el aporte de agua de riego durante etapas fenológicas poco sensibles al estrés hídrico, como es la fase de endurecimiento de hueso (Val, 2007; Blanco et al., 2010). Por otro lado, la estrategia CSIC-Ca, desarrollado por el grupo NPCF (Val, 2017), ha demostrado optimizar la eficiencia de los fertilizantes foliares permitiendo mejorar la captación de calcio y otros nutrientes para mitigar fisiopatías e incrementar la firmeza del fruto, evitando a su vez los efectos fitotóxicos que se han observado al aplicar concentraciones altas de fertilización (Val y Fernández, 2011).

El grupo NPCF de la EEAD presenta en este trabajo los resultados obtenidos en ensayos realizados durante las campañas 2019, 2020 y 2021 en distintas plantaciones de melocotón variedad ‘58GC’ del Bajo Aragón. El objetivo principal es validar y optimizar la eficacia de ciertas labores culturales como el riego deficitario controlado y los tratamientos foliares CSIC-Ca para mitigar la incidencia y gravedad de la “mancha corchosa”, reduciendo el destrío en central, sin mermar la calidad del producto.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo experimental se llevó a cabo durante las campañas 2019, 2020 y 2021 en plantaciones de la variedad de melocotón amarillo tardío de la variedad ‘58GC’ ubicadas en Calanda (Teruel). En cada una de las parcelas se elaboró un diseño experimental, en bloques al azar, con tres repeticiones, incluyendo en cada una de ellas los diferentes regímenes de riego ensayados o, en su caso, los tratamientos de fertilización foliar con calcio. La unidad experimental en cada caso estuvo formada por tres árboles.

En el ensayo de riego deficitario controlado (RDC) se contrastaron dos regímenes de riego, en dos campañas consecutivas 2019 y 2020, en la misma plantación: riego convencional (T100) y riego al 50% del régimen T100 durante el periodo de endurecimiento de hueso (T50). Se instalaron sondas de humedad en las dos tesis de riego (T100 y T50) y sendos contadores de agua. Durante cada campaña, al inicio del RDC, tras su finalización y previamente a la recolección, se monitorizó *in situ* el estado del cultivo, determinando concentración de clorofila mediante SPAD y capacidad fotosintética mediante fluorescencia de clorofila en hoja, Fv/Fm.

En el momento de recolección, se calibró en central la producción y se pesó el destrío provocado por el desarrollo de mancha corchosa de cada muestra experimental. En laboratorio se determinaron peso del fruto, coordenadas de color CieLab, firmeza acústica Aweta, penetromía (Magness Taylor), sólidos solubles (°Brix) y acidez total según los procedimientos descritos en Redondo et al. (2019).

En el ensayo de fertilización foliar con calcio, se compararon árboles Testigo (sin aportación de calcio), con aquellos que recibieron los tratamientos mediante la estrategia CSIC-Ca. Para asegurar la eficacia de los tratamientos, se evaluó la captación de calcio por

los frutos realizando análisis mineral de frutos (Val et al., 2018) en dos momentos del ciclo: una semana tras las aspersiones foliares, y en el momento de recolección.

Por otra parte, en recolección se tomaron muestras de todos los árboles del ensayo (testigos y tratados con CSIC-Ca), y se almacenaron en cámara frigorífica a 0-1°C durante 15 días. En este momento se determinaron los valores de los parámetros fisicoquímicos de calidad descritos previamente, así como la incidencia de mancha corchosa, y se repitieron estos análisis una vez finalizado el periodo de conservación en cámara.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de SPAD y fluorescencia (datos no mostrados), se mantuvieron siempre por encima del rango considerado normal (superior a 40 para SPAD y por encima de 0,80 para fluorescencia, Fv/Fm). Las hojas de todos los árboles de los ensayos presentaron antes, durante y tras el RDC, una concentración de clorofila y una capacidad fotosintética adecuadas.

En la campaña 2019 la incidencia de mancha corchosa fue significativamente menor en los frutos que recibieron RDC (T50) con respecto a los que recibieron riego estándar (T100) (Fig. 1). En la campaña 2020, de nuevo la incidencia de mancha corchosa se redujo significativamente en la producción correspondiente al RDC, siendo la diferencia de 18,3 puntos porcentuales. No se apreciaron diferencias significativas en los parámetros de calidad de fruto relacionados con la restricción de riego (Tabla 1), de acuerdo con los resultados de otros autores que refieren incluso mejoras en la calidad de fruto tras la aplicación de distintos tratamientos de RDC (Alfonso et al, 2008, Blanco et al, 2010).

En el ensayo de fertilización foliar, no se observaron diferencias significativas para ninguno de los parámetros de la calidad inicial de los frutos entre el tratamiento Ca-CSIC y los frutos no tratados (Tabla 2).

Al analizar el estado nutricional, se observó que a la semana de la última aplicación de los tratamientos CSIC-Ca, solamente la epidermis de los frutos tratados tiene una concentración de Ca significativamente más alta que la de los testigos, mientras que no se observan diferencias entre los tratamientos en la concentración de nutrientes en la pulpa (Tabla 3). En el momento de recolección se observaron aumentos de calcio en ambos tejidos analizados, aunque esta diferencia únicamente fue significativa en el caso de la pulpa. El resto de nutrientes analizados por su importancia como elementos antagonistas del calcio, no mostraron diferencias entre los frutos del grupo Testigo y los tratados con CSIC-Ca.

Respecto a la evaluación del desarrollo de fisiopatías (**Fig 2**), se pudo revalidar en 2020, tal como se había observado en campañas anteriores y en otras variedades de melocotón tardío (Val et al, 2018), que las fertilizaciones Ca-CSIC fueron efectivas para mitigar la mancha corchosa. En el momento de recolección, en la campaña 2020, se observó una reducción significativa de aprox. un 20% en la incidencia de mancha corchosa. Esta diferencia se hizo aún más evidente tras 15 días de conservación a 0-1°C, mostrando una reducción estadísticamente significativa de casi el 40%. En la campaña 2021, en la parcela 2 de estudio y en recolección, la incidencia de mancha fue inferior en el tratamiento Ca-CSIC, igualándose entre tratados y testigos tras 15 días en conservación, sin diferencias estadísticamente significativas. En la parcela 3, aunque la incidencia de mancha corchosa fue baja en general, los testigos presentaron incidencias mayores significativamente que

los tratados con Ca-CSIC (**Fig. 2**), tanto en el momento de recolección como tras 15 días en conservación.

CONCLUSIONES

Este trabajo ha demostrado que el riego deficitario controlado durante la fase de endurecimiento de hueso es una herramienta muy útil para mitigar la incidencia de mancha corchosa en melocotón tardío. Por otro lado, la fertilización foliar con calcio siguiendo la tecnología protegida por el CSIC (Val, 2017), mitiga eficazmente la incidencia de alteraciones fisiológicas relacionadas con calcio como la mancha corchosa en variedades tardías de melocotón y en las condiciones agroclimáticas del Bajo Aragón.

Es preciso invertir esfuerzos en estudiar el efecto de la combinación de ambas tecnologías culturales para disminuir las mermas por destríos de la producción debidos a este tipo de fisiopatías que se van extendiendo en otras zonas de cultivo del Valle del Ebro y a otras variedades, y cuya incidencia se está agravando en las últimas campañas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado al amparo de los proyectos: ‘Mejora de patrones *Prunus* y variedades de melocotonero, enfocado en enfermedades postcosecha’, RTI2018-094176-R-C33, Programa Estatal de I+D+i Orientada a los Retos de la Sociedad, Acción cofinanciada con fondos FEDER; y ‘Melocotón 4.0: geomática, sensórica y prácticas innovadoras para adaptar el cultivo al cambio climático en el Bajo Aragón’, Grupo de Cooperación del Programa de Desarrollo Rural de Aragón 2014-2020, Acción cofinanciada a través del Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural (FEADER).

REFERENCIAS

BLANCO, O; FACI, J.M; ESPADA, J.L; (2010). Respuesta del melocotón de Calanda al riego deficitario. *XXVIII Congreso Nacional de Riegos y Drenaje, (AERYD)*. León, 15-17 junio 2010.

FERNÁNDEZ, V; VAL, J; (2011). In-season calcium-spray formulations improve calcium balance and fruit quality traits of peach. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 174: 465-472.

REDONDO, D; DÍAZ, A; VAL, J; (2019). Low oxygen treatment prior to cold storage to maintain the quality of peaches. *Acta Horticulturae*, 1256: 567-574.

VAL, J; (2007). Calidad del melocotón de Aragón. Estudio de caliopatías (mancha vitrescente) por métodos convencionales, espectroscópicos y diagnóstico precoz. *Nutrición y postcosecha. Extraordinario Nutri-Fitos*, 1-10.

VAL, J; (2017) Formulación para tratamientos foliares de calcio en especies frutales de ciclo largo, procedimiento de preparación y protocolo de aplicación de la misma. *Tecnología protegida como secreto industrial*. Entidad titular CSIC. Fecha registro: 24-11-2017

VAL, J; DEL RÍO, S; REDONDO, D; DÍAZ, A; (2018). Novel exogenous Calcium treatment strategies effectively mitigate physiological disorders in late season peach cultivars. *Acta Horticulturae*, 1194: 617-622.

TABLAS

Tabla 1. Parámetros de calidad de fruto en recolección en el ensayo de riego deficitario controlado durante las campañas 2019 y 2020.

Campaña	Punto análisis	Régimen riego	Calibre trans. (mm)		peso (g)		Firm. (aweta)		Firmeza (kg)		SS (°Brix)		ácido málico (g/kg)	
			media	d.s.	media	d.s.	media	d.s.	media	d.s.	media	d.s.	media	d.s.
2019	T0 (recolección 12/09/2020)	T100	81,62 ± 2		272,38 ± 16,4		14,45 ± 3,1		4,16 ± 0,71		13,4 ± 0,9		4,27 ± 0,2	
		T50	82,03 ± 1,7		265,82 ± 13,2		14,17 ± 3,4		3,81 ± 0,86		13,8 ± 0,56		4,38 ± 0,3	
<i>Significación</i>			<i>ns</i>		<i>ns</i>		<i>ns</i>		<i>ns</i>		<i>ns</i>		<i>ns</i>	
2020	T0 (recolección 16/09/2020)	T100	74,84 ± 8,02		207,32 ± 59,75		15,14 ± 3,65		3,26 ± 0,87		9,22 ± 1,76		5,25 ± 1,07	
		T50	72,21 ± 7,09		187,96 ± 48,42		13,90 ± 4,38		3,56 ± 0,95		10,42 ± 1,29		5,04 ± 0,71	
<i>Significación</i>			<i>ns</i>		<i>ns</i>		<i>ns</i>		<i>ns</i>		<i>ns</i>		<i>ns</i>	

Tabla 2. Parámetros de calidad de fruto en recolección en el ensayo de fertilización foliar de calcio durante la campaña 2020.

Punto análisis	Tratamiento	Calibre trans. (mm)		peso (g)		Firm. (aweta)		Firmeza (kg)		SS (°Brix)		ácido málico (g/kg)	
		media	d.s.	media	d.s.	media	d.s.	media	d.s.	media	d.s.	media	d.s.
T0 (recolección 08/09/2020)	CONTROL (T1)	78,60 ± 6,15		247,81 ± 51,40		16,02 ± 5,07		3,95 ± 1,32		10,98 ± 0,98		5,15 ± 0,35	
	CSIC-Ca (T2)	76,90 ± 6,01		241,72 ± 46,99		16,06 ± 3,40		3,64 ± 1,05		11,10 ± 0,89		4,81 ± 0,44	
<i>Significación</i>		<i>ns</i>		<i>ns</i>		<i>ns</i>		<i>ns</i>		<i>ns</i>		<i>ns</i>	

Tabla 3. Concentración de nutrientes en pulpa y piel de fruto en el ensayo de fertilización foliar con calcio.

Fecha análisis	Tejido	Tratamiento	mg Ca/100g MF	mg Mg/100g MF	mg K/100g MF
Precosecha 06/07/2020	Pulpa	Testigo (T1)	6,72 ± 0,61	13,52 ± 0,68	472,51 ± 73,65
		Ca-CSIC (T2)	6,56 ± 0,28	14,44 ± 0,42	515,59 ± 76,00
	<i>Significación (P)</i>		<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
	Piel	Testigo (T1)	19,98 a ± 2,635	81,48 ± 3,91	340,94 ± 52,16
		Ca-CSIC (T2)	24,09 b ± 0,246	82,11 ± 3,09	356,20 ± 47,72
	<i>Significación (P)</i>		0,05*	<i>ns</i>	<i>ns</i>
Recolección 07/09/2020	Pulpa	Testigo (T1)	1,78 a ± 0,04	8,16 ± 0,43	5,19 ± 16,21
		Ca-CSIC (T2)	2,21 b ± 0,22	7,87 ± 0,82	16,29 ± 19,09
	<i>Significación (P)</i>		0,028*	<i>ns</i>	<i>ns</i>
	Piel	Testigo (T1)	7,052 ± 1,278	12,59 ± 1,55	289,64 ± 10,51
		Ca-CSIC (T2)	9,583 ± 3,20	12,95 ± 0,11	311,42 ± 22,53
	<i>Significación (P)</i>		<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>

Letras diferentes indican diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% ($p \leq 0,05$).

FIGURAS

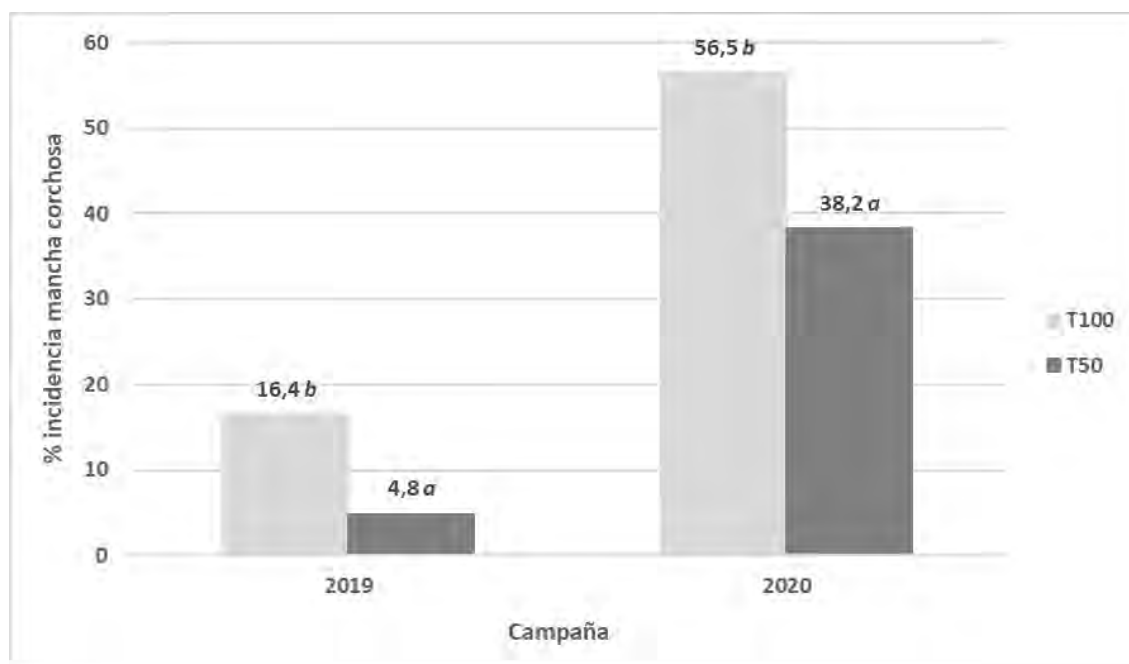


Figura 1. Incidencia de mancha corchosa en el ensayo de riego deficitario controlado (campañas 2019 y 2020). T100, riego testigo; T50, 50% del riego T100 durante endurecimiento de hueso.

Letras diferentes indican diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% ($p \leq 0,05$).

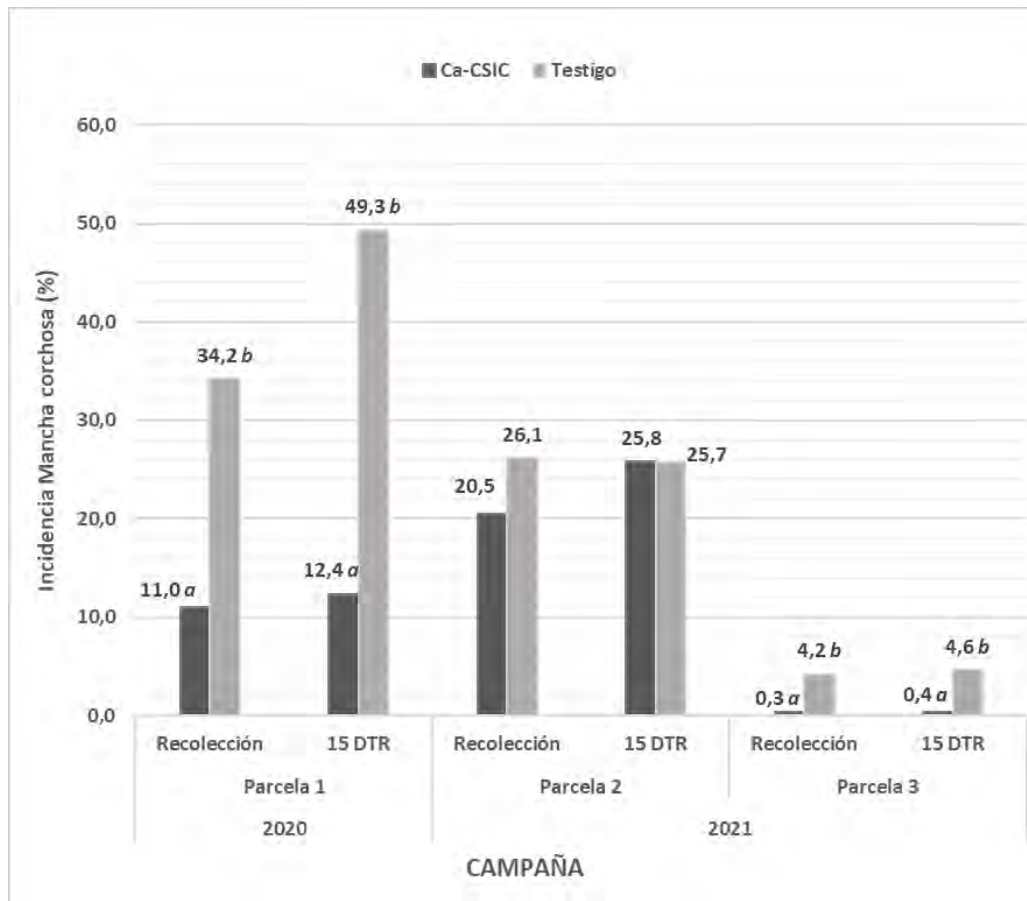


Figura 2. Incidencia de mancha corchosa en recolección y 15 días tras recolección (DTR) en conservación frigorífica (0-1°C). Ensayo de fertilización. Campañas 2020 y 2021. Letras diferentes para cada momento de evaluación indican diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% ($p \leq 0,05$).

Efecto de la aplicación precosecha de carvacrol sobre la calidad y conservación poscosecha de limón ecológico

M. Gutiérrez-Pozo, V. Serna-Escolano, A. Dobón-Suárez, M. Giménez-Berenguer, P.J. Zapata, M.J. Giménez .¹

¹ Depto. de Tecnología Agroalimentaria, EPSO, Universidad Miguel Hernández de Elche, 03312 Alicante, España; maria.gutierrezzp@umh.es

Resumen

La producción mundial de limón ecológico ha aumentado en los últimos años. Los cítricos tras la recolección están sujetos a alteraciones fisiológicas y patológicas que limitan su vida útil, tradicionalmente controladas mediante el tratamiento con fungicidas químicos, pero estos tienen cada vez más rechazo entre los consumidores y su uso está prohibido en el cultivo ecológico. Esto hace necesario encontrar soluciones técnicas, entre las que se encuentra el uso de aceites esenciales como fungicidas debido a su efectividad antimicrobiana. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación precosecha del aceite esencial carvacrol a diferentes concentraciones (100, 500 y 1000 µl/L) sobre la incidencia de podredumbre y la calidad de los frutos en el momento de la recolección y durante su periodo de almacenamiento refrigerado. Se evaluó la aparición de podredumbres durante el almacenamiento y se evaluaron diferentes parámetros fisicoquímicos como el color, la pérdida de peso, firmeza, respiración, sólidos solubles totales (SST) y acidez total, así como el contenido total de fenoles y carotenos. Los resultados mostraron que aquellos limones tratados en precosecha con carvacrol presentaron una menor pérdida de peso, menor tasa de respiración, mayor contenido en SST, mayor firmeza y mayor contenido en compuestos bioactivos (carotenos y fenoles) en el momento de la recolección, y mantuvieron esta tendencia durante su almacenamiento refrigerado. Además, estos tratamientos redujeron la incidencia de podredumbres, obteniéndose los mejores resultados con las concentraciones de 100 y 500 µl/L. Por lo tanto, la aplicación precosecha de aceites esenciales, como el carvacrol, podría utilizarse como un método natural alternativo al uso de fungicidas mejorando los parámetros de calidad del limón ecológico y favoreciendo sus propiedades funcionales.

Palabras clave: *Citrus limon*, sólidos solubles totales, compuestos bioactivos

INTRODUCCIÓN

Los mercados tradicionales para la venta de limón ecológico están cada vez más orientados hacia un contexto global, donde posicionarse se ha convertido en un objetivo fundamental ya que existe un aumento en la producción a nivel mundial. Este planteamiento obliga al sector a modernizarse con el objetivo de reducir costes y mejorar la calidad de sus productos. Los cítricos, tras la recolección, están sujetos a alteraciones fisiológicas y patológicas que limitan su vida útil. Las enfermedades poscosecha más importantes que afectan la producción de cítricos son las podredumbres causadas por *Penicillium digitatum* (podredumbre verde), *Penicillium italicum* (podredumbre azul) y *Geotrichum citri-aurantii* (podredumbre amarga) (Eckert y Eaks, 1989). Su incidencia es elevada, y supone generalmente más del 80% del total de las pérdidas por podredumbres. Actualmente, estas enfermedades poscosecha en cítricos son controladas aplicando fungicidas químicos como imazalil (IMZ) o tiabendazol (TBZ), en los almacenes antes de su conservación (Martínez-

Jávega et al., 1995). Sin embargo, debido al posible efecto que estos agentes químicos pueden tener en la salud de los consumidores, y su prohibición en el mercado ecológico, ha aumentado el interés por el desarrollo de métodos alternativos naturales para el control enfermedades (Palau et al., 2016). Entre estas alternativas, en los últimos años ha despertado gran interés el uso de aceites esenciales y extractos de plantas como posibles sustitutos naturales (López-Reyes et al., 2013). Los aceites esenciales son subproductos del metabolismo de las plantas cuyas principales funciones son atraer y repeler insectos, protegerse del calor o el frío y utilizar componentes químicos del aceite como materiales de defensa. Éstos presentan actividad antimicrobiana para su posible aplicación en alimentos y sus efectos biológicos han sido ampliamente documentados por distintos autores (Burt, 2004; Bakkali et al., 2008; Fisher y Philips, 2008). Entre estos aceites, el carvacrol, ha mostrado ser efectivo reduciendo las podredumbres causadas por *P. digitatum* en cítricos (El-Mohamedy, et al., 2003).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación precosecha del aceite esencial carvacrol a diferentes concentraciones (100, 500 y 1000 $\mu\text{L/L}$) sobre la incidencia de podredumbre y la calidad de los frutos en el momento de la recolección y durante su periodo de almacenamiento refrigerado.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los ensayos se realizaron en limones de la variedad ‘Verna’ injertados con naranjo amargo (*Citrus x aurantium*). Se incluyeron tres tratamientos con diferentes concentraciones de carvacrol (100, 500 y 1000 $\mu\text{L/L}$) y se incluyeron árboles sin tratar (control). Se seleccionaron 5 árboles de cada tratamiento en tres bloques. Los limones se recolectaron según criterios comerciales, y se almacenaron a 10 °C durante 35 días. En el momento de recolección y durante la conservación, se evaluó la evolución de los diferentes parámetros fisicoquímicos cada 7 días. Además, en cada día de muestreo se realizó el control de podredumbres para cada uno de los tratamientos según Serna-Escolano et al. (2020), y los resultados se expresaron como porcentaje de podrido acumulado.

Parámetros fisicoquímicos y funcionales de calidad del fruto: las pérdidas de peso y la firmeza midieron de manera individual de 18 limones (réplicas) por cada tratamiento, mientras que la tasa de respiración se midió de 3 réplicas formadas por 6 limones cada una según los protocolos descritos en Serna-Escolano et al. (2021). Los datos son el resultado de la media \pm ES de las tres réplicas y los 18 limones individuales, en la tasa de respiración y en los parámetros mencionados, respectivamente. Los sólidos solubles totales (SST) se midieron por duplicado en el zumo obtenido de 6 limones mediante refractometría. Además, en este zumo se midió la acidez total (AT), que se determinó por duplicado, mediante titulación automática siguiendo el método descrito por Serna-Escolano et al. (2021). Los resultados de los SST y la AT fueron el valor medio \pm ES.

El contenido de fenoles totales y carotenos se midió en la corteza del limón. Se analizaron 3 réplicas por tratamiento y día de muestreo, cada una compuesta por la piel de 6 limones. La extracción y cuantificación de fenoles se realizó siguiendo el protocolo de Serna et al., (2019) y se realizó por duplicado para cada muestra. Para la extracción de carotenos totales se utilizaron 2 g de corteza de limón de acuerdo con Giménez et al. (2016) y se midieron espectrofotometría UV a 450 nm. Los resultados son la media \pm ES.

Análisis estadísticos: los resultados obtenidos fueron expresados como la media \pm ES. Los parámetros fueron sometidos al análisis de la varianza (ANOVA) y test de Tukey ($p < 0.05$) utilizando el paquete informático SPSS, versión 22 (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se evaluó el efecto del tratamiento con carvacrol a distintas concentraciones sobre la calidad fisicoquímica del fruto (Tabla 1). Tras 35 días de almacenamiento refrigerado, las pérdidas de peso fueron menores en aquellos limones tratados con las concentraciones más bajas de carvacrol (100 y 500 $\mu\text{L/L}$). La firmeza en el momento de la recolección de los limones tratados con las concentraciones más bajas de carvacrol fue mayor que los limones control y los tratados con carvacrol 1000 $\mu\text{L/L}$; sin embargo, no se observaron diferencias significativas tras 35 días de almacenamiento. La tasa de respiración el momento de la recolección fue menor en todos los limones tratados con respecto a los no tratados y estas diferencias se mantuvieron hasta el final del periodo conservación. No se observaron diferencias significativas en la acidez de los limones tratados con respecto a los controles en la recolección. La acidez disminuyó durante la conservación y solo se observaron diferencias significativas para los limones tratados con carvacrol 1000 $\mu\text{L/L}$. Finalmente, no se observaron diferencias significativas en el contenido en sólidos solubles totales (SST) en el momento de la recolección; sin embargo, todos los limones tratados presentaron un mayor contenido en SST tras 35 días de almacenamiento. Resultados similares sobre la calidad de cítricos fueron observados cuando se aplicó carvacrol junto con eugenol y cinamaldehído en mandarinas (Yang et al., 2021). En cuanto al contenido en compuestos bioactivos, el contenido en fenoles totales (Figura 1) se vio aumentado únicamente en aquellos limones que habían sido tratados con 500 $\mu\text{L/L}$ de carvacrol, en el momento de la recolección y tras 35 días de almacenamiento refrigerado. Mientras que el contenido en carotenos (Figura 2) en la corteza del limón fue mayor en aquellos limones que habían sido tratados con carvacrol en precosecha, independientemente de la concentración aplicada, en el momento de la recolección y tras 35 días de almacenamiento refrigerado.

La incidencia de podredumbre en los limones que no fueron sometidos a ningún tratamiento precosecha fue de un 5.5%. Aquellos limones que fueron tratados en precosecha con 100 y 500 $\mu\text{L/L}$ de carvacrol no presentaron presencia de crecimiento fúngico, mientras que aquellos sometidos a la mayor concentración de carvacrol presentaron un 2.2.%. La mayoría de los estudios sobre el efecto del carvacrol como agente antimicrobiano en cítricos se han basado en su aplicación en postcosecha. Resultados similares a los obtenidos en este trabajo fueron observados por Pérez-Alfonso et al. (2012) en pruebas *in vitro* en limón.

CONCLUSIONES

La aplicación de carvacrol en precosecha a bajas concentraciones (100-500 $\mu\text{L/L}$) como alternativa a los fungicidas químicos, mejoró los atributos de calidad en el momento de la recolección y redujo la aparición de podredumbres durante la conservación en limón ecológico. Sin embargo, nuevos ensayos son necesarios con un mayor número de limones y un periodo de almacenamiento más prolongado para obtener resultados concluyentes.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado en cooperación con CÍTRICOS LA PAZ.

REFERENCIAS

- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils. A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46:446-475.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. A review. *Int. J. Food Microbiol.*, 94:223-253.
- Eckert, J.W. and Eaks, I.L. (1989). Postharvest disorders and diseases of citrus fruits. *The Citrus Industry*, 5:179–260.
- El-Mohamedy, R.S.R. (2003). Effect of various essential oils against some post harvest pathogenic fungi of citrus fruits. *Egypt J Appl Sci Zagazg Univ Cairo*, 18(2):42–56.
- Fisher, K., and Phillips, C. (2008). Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? *Food Science and Technology*, 19 (3): 156-164.
- Giménez, M.J. Valverde, J.M., Valero, D., Zapata, P.J., Castillo, S. and Serrano, M. (2016). Postharvest methyl salicylate treatments delay ripening and maintain quality attributes and antioxidant compounds of ‘Early Lory’ sweet cherry, *Postharvest Biology and Technology*, 117:102-109,
- Lopez-Reyes, J.G., Spadaro, D., Prella, A., Garibaldi, A. and Gullino, M.L. (2013). Efficacy of plant essential oils on postharvest control of rots caused by fungi on different stone fruits in vivo. *J Food Prot*, 76:631–639.
- Palou, L., Ali, A., Fallik, E. and Romanazzi, G. (2016). GRAS, plant- and animal-derived compounds as alternatives to conventional fungicides for the control of postharvest diseases of fresh horticultural produce. *Postharvest Biol. Technol.* 122: 41-52.
- Pérez-Alfonso, C. O., Martínez-Romero, D., Zapata, P. J., Serrano, M., Valero, *et al.*, (2012). The effects of essential oils carvacrol and thymol on growth of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* involved in lemon decay. *Int. J. Food Microbiol.*, 158: 101-106.
- Serna-Escolano, V., Valverde, J., Pastor, M. E., Valero, D., Castillo, *et al.*, (2019). Pre-harvest methyl jasmonate treatments increase antioxidant systems in lemon fruit without affecting yield or other fruit quality parameters. *J. Sci. Food Agric.* 99(11): 5035-5043.
- Serna-Escolano, V., Serrano, M., Valero, D., Rodríguez-López, M.I., Gabaldón, J.A. *et al.*, (2020). Thymol Encapsulated into HP- β -Cyclodextrin as an Alternative to Synthetic Fungicides to Induce Lemon Resistance against Sour Rot Decay. *Molecules*, 25: 4348.
- Serna-Escolano, V., Giménez, M.J., Castillo, S., Valverde, J.M., Martínez-Romero, D., *et al.*, (2021). Preharvest Treatment with Oxalic Acid Improves Postharvest Storage of Lemon Fruit by Stimulation of the Antioxidant System and Phenolic Content. *Antioxidants*, 10: 963
- Yang, R. Miao, J., Shen, Y., Cai, N., Wan, C. et al., (2021). Antifungal effect of cinnamaldehyde, eugenol and carvacrol nanoemulsion against *Penicillium digitatum* and application in postharvest preservation of citrus fruit. *LWT*, 141:110924.

Tabla 1. Efecto de la aplicación precosecha de carvacrol en la calidad fisicoquímica del fruto (pérdida de peso, firmeza, acidez total, SST & tasa de respiración) en el momento de recolección y tras 35 días de almacenamiento refrigerado. Las tres concentraciones de carvacrol que fueron aplicadas en precosecha son representadas con números [1] 100 $\mu\text{l/L}$, [2] 500 $\mu\text{l/L}$ y [3] 1000 $\mu\text{l/L}$. a,b,c: Diferencias significativas ($p < 0.05$) fueron detectadas entre los limones tratados comparado con los no tratados.

<i>Parámetros</i>	<i>Tratamiento \ Día</i>	<i>0</i>		<i>35</i>	
		<i>Media</i>	<i>ES</i>	<i>Media</i>	<i>ES</i>
<i>Pérdida de peso (%)</i>	Control	-	-	4.08a	0.25
	[1]	-	-	3.49a	0.34
	[2]	-	-	3.43a	0.27
	[3]	-	-	3.73a	0.26
<i>Firmeza (N/ mm)</i>	Control	13.01bc	0.76	10.24a	0.64
	[1]	15.38a	0.49	10.22a	0.52
	[2]	14.43ab	0.71	10.00a	0.65
	[3]	11.99c	0.39	9.78a	0.53
<i>Acidez Total (g 100 mL⁻¹)</i>	Control	5.26a	0.02	4.58a	0.06
	[1]	5.14a	0.04	4.68a	0.10
	[2]	5.25a	0.05	4.70a	0.11
	[3]	5.33a	0.06	4.80a	0.02
<i>Sólidos Solubles Totales (°Brix)</i>	Control	6.22b	0.04	6.50a	0.06
	[1]	6.32b	0.07	7.03a	0.08
	[2]	6.45a	0.04	6.65a	0.05
	[3]	6.50a	0.03	6.90a	0.00
<i>Tasa de respiración (mg CO₂ Kg⁻¹ h⁻¹)</i>	Control	7.26a	0.61	7.84a	0.37
	[1]	5.56b	0.10	5.92b	0.78
	[2]	3.18c	0.04	5.49b	0.14
	[3]	4.15c	0.71	5.23b	0.42

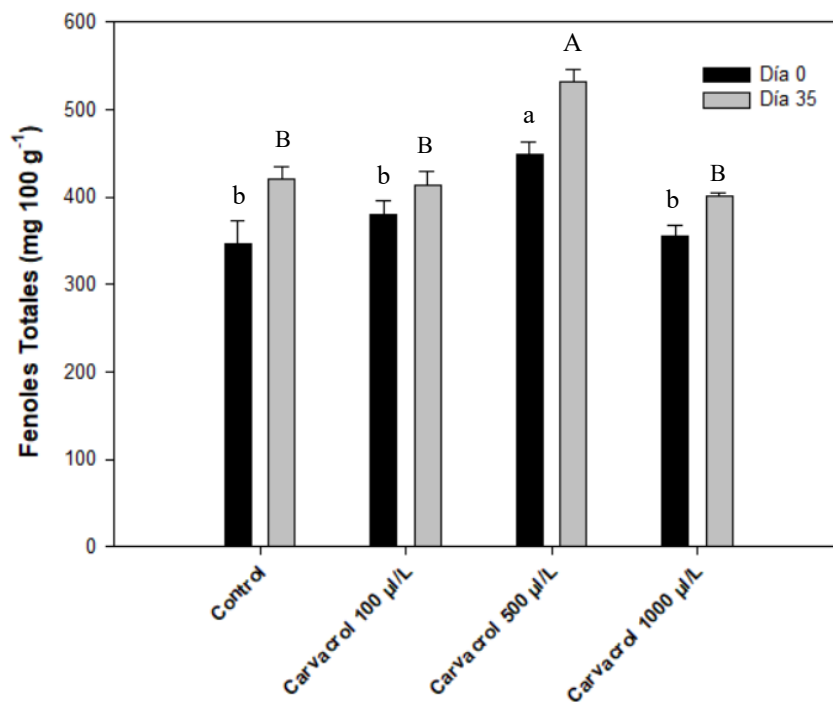


Figura 1. Efecto de la aplicación precosecha de tres concentraciones diferentes de carvacrol (100, 500 y 1000 µl/L) en el contenido de fenoles totales en la piel del limón tras su recolección y después de 35 días de almacenamiento refrigerado. Los datos presentados son la media ± ES de las 3 réplicas. Los fenoles totales se representaron en mg ácido gálico equivalentes (GAE) 100 g⁻¹ de peso fresco. Diferentes letras mayúsculas y minúsculas muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) entre el fruto tratado y sin tratar en el momento de recolección y tras 35 días de almacenamiento, respectivamente.

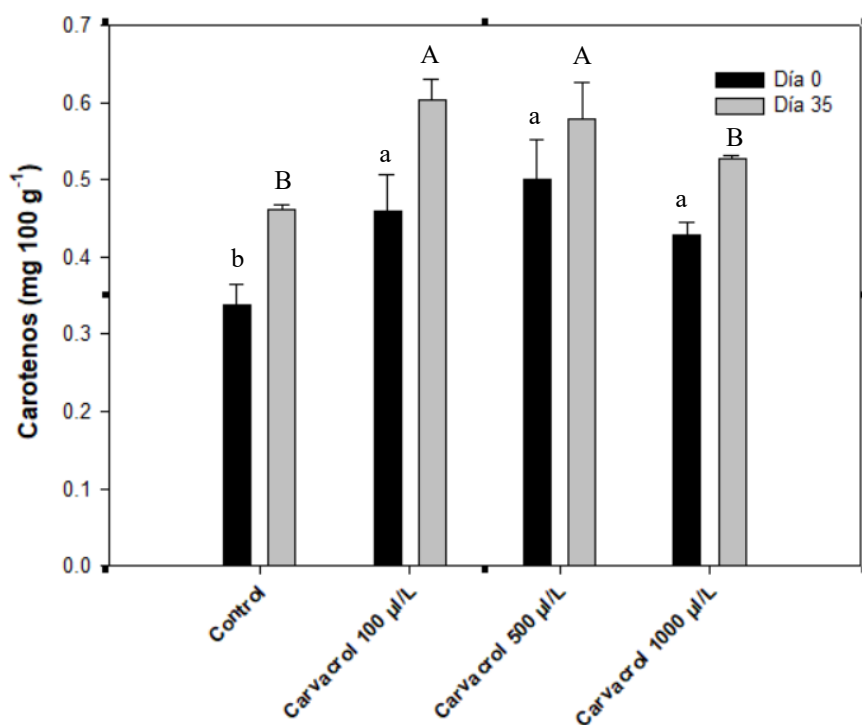


Figura 2. Efecto de la aplicación precosecha de tres concentraciones diferentes de carvacrol (100, 500 y 1000 µl/L) en el contenido carotenos en la piel del limón tras su recolección y después de 35 días de almacenamiento refrigerado. Los datos presentados son la media \pm de las 3 réplicas. Los fenoles totales se representaron en mg de β -caroteno equivalentes (β -CE) 100 g⁻¹ de peso fresco. Diferentes letras mayúsculas y minúsculas muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) entre el fruto tratado y sin tratar en el momento de recolección y tras 35 días de almacenamiento, respectivamente.



POST
2022
ZARAGOZA



SESIÓN

4

Nuevas tecnologías postcosecha.
Sostenibilidad y economía circular

Aprovechamiento de subproductos ricos en flavonoides de pieles de naranjas para mejorar la calidad de germinados de tatsoi

Lorena Martínez-Zamora, Noelia Castillejo, Marina Cano-Lamadrid, Perla A. Gómez, Francisco Artés, Francisco Artés-Hernández*

Grupo de Postrecolección y Refrigeración. Departamento de Ingeniería Agronómica – ETSIA e Instituto de Biotecnología Vegetal. Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48. 30203 Cartagena, Murcia, España.

*fr.artes-hdez@upct.es

Resumen

Los germinados de crucíferas en sus primeros estadios de desarrollo son muy beneficiosos frente a diversas enfermedades degenerativas por su mayor contenido en compuestos saludables. En este trabajo se germinaron semillas de tatsoi en oscuridad durante 3 días a 20°C, seguidos de 6 días a 20°C bajo fotoperiodos de luz/oscuridad (16/8 h) con luz fluorescente. Tras su cosecha se desinfectaron y procesaron mínimamente, cortando las raíces. La parte aérea del germinado se recubrió con extractos ricos en flavonoides provenientes de subproductos del flavedo y albedo de naranjas disueltos en una solución acuosa, obteniendo diferentes concentraciones del recubrimiento (0-7,5 g/L). Como control, no se aplicó ningún recubrimiento. Se dispusieron para su vida comercial a 5°C durante 14 días envasados en atmósfera modificada. Se evaluó la evolución del crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos y enterobacterias, la composición de la atmósfera y la evolución en los compuestos fenólicos totales. El recubrimiento no influyó en la evolución normal de la modificación de la atmósfera, alcanzando un equilibrio de 18% O₂ y 3% CO₂. El recubrimiento redujo ligeramente el crecimiento microbiano e incrementó la concentración de polifenoles totales en un 10% respecto al control. Como conclusión, se ha observado que dicho recubrimiento enriquecido en flavonoides provenientes de subproductos de la piel de naranjas puede preservar la calidad y aumentar los compuestos bioactivos, siendo una alternativa viable para la revalorización de subproductos de la industria cítrica.

Palabras clave: *Brassica rapa* subsp. *narinosa*, compuestos bioactivos, flavonoides, revalorización de subproductos, procesado mínimo en fresco, postcosecha.

INTRODUCCIÓN

El tatsoi pertenece a la familia *Brassicaceae* y destaca por su alto contenido en compuestos bioactivos tienen efectos contra diversas enfermedades (Cheng et al., 2014). Estos efectos beneficiosos son atribuidos principalmente a los glucosinolatos y concretamente a aquellos compuestos obtenidos a partir de su hidrólisis como es el sulforafano y también a los compuestos fenólicos debido a su protección contra el estrés oxidativo de las células. En los primeros estadios de desarrollo del tatsoi, durante su etapa como germinado, se concentra una mayor cantidad de estos compuestos. Sin embargo, su vida útil resulta muy corta, siendo su consumo óptimo durante los 7 días próximos a su recolección. Con el fin de incrementar su vida útil, subproductos de la industria alimentaria pueden reutilizarse como antioxidantes y antimicrobianos naturales (Andrade et al., 2020). De hecho, el desperdicio de la industria agroalimentaria alcanza valores

importantes (Andrade et al., 2020), lo que se intenta reducir como uno de los objetivos del desarrollo sostenible (ODS) incluidos en la Agenda 2030.

El objetivo de este trabajo fue el recubrimiento de germinados de tatsoi con subproductos de naranja para prolongar la vida útil de los mismos y mejorar su calidad funcional. Se evaluó el efecto de dicho tratamiento sobre los principales compuestos bioactivos de los germinados y se llevó a cabo un estudio de vida útil de los mismos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Como subproducto de la industria del zumo, las pieles de naranja obtenidas fueron liofilizadas y molidas, siendo el polvo obtenido de dicho procedimiento encapsulado siguiendo el método descrito por Martínez-Hernández et al., (2019). Paralelamente, las semillas de tatsoi se germinaron en bandejas bajo un fotoperiodo de luz/oscuridad de 16/8 h a 20/25°C y se regaron diariamente durante 7 días, permaneciendo los 3 primeros días en oscuridad. Una vez pasado este tiempo, los germinados fueron recolectados y durante su procesamiento mínimo en fresco se sumergieron en un recubrimiento comestible enriquecido en el encapsulado del subproducto de piel de naranja a distintas concentraciones: 0; 0,5; 1; 2; 5 y 7%

Se evaluaron los compuestos fenólicos totales y flavonoides totales de los encapsulados obtenidos durante los diferentes puntos de la extracción y encapsulación (Martínez-Zamora et al., 2021). Además, se evaluó la concentración en estos compuestos bioactivos durante la vida útil refrigerada de los germinados, así como la evolución microbiológica de los mismos según Castillejo et al., (2021).

El diseño estadístico del experimento fue unifactorial (dosis empleada de subproductos de la naranja) sometiéndose a un análisis de varianza (ANOVA) usando el Statgraphics Plus software (vs. 5.1, Statpoint Technologies Inc, Warrenton, USA). La significación estadística se evaluó a nivel $P \leq 0,05$ y se usó test de rango múltiple de Tukey para comparar medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados mostraron que la piel de naranja obtuvo más del doble de compuestos fenólicos en comparación a la pulpa (Figura 1). Del mismo modo, la extracción de compuestos previa a su encapsulación triplicó en ambos casos la cantidad de polifenoles recuperados de los subproductos de la naranja obtenidos.

Una vez extraídos y encapsulados los flavonoides de la piel de naranja, se incorporaron como recubrimiento comestible a los germinados de tatsoi que se conservaron 7 días a 5°C. Los resultados de la evolución de los compuestos fenólicos totales y flavonoides se presentan en la Figura 2. Se observa que a moderadas (de 0,5 a 2 %) y altas (5 y 7.5 %) concentraciones del extracto de piel de naranja encapsulado, estos valores se vieron incrementados en un 25% en comparación al CTRL sin recubrir.

Además, estos valores se correlacionan inversamente con el crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos durante la vida útil refrigerada, cuyos valores se muestran en la Figura 3. Todas las concentraciones estudiadas del extracto encapsulado de piel de naranja son capaces de reducir la carga microbiológica en un 7-14% frente al CTRL, a excepción de la muestra ENJ0,5, que no redujo el crecimiento microbiológico. Estos resultados confirman la actividad biológica y antimicrobiana de los flavonoides de

la piel de naranja, corroborando lo observado previamente en otras matrices alimentarias (Chatatikun et al., 2013; Martínez-Zamora et al., 2021).

CONCLUSIONES

Nuestro estudio demuestra que el enriquecimiento con conservantes naturales obtenidos de subproductos de la industria hortofrutícola puede suponer una buena herramienta para el mantenimiento de la vida útil de alimentos perecederos, como los germinados. Sin embargo, se precisa ampliar dichos estudios para optimizar la obtención de dichos subproductos, así como su incorporación a la matriz alimentaria.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la financiación al Proyecto de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia nº 20849/PI/18, de la convocatoria de subvenciones para el desarrollo de la investigación científica y técnica por grupos competitivos, del Programa Regional de Fomento de la Investigación Científica y Técnica (Plan de Actuación 2018) de la Fundación Séneca-Agencia de Ciencia y Tecnología de la Región de Murcia (España). Noelia Castillejo ha recibido una beca predoctoral (FPU16/04763) del Ministerio de Educación. El contrato de Lorena Martínez-Zamora ha sido cofinanciado por el Fondo Social Europeo (FSE) y la Iniciativa Europea para la Juventud (IEJ) de la Fundación Séneca (21322/PDGI/19).

REFERENCIAS

- Andrade, M. A., de Oliveira Torres, L. R., Silva, A. S., Barbosa, C. H., Vilarinho, F., Ramos, F., de Quirós, A. R. B., Khwaldia, K., & Sendón, R. (2020). Industrial multi-fruits juices by-products: total antioxidant capacity and phenolics profile by LC-MS/MS to ascertain their reuse potential. *European Food Research and Technology*, 246(11), 2271–2282. doi: 10.1007/s00217-020-03571-3
- Castillejo, N., Martínez-Zamora, L., Gómez, P. A., Pennisi, G., Crepaldi, A., Fernández, J. A., Orsini, F., & Artés-Hernández, F. (2021). Postharvest LED lighting: effect of red, blue and far red on quality of minimally processed broccoli sprouts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(1), 44–53. doi: 10.1002/jsfa.10820
- Chatatikun, M., & Chiabchalard, A. (2013). Phytochemical screening and free radical scavenging activities of orange baby carrot and carrot (*Daucus carota* Linn.) root crude extracts. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(4), 97–102.
- Cheng, F., Wu, J., & Wang, X. (2014). Genome triplication drove the diversification of Brassica plants. In *Horticulture Research*. doi: 10.1038/hortres.2014.24
- Martínez-Hernández, G. B., Castillejo, N., & Artés-Hernández, F. (2019). Effect of fresh-cut apples fortification with lycopene microspheres, revalorized from tomato by-products, during shelf life. *Postharvest Biology and Technology*, 156(February), 110925. doi: 10.1016/j.postharvbio.2019.05.026
- Martínez-Zamora, L., Castillejo, N., & Artés-Hernández, F. (2021). UV-B Radiation as Abiotic Elicitor to Enhance Phytochemicals and Development of Red Cabbage Sprouts. *Horticulturae*, 7(567), 1–18. doi: 10.3390/horticulturae7120567
- Martínez-Zamora, L., Peñalver, R., Ros, G., & Nieto, G. (2021). Substitution of synthetic nitrates and antioxidants by spices, fruits and vegetables in Clean label Spanish chorizo. *Food Research International*, 139(October 2020). doi: 10.1016/j.foodres.2020.109835

TABLAS Y FIGURAS

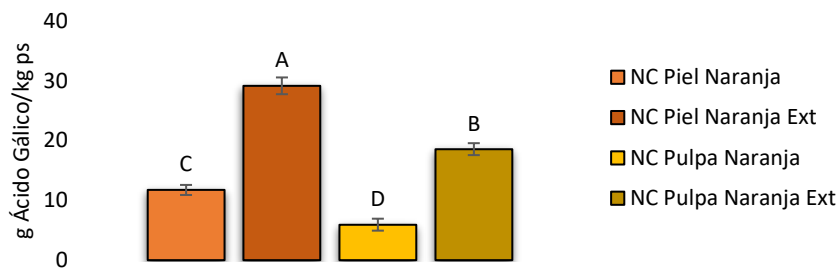


Figura 1. Contenido de compuestos fenólicos totales de los encapsulados de piel y pulpa de naranja extraídos y sin extraer. Letras mayúsculas diferentes denotan diferencias significativas ($p < 0,05$).

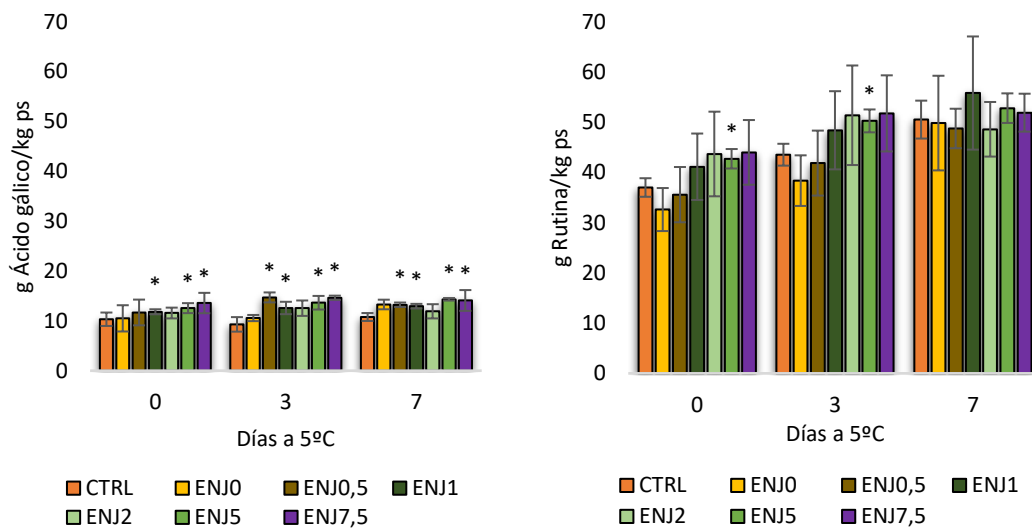


Figura 2. Contenido de compuestos fenólicos totales (izquierda) y flavonoides (derecha) de germinados de tatsoi con recubrimientos conservantes enriquecidos en piel de naranja durante 7 días a 5°C. *denotan incrementos significativos ($p < 0,05$) en comparación al CTRL.

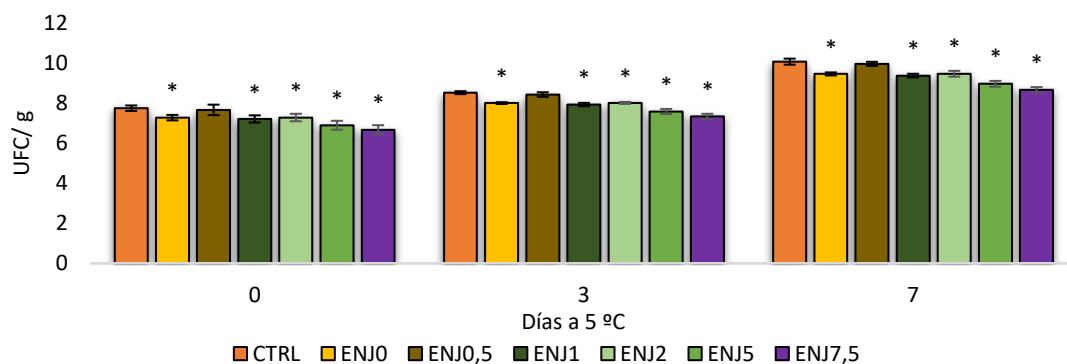


Figura 3. Evolución de los microorganismos aerobios mesófilos (UFC/g) en germinados de tatsoi con recubrimientos conservantes enriquecidos en piel de naranja durante 7 a 5°C. *denotan reducciones significativas ($p < 0,05$) en comparación al CTRL.

Application of edible coating to increase storage time in red-fleshed kiwifruit (*Actinidia chinensis* var. *chinensis*)

A. Guerreiro¹, C. Gago², F. Veloso³, R. Guerra¹ and M. D. Antunes²

¹CEOT, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Edf. 2, Campus Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal. E-mail: acguerreiro@ualg.pt

²MED, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Edf. 8, Campus Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal.

³Frutas Douro ao Minho, Lugar da Gandra, Briteiros St Estevão e Donim, Guimarães, Portugal.

Abstract

The combination of low temperatures with other factors such as edible coatings are intended to reduce metabolic processes, delaying senescence. The goal of this research was to study the effect of the edible coatings and the impact of the application methodology. Edible coatings based on sodium alginate (AL) at 2% (w/v) enriched with citral (0.15 and 0.3% (w/v) and eugenol (0.1 and 0.2% (w/v) to preserve the quality of red-fleshed kiwifruit (*Actinidia chinensis* var. *chinensis*) were applied to red-fleshed kiwifruit, which were then stored for 4 month at refrigerated storage (0±1°C, RH 90±2%) and ensuing shelf-life (7 days) at room temperature. Control consisted of uncoated fruit. The application on the fruit was done by two methods, dipping or spraying. At 0, 2 and 4 months, fruits were transferred to a simulated shelf-life period of 7 days at room temperature. Color (CIELab), firmness, weight loss, soluble solids content and dry matter were measured at the end of the shelf-life period. Edible coatings with a lower concentration of essential oil components were efficient in preserving most of the general quality attributes of the fruit. It was found that the method used to apply the edible coatings, that most contributed to maintaining the quality characteristics, was spraying. The two edible coating which better preserved the overall quality parameters through storage was alginate 2% and alginate 2% enriched with citral 0.15% + eugenol 0.1%.

Key-words: Red-Flesh kiwifruit; Edible Coatings, Alginate; Storage; Quality.

INTRODUCTION

Red-fleshed kiwifruit is a cultivar with an increasing interest mainly for its yellow flesh with a central red colour rich in anthocyanins; besides its distinctive appearance it is a sweet tasting fruit, with low acidity and high nutrition. However, their storage capacity is still limited and insufficiently studied.

In general, kiwifruit postharvest practices are influencing the nutritional and sensory quality (Wang et al., 2021). It was reported more recently that edible coatings of different compositions and formulations have been tested and used to extend the storage life of fruits, as they offer a protective coating with additional delay of microbial growth, and also create a protective barrier, which induces a modified atmosphere, reducing the rate of respiration and transpiration, slowing senescence, and thereby extending the storage life in fresh fruits (Antunes et al., 2012; Gago et al., 2020; Guerreiro et al., 2022; Salinas-Roca et al., 2018). Formulations of edible coatings based on polysaccharides i.e alginate and essential oil components have been extensively used on whole fruits with the main purpose of reducing

water loss and preserving quality, as well as, a recently exploration of natural products to control decomposition and extend the storage life of perishables, has received increasing attention (Guerreiro et al., 2015a; Olivas and Barbosa-Cánovas, 2005).

This study has two main objectives, the effects of edible coatings on the storage ability and quality of red-flesh kiwifruit, and evaluation of the effect of edible alginate coatings in two methods of coating applications (spraying vs dipping).

MATERIALS AND METHODS

Fruit material

Red-fleshed kiwifruit (*Actindia chinensis* var. *chinensis*) were obtained at regular harvest time (end of September) from the Frutas Douro ao Minho (Guimarães, Portugal) enterprise. Fruits were transported to the postharvest laboratory at the University of Algarve for the experiments. Food grade sodium alginate (AL), citral (Cit), eugenol (Eug), ascorbic acid (AA) and calcium chloride were purchased from Sigma-Aldrich Chemicals, Steinheim, Germany.

Edible coatings preparation and application

The coating forming solutions based on AL, were formulated as described by Guerreiro et al. (2015b). The treatments were: Control (non-treated fruit), AL 2%, AL2% + Citral (Cit) 0.15% + Eugenol(Eug) 0.1%, and AL2% + Cit 0.3% + Eug 0.2%. Glycerol 1% (w/v) was added to the edible coatings to increase their flexibility, hence avoiding splitting on the coated fruit, and ascorbic acid 1% (w/v) was added as antioxidant agent. CaCl₂ 1% (w/v) was used as final dip for cross-linking (Guerreiro et al., 2015a). The application was made in two different ways, by dipping(D) and spraying(S). Dipping application was performed according to Guerreiro et al. (2015a, b). Spraying method was performed by spraying uniformly on the whole fruit surface with the use of a paint sprayer (Dexter nozzle 1.5mm, ADEO services, Ronchini - France), at a pressure of 8 bar; the flow rate was 150 L.min⁻¹ and spraying distance 20 cm according to the described by Gago et al. (2021) .

Coatings formed, from the two methods, on red-fleshed kiwifruit were allowed to dry during 1 h at room temperature (~20 °C), then fruit were stored at 0±1°C with relative humidity (RH) 90±2%. After 2, and 4 months, 30 fruits per treatment, were removed from storage and placed for 7 d shelf-life at room temperature. After shelf-life, the quality parameters were performed.

Quality measurements

Colour measurements were based on CIE (Commission International de l'Eclairage) L*a*b* scale by using a Minolta Chroma meter CR-300 (ECMinolta, Japan). Hue was calculated as $h^\circ = \arctan(b^*/a^*)$ (Guerreiro et al., 2018). The firmness of the kiwifruit was determined at two points of the peeled fruit (~1mm)at the equatorial axis with 90° intersection angle, by puncturing with a Chatillon TCD200 and Digital Force Gauge DFIS 50 (John Chatillon & Sons, Inc., New York, NY, USA) penetrometer fitted with an 7.9 mm flat probe using a penetration speed of 10 mm. s⁻¹ and a depth of 7 mm, with the results expressed in Newton (N).Each fruit was then squeezed individually in an automatic squeezer. A fraction of the juice was then used to measure the Total soluble solids content (TSS) with a digital refractometer (Atago Co. Ltd., Tokyo, Japan). Determination of dry

matter (DM) was determined using a forced-air oven at 75°C for 72 h and was expressed as percentage of initial weight. Weight loss was expressed as percentage of initial weight.

RESULTS AND DISCUSSION

In general, the values obtained from CIE analyses during storage were consistent with visual analyses (table 1). In the case of the lightness (L^*) the L^* value of the fruit pulp suffered a slight decrease over time in all treatments, except for AL-Cit 0.3+Eug 0.2-S which increases slightly over storage time. This reduction in the L^* value can be justified by the presence of some compounds in the fruit, including pigments, amino acids and phenolic compounds, associated with enzymatic browning and a reduction in luminosity (L^* values) of the CIELab colour scale (Pathare et al., 2013). This decrease was minimal and therefore did not affect the external appearance of the fruit. Throughout time there are no significant differences among the distinct treatments.

The hue angle (h°) values were 94° to 104°, reflecting the yellowing of the pulp, and colour changes in red kiwifruit, similarly to green kiwifruit, which are mainly described by quantitative rather than qualitative (hue) colorimetric parameters (Mendes da Silva et al., 2020). In this study, it was found that the values obtained decrease during storage, showing fruits with a dark yellow color at the end of this period. The values obtained in color analysis agree with the values obtained in the previous study of Guerreiro et al. (2022).

Traditionally, firmness (Fig. 1A), is one of the main indicators of fruit quality, particularly in kiwifruit. According to the results obtained, we verified that these are ready for consumption after 2 months of storage, but with respect to the treatment applied, there were no differences in the different storage times analyzed. the behavior of kiwifruit is in line with that described in other studies (Choi et al., 2022; Guerreiro et al., 2022).

The total soluble solids increased over time (Fig. 1B), as is expected for a climacteric fruit when harvested in the ideal state of maturity. Red kiwifruits had a brix of 18% before the low temperature storage, after two months of storage this had slightly increased in all treatments and had values of approximately 19%, and at the end of four months of storage the differences were minimal with values close to 20%. At the end of the storage period there were no differences in the treatments applied or in the method of application. Tilahun et al. (2020) and Choi et al. (2019) studies showed similar values.

The mean of dry matter should be approximately 15% at harvest for a high-quality fruit. In our study the value of dry matter slight increase during the storage, in particular at 4 months. The results showed a higher increase in control and AL 2% +Cit 0.3% + Eug 0.2% by dipping method (Fig. 2A).

Weight loss is an indicator of water loss and results in fruit shriveling. Weight loss increased during storage in all treatments (Fig. 2B). Weight loss up to 4-5% does not affect fruit freshness and subsequently consumer acceptance. Indeed, this is in compliance with our results, where some treatments presented a poor appearance at 4 months of storage. The results showed higher values of weight loss in control, AL 2% +Cit 0.3% + Eug 0.2% by spraying and dipping methods, in a opposite, treatments without essential oils components present lower values of wight loss.

CONCLUSIONS

Based on this study, it can be concluded that the method of application has a slight influence on the results obtained, it can be seen that the dipping method obtained a superior weight loss and lower values on firmness, compared to the spraying method.

Regarding the treatments applied, it is possible to verify that the treatments without the use or the lower concentration of essential oil components obtain more stable values throughout the storage time, in particular in the parameter's firmness and weight loss.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by FCT, Project: UIDB/00631/2020 CEOT and Stimulus of scientific employment, individual support 2017 call, number CEECIND/01009/2017.

REFERENCES

- Antunes, M.D., Gago, C., Cavaco, A.M., and Miguel, M.G. (2012). Edible Coatings Enriched with Essential Oils and their Compounds for Fresh and Fresh-cut Fruit. *Recent Patents Food, Nutr. Agric.* 4, 114–122.
- Choi, H.R., Tilahun, S., Park, D.S., Lee, Y.M., Choi, J.H., Baek, M.W., and Jeong, C.S. (2019). Harvest time affects quality and storability of kiwifruit (*Actinidia* spp.): Cultivars during long-term cool storage. *Sci. Hortic.* 256, 108523.
- Choi, H.R., Baek, M.W., Tilahun, S., and Jeong, C.S. (2022). Long-term cold storage affects metabolites, antioxidant activities, and ripening and stress-related genes of kiwifruit cultivars. *Postharvest Biol. Technol.* 189, 111912.
- Gago, C., Antão, R., Dores, C., Guerreiro, A., Miguel, M.G., Faleiro, M.L., Figueiredo, A.C., and Antunes, M.D. (2020). The effect of nanocoatings enriched with essential oils on “Rocha” pear long storage. *Foods* 9, 1–15.
- Gago, C., Guerreiro, A., Miguel, M.G., Faleiro, M.L., and Antunes, M.D. (2021). Stored ‘Galia’ melon quality affected by edible nano-coatings enriched with essential oils. *Acta Hortic.* 1327, 583–590.
- Guerreiro, A., Gago, C., Veloso, F., Freitas, L., Guerra, R., and Antunes, M.D. (2022). Evaluation of storage temperature on quality attributes of red-fleshed kiwifruit (*Actinidia chinensis* var. *chinensis*). *Acta Hortic.* 373–378.
- Guerreiro, A.C., Gago, C.M.L., Faleiro, M.L., Miguel, M.G.C., and Antunes, M.D.C. (2015a). Edible coatings enriched with essential oils for extending the shelf-life of “Bravo de Esmolfe” fresh-cut apples. *Int. J. Food Sci. Technol.* 87–95.
- Guerreiro, A.C., Gago, C.M.L., Faleiro, M.L., Miguel, M.G.C., and Antunes, M.D.C. (2015b). The effect of alginate-based edible coatings enriched with essential oils constituents on *Arbutus unedo* L. fresh fruit storage. *Postharvest Biol. Technol.* 100, 226–233.
- Guerreiro, A.C., Gago, C.L., Vieira, A.I., Brázio, A., Cavaco, A.M., Antunes, M.D., Panagopoulos, T., Veloso, F., and Guerra, R. (2018). Quality characterization of kiwifruit *Actinidia chinensis* var. *deliciosa* ‘Hayward’ using destructive and nondestructive methods during storage. *Acta Hortic.* 497–502.
- Mendes da Silva, T., Briano, R., Peano, C., and Giuggioli, N.R. (2020). The use of a new explanatory methodology to assess maturity and ripening indices for kiwiberry (*Actinidia arguta*): Preliminary results. *Postharvest Biol. Technol.* 163, 111122.
- Olivas, G.I., and Barbosa-Cánovas, G. V (2005). Edible coatings for fresh-cut fruits. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 45, 657–670.
- Pathare, P.B., Opara, U.L., and Al-Said, F.A.J. (2013). Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. *Food Bioprocess Technol.* 6, 36–60.
- Salinas-Roca, B., Guerreiro, A., Welti-Chanes, J., Antunes, M.D.C., and Martín-Belloso, O. (2018). Improving quality of fresh-cut mango using polysaccharide-based edible coatings. *Int. J. Food Sci. Technol.* 53, 938–945.
- Tilahun, S., Choi, H.R., Park, D.S., Lee, Y.M., Choi, J.H., Baek, M.W., Hyok, K., Park, S.M., and

Jeong, C.S. (2020). Ripening quality of kiwifruit cultivars is affected by harvest time. *Sci. Hortic.* . 261, 108936.

Wang, S., Qiu, Y., and Zhu, F. (2021). Kiwifruit (*Actinidia* spp.): A review of chemical diversity and biological activities. *Food Chem.* 350, 128469.

Table 1. Color values of red-flesh kiwifruit covered with different alginate (AL) based formulations during storage at 0°C. Parameters were evaluated at harvest (before treatments) and after 2 and 4 months of storage. Values represent the mean±standard deviation of three replicates.

	Control	AL-S	AL-D	AL-Cit 15+Eug 0.1-S	AL-Cit 0.15+Eug 0.1-D	AL-Cit 0.3+Eug 0.2-S	AL-Cit 0.3+Eug 0.2-D
L							
0	59.15+4.76	61.99+3.87	61.19+3.05	60.62+3.56	61.68+4.90	57.77+5.92	60.15+5.35
2	57.50+5.10	60.42+3.06	56.65+4.10	59.18+2.95	58.12+3.85	60.10+3.27	58.57+3.89
4	58.77+8.07	58.25+5.24	56.69+5.39	58.69+4.25	58.37+3.93	61.44+2.44	59.96+4.13
Hue							
0	03.49+3.04	102.27+3.25	102.66+3.66	103.92+3.77	103.89+3.02	03.78+3.48	102.69+2.55
2	99.28+2.77	99.65+2.14	99.76+2.79	102.41+11.39	100.36+2.41	00.38+2.83	99.51+1.78
4	94.53+2.69	95.98+3.02	97.02+1.91	96.01+1.74	96.25+1.63	97.11+1.53	95.69+3.02

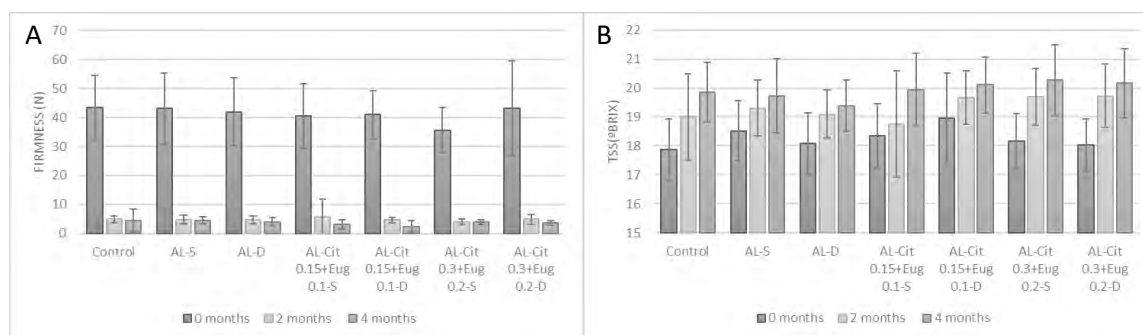


Fig 1. Firmness(A) and total solid soluble (B) of red-flesh kiwifruit covered with different alginate (AL) based formulations during storage at 0°C. Parameters were evaluated at harvest (before treatments) and after 2 and 4 months of storage. Values represent the mean±standard deviation of three replicates.

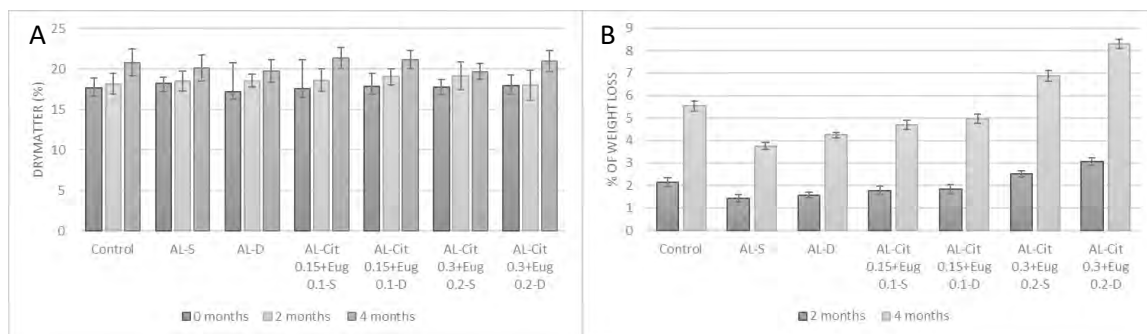


Fig 2. Dry matter (A) and wight loss (B) of red-flesh kiwifruit covered with different alginate (AL) based formulations during storage at 0°C. Parameters were evaluated at harvest (before treatments) and after 2 and 4 months of storage. Values represent the mean±standard deviation of three replicates(n=30).

Determination of the temperature effect on storability on yellow kiwifruit using destructive and nondestructive methods

A. Guerreiro¹, C. Gago², M D. Antunes² and R. Guerra¹

¹CEOT, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Edf. 2, Campus Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal. E-mail: acguerreiro@ualg.pt

²MED, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Edf. 8, Campus Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal.

Abstract

Yellow -flesh kiwifruit (*Actinidia chinensis* Planch. 'Jintao') have a limited shelf life and storage capacity due to rapid loss of firmness and shriveling. The use of low temperatures on kiwifruit storage helps to delay the ripening and senescence processes, increasing the kiwifruit storage life. The main objective of this study was to assess the quality characteristics of fruit at different storage temperatures and investigate the use of VIS- NIR spectroscopy measurements, to enhance the quality control at harvest and during long-term storage. Fruit were harvested at optimal harvest time and stored for 4 months at 0 and 2°C (RH 90±2%). At 0, 1, 2, 3 and 4 months, fruits were transferred to a simulated shelf-life period of 7 days at room temperature. Color (CIELab), firmness, weight loss, soluble solids content, titratable acidity and dry matter, as well as diffuse reflectance spectroscopy measurements in the visible, Near Infrared (Vis/NIR) range) with the interactance mode, were measured at the end of the shelf-life period. The results of this study indicate that Vis/NIR spectroscopy can be used successfully for prediction of firmness and SSC in the fruit, these preliminary results are promising. No significant differences were detected between 0 and 2°C storage for fruit except for weight loss, which was significantly higher at 2 than at 0°C.

Key-words: Yellow kiwifruit; Storage; spectroscopy; Vis-NIR; Quality; Temperature.

INTRODUCTION

Kiwis are usually harvested when the fruit is unripe, this allows the storage period to be prolonged, however they shows minimal visual external changes, so that its appearance does not give any information about its ripening evolution(Liu et al., 2019) . In yellow-fleshed cultivars there is a need to extend post-harvest life because these cultivars naturally have less capability after harvest than 'Hayward' or other green-fleshed varieties(Park et al., 2015). 'Hayward' could be kept in cold storage for 140 days or even longer, but a yellow- fleshed cultivars rarely maintains edibility for more than 60 days in cold storage(Salazar et al., 2019).

Harvesting carried out within the minimum quality parameters together with low temperatures permits to maximize the storage time, as is known, cool storage is widely used to reduce softening of kiwifruit by delaying ripening (Choi et al., 2019).

Fruit quality parameters are conventionally established by some methods that are destructive (total solid soluble, firmness, titratable acidity and dry matter) and time-consuming. Recently, spectroscopic techniques are currently being investigated as a potentially non-destructive means of evaluating various quality parameters, such as the

main parameters that determine fruit ripening during storage (Guerreiro et al., 2022). Visible and near-infrared (Vis/NIR) spectroscopy provides a number of advantages: the measurement is easy, low-cost, quick and non-destructive and therefore enables real-time and repeated measurement of the ripening progress of the same fruit (Guerreiro et al., 2018).

The main objective of this study was to evaluate the quality characteristics of fruit at 0 and 2°C and to investigate the use of VIS- NIR spectroscopic measurements to improve quality control at harvest and during long-term storage.

MATERIALS AND METHODS

Fruit material

Yellow - flesh kiwifruits (*Actinidia chinensis* Planch. 'Jintao') at commercial maturity were hand-picked randomly from Frutas Douro ao Minho (Guimarães, Portugal) orchards at regular harvest time (end of October). Fruits were transported to the postharvest laboratory at the University of Algarve and where selected for uniformity of size and freedom from defects, for the experiments. Fruits were then stored for up to 4 months at 0 and 2°C. At 0 (T0), 1 (T1), 2 (T2), 3 (T3) and 4 (T4) months, fruits were taken from storage, then placed for 7 days at room temperature to simulate a shelf-life period.

Experimental setup of VIS/NIR measurements

The acquisition of the yellow - flesh kiwifruits diffuse reflectance spectra used an optical setup consisting of a spectrometer (Hamamatsu C9405 CA, Hamamatsu, Japan) working in the range 432-1147 nm, a tungsten light source (Ocean Optics HL 2000, Ocean Optics, USA) and a bifurcated optical fibre with a custom interaction probe (Guerreiro et al., 2018). The yellow- flesh kiwifruits were always measured in the equatorial zone and following the protocol of Guerreiro et al. (2022). The data analysis were performed in MATLAB® (Mathworks, USA), through custom written scripts calling the fundamental PLS functions of PLS Toolbox (Eigenvector Research, USA). For each yellow-fleshed kiwifruit the spectral measurements preceded the destructive quality ones.

Quality measurements

Color measurements were based on CIE (Commission International de l'Eclairage) L*a*b* scale by using a Minolta Chroma meter CR-300 (ECMinolta, Japan). Hue was calculated as $h^\circ = \arctan(b^*/a^*)$ (Guerreiro et al., 2018). The firmness of the kiwifruit was determined at two points of the peeled fruit (~1mm) at the equatorial axis with 90° intersection angle, by puncturing using a Chatillon TCD200 and Digital Force Gauge DFIS 50 (John Chatillon & Sons, Inc., New York, NY, USA) penetrometer fitted with an 7.9 mm flat probe using a penetration speed of 10 mm. s⁻¹ and a depth of 7 mm, the results were expressed in Newton (N). Juice was used to measure the Total soluble solids (TSS) with a digital refractometer (Atago Co. Ltd., Tokyo, Japan). Titratable acidity (TA) was determined by titration of juice with 0.1 M NaOH to a pH of 8.2 using an automatic titrator (TitroLine® 6000, SI Analytics GmbH, Mainz, Germany) and expressed as percentage of citric acid. Determination of dry matter (DM) was determined using a forced-air oven at 75°C for 72 h and was expressed as percentage of initial weight. Weight loss was expressed as percentage of initial weight.

RESULTS AND DISCUSSION

The quality and shelf-life of postharvest products are clearly influenced by storage conditions such as atmosphere, chemical treatments, packaging and temperature, some studies identified that low-temperatures on storage can effectively delay postharvest ripening and extend shelf-life (Jin et al., 2021). In color parameters analyzed the values decrease with time, this reduction is in agreement with the visual analysis, i.e. the fruit changes the color of its flesh from pale yellow to intense yellow (Fig. 1). No effect of temperature was observed on the color parameters, either at 0°C or 2°C. However, we can verify that the L parameter (lightness) has a marked decrease in the first month of storage, indicating an acceleration of ripening, the Hue parameter has a similar behavior although this diminution is minor.

Firmness (Fig. 2A) values showed a marked decrease in the first month of storage and after the 4 months plus 7 days shelf-life of storage, we observed that the firmness values remained constant, the storage temperature did not influence firmness values. The values of firmness in our study is in agreement with Barboni et al. (2010) and are in a range of good eating quality from 1 until 4 months storage plus 7 days shelf-life, however, according to some authors (Antunes and Sfakiotakis, 2002; Li et al., 2016), the cultivars with green and yellow flesh usually has a significant decrease only in the second month of storage.

The TSS increased over storage time, without significant differences between storage temperatures, reaching the SSC eating-ripe stage after 1 month storage plus 7 days shelf-life (Fig. 2B). Interestingly, the SSC further increased reaching 16% after 1 month's storage plus 7 days shelf-life, coincident with the firmness eating-ripe stage value. Antunes et al. (2005) and Wang et al. (2021) explain that kiwifruit reach acceptable quality and acquire better storage capacity when the TSS at harvest was between 6.5%- 7.5% and guarantee a good organoleptic quality when fruit reach 13-14% Brix. In our study the fruits were harvest with higher values, and after 1 months of storage + 7 days shelf-life kiwis have reached the minimum value for consumption.

Titrateable acidity (TA) did not show significant differences between temperatures of storage, it was observed that the TA decreased in the first months of storage and then remained constant until the end of the study (Fig. 3A).

The percentage dry matter content (DMC) increased during the first month of storage plus 7 days shelf-life at both storage temperatures (Fig.3B) and then increase slightly up to four months of storage.

The weight loss is a key parameter in assessing the quality of the fruit. Higher values of weight loss mean more deterioration of the fruit, increased senescence and consequently loss of quality. Weight loss increased during storage at both 0°C and 2°C (Fig. 4). We found that the fruit stored at the highest temperature (2°C) presents the highest weight loss, and we observed the difference between temperatures tending to increase as the storage time increases. Guerreiro et al. (2015) and (2022) states that weight loss up to 4–5% does not affect fruit freshness in raspberries and consequently consumer acceptance, however this isn't in agreement to our results, where the fruit at 2°C demonstrated inferior appearance at four months plus 7 days shelf-life of storage than the ones at 0°C.

The validation statistics of the calibration models for predicting ripeness-related attributes using Vis/NIR spectra are shown in Figure 5. The pls model was built with random resampling. This meant running the models N times. For our calculations we adopted N = 50. In each run the validation was performed by choosing randomly 20 % of the fruit as validation set and performing the model calibration through cross-validation in the other 80 % of the fruit. The samples selection was performed without replacement, contrary to the bootstrap approach, which means that the same sample could be chosen only

once. The process was repeated 50 times, in order to derive statistically more robust results. Every qualitative parameter was tested, however the running models in pls are poor, the one with the better results was firmness. Fig. 5A represents the prediction model for samples stored at 0°C and Fig. 5B represents the prediction model for samples stored at 2°C. Each figure (Fig. 5A and 5B) presents the performance quantifiers: R is the correlation coefficient; rmsep is the root mean square of error prediction; SDR is the standard deviation ratio and is equal to $\text{std}(y)/\text{rmsep}$ ($y = \text{firmness}$); bias and slope are self-explaining; nLV is the number of latent variables. The four parameters at the bottom describe the performance of classification in two classes: above and below the average. %TP is the percentage of samples above the average correctly classified, %TN is the percentage of samples below the average correctly classified and @y gives the average value of y. Figueres 5 C and 5D represents de variable importance in projection (VIP) scores for a partial least-squares (PLS) regression model, these figures explain that variables with a VIP score greater than 1 are considered important for the projection of the PLS regression model. Our results indicate that the model prediction for the 0°C temperature is essentially based on the pigments, and the VIP scores are only important up to 700nm. On the other hand, during the storage at 2°C we also observed an important peak at 930nm, this peak is close to the main water absorption peak found, in this case, these values are coincident with the results obtained in the weight loss, which corresponds to a higher water loss in these fruits during storage.

CONCLUSIONS

Through the destructive quality assessment parameters, we can conclude that there are no differences between storage temperatures, but we can verify that the behavior of all these variables is complementary throughout the storage time. Color, firmness, and titratable acidity decrease significantly in the first month, while the TSS, dry matter and wight loss increase.

The results of this study suggest that Vis/NIR spectroscopy allows for prediction only for firmness in kiwifruit. The possibility to predict also color, TSS, dry matter and titratable acidity is still poor. Further studies with larger fruit samples and at different stages of ripening are being carried out to improve Vis/NIR spectroscopy, allowing prediction of kiwifruit ripening and storage and quality stage.

Overall, we can conclude that it was the 0°C temperature that controlled the water loss of the yellow-fleshed kiwis for a four-month period and a seven-day shelf life at room temperature.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by FCT, Project: UIDB/00631/2020 CEOT and Stimulus of scientific employment, individual support 2017 call, number CEECIND/01009/2017.

REFERENCES

- Antunes, M.D.C., and Sfakiotakis, E.. (2002). Ethylene biosynthesis and ripening behaviour of ‘Hayward’ kiwifruit subjected to some controlled atmospheres. *Postharvest Biol. Technol.* 26, 167–179.
- Antunes, M.D.C., Panagopoulos, T., Rodrigues, S., Neves, N., and Curado, F. (2005). The effect of pre- and postharvest calcium applications on “Hayward” kiwifruit storage

- ability. In *Acta Horticulturae*, pp. 909–915.
- Choi, H.R., Tilahun, S., Park, D.S., Lee, Y.M., Choi, J.H., Baek, M.W., and Jeong, C.S. (2019). Harvest time affects quality and storability of kiwifruit (*Actinidia* spp.): Cultivars during long-term cool storage. *Sci. Hortic.* 256, 108523.
- Guerreiro, A., Gago, C., Veloso, F., Freitas, L., Guerra, R., and Antunes, M.D. (2022). Evaluation of storage temperature on quality attributes of red-fleshed kiwifruit (*Actinidia chinensis* var. *chinensis*). *Acta Hortic.* 373–378.
- Guerreiro, A.C., Gago, C.M.L., Faleiro, M.L., Miguel, M.G.C., and Antunes, M.D.C. (2015). Raspberry fresh fruit quality as affected by pectin- and alginate-based edible coatings enriched with essential oils. *Sci. Hortic.* 194, 138–146.
- Guerreiro, A.C., Gago, C.L., Vieira, A.I., Brázio, A., Cavaco, A.M., Antunes, M.D., Panagopoulos, T., Veloso, F., and Guerra, R. (2018). Quality characterization of kiwifruit *Actinidia chinensis* var. *deliciosa* ‘Hayward’ using destructive and nondestructive methods during storage. *Acta Hortic.* 497–502.
- Jin, M., Gan, S., Jiao, J., He, Y., Liu, H., Yin, X., Zhu, Q., and Rao, J. (2021). Genome-wide analysis of the bZIP gene family and the role of AchnABF1 from postharvest kiwifruit (*Actinidia chinensis* cv. Hongyang) in osmotic and freezing stress adaptations. *Plant Sci.* 308, 110927.
- Li, H., Pidakala, P., Billing, D., and Burdon, J. (2016). Kiwifruit firmness: Measurement by penetrometer and non-destructive devices. *Postharvest Biol. Technol.* 120, 127–137.
- Liu, D., Guo, W., Li, Q., and Xie, D. (2019). Relationship of the bulk optical properties in 950–1650 nm wavelength range with internal quality and microstructure of kiwifruit during maturation. *Biosyst. Eng.* 184, 45–54.
- Park, Y.S., Polovka, M., Suhaj, M., Ham, K.-S., Kang, S.-G., Park, Y.-K., Arancibia-Avila, P., Toledo, F., Sánchez, M.R., and Gorinstein, S. (2015). The postharvest performance of kiwi fruit after long cold storage. *Eur. Food Res. Technol.* 241, 601–613.
- Salazar, J., Jorquera, C., Campos-Vargas, R., Jorgensen, C., Zapata, P., and Infante, R. (2019). Effect of the application timing of 1-MCP on postharvest traits and sensory quality of a yellow-fleshed kiwifruit. *Sci. Hortic.* 244, 82–87.
- Wang, S., Qiu, Y., and Zhu, F. (2021). Kiwifruit (*Actinidia* spp.): A review of chemical diversity and biological activities. *Food Chem.* 350, 128469.

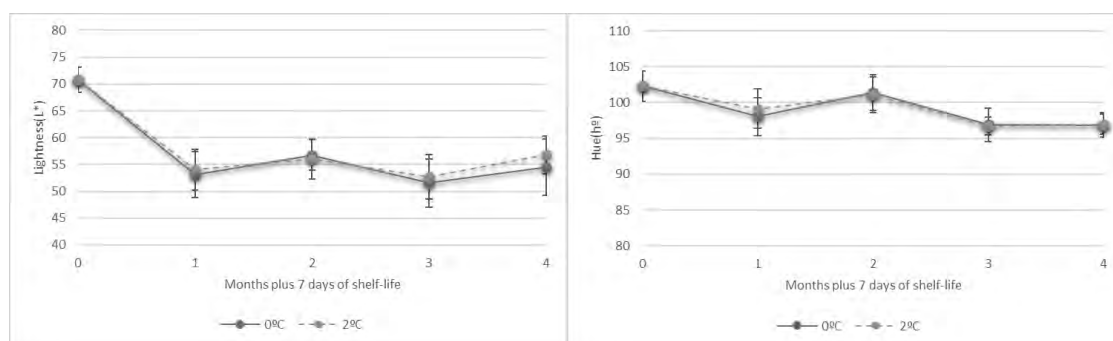


Fig. 1 Lightness(A) and Hue (B) of yellow-fleshed kiwifruit after 1 month + 7 days shelf-life at 20°C, 2 months + 7 days shelf-life at 20°C, 3 months + 7 days shelf-life at 20°C and 4 months + 7 days shelf-life at 20°C, storage at 0°C and 2°C. Values represent the mean ± standard deviation. (n= 30).

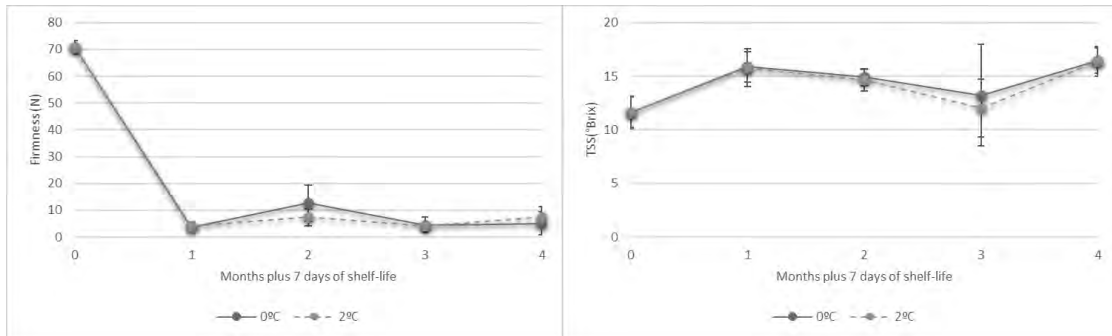


Fig 2. Firmness(A) and total solid soluble (B) of yellow-fleshed kiwifruit after 1 month + 7 days shelf-life at 20°C, 2 months + 7 days shelf-life at 20°C, 3 months + 7 days shelf-life at 20°C and 4 months + 7 days shelf-life at 20°C, storage at 0°C and 2°C. Values represent the mean ± standard deviation. (n= 30).

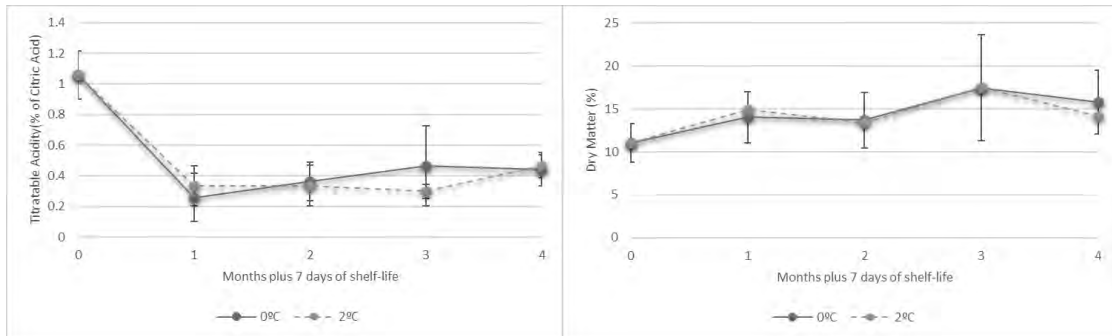


Fig 3. Titratable acidity (A) and dry matter (B) of red-flesh kiwifruit covered with different alginate (AL) based formulations during storage at 0°C. Parameters were evaluated at harvest (before treatments) and after 2 and 4 months of storage. Values represent the mean±standard deviation of three replicates(n=30).

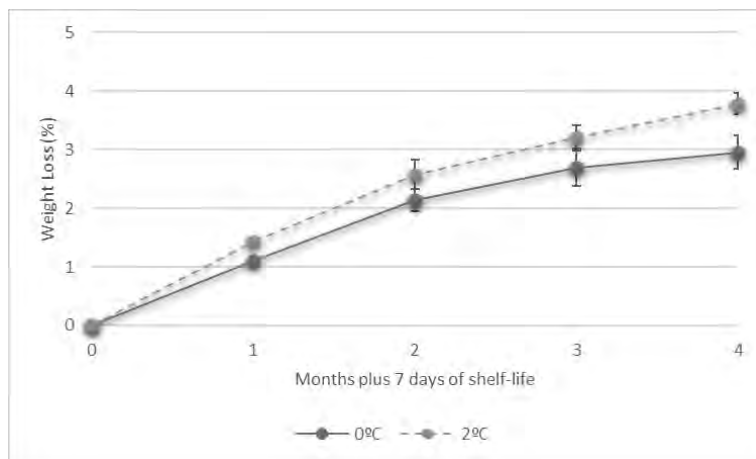


Fig 4. Wight loss (B) of yellow-fleshed kiwifruit after 1 month + 7 days shelf-life at 20°C, 2 months + 7 days shelf-life at 20°C, 3 months + 7 days shelf-life at 20°C and 4

months + 7 days shelf-life at 20°C, storage at 0°C and 2°C. Values represent the mean ± standard deviation. (n= 30).

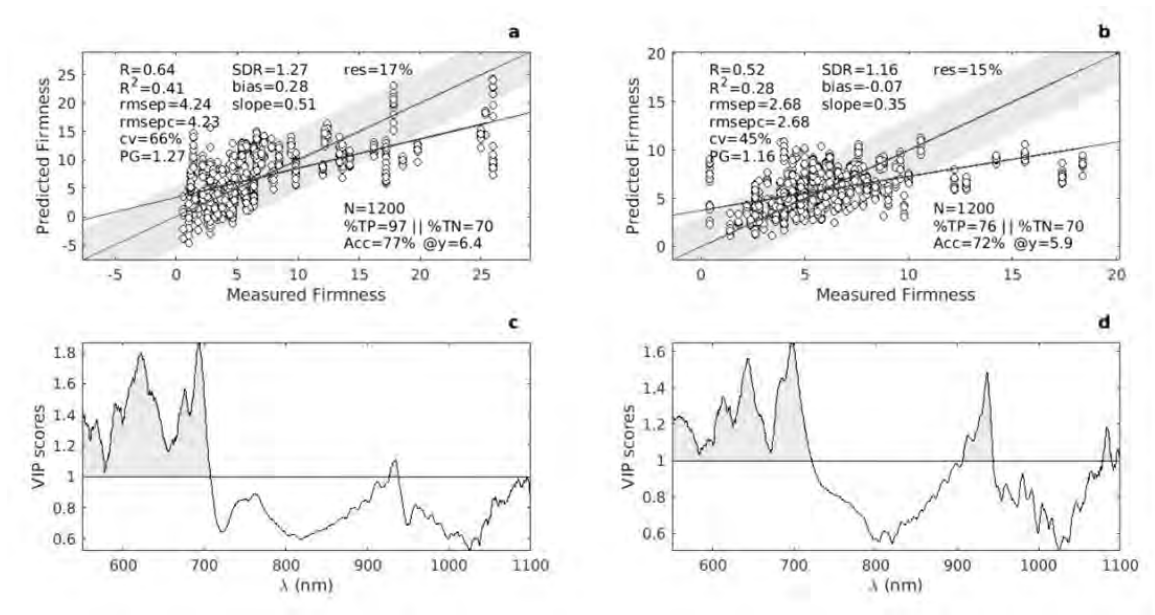


Fig 5. Predictions for the samples taken as validation samples for 0°C (A) and 2°C (B), bars represent one standard deviation (each way) of the parameter being predicted. The meaning of the abbreviations used in the plots is explained in the text. Average VIP scores for 0°C (C) and 2°C (D). The shadowed area corresponds to $VIP > 1$ and the white circles to the nominal position of the spectroscopic bands indicated.

Monitorización y control del higienizante ácido peracético (PAA) para el agua de lavado de frutas y hortalizas

S. Albolafio, J.A. Tudela, N. Hernández, A. Allende y M.I. Gil

Grupo de Microbiología y Calidad de Frutas y Hortalizas. Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos. CEBAS-CSIC. Campus Universitario de Espinardo. 30100, Murcia. E-mail: salbolafio@cebas.csic.es

Resumen

El uso de higienizantes es parte esencial de los programas de calidad y seguridad postcosecha e imprescindible para prevenir la contaminación cruzada durante el lavado de frutas y hortalizas. Es necesario disponer de una metodología precisa, segura, rápida y asequible que permita monitorizar y controlar los niveles del higienizante entre los límites operacionales adecuados para prevenir el riesgo microbiológico. Una de las alternativas al cloro es el ácido peracético (PAA) con gran potencial como agente antimicrobiano en el agua de lavado. En este estudio, se compararon tres metodologías para su medida y control: HPLC-DAD como método de referencia, un sensor cronoamperométrico y un kit comercial de valoración. Se realizó la medida a diferentes concentraciones de PAA (50 - 500 mg L⁻¹) en el agua de lavado de manzanas a distintas concentraciones de materia orgánica. El análisis por HPLC- DAD permitía la cuantificación indirecta del PAA por oxidación del ADS al correspondiente sulfóxido ADSO. Esta metodología fue optimizada para agua de proceso ya que había sido descrito para agua de bebida. Los resultados mostraron que el análisis por HPLC-DAD ofrecía alta selectividad para la cuantificación del PAA, no presentando interferencias con la materia orgánica. Sin embargo, esta metodología no es adecuada para condiciones comerciales en la planta de procesado ya que es un método laborioso de derivatización que requiere un equipo analítico costoso y personal cualificado para su realización. En cuanto al kit de valoración, los resultados mostraron una sobreestimación de la concentración de PAA a concentraciones medias y altas, además de requerir un largo tiempo de análisis y un entrenamiento previo del personal técnico. Sin embargo, el sensor cronoamperométrico resultó ser una metodología rápida, manejable, precisa, y sin interferencias con la materia orgánica, recomendada para la monitorización y el control del PAA.

Palabras clave: ácido peroxiacético, desinfección, sensores.

INTRODUCCIÓN

Durante la etapa de manipulación y procesado postcosecha, el lavado de las frutas y hortalizas es uno de los pasos críticos desde el punto de vista de la seguridad alimentaria, donde se eliminan los restos de suciedad que puedan traer del campo. El agua puede actuar como medio de transmisión de microorganismos, e incluso si el producto está contaminado puede transferir los patógenos que pasan al agua mediante el proceso de contaminación cruzada y contaminar a otros productos sanos (Gil y col., 2009). El ácido peracético o peroxiacético (PAA) es un potente oxidante utilizado como agente antimicrobiano en la higienización del agua de lavado. Al reaccionar con la materia orgánica acumulada en el agua de lavado, su concentración debe ser continuamente ajustada, pudiendo comprometer

la seguridad alimentaria si ésta disminuye (López-Gálvez y col., 2020). Se han descrito diversas metodologías para la determinación del PAA, incluyendo entre otros los métodos basados en valoraciones ácido-base y redox, siendo la valoración yodométrica una de las más utilizadas, así como los métodos electroquímicos o el análisis mediante cromatografía líquida o gaseosa (Sode, 2019). Sin embargo, resulta necesario conocer una metodología fiable, precisa, rápida y fácil de utilizar, la cual determine el PAA en un amplio rango de concentraciones y se pueda aplicar en las líneas comerciales de lavado de frutas y hortalizas sin presentar interferencias con la materia orgánica. El objetivo de este estudio fue la comparación de metodologías de análisis de PAA en agua de lavado de manzana. Para ello, se optimizó el análisis por HPLC-DAD para agua de proceso y, posteriormente, se comparó con otras metodologías, incluyendo un sensor cronoamperométrico y un kit comercial de valoración.

MATERIAL Y MÉTODOS

Agua de lavado con distintas concentraciones de materia orgánica y PAA

Para este estudio se generó agua de lavado de manzanas, empleando unos 20 kg de manzanas sin lavar de la variedad 'Royal Gala' procedentes de un mercado local de Murcia. Se realizaron dos ensayos en días independientes. Para generar el agua de lavado con un alto contenido en exudado que pudiera representar las características de calidad del agua en una industria de manipulación de manzanas, se golpearon las manzanas lanzándolas desde una altura de 2 m a un tanque. Posteriormente, las manzanas (7.5 kg) se cubrieron con agua del grifo (5 L) agitándolas durante 1 min, y dejándolas 72 h a temperatura ambiente y protegidas de la luz. Pasado este tiempo, el agua de lavado se filtró con una malla de poliamida (0.5 mm) y se midió el contenido en carbono orgánico total (COT) (APHA, 2014), utilizando un espectrofotómetro (Spectroquant NOVA 60, Merck, Darmstadt, Alemania). Para cada uno de los ensayos, se realizaron cinco diluciones del agua de lavado preparada para alcanzar valores de COT iguales a 0, 250, 500, 750 y 1000 mg L⁻¹, y tres concentraciones de PAA, para cada uno de los niveles de COT indicados (PAA = 0, 50 y 500 mg L⁻¹). Para cada una de las mediciones de PAA, se llevaron a cabo tres réplicas independientes. Se utilizó una solución comercial de PAA con una composición de 5% (p/v) PAA + 10% (p/v) ácido acético + 23% (p/v) peróxido de hidrógeno (Citroicide PC, Productos Citrosol SA). Previo al análisis, se ajustó el pH de las muestras (pH 3), utilizando 1 M de ácido clorhídrico (HCl).

Metodologías de análisis de PAA

El análisis mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a un detector de arreglo de diodos UV-VIS (HPLC-DAD) fue optimizado y adaptado para agua de manzana para compararlo, posteriormente, con el resto de metodologías. Este análisis se basa en el protocolo desarrollado por Effkemann y Karst (1998), con ligeras modificaciones, donde se lleva a cabo la cuantificación indirecta del PAA a través de la oxidación cuantitativa de una sustancia colorimétrica (ADS) por la acción del PAA, que oxida el grupo sulfuro del ADS a sulfóxido, y la posterior detección de la sustancia oxidada (ADSO) mediante HPLC-DAD. Asimismo, para la determinación del PAA también se utilizó un sensor cronoamperométrico (PAASense, Palintest, Reino Unido). Para ello, se tomaron 50 mL de muestra de agua quedando el sensor desechable sumergido mientras se

aplica un voltaje fijo. La intensidad de la corriente registrada pasado 1 min resulta proporcional a la concentración de PAA en la muestra. Por último, el kit de valoración (Drop titration kit, AquaPhoenix Scientific, Hanover, PA, Estados Unidos) consistió en una valoración yodométrica donde se utilizaron, atendiendo a la concentración estimada de PAA, 10 o 30 mL de muestra, contando el número de gotas de 0.1 N de tiosulfato de sodio hasta el punto final (Donabed, 2018). La concentración de PAA se calculó multiplicando el número de gotas por 5 o 15 mg L⁻¹, según volumen de muestra utilizado.

Análisis estadístico

Los resultados se representaron utilizando Sigma Plot (14. Systat Software, Inc., Addilink Software Scientific S.L., Barcelona) y para el análisis estadístico se utilizó el programa IBM SPSS Statistics 27 (Armonk, Nueva York). Se empleó una prueba t de Student ($p < 0.05$) para comparar el HPLC-DAD con el resto de metodologías, para cada uno de los niveles de COT y PAA.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En primer lugar, se realizó la comparación de las metodologías en las aguas de lavado con distintas concentraciones de COT pero sin PAA, confirmando la ausencia de interferencias de posibles compuestos presentes en el agua de lavado. Sin embargo, cuando se realizaron las determinaciones a concentración de PAA de 50 mg L⁻¹, aproximadamente, se observaron diferencias entre las metodologías (Fig. 1). El kit de valoración presentó una sobreestimación media de un 14% en el primer ensayo y de un 10% en el segundo, con respecto al análisis por HPLC-DAD. Asimismo, cuando esta comparación se realizó para una alta concentración de PAA (500 mg L⁻¹), las diferencias observadas entre el kit de valoración y el análisis por HPLC-DAD fueron todavía mayores (Fig. 2). El kit de valoración sobreestimó la concentración de PAA en un valor medio de 25% en el primer ensayo y de 20% en el segundo. A concentraciones altas de PAA, la cantidad de peróxido de hidrógeno es también mayor, hecho que podría producir una mayor sobreestimación del PAA. El peróxido de hidrógeno, al ser un buen oxidante y al estar en mayor concentración que el PAA en la solución comercial utilizada, podría interferir en la valoración yodométrica, produciendo la oxidación del yoduro, y sobreestimando la concentración de PAA (Sode, 2019). En cambio, cuando se comparó el sensor cronoamperométrico con la metodología de referencia (HPLC-DAD), no se observaron diferencias significativas en las mediciones de PAA para la mayoría de los valores de COT. En este sentido, para corregir las interferencias en la determinación del PAA, se podría cuantificar el HP que contribuye a la reacción durante la titulación (Donabed, 2018). Asimismo, la gran desviación estándar observada en las distintas valoraciones realizadas para cada punto de COT, muestra la falta de precisión de esta metodología, derivada probablemente de errores experimentales en la determinación del punto final o en el recuento del número de gotas. En cambio, cuando se comparó el sensor cronoamperométrico con la metodología de referencia (HPLC-DAD), no se observaron diferencias significativas en ninguno de los dos ensayos, mostrando esta metodología una alta especificidad para el análisis del PAA, así como la falta de interferencias con la materia orgánica u otras especies presentes en las preparaciones comerciales de PAA, como son el peróxido de hidrógeno y el ácido acético. Igualmente, la baja desviación estándar de las mediciones tomadas muestra la precisión de la metodología, eliminando los posibles errores experimentales que el operador pueda cometer.

CONCLUSIONES

El control y la monitorización de la concentración residual del higienizante PAA dentro de los límites operacionales requeridos en el agua de lavado de frutas y hortalizas, son esenciales para mantener la calidad microbiológica. El análisis mediante HPLC-DAD demostró ser una metodología selectiva para el PAA. Sin embargo, el tiempo de análisis requerido, su elevado coste, así como el entrenamiento y conocimientos previos necesarios para su realización, hacen que no sea una metodología viable para la monitorización in situ y el continuo ajuste de los niveles de PAA. Aunque el kit comercial de valoración resultó una metodología sencilla y relativamente económica, las interferencias presentadas y las desviaciones entre las medidas hacen que no sea un método adecuado, especialmente para altas concentraciones de PAA. Sin embargo, el sensor cronoamperométrico, además de ser una metodología tan adecuada con el HPLC-DAD en cuanto a su exactitud y selectividad para el PAA, también fue un método rápido, económico y sencillo de utilizar, por lo que resultó altamente recomendable para su uso en la línea de lavado en la postcosecha.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación procedente del MINECO (Proyecto AGL2016-75878-R), así como de la beca de la que Sofia Albolafio es beneficiaria (BES-2017-079969).

REFERENCIAS

- APHA. (2014). Standard methods for the examination of water and waste water, 21st. Edn. American Public Health Association, Washington, DC.
- Donabed, J. E. (2018). Evaluation of the Palintest PAASense on the quantification of the peracetic acid. Enviro Tech Chemical Services. <https://envirotech.com/wp-content/uploads/2019/02/PAASense-Validation-Report.pdf> (acceso el 2 de mayo de 2022).
- Effkemann, S, Karst, U. (1998). Reagent for the high-performance liquid chromatography determination of peroxyacetic acids. *Analyst*. 123: 761-1755. <https://doi.org/10.1039/a801697f>.
- Gil, M.I., Selma, M.V., López-Gálvez, F., Allende. A. (2009). Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: Problems and solutions. *Int. J. Food Microbiol.* 134: 37-45. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.021>.
- López-Gálvez, F., Truchado, P., Tudela, J.A., Gil, M. I., Allende, A. (2020). Critical points affecting the microbiological safety of bell peppers washed with peroxyacetic acid in a commercial packinghouse. *Food Microbiol.* 88: 103409. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103409>.
- Sode, F. (2019). Analytical methods for peroxy acids- a review. *Anal. Methods*. 11: 3372-3380. <https://doi.org/10.1039/c9ay00860h>.

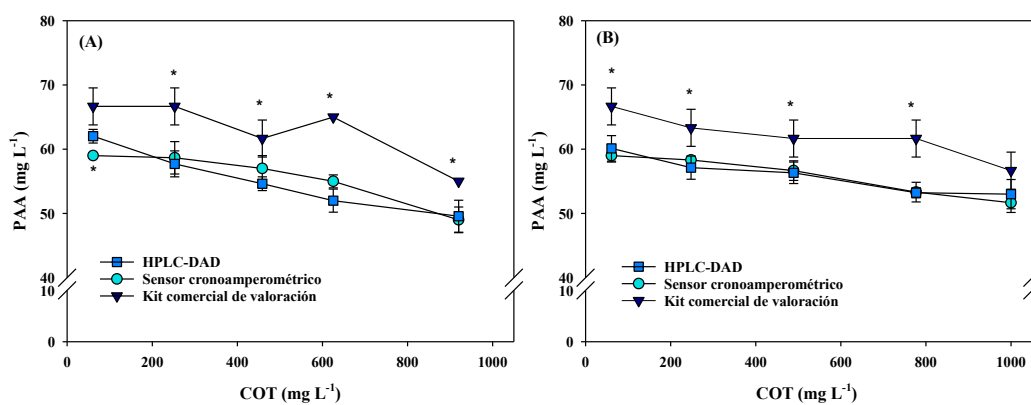


Fig.1. Comparación de metodologías para la medida de la concentración de ácido peracético (PAA), en el primer (A) y segundo ensayo (B), en agua de lavado de manzana a diferentes concentraciones de carbono orgánico total (COT), cuando se añadió 50 mg L⁻¹ de PAA. Los valores son la media de tres replicas \pm desviación estándar. El símbolo (*) indica las diferencias significativas ($p < 0.05$) para cada nivel de COT de la medición de PAA, comparando cada metodología con los resultados por HPLC-DAD.

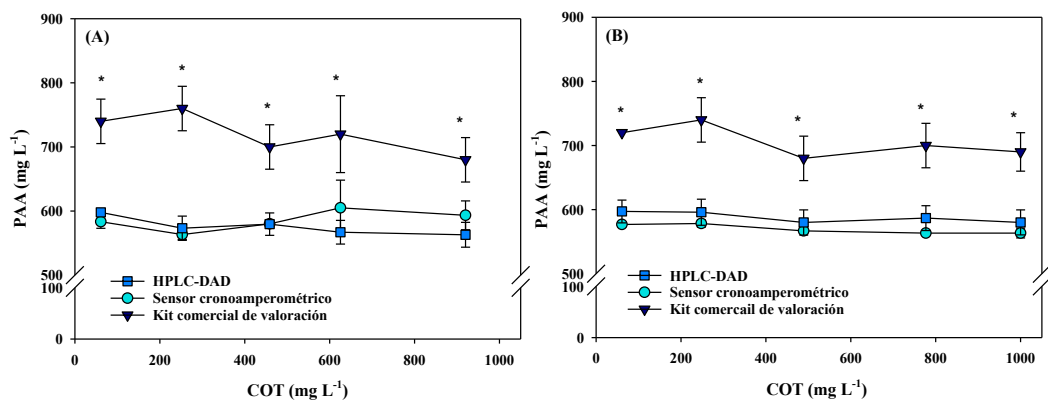


Fig.2. Concentración de ácido peracético (PAA), en el primer (A) y segundo ensayo (B), medida con diferentes metodologías, en agua de lavado de manzana a diferentes concentraciones de carbono orgánico total (COT), cuando se añadió 500 mg L⁻¹ de PAA. Los valores son la media de tres replicas \pm desviación estándar. El símbolo (*) indica las diferencias significativas ($p < 0.05$) para cada nivel de COT de la medición de PAA, comparando cada metodología con los resultados por HPLC-DAD.

Recubrimientos comestibles formulados con sales GRAS para controlar la antracnosis y mantener la calidad de frutos cítricos frigoconservados

V. Martínez-Blay¹, P. Quintanilla^{1,2}, M.B. Pérez-Gago¹ y L. Palou¹

¹ Centro de Tecnología Poscosecha (CTP), Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), 46113 Moncada, Valencia. Email: quintanilla_pal@externos.gva.es

² Vicerrectorado de Investigación, Universitat Politècnica de València, Cami de Vera, s/n, 46022 Valencia.

Resumen

Colletotrichum gloeosporioides es el agente causal de la antracnosis de los cítricos. Este trabajo evaluó la eficacia antifúngica *in vitro* (reducción del crecimiento miceliar en medio PDA) de varias sustancias GRAS ('generally recognized as safe'), a diferentes concentraciones, contra este patógeno. Los mejores resultados se obtuvieron con metilparabeno sódico (0,1%), etilparabeno sódico (0,1%) y bicarbonato amónico (2%). Posteriormente, sales seleccionadas se utilizaron como ingredientes antifúngicos de recubrimientos comestibles formulados con hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) y cera de abeja (BW). Estos recubrimientos se aplicaron en ensayos curativos *in vivo* a mandarinas 'Nadorcott' y naranjas 'Valencia Late' inoculadas artificialmente con *C. gloeosporioides* 24 h antes y se obtuvieron reducciones de la severidad de la enfermedad respecto al control del 50-70% en el caso de las mandarinas y del 10-35% en el de las naranjas. Los recubrimientos HPMC-BW con sorbato potásico (2%), benzoato sódico (2%) y silicato potásico (2%) fueron los más efectivos para controlar la enfermedad. Estos recubrimientos se seleccionaron para estudiar su efecto sobre naranjas 'Valencia Late' no inoculadas y frigoconservadas. Tras 56 días a 5°C y 90% HR, seguidos de 7 días de simulación de vida comercial a 20°C, se observó que los recubrimientos no redujeron de forma importante la pérdida de peso de las naranjas e incluso en el caso de los formulados con sorbato potásico la incrementaron, debido posiblemente a cambios en la permeabilidad de la cutícula. Por otro lado, los recubrimientos modificaron la atmósfera interna del fruto, pero estos cambios no afectaron negativamente a la calidad físico-química y sensorial de la fruta.

Palabras clave: *Colletotrichum gloeosporioides*, poscosecha, naranjas, mandarinas.

INTRODUCCIÓN

La producción citrícola (*Citrus* spp., Rutaceae) mundial supera los 130 millones de toneladas. España es el sexto productor de cítricos en fresco, superando los 6 millones de toneladas, y el primero en exportación (FAOSTAT, 2018). Las enfermedades de poscosecha de los cítricos son causadas por hongos patógenos que infectan la fruta antes, durante o después de la cosecha pero que se desarrollan tras la recolección, representando un riesgo económico continuo para el sector. La antracnosis de poscosecha, causada por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., se inicia con infecciones latentes de campo en el fruto favorecidas por temperaturas y humedades relativas (HR) elevadas.

Sus síntomas son manchas oscuras en el fruto que pueden ocupar gran parte de su superficie y mostrar masas de conidios de color salmón (Smilanick et al., 2020).

La extensión mediante frigoconservación del periodo comercial de los cítricos puede incidir negativamente en la calidad de la fruta y aumentar la incidencia de enfermedades de poscosecha como la antracnosis. Los recubrimientos comestibles (RCs) pueden reducir el deterioro de frutas y hortalizas al crear una barrera semipermeable frente a gases, reduciendo la respiración y la pérdida de peso y firmeza, y además actuar de soporte de sustancias activas, como agentes antimicrobianos (Valencia-Chamorro et al., 2011). La incorporación de sales GRAS ('generally recognized as safe') con acción antifúngica a RCs a base de hidroxipropil metilcelulosa (HPMC) y lípidos ha emergido en los últimos años como una alternativa viable y no contaminante frente a tratamientos poscosecha tradicionales como las ceras formuladas con fungicidas químicos (Fagundes et al., 2013; Guimarães et al., 2019). En este trabajo se evaluó la actividad antifúngica *in vitro* de sales GRAS contra *C. gloeosporioides* y se desarrollaron nuevos RCs con HPMC, cera de abeja (BW) y las sales seleccionadas efectivos para controlar la antracnosis y mantener la calidad fisicoquímica y sensorial de fruta frigoconservada.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se probaron las sales bicarbonato amónico (ABC), carbonato amónico (AC), bicarbonato potásico (PBC), carbonato potásico (PC), silicato potásico (PSi), sorbato potásico (PS), benzoato sódico (SB), etilparabeno sódico (SEP), metilparabeno sódico (SMP) y propionato sódico (SP). El crecimiento *in vitro* de *C. gloeosporioides* (diámetro de colonia) se evaluó en placas Petri con medio PDA modificado con soluciones acuosas de las sales a las concentraciones (v/v) de 0,2, 1 y 2% (0,01, 0,05 y 0,1% para SEP y SMP). Cada placa se inoculó con un tapón miceliar de 5 mm de diámetro (cultivos del hongo de 7-14 días). Se usaron 4 réplicas (placas) por sal y concentración. Se evaluó la reducción del crecimiento miceliar respecto al control (%) tras incubación, 7 días, a 25°C.

Los RCs fueron emulsiones estables de HPMC y BW formuladas con sales GRAS seleccionadas según los resultados *in vitro*: AC (0,2%), PS (2%), PC (0,2%), SMP (0,1%), SEP (0,1%), SB (2%) y PSi (2%). Contuvieron 1,3% de HPMC (p/p, base húmeda, bh), 3% de BW (bh), ratios constantes de HPMC-plastificante (2:1, glicerol) y BW-emulsificante (3:1, ácido esteárico o Tween-80 para SEP y SMP), una concentración de sólidos del 6% y se prepararon a 95°C con un homogeneizador de alta velocidad. Se evaluó la capacidad de control de la antracnosis de los RCs en mandarinas 'Nadorcott' y naranjas 'Valencia Late' inoculadas artificialmente, mediante una herida (1x2 mm) en la zona ecuatorial del fruto con un punzón sumergido en una suspensión de 2×10^6 esporas mL^{-1} de *C. gloeosporioides*. Tras 24 h a 25°C, los frutos se recubrieron manualmente (300 μL de emulsión). Los controles fueron frutos inoculados sin recubrir. Cada tratamiento se aplicó a 4 repeticiones de 10 frutos. Se determinó la severidad de la enfermedad (diámetro de lesión, en mm) tras 15 días de incubación a 25°C. El efecto de los RCs más efectivos sobre la calidad del fruto se evaluó en naranjas 'Valencia Late' sin inocular conservadas a 5°C, determinándose: pérdida de peso (%), firmeza (% deformación corteza), índice de madurez (IM=CSS/AT; CSS: contenido en sólidos solubles, °Brix; AT: acidez titulable, % ácido cítrico; n=15), concentración de CO_2 (% CO_2 , n=10) y volátiles (mg L^{-1} de etanol y acetaldehído, n=15). Sensorialmente, se evaluó (n=4): sabor global (1=pobre a 9=óptimo), malos sabores (1=ausencia a 5=pronunciados) y apariencia externa (1=mala a

3=buena). Los resultados se procesaron mediante análisis de varianza (ANOVA) y el test de la Mínima Diferencia Significativa de Fisher (MDS) al 95% de confianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

In vitro se obtuvieron diferencias significativas entre sales y un efecto dependiente de la concentración, siendo más efectivas a mayor dosis. Destaca la inhibición total del crecimiento a los 7 días con SMP (0,1%), SEP (0,1%) y ABC (2%) (datos no mostrados). Los RCs ensayados redujeron la severidad de la antracnosis respecto al control del 50-70% en mandarinas ‘Nadorcott’ y del 10-35% en naranjas ‘Valencia Late’, siendo los RCs con PS, SB y PSi al 2% los más efectivos (Fig. 1). Estos tres RCs se estudiaron sobre la calidad de naranjas frigoconservadas. Tras 56 días a 5°C y 7 días a 20°C ninguno de ellos mejoró la pérdida de peso e incluso los formulados con PS la incrementaron (Tabla 1), debido posiblemente a cambios en la permeabilidad de la cutícula. Todos los RCs modificaron la atmósfera interna de la fruta, aumentando su concentración de CO₂, pero ninguno afectó negativamente su calidad (Tabla 1). Sensorialmente (se muestran promedios para control, HPMC-BW-PS, HPMC-BW-SB y HPMC-BW-PSi respectivamente) no existieron diferencias significativas ni en el sabor global de la fruta (5,7, 5,5, 5,3 y 5,6) ni en la presencia de malos sabores (1,3, 1,3, 1,8 y 1,3). El aspecto de los RCs no mejoró respecto al control, siendo los que contenían PSi los de mejor aspecto (datos no mostrados). Estos resultados confirman que los RCs de HPMC-BW con PS, SB o PSi son alternativas potenciales para controlar la antracnosis de poscosecha en cítricos y mantener la calidad de la fruta durante periodos largos de frigoconservación. Puesto que RCs similares resultaron efectivos en otros patosistemas (Fagundes et al., 2013; Guimarães et al., 2019), se confirma el amplio espectro de estas soluciones poscosecha.

CONCLUSIONES

Los RCs con PS, SB y PSi al 2% suponen una alternativa no contaminante para el control de la antracnosis en cítricos sin afectar negativamente la calidad de fruta frigoconservada. Futuros estudios deben mejorar sus características físicas y su aspecto.

AGRADECIMIENTOS

La actividad investigadora de la Dra. Victoria Martínez-Blay está financiada por el IVIA y el Fondo Social Europeo (Beca IVIA-FSE 2018 n°24). Agradecer al Programa de Recualificación del sistema universitario español del Ministerio de Universidades, por el contrato Margarita Salas – UPV de P. Quintanilla, financiado por la Unión Europea-Next generation EU. Por último, nuestro agradecimiento a Fontestad S.A. por la fruta proporcionada.

REFERENCIAS

- FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2018) Statistics. Disponible online: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC> (acceso: 17 de junio 2020).
- Smilanick, J.L., Erasmus, A., Palou, L. 2020. Citrus fruits. In: Postharvest Pathology of Fresh Horticultural Produce, Palou, L., Smilanick, J.L., Eds. CRC Press, Taylor and Francis Group: Boca Raton, FL, USA, pp. 3–53.

Valencia-Chamorro, S.A., Palou, L., del Río, M.A., Pérez-Gago, M.B. (2011). Antimicrobial edible films and coatings for fresh and minimally fruits and vegetables: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 51: 872-900.

Fagundes, C., Pérez-Gago, M.B., Monteiro, A.R., Palou, L. (2013). Antifungal activity of food additives *in vitro* and as ingredients of HPMC–lipid edible coatings against *B. cinerea* and *A. alternata* on cherry tomato. *Int. J. Food Microbiol.* 166: 391-398.

Guimarães, J., de la Fuente, B., Pérez-Gago, M.B., Andradas, C., Carbó, R.; Mattiuz, B.-H., Palou, L. (2019). Antifungal activity of GRAS salts against *L. theobromae* *in vitro* and as ingredients of HPMC-lipid composite edible coatings to control Diplodia stem-end rot and maintain postharvest quality of citrus. *Int. J. Food Microbiol.* 301: 9–18.

TABLAS

Tabla 1. Valores medios de pérdida de peso, firmeza (F), índice de madurez (IM), concentración de CO₂, etanol y acetaldehído en naranjas ‘Valencia Late’ recubiertas con HPMC-BW-GRAS (2%) (PS=sorbato potásico, SB=benzoato sódico, PSi=silicato potásico), tras 56 días a 5°C y 7 días a 20°C.

Parámetros de calidad	Control	HPMC-BW-PS	HPMC-BW-SB	HPMC-BW-PSi
Pérdida de peso (%)	3,48 ^{ab}	3,71 ^a	3,91 ^a	2,97 ^b
F (% deformación)	2,66 ^a	2,87 ^a	2,47 ^a	2,46 ^a
IM (CSS/AT)	12,95 ^a	13,28 ^a	12,28 ^a	10,29 ^b
CO ₂ (%)	1,76 ^c	4,30 ^b	4,25 ^b	5,72 ^a
Etanol (mg L ⁻¹)	441,49 ^c	606,90 ^{ab}	543,17 ^{bc}	699,63 ^a
Acetaldehído (mg L ⁻¹)	5,72 ^c	6,88 ^b	7,47 ^{ab}	7,72 ^a

Letras diferentes indican diferencias significativas ($P<0,05$) según el test MDS tras el ANOVA.

FIGURAS

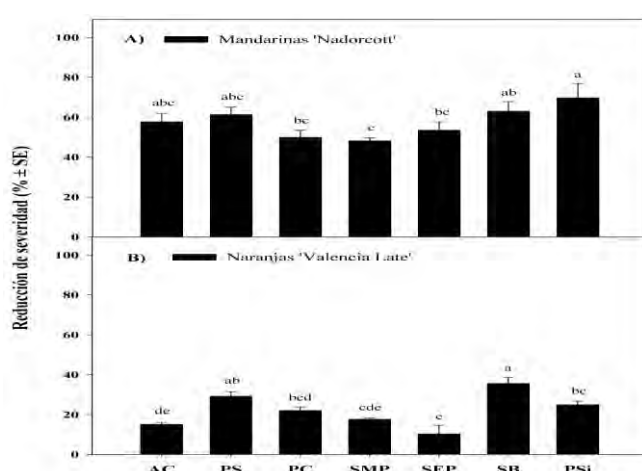


Fig. 1. Reducción de severidad de la antracnosis, respecto al control, en fruta inoculada artificialmente con *C. gloeosporioides* y recubierta con HPMC-BW-GRAS (2%) (AC=carbonato amónico, PS=sorbato potásico, PC=carbonato potásico, SMP=metilparabeno sódico, SEP=etilparabeno sódico, SB=benzoato sódico, PSi=silicato potásico), tras 15 días a 25°C. Letras diferentes marcan diferencias significativas ($P<0,05$; test MDS tras ANOVA).

Prospectivas y perspectivas de la Agroalimentación y la Tecnología Postrecolección en España

F. Artés

Grupo de Postrecolección y Refrigeración. Dpto. Ingeniería Agronómica. Universidad Politécnica de Cartagena. Pº Alfonso XIII, 48. E-30203 Cartagena. fr.artes@upct.es

Resumen

La Humanidad vive una nueva transición con trascendentales desafíos sociales (como los tan inesperados y trágicos SARS-COV-2 o la invasión de Ucrania por Rusia), económicos y ambientales, e incertidumbre para superarlos. La Agroalimentación y la Tecnología Postrecolección muestran notorios avances, con sus riesgos y oportunidades, que satisfacen la mayor demanda de calidad nutricional, medioambiental y sociocultural de los alimentos a costes razonables. Ahora se requieren medidas globales para satisfacer de forma sostenible y responsable las necesidades alimentarias mundiales de la creciente demografía, mutualizando más el modelo productivo y de distribución, para preservar la salud humana y los ecosistemas. En su adopción será decisivo el proceder del consumidor sobre las condiciones de producción y comercialización y sus hábitos sobre comida de fácil consumo, equilibrada y diversificada. Previsiblemente se innovará en calidad sensorial, potencial de vida comercial, facilidad de uso y procesado mínimo con más atención al progreso de la producción orgánica. Se potenciará la biotecnología, genómica, robótica, sensórica, TICs (redes sociales, internet de las cosas), inteligencia artificial o agroecología, con variedades idóneas adaptadas al procesado y al cambio climático, para producir más y mejor reduciendo insumos, residuos químicos, pérdidas y desperdicios. La tendencia es a incluirlo en una I+D+i con financiación reforzada para optimizar la producción garantizando a los productores unas rentas dignas, expandir la gestión digital en la cadena de suministro y minimizar mermas de calidad e incidencia ambiental, en el marco de los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la Agenda 2030. La Agroalimentación y la Tecnología Postrecolección seguirán prestando un servicio crucial para lograr un futuro socialmente más justo. España tiene un envidiable prestigio internacional en I+D+i en estas especialidades y debe tener su propia estrategia para consolidarlo y potenciarlo.

Palabras clave. Transición agroalimentaria, sostenibilidad, recursos, tendencias.

CONTEXTO SECTORIAL Y TRANSICIONES ALIMENTARIAS

Vivimos un cambio de era con el surgir de tecnologías que han de incorporar las empresas para ser competitivas, asumiendo los deesafíos socioeconómicos, ambientales y políticos y las oportunidades inherentes. Se exponen aquí unas prospectivas para alcanzar un equilibrio entre atender las necesidades alimentarias globales, el placer (sensorial, al cocinar, en la gastronomía y la socialización), el bienestar y la salud que procuran, y preservar el medio ambiente.

La Humanidad ha asistido a varias transiciones agroalimentarias desde que usó el fuego para preparar su comida, surgió la agricultura y ganadería y las primeras técnicas de conservar alimentos, la preglobalización alimentaria con los Descubrimientos, y tras industrializar el sistema alimentario con la globalización, invenciones, urbanización, expansión demográfica y escaso tiempo para cocinar y consumir los alimentos. Ahora, parece iniciarse otra transición con la mundialización basada en imperios de producción, comercio y restauración, agotamiento del modelo de producción masiva, más exigencia de calidad nutricional, ambiental y sociocultural, y menor consumo de productos ultra-transformados, de probado o temido impacto negativo sobre los seres vivos, el ambiente y la bioeconomía (Rastoin, 2018). En la última transición surgieron las semillas híbridas, la fertirrigación, la biotecnología, la cultura alimentaria de masas, las tecnologías avanzadas de información y comunicaciones (TICs), la revolución verde o el procesado mínimo (4ª y 5ª Gamas). La actual transición alimentaria, ecológica, sostenible y digital, evita externalidades negativas con intensos cambios socioeconómicos, energéticos y ambientales. En ella han surgido las agriculturas de precisión, urbanas y verticales, el flexitarismo, la generalización de las redes sociales e internet de las cosas, el comercio electrónico, la “blockchain” en la trazabilidad, la moda gastro-saludable y funcional o el movimiento “slow food” por la biodiversidad. Ahora se intenta reforzar el poder motor de desarrollo social y económico de los sistemas agroalimentarios afrontando el reto ético de hacerlos sostenibles y accesibles a las clases modestas, y proveer dietas saludables, en especial las infanto-juveniles, en lo que son decisivos los nuevos hábitos del consumidor, cada día más variado, exigente y digital (Claquin et al., 2017; Etienne y Ostrowski, 2019).

ALGUNAS PREVISIONES

En plena aciaga pandemia del SARS-CoV-2 e invasión de Ucrania por Rusia, que han revelado la trágica fragilidad de nuestra sociedad y economía, se asume aquí el riesgo de conjeturar sobre el sector estratégico, esencial y dinámico, pero vulnerable y atomizado, de la Agroalimentación y las actividades vinculadas en la Tecnología Postrecolección. Para la seguridad colectiva, es perentorio reforzarlo y darle resiliencia, porque incluso durante el confinamiento aseguró el suministro forjando certidumbres y mejoró su estima social (Artés, 2020; Fundación Triptolemos, 2021). El objetivo es garantizar siempre el derecho de todos a la alimentación adecuada y segura para llevar una vida activa y sana, con alimentos inocuos y nutritivos, producidos y consumidos en forma sostenible, asegurando a los productores unas rentas justas (FAO, 2011; De Schutter, 2014). La clave será alimentar 9.800 millones de personas hacia 2050, con un 80% viviendo en ciudades, partiendo de unos 1.900 millones subalimentadas y más de 820 desnutridas en 2017, con menos o más caras tierra y agua, creciendo sosteniblemente la producción agrícola un 50% (FAO, 2018). El escenario prospectivo para abastecerlas se debatirá entre oligopolio de multinacionales o una densa red de empresas territoriales que refuercen las soberanías estratégicas nacionales, prioridad al mercado o a valores éticos y socioambientales, volumen o calidad y más globalización o cercanía territorial. La tendencia es cambiar hacia una Agroalimentación responsable, duradera y equilibrada, lograr la calidad global, la agroecología con biodiversidad, canales de comercialización cortos y mutualizar recursos (Altieri, 2001; Esnouf et al., 2011; Rastoin, 2018).

El desarrollo equitativo de la Agroalimentación en los países y comunidades requiere asumir su proyección social y poder satisfacer de modo sostenible una creciente demanda exigente en calidad, sanidad y seguridad. Para ser sostenibles, los productos y técnicas han de minimizar el impacto sobre las personas y el ambiente, recortar insumos, ser viables económicamente y reciclar al máximo los residuos bajo una economía limpia

y circular, basada en el conocimiento. Se ha de preservar y restaurar la biodiversidad y evitar la contaminación en el marco del Pacto Verde Europeo, estimular una logística idónea y la comercialización de productos de proximidad, reducir drásticamente en la cadena de suministro pérdidas (merma de alimentos comestibles en su producción, postcosecha, elaboración y distribución) y desperdicios (descarte de los aún aptos para consumir, a veces evitables, por malos hábitos de compra y consumo o inadecuada manipulación y gestión), valorizar subproductos, ecodiseño, reutilización y reciclado de envases y optimizar el uso de agua y energía, reduciendo la huella de carbono y los riesgos del cambio climático. El Objetivo 12.3 de la Agenda 2030 de Desarrollo Sostenible para lograr el Hambre Cero es reducir a la mitad el desperdicio mundial de alimentos per cápita a nivel minorista y de consumo (FAO, 2017), superando brechas tecnológicas con transferencia de tecnología de calidad y formación idónea de personal para aplicarla y mantenerla. Pero para mantener la presión ambiental del sistema alimentario en límites planetarios asumibles simultáneamente, que podría crecer un 50-90% para 2050 por el aumento de la población y occidentalización de las dietas, se necesitará una combinación sinérgica de medidas para mitigar lo suficiente ese aumento (Searchinger et al., 2018).

Para que la Agroalimentación progrese es esencial el relevo generacional, a lo que ayudará la digitalización, mantener precios asequibles con más transparencia, garantizar unas rentas dignas a los productores que les permitan financiar su propio futuro desarrollo sostenible con más empleo y bienestar, así como asegurar una competencia justa, leal y efectiva, cumpliendo la Ley 12/2013 para mejorar la cadena alimentaria, lo que también beneficiará a los consumidores. Se requieren más frutas y hortalizas en la dieta para favorecer la salud y prevenir enfermedades no transmisibles, lo que solo se logrará innovando en calidad sensorial y nutricional, potencial de vida útil y facilidad de uso, servicio y distribución. Se han de reducir residuos químicos en el alimento y potenciar la genética (variedades adaptadas al cambio climático, cultivo superintensivo, riego deficitario, procesado, etc). Se utilizará más la biología molecular (biotecnología, genómica, etc.), la agroecología, bioestimulantes, bioplásticos, robótica, inteligencia artificial, TICs, etc. Esto se incluirá en programas y centros de I+D+i cooperativos, uniendo esfuerzos empresariales, sobre protección y resiliencia de cultivos, biocontrol, mejora vegetal, deterioro global, pérdidas y desperdicios, gestión y transformación digital de la cadena de suministro (control de procesos, calidad y trazabilidad, automatización, predicción sensorial y preferencias de consumidores, seguridad, formación, etc) (Springmann et al., 2018; Kressmann, 2019). También, para lograr una supervivencia más digna y justa, los productores asociados participarán cada vez más en cadenas de valor globales y más equilibradas entre sus operadores. Todo ello requerirá una financiación reforzada de los programas FEDER, FEADER y Horizonte Europa, en el marco de la Agenda 2030 y del Proyecto Estratégico Agroalimentario para la Recuperación y Transformación Económica financiado con fondos Next Generation EU.

En particular, se optimizará la productividad agroalimentaria vegetal en fresco con menos insumos e incidencia ambiental, afrontando el mayor riesgo de nuevas plagas y enfermedades por la globalización y el cambio climático. Se ha de estudiar la frontera entre sufrir y manifestar enfermedades, evitar malas prácticas, definir la recolección óptima, revisar los estándares de calidad para usar alimentos aún aptos para consumir, impulsar la mejora en base a propiedades sensoriales, composición química y nutricional, contenido proteico y potencial nutracéutico, inducir elicitores y estreses en el concepto de biofactorías para producir alimentos e ingredientes funcionales en busca de la nutrición personalizada, reduciendo el sobrepeso y la obesidad, especialmente infanto-juvenil. Se deberán ampliar estudios sobre aptitud para la manipulación, el procesado, la

frigoconservación y la logística (transporte, distribución y cadena de frío), con más atención a las frutas y hortalizas orgánicas, ornamentales y flor cortada, profundizar en el concepto de agroindustria 4.0 (diseño higiénico y ejecución optimizada de instalaciones, líneas y procesos -desinfección, desastringentación, desverdización, maduración acelerada, atmósferas modificadas y controladas, inspección y selección, envasado y empaquetado sostenible, calidad en línea, ensayos de calidad no destructivos, reducir daños mecánicos y la huella hídrica, ambiental y de CO₂- digitalización, sensórica, TICs, etc), eliminar plásticos, preparar y comercializar graneles, etc. También se han de optimizar la seguridad e inocuidad alimentaria e intensificar ensayos clínicos que vinculen la alimentación idónea con menor riesgo de enfermedades crónicas. Igualmente se han de optimizar Buenas Prácticas Agrícolas, incluida la contratación, para aminorar costes (relación suelo-planta-agua, uso eficiente del agua con regeneración viable, gestión del suelo, laboreo, fertilización sostenible, semillas, injerto, trasplante, poda, menos insumos en cultivos protegidos y forzados, desestacionalizar, resistencia y control de enfermedades y plagas, adaptación a efectos climáticos adversos, etc) y coordinar mejor los actores de las cadenas de suministro para una mayor eficacia. En todo ello se debería lograr que los avances científico-técnicos se incluyan en las normas regulatorias.

Además, se deberá reforzar a nivel empresarial la extensión de la RSC, la contabilidad socioambiental y el compromiso ético, y en los dirigentes la cooperación al desarrollo internacional para transferir tecnología relevante y adecuada, con recursos financieros y controles científicos imparciales y fidedignos sobre beneficios y riesgos antes de extender los avances, impulsando la formación técnica, económica, laboral, jurídica, etc. sobre los conocimientos y destrezas para poder implementarla. En este progreso somos deudores de innumerables científicos y técnicos que han sentado las bases de la excelente realidad actual de la Agroalimentación y Tecnología de la Postrecolección.

CONCLUSIONES

Una mayor producción hortofrutícola sostenible, nutritiva, segura y de calidad, con drástica reducción de pérdidas y desperdicios, habrá de satisfacer la demanda de una población mundial creciente y más próspera. Se deberá mejorar la vida comercial, calidad sensorial, facilidad de uso y procesado mínimo, minimizar el daño ambiental, impulsar la postcosecha de la producción orgánica y ornamental, optimizar la gestión digital y garantizar a los productores unas rentas dignas. La mayor eficacia, seguridad e innovación de la cadena de suministro, orientada al consumidor, será clave en un sistema alimentario mundial más ético, solidario y sostenible. Para lograrlo convendrá reforzar la confianza en la ciencia y acelerar el desarrollo y transferencia idónea de los avances logrados. Las empresas con más futuro serán las que antes intuyan y mejor satisfagan las demandas de los consumidores. La Agroalimentación y la Tecnología Postrecolección, adaptadas a los territorios y actualizadas permanentemente, seguirán prestando un servicio comunitario crucial para un futuro socialmente más justo. España debería tener una estrategia para potenciar su gran prestigio internacional económico y en I+D+i en este campo.

RESULTS AND DISCUSSION

- Altieri, M.A. 2001. Agroecología: principios y estrategias para diseñar sistemas agrarios sustentables. En: Agroecología: el camino hacia una agricultura sustentable. Ediciones Científicas Americanas. Cap. 2, 27-34.
- Artés, F. 2020. Desempeño de la agroalimentación y de la tecnología postrecolección en la pandemia de la Covid-19. CTC Rev. Agroalimentación. 72: 18-19.
- Claquin, P., Martin, A., Deram, C., Bidaud, F., Delgoulet, E., Gassie, J., Hérault, B. 2017. MOND'Alim 2030 panorama prospectif de la mondialisation des systèmes alimentaires. Centre d'Études et Prospective. Documentation française. Paris. 228 pp.
- De Schutter, O. 2014. El potencial transformador del derecho a la alimentación. Consejo de Derechos Humanos. Asamblea General Naciones Unidas. GE.14-10540.
- Esnouf, C., Russel, M., Bricas, N. 2011. Pour une alimentation durable. Réflexion stratégique duALIne. Editions Quae, Paris, France. 288 pp.
- Etienne, E., Ostrowski, A. 2019. Les enfants à table : accélérer la transition alimentaire dans les cantines scolaires. Ed. Terra Nova. 117 pp.
- Food and Agriculture Organization. 2011. La Seguridad Alimentaria: información para la toma de decisiones. Guía práctica. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/014/al936s/al936s00.pdf>. Acceso enero 2020.
- Food and Agriculture Organization. 2017. Food and agriculture. Driving action across the 2030 Agenda for Sustainable Development. Rome. 40 pp. Disponible en <https://www.fao.org/3/a-i7454e.pdf>. Acceso enero 2020
- Food and Agriculture Organization. 2018. The future of food and agriculture. Alternative pathways to 2050. Rome. 224 pp. Disponible en <http://www.fao.org/3/CA1553EN/ca1553en.pdf>. Acceso febrero 2022.
- Fundación Triptolemos. 2021. Informe sobre el impacto del pacto verde europeo desde un enfoque de sistema alimentario global sostenible. Disponible en <https://www.triptolemos.org> Acceso abril 2022
- Jefatura del Estado. 2013. Ley 12/2013, de medidas para mejorar el funcionamiento de la cadena alimentaria. Boletín Oficial del Estado 185, de 3 de agosto. 45 págs.
- Kressmann, G. 2019. Le rôle de la science dans la transformation de notre agriculture. Disponible en <https://www.academie-agriculture.fr/publications/articles?page=5>. Acceso mayo 2022
- Rastoin, J.L. 2018. Accélérer la transition vers une alimentation durable par un changement de paradigme scientifique et économique et des politiques publiques innovantes. Systèmes alimentaires. Classiques Garnier. 3: 17-27.
- Searchinger, T., Waite, R., Hanson, C., Ranganathan, J. 2018. Creating a sustainable food future: A menu of solutions to feed nearly 10 billion people by 2050. Synthesis Report. December. Washington, DC. World Resources Institute.
- Springmann, M., Clark, M., Mason-D'Croz, D. et al. 2018. Options for keeping the food system within environmental limits. Nature 562, 519–525. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0594-0>

Aprovechamiento de las vainas de la nuez pecana (*Carya illinoensis* Koch) como fuente de compuestos bioactivos

G. Domínguez¹, M.J. Serradilla^{2*}, M.G. Córdoba³, M. López-Corrales¹, R. Velázquez⁴, R. Casquete³

¹Instituto de Investigación Finca La Orden-Valdesequera (CICYTEX). Área de Fruticultura Mediterránea. A.V. Km 372. 06480 Guadajira (Badajoz)

²Área de Postcosecha, Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, Avenida Adolfo Suárez s/n, 06007, Badajoz, España

³Nutrición y Bromatología, Instituto Universitario de Investigación en Recursos Agrarios (INURA), Escuela de Ingenierías Agrarias, Universidad de Extremadura, Badajoz, España

⁴Investigación Aplicada en Hortofruticultura y Jardinería, Instituto Universitario de Investigación en Recursos Agrarios (INURA), Escuela de Ingenierías Agrarias, Universidad de Extremadura, Badajoz, España.

*manuel.serradilla@juntaex.es

Palabras clave: Subproducto, revalorización, fenoles totales, actividad antioxidante

Resumen

El pecanero (*Carya illinoensis* Koch) es una especie que pertenece a la familia *Juglandaceae* y es nativa del sur de Estados Unidos. Su cultivo se extiende por zonas de clima templado con veranos calurosos y secos y con otoños no muy lluviosos. En España, su cultivo se ha planteado como una alternativa frutícola, debido a las propiedades nutricionales del fruto y a sus bajas necesidades de horas-frío, con el establecimiento de nuevas plantaciones comerciales. Como consecuencia, también aumentará la producción de subproductos como la cáscara y la envuelta o vaina del fruto, que representa hasta el 49% de la nuez pecana. Dicha vaina está considerada como un subproducto agroindustrial rico en fenoles con actividad antioxidante, cuyo perfil polifenólico incluye una alta concentración de ácido gálico, ácido clorogénico, ácido p-hidroxibenzoico, epigallocatequina y galato de epicatequina. El objetivo de este trabajo fue evaluar el contenido en compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante total de las vainas de la colección de 20 variedades de pecaneros establecida en el Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX). Los compuestos fenólicos fueron extraídos mediante ultrasonido utilizando etanol (20% v/v) como solvente de extracción. Los fenoles totales fueron determinados por el método Folin-Ciocalteu, mientras que la actividad antioxidante de los extractos fue evaluada por dos métodos; ensayo de captación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y por ensayo de captación del radical 2,2'azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS). Los resultados obtenidos pusieron de manifiesto diferencias significativas en el contenido de fenoles totales entre las variedades estudiadas, oscilando de 30,52 a 68,50 mg ác. gálico/ g peso seco mostrado por las variedades 'Mohawk' y 'Caddo', respectivamente. En cuanto a la actividad antioxidante total, tanto por ABTS como por DPPH, diferencias significativas fueron encontradas entre

variedades, siendo las variedades ‘Queen Elizabeth’ y ‘Caddo’ las que presentaron la mayor capacidad antioxidante total. Estos resultados ponen de manifiesto que las vainas de la nuez pecana son un subproducto de elevado contenido en compuestos fenólicos con capacidad antioxidante y pueden ser revalorizadas mediante su uso como fuente para la obtención de extractos con elevado valor añadido.

INTRODUCCIÓN

La nuez pecana (*Carya illinoensis* Koch) se caracteriza por ser una fuente rica en ácidos grasos insaturados, epigallocatequina-3-galato, vitaminas, alfa- y gamma-tocoferol, etc. (Atanasov et al., 2018). Este hecho junto con el interés creciente de los consumidores en consumir productos más saludables, ha provocado un incremento de la producción de nuez pecana (Corral-Escárcega et al., 2017) y también ha dado lugar a una gran generación de subproductos o residuo como son la vaina de la nuez o cáscara verde. Este subproducto a veces no se maneja adecuadamente y esto genera diversos problemas ambientales como las emisiones de gases de efecto invernadero. Por lo tanto, un uso eficiente de la vaina de la nuez pecana sería una estrategia que simultáneamente ayudaría a preservar el medio ambiente y aumentar los beneficios de los productores y las empresas.

Por otro lado, las enfermedades causadas por hongos patógenos como *Monilinia* spp., o *Botrytis* spp. dan lugar a grandes pérdidas en fruta de hueso durante su vida útil. Actualmente, y mediante autorización excepcional, se usa el fludioxonil (Scholar®). Sin embargo, la industria hortofrutícola se enfrenta al desafío actual de producir fruta libre de productos de síntesis. Por lo tanto, es necesario desarrollar agentes alternativos para el control de las enfermedades fúngicas patógenas en fruta de hueso. Estudios previos han visto que metabolitos secundarios producidos por las plantas como los compuestos fenólicos tienen actividad antimicrobiana (Osorio et al., 2010). Además, recientemente, algunos estudios han visto que la vaina de la nuez pecana contiene altos niveles de compuestos bioactivos tales como ácidos hidroxicinámicos, ácidos hidroxibenzoicos, y flavonoides (Ribeiro et al., 2020; Zhang et al., 2022).

Por tanto, el objetivo de este estudio fue caracterizar las vainas de nuez pecana de 20 variedades en cuanto a su nivel de fenoles totales y actividad antioxidante total.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las vainas de nuez pecana de un total de 20 variedades establecidas en 2010 en una finca experimental localizada en el Centro de Investigación Agraria Finca La Orden-Valdesequera (Guadajira, Badajoz) fueron recolectadas y congeladas a -80 °C. Posteriormente, las vainas fueron liofilizadas y congeladas de nuevo a -20 °C. A partir de las vainas liofilizadas, se llevó a cabo las siguientes determinaciones por triplicado.

La extracción de los compuestos fenólicos presentes en la vaina de la nuez pecana liofilizada se llevó a cabo mediante ultrasonido junto con una solución extractora de etanol al 20% (v/v). Después el extracto fue sometido a un proceso de evaporación para eliminar el etanol y obtener un extracto acuoso. Posteriormente, se cuantificó el contenido en fenoles totales de este extracto acuoso mediante el método descrito por Lima et al. (2005), empleando el reactivo de Folin-Cicaulteau. Los resultados se expresaron en mg/g de peso seco.

La actividad antioxidante total del extracto acuoso obtenido se determinó mediante los métodos ABTS•+ y DPPH• según los métodos descritos por Serradilla et al. (2011) y

Teixeira et al. (2009) respectivamente. Los resultados se expresaron en mg de Trolox/g de peso seco.

Por último, se llevó a cabo un análisis estadístico usando el programa SPSS 25.0 para Windows. Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) y la comparación de medias se llevó a cabo mediante el test de Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido en fenoles totales de las vainas de nuez pecana osciló desde 30,52 a 68,50 mg ác. gálico/ g peso seco mostrado por las variedades ‘Mohawk’ y ‘Caddo’ respectivamente. Diferencias significativas ($p < 0,05$) fueron encontradas entre las vainas de las diferentes variedades estudiadas, además de la variedad ‘Caddo’ que mostró la mayor concentración, destacaron también por su alto contenido las variedades ‘Churriana-5’ y ‘Queen Elizabeth’ (Fig. 1). En general, las concentraciones de fenoles totales mostradas por las vainas estuvieron por encima de la concentración mostrada por la nuez de 11 variedades de pecanero que oscilaron entre 19,88 y 45,25 mg de ácido gálico/ g peso seco (Ribeiro et al., 2020). Sin embargo, Villarreal-Lozoya et al. (2006) mostraron un rango en diferentes variedades de nuez pecana entre 37,20 y 63,60 mg de ácido gálico/ g peso seco.

En cuanto a la actividad antioxidante total, según el método ABTS^{•+}, la actividad antioxidante más baja fue mostrada por las vainas de la variedad ‘Mohawk’ con 79,76 mg Trolox/g peso seco, mientras que la mayor actividad fue obtenida con las vainas de la variedad ‘Queen Elizabeth’ con 120,90 mg Trolox/g peso seco (Fig. 2). Por otro lado, con el método DPPH[•], la mayor actividad fue mostrada por las vainas de la variedad ‘Caddo’ con 26,77 mg Trolox/g peso seco y la menor actividad por la variedad ‘Salopek’ con 13,53 mg Trolox/g peso seco (Fig. 3). Al igual que con el contenido en fenoles totales, la actividad antioxidante total, tanto por ABTS^{•+} como DPPH[•], mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre variedades. En ambos métodos, las vainas de la variedad ‘Caddo’ destacaron por su elevada actividad antioxidante.

CONCLUSIONES

La vaina de la nuez pecana se ha mostrado como un subproducto con una elevada concentración de fenoles totales, así como con una importante actividad antioxidante total, especialmente las vainas obtenidas a partir de la variedad ‘Caddo’. Por tanto, las vainas de nuez pecana serían un subproducto idóneo para la obtención de compuestos bioactivos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Junta de Extremadura y al Fondo Europeo de Desarrollo Regional por el apoyo económico a través de los Proyectos IMPROTEC y IB20116.

REFERENCIAS

- Atanasov, A.G., Sabharanjak, S.M., Zengin, G., Mollica, A., Szostak, A., Simirgiotis, M., Huminiecki, L., Horbanczuk, O.K., Nabavi, S.M. y Mocan, A. (2018). Pecan nuts: A review of reported bioactivities and health effects. *Trends Food Science Technology*, 71, 246-257.
- Corral-Escárcega, M., Ruiz-Gutiérrez, M., Quintero-Ramos, A., Meléndez-Pizarro, C., Lardizabal-Gutiérrez, D., Campos-Venegas, K. (2017). Use of biomass-derived from pecan nut husks (*Carya illinoensis*) for chromium removal from aqueous

- solutions. Column modeling and adsorption kinetics studies. *Revista Mexicana Ingeniería Química*, 939-953.
- Lima, V. L. A. G., Mélo, E. A., Maciel, M. I. S., Prazeres, F. G., Musser, R. S., Lima, D. E. S. (2005). Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. *Food Chemistry*, 90, 565-568.
- Ribeiro, S.R., Klein, B., Ribeiro, Q.M., dos Santos, I.D., Gomes Genro, A.L., Freitas Ferreira, D., Hamann, J.J., Barin, J.A., Cichoski, A.J., Fronza, D., Both, V., Wagner, R. (2020). Chemical composition and oxidative stability of eleven pecan cultivars produced in southern Brazil. *Food Research International*, 136, 109596.
- Serradilla, M. J., Lozano, M., Bernalte, M. J., Ayuso, M. C., López-Corrales, M., González-Gómez, D. (2011). Physicochemical and bioactive properties evolution during ripening ‘Ambrunés’ sweet cherry cultivar. *LWT – Food Science and Technology*, 44, 199-205.
- Teixeira, D.M., Canelas, V.C., Martins do Canto, A., Teixeira, J.M.G., Dias, B. (2009). HPLC-DAD quantification of phenolic compounds contributing to the antioxidant activity of *Maclura pomifera*, *Ficus carica* and *Ficus elastic* extracts. *Analytical Letters*, 42, 2986-3003.
- Villarreal-Lozoya, J. E., Lombardini, L., & Cisneros-Zevallos, L. (2006). Phytochemical constituents and antioxidant capacity of different pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] cultivars. *Food Chemistry*, 102, 1241-1249.
- Zhang, Y., Jiang, C., Jing, H., Fan, X., Peng, M., Lv, W., Wang, H. (2022). A comparative evaluation of physicochemical properties of pecan (*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch) husk by different drying method. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16, 1595-1604.

FIGURAS

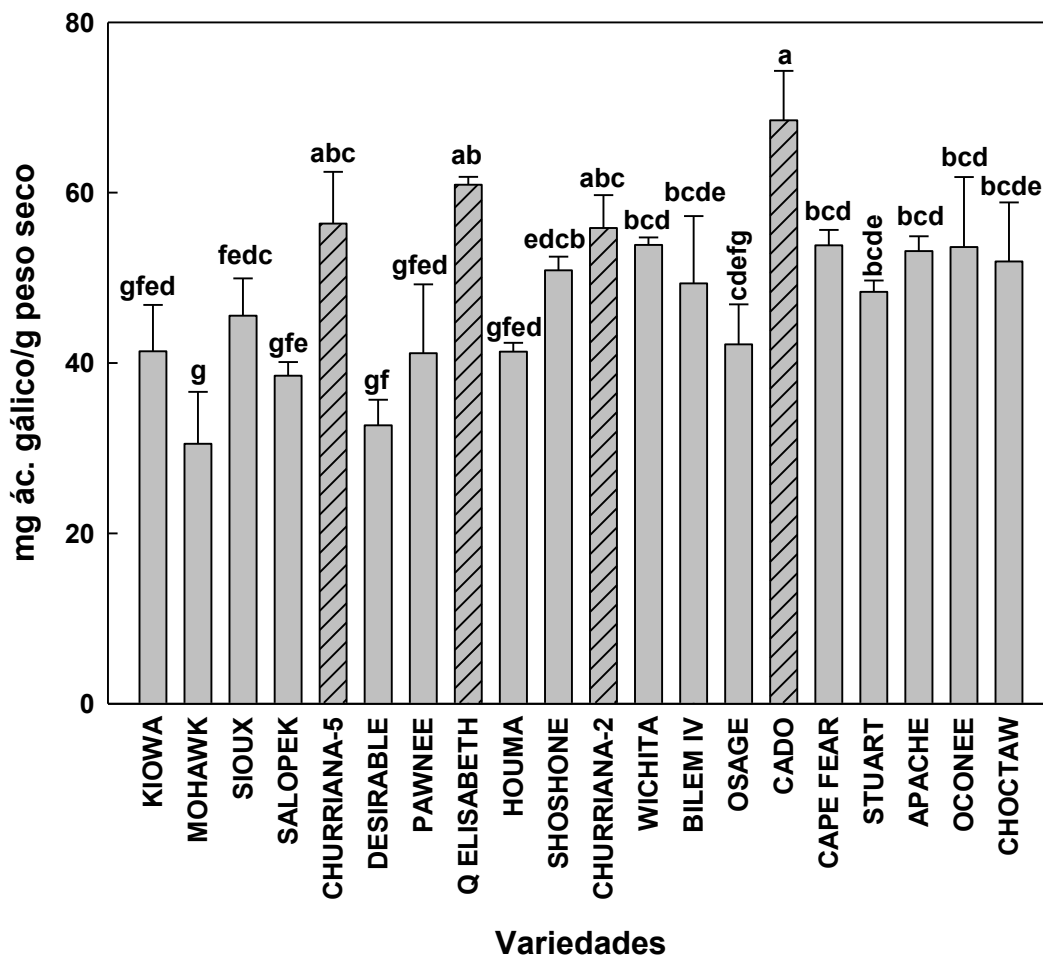


Fig. 1. Valores medios±error estándar de fenoles totales (mg de ácido gálico/g de peso seco) mostrado por el extracto seco obtenido a partir de las vainas de cada una de las variedades estudiadas. *Diferente letra minúscula indica diferencia significativa ($p < 0,05$).

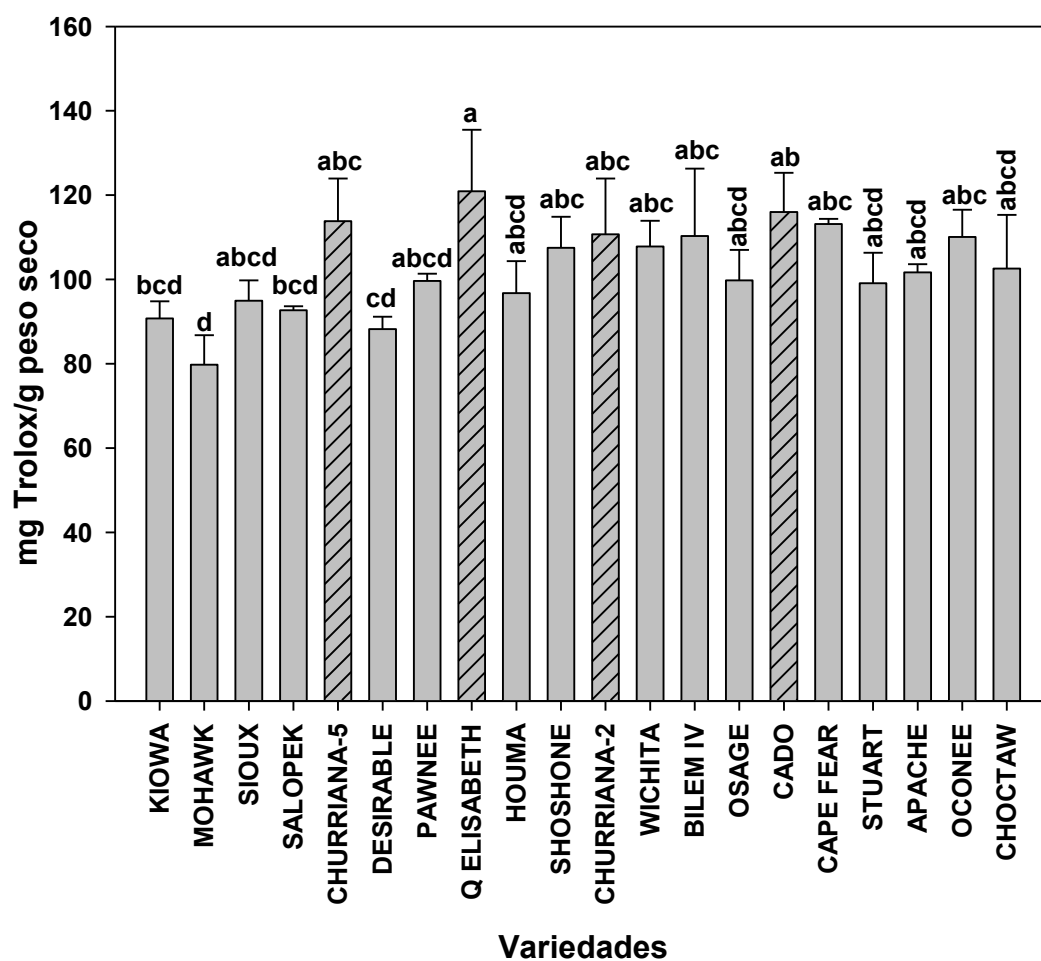


Fig. 2. Valores medios \pm error estándar de actividad antioxidante total mediante ABTS^{••} (mg Trolox/g de peso seco) mostrado por el extracto seco obtenido a partir de las vainas de cada una de las variedades estudiadas. *Diferente letra minúscula indica diferencia significativa ($p < 0,05$).

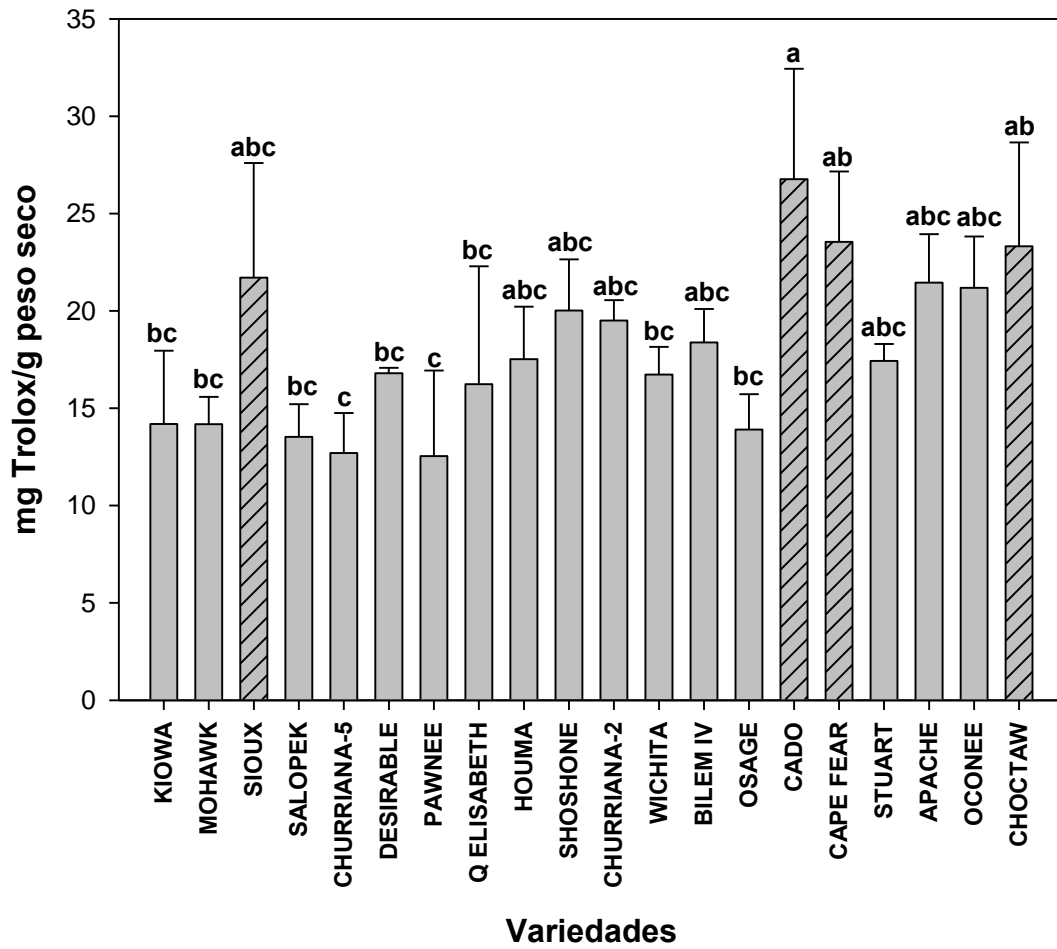


Fig. 3. Valores medios±error estándar de actividad antioxidante total mediante DPPH• (mg Trolox/g de peso seco) mostrado por el extracto seco obtenido a partir de las vainas de cada una de las variedades estudiadas. *Diferente letra minúscula indica diferencia significativa ($p < 0,05$).

Evaluación de las variedades de alcachofa 'Lorca' y 'Green Queen': aptitud para comercialización en fresco o procesado en cuarta gama.

M. Giménez-Berenguer¹, M. E. García-Pastor¹, S. García-Martínez², P. J. Zapata¹ y M. J. Giménez¹.

¹ Departamento de Tecnología de Alimentos, EPSO, Universidad Miguel Hernández, Ctra. Beniel km. 3,2, 03312, Orihuela, Alicante. E-mail: marina.gimenez02@goumh.umh.es

² Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO-UMH), Universidad Miguel Hernández, Ctra. Beniel km. 3.2, 03312 Orihuela, Alicante.

Resumen

En la actualidad hay un creciente interés por el consumo de alimentos con propiedades funcionales entre los que destaca la alcachofa por su alto contenido en compuestos bioactivos, principalmente compuestos fenólicos. Sin embargo, el elevado contenido en polifenoles de los capítulos de alcachofa incrementa la susceptibilidad al pardeamiento durante su procesado para su uso en cuarta gama. El objetivo de este estudio fue analizar el contenido fenólico total y la evolución del pardeamiento mediante análisis de imagen en las variedades de alcachofa de semillas 'Lorca' y 'Green Queen' con el fin de caracterizar los factores clave que influyen en su contenido fenólico que determinarían su uso para elaborar alcachofas mínimamente procesadas. Para ello, las alcachofas fueron recolectadas y clasificadas según su variedad, su orden de crecimiento en la planta (principal, secundarias o terciarias), y su estado de desarrollo interno (inicial, intermedio o avanzado). Los resultados mostraron que la variedad 'Lorca' presentó un contenido fenólico total inferior a la variedad 'Green Queen', lo que podría mostrar una menor susceptibilidad al pardeamiento y aumentar su aptitud para el procesado industrial. Por otra parte, el estado de desarrollo interno se relacionó con el contenido fenólico total por primera vez, y los resultados mostraron que las alcachofas guía y las de desarrollo interno avanzado tenían la menor concentración de fenoles. Este hecho se relacionó con una menor susceptibilidad al pardeamiento lo que podría aumentar su uso en productos listos para el consumo. En contraposición, las alcachofas de la variedad 'Green Queen' presentaron una mayor aptitud para su comercialización en fresco dado su elevado contenido fenólico.

Palabras clave: Pardeamiento, fenoles, ready-to-eat, desarrollo interno, orden de capítulo.

INTRODUCCIÓN

La alcachofa (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori) es una hortaliza originaria de la región mediterránea y su producción y consumo se ha extendido por todo el mundo en los últimos años. La parte comestible de la alcachofa es la inflorescencia inmadura llamada 'cabeza o capítulo', y su forma, tamaño y color difieren según la variedad (Lombardo et al., 2010). La alcachofa es una fuente rica en compuestos antioxidantes y

contiene altas cantidades de compuestos fenólicos totales, cuya presencia en la dieta humana está relacionada con un efecto protector frente a determinadas enfermedades crónicas y degenerativas relacionadas con el estrés oxidativo (Falco et al., 2015; Martínez-Esplá et al., 2017). Sin embargo, el perfil cuantitativo y cualitativo de los compuestos fenólicos se ve influenciado por diversos factores tales como: el tiempo de cosecha, el manejo agronómico, las condiciones ambientales y postcosecha, la parte de la planta y la variedad, entre otros (Ceccarelli et al., 2010; Pandino et al., 2013). Por un lado, un elevado contenido en fenoles mantiene determinados atributos de calidad de las alcachofas durante su vida útil postcosecha, por lo que las alcachofas/variedades que presenten un mayor contenido de compuestos bioactivos presentarán una mayor aptitud para su comercialización en fresco (Giménez et al., 2022). Por otro lado, este mismo elevado contenido en polifenoles hace a la alcachofa un vegetal muy susceptible al pardeamiento durante el procesado en cuarta gama, reduciendo su calidad sensorial, nutricional, vida útil y generando un problema significativo para el procesado industrial (Barbagallo et al., 2009). Es por ello que la caracterización y cuantificación de estos compuestos bioactivos en variedades comerciales, podría permitir seleccionar variedades de alcachofa en función de su perfil fenólico y definir así su idoneidad para el consumo en fresco y / o el proceso industrial. Por lo tanto, el objetivo principal de este estudio fue evaluar la influencia del orden de capítulo (guías, segundas y terceras) y la etapa de desarrollo interno sobre el contenido fenólico, así como la susceptibilidad al pardeamiento en las variedades de alcachofa 'Lorca' y 'Green Queen' con el fin de caracterizar los factores clave más influyentes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los cultivares 'Lorca' y 'Green Queen' se estudiaron a lo largo del ciclo de desarrollo de una temporada (de agosto de 2020 a abril de 2021), en una parcela experimental de la Universidad Miguel Hernández (Orihuela, Sureste de España). Para el experimento se sembraron a mediados de agosto 40 plantas de alcachofa de cada cultivar, siguiendo un marco de siembra de 0,8 m x 1,2 m. Estas plantas se distribuyeron en cuatro repeticiones o bloques (10 plantas sembradas por bloque). El manejo del cultivo se realizó de acuerdo con las prácticas agronómicas estándar utilizadas por los productores en el sureste de España. Las alcachofas se recolectaron en la etapa de desarrollo comercial. La primera fecha de recolección se realizó el 1 de febrero, recolectándose semanalmente, siendo la última recolección el 21 de abril. Para cada fecha de recolección, las alcachofas se clasificaron según el orden de los capítulos florales: (principales, secundarias y terciarias). Seguidamente las alcachofas se trasladaron al laboratorio y se analizaron individualmente. Se realizó una evaluación de la etapa de desarrollo interno utilizando una escala de tres niveles específica para cada cultivar, siendo: 1 = etapa de desarrollo inicial (alcachofas sin pelo interno o con una pequeña cantidad de pelo corto y con el corazón verde y tierno); 2 = estado de desarrollo intermedio (alcachofas con una cantidad intermedia de pelo interno, pero mostrando aún el corazón verde); 3 = estado de desarrollo avanzado (alcachofas con gran cantidad de pelo interno, apreciándose un cambio de color de verde a morado en el corazón de la alcachofa).

La extracción y cuantificación de los compuestos fenólicos totales se realizó mediante el método de Folin-Ciocalteu de acuerdo con Martínez-Esplá et al. (2017). Los resultados se expresaron en gramos de ácido gálico equivalente por kg⁻¹ de peso fresco.

La evaluación del pardeamiento se realizó mediante un análisis de imágenes digitales usando la variación de tonalidad (Δ ángulo Hue) según Giménez-Berenguer et al. (2022). Se realizó un análisis de componentes de varianza y los datos de las determinaciones analíticas se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA). Las comparaciones de medias se realizaron utilizando una prueba de rango múltiple (prueba de Newman-Keuls) para determinar diferencias significativas a $p < 0,05$. Las diferencias significativas en el ángulo de Hue Δ se realizaron de acuerdo con la prueba t de Student en $p < 0,05$. Todos los análisis se realizaron con el paquete de software STATGRAPHICS Plus, versión 3.1 para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó el análisis de componentes de varianza para estimar la cantidad de variabilidad aportada (%) por cada uno de los factores estudiados (planta, orden de alcachofa y estado de desarrollo interno) sobre el contenido fenólico total. Los resultados mostraron que el factor planta, obtuvo una variabilidad del 4,55% en el cultivar 'Lorca' y del 3,96% en 'Green Queen'. Este parámetro fue el que presentó menor influencia de los tres estudiados, ya que ambos cultivares se reproducen mediante semillas y presentan una alta homogeneidad. En lo referente al orden de capítulos de alcachofa (guías, segundas y terceras), se obtuvo una variabilidad del 22,17% y del 12,46% para los cultivares 'Lorca' y 'Green Queen' respectivamente, por lo que este factor influyó más en el contenido fenólico total en la variedad 'Lorca'. En contraposición, la etapa de desarrollo interno cobró una mayor importancia en el cultivar 'Green Queen' al presentar una variabilidad del 23,26% respecto a 'Lorca' con un 15,55%.

El contenido de fenoles totales (g kg^{-1}) para los diferentes ordenes de capítulo de alcachofa para el cultivar 'Lorca' fue de $2,155 \pm 0,065\text{a g kg}^{-1}$ para las alcachofas guías, $2,782 \pm 0,023\text{b g kg}^{-1}$ para las alcachofas segundas y $3,221 \pm 0,019\text{c g kg}^{-1}$ para las alcachofas terceras. Para el cultivar 'Green Queen' fue $2,832 \pm 0,252\text{a g kg}^{-1}$, $3,001 \pm 0,082\text{ab g kg}^{-1}$ y $3,438 \pm 0,098\text{b g kg}^{-1}$ para alcachofas guías, segundas y terceras, respectivamente. Los resultados mostraron que, de las dos variedades estudiadas, el cultivar 'Green Queen' presentó mayor concentración fenólica. Sin embargo, en ambas variedades se observaron diferencias significativas entre diferentes ordenes de capítulo, siendo las alcachofas terceras las que presentaron mayor contenido polifenólico, seguido de las alcachofas segundas y, por último, las guías. Otros autores también han reportado la influencia del orden de capítulo de alcachofa en el contenido fenólico total que corroboran los resultados obtenidos (Gagliardi et al., 2019; Giménez et al., 2021;). En cuanto al desarrollo interno, como tendencia general, ambos cultivares presentaron un menor contenido fenólico en alcachofas con el estado interno más avanzado, siendo la reducción del 16,54% para la variedad 'Lorca' y del 10,03% para la variedad 'Green Queen'.

Las alcachofas con altos niveles de fenoles totales son más susceptibles al pardeamiento por lo que presentarían menor aptitud para el procesado industrial (Cefola et al., 2012). Como consecuencia, las alcachofas guías y las alcachofas en una etapa avanzada de desarrollo interno podrían ser las más adecuadas para el procesamiento de IV gama al mostrar el contenido fenólico más bajo. En contraposición, las alcachofas con una alta concentración polifenólica serían las más adecuadas para el consumo en fresco debido a los efectos beneficiosos que pueden presentar estos compuestos en la dieta humana (Falco et al., 2015). En este sentido, las alcachofa terciarias y secundarias y las alcachofas en

etapas de desarrollo inicial e intermedias obtuvieron el contenido fenólico total más alto y, por lo tanto, también muestran un uso potencial para el consumo en fresco.

Para evaluar los cambios de color relacionados con el pardeamiento de la superficie de corte en los diferentes órdenes de alcachofa analizados, se obtuvo el incremento del ángulo hue como la diferencia entre el tono los 180 s y al tiempo 0 utilizando el software ImageJ para el análisis de imágenes digitales. El contenido total de fenoles se correlacionó con el aumento de la variación del ángulo hue. En general, las alcachofas sufrieron cambios de color después del corte, pasando de amarillo verdoso a marrón oscuro, lo que explica la disminución del ángulo de tonalidad con el tiempo (Cabezas-Serrano et al., 2013). Por un lado, las alcachofas del cultivar 'Lorca' mostraron un incremento de tonalidad menor a las alcachofas del cultivar 'Green Queen', al ser una variedad con menor contenido fenólico, por lo que este parámetro es dependiente del cultivar (Figura 1). Por otro lado, para ambas variedades estudiadas, los resultados mostraron diferencias en la susceptibilidad al pardeamiento dependiendo del orden del capítulo. Las alcachofas terciarias y secundarias presentaron los mayores cambios de color y pardeamiento al presentar el mayor contenido fenólico. Por el contrario, las alcachofas principales, que mostraron el contenido fenólico más bajo, fueron las menos susceptibles al pardeamiento posterior al corte (Figura 1), presentando así una mayor aptitud para el procesado en IV gama. Por lo tanto, esta velocidad de pardeamiento nos permitiría seleccionar las alcachofas atendiendo a las diferencias varietales y de orden de capítulo en función del destino final.

CONCLUSIONES

Con el fin de poder predecir el contenido fenólico que tiene una variedad y, por lo tanto, su velocidad de pardeamiento, hay que tener en cuenta: 1) el tipo varietal y; 2) en qué medida la concentración polifenólica total de este cultivar se ve influenciada por el orden de capítulo y el estado de desarrollo del mismo.

Actualmente, la investigación se enfoca en seguir conociendo estas nuevas variedades que aparecen en el mercado actual para suplir las necesidades del consumidor con el fin de permitir la selección de variedades y los tipos de alcachofa en función de su perfil fenólico y definir así su aptitud para el desarrollo de productos de IV Gama o el consumo en fresco.

REFERENCIAS

- Barbagallo, R.N., Chisari, M., Spagna, G. 2009. Enzymatic browning and softening in vegetable crops: studies and experiences. *Ital J Food Sci* 21: 3–16.
- Cabezas-Serrano, A., Amodio, M. and Colelli, G. 2013. Effect of solution pH of cysteine-based pre-treatments to prevent browning of fresh-cut artichokes. *Postharvest Biol. Technol.* 75: 17–23.
- Ceccarelli, N., Curadi, M., Picciarelli, P., Martelloni, L., Sbrana, C. and Giovannetti, M. 2010. Globe artichoke as a functional food. *Med. J. Nutr. Metab.* 3: 197–201.
- De Falco, B., Incerti, G., Amato, M. and Lanzotti, V. 2015. Artichoke: Botanical, Agronomical, Phytochemical and Pharmacological Overview. *Phytochemistry Reviews*, 14: 993–1018.

- Gagliardi, A., Giuliani, M.M., Carucci, F., Francavilla, M. and Gatta, G. 2019. Effects of the irrigation with treated wastewaters on the proximate composition, mineral, and polyphenolic profile of the globe artichoke heads *Cynara cardunculus* (L.]. *Agronomy*. 10: 53.
- Giménez, M., Giménez-Berenguer, M., García-Pastor, M., Parra, J., Zapata, P. and Castillo, S. 2021. The influence of flower head order and gibberellic acid treatment on the hydroxycinnamic acid and luteolin derivatives content in globe artichoke cultivars. *Foods*. 10: 1813.
- Giménez, M.J., Giménez-Berenguer, M., García-Pastor, M.E., Castillo, S., Valverde, J.M., Serrano, M., Valero, D. and Zapata, P.J. 2022. Influence of flower head order on phenolic content and quality of globe artichoke at harvest and during twenty-one days of cold storage. *Scientia Horticulturae*. 295: 110846.
- Giménez-Berenguer, M., García-Pastor, M.E., García-Martínez, S., Giménez, M.J. and Zapata, P.J. 2022. Evaluation of ‘Lorca’ Cultivar Aptitude for Minimally Processed Artichoke. *Agronomy*. 12: 515.
- Lombardo, S., Pandino, G., Mauromicale, G., Knodler, M., Carle, R. and Schieber, A. 2010. Influence of genotype, harvest time and plant part on polyphenolic composition of globe artichoke (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori]. *Food Chem*. 119: 1175–118.
- Martínez-Esplá, A., García-Pastor, M. E., Zapata, P. J., Guillén, F., Serrano, M., Valero, D. and Gironés-Vilaplana, A. 2017. Preharvest application of oxalic acid improves quality and phytochemical content of artichoke (*Cynara scolymus* L.) at harvest and during storage. *Food Chem*. 230: 343–349.
- Pandino, G., Lombardo, S., Lo Monaco, A. and Mauromicale, G. 2013. Choice of time of harvest influences the polyphenol profile of globe artichoke. *J. Funct. Foods*. 5: 1822–1828.

FIGURAS

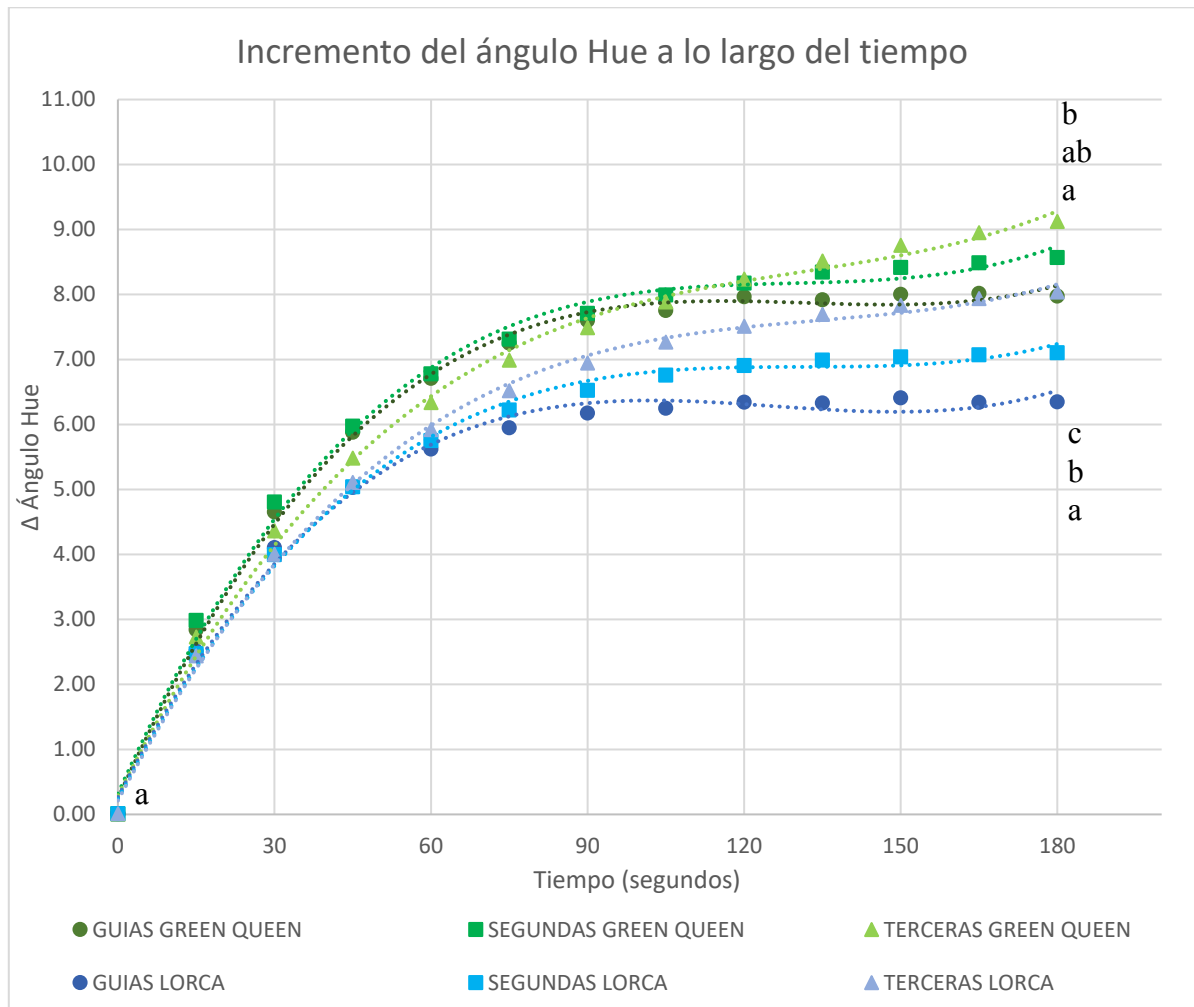


Fig. 1. Efecto del cambio de color (ángulo Δ Hue) de alcachofa recién cortadas cada 15 s durante 3 min. Letras diferentes muestran diferencias significativas (Test de Student, $p < 0,05$) entre órdenes de alcachofa para cada variedad.

Capacidad antioxidante y actividad antifúngica de extractos de piel de granada (*Punica granatum* L.) variedades ‘Shani-Yonay’ y ‘Emek’

D. Gimeno-Martínez¹, H. Calvo-Crespo¹, A.P. Gracia-Alquezar¹, R. Oria-Almudí, M.E. Venturini-Crespo¹ y E. Arias-Álvarez¹

¹Grupo de Investigación Alimentos de Origen Vegetal (GIAOVE). Instituto agroalimentario de Aragón (IA2-UNIZAR). Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. dgimeno@unizar.es

Resumen

El 40-50 % del fruto del granado (*Punica granatum* L.) está formado por fracciones no comestibles que constituyen subproductos de la industria transformadora. Dichos subproductos son una fuente considerable de compuestos con funciones bioactivas, entre los que cabe destacar la punicalagina.

Los resultados mostraron que tan solo hubo diferencias significativas entre la acidez de ‘Shani-Yonay’ (0,7%) y ‘Emek’ (0,5%). Por otro lado, la piel de ambas variedades presentó mayor capacidad antioxidante que la fracción comestible y ‘Shani-Yonay’ fue la más eficaz en la inhibición del radical libre DPPH tanto en los extractos de la piel (1.463,6 frente a 1.211,9 mM TE) como de los arilos (36,01 frente a 27,4 mM TE). Además, los extractos de ambas variedades inhibieron el crecimiento de los mohos fitopatógenos con concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) entre 8,3 mg mL⁻¹ y 25,0 mg mL⁻¹ de extracto crudo.

Palabras clave: granada, capacidad antioxidante, DPPH, CMI, fitopatógenos

INTRODUCCIÓN

Los periodos de sequías cada vez son más frecuentes debido al cambio climático, por lo que algunos productores buscan la implantación de cultivos con menor requerimiento hídrico y adaptados a suelos salinos y pobres, que puedan suponer una alternativa en su territorio a los cultivos tradicionales. De esta forma, se pretende mantener la rentabilidad de las explotaciones y luchar contra el proceso de desertificación. Por otro lado, en la última década han aumentado considerablemente los estudios científicos sobre los constituyentes bioactivos y propiedades farmacológicas de la granada (*Punica granatum* L.) (Kalaycioglu y Erim, 2017). Se trata una fuente considerable de compuestos fenólicos totales, entre 410,1 mg GAE kg⁻¹ y 9.449,0 mg GAE kg⁻¹ (Kalaycioglu y Erim, 2017), dependiendo de la variedad y de factores agronómicos y ambientales, lo que la convierte en uno de los frutos con mayor actividad antioxidante. En gran parte (40-45%) está compuesta por fracciones que no van dirigidas al consumo humano (exocarpio, mesocarpio y membranas) (Kharchoufi et al., 2018), y dichos subproductos son una fuente más significativa de compuestos de interés que las partes comestibles (da Silva et al., 2014), y con propiedades funcionales o tecnológicas interesantes para la industria agroalimentaria.

‘Shani-Yonay’ y ‘Emek’ son dos variedades de granado de maduración temprana desarrolladas en el Centro de Investigación Neve-Ya’ar (Ramat Yishay, Israel) cuyos frutos llegaron al mercado en 2003 y 2013, respectivamente (Holland et al., 2007;

Holland et al., 2014), por lo que hay poca información científica sobre la calidad y usos potenciales de los frutos y sus subproductos en distintas zonas de cultivo. Por ello, el objetivo del presente estudio es determinar los principales parámetros de calidad de los frutos de estas dos variedades de granado, así como evaluar la eficacia de los extractos obtenidos de sus subproductos frente a algunos de los principales fitopatógenos de interés agroalimentario.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Material vegetal

Las granadas (*Punica granatum* L.) ‘Shani-Yonay’ y ‘Emek’, procedentes de Alcolea de Cinca (Aragón, España) (41° 44’ 29.7” N 0° 03’ 40.9” E, 185 m.s.n.m) (Moon Premium fruits) se higienizaron con hipoclorito de sodio (200 ppm) y se enjuagaron con agua. Se separaron los arilos de la piel e intermembranas, que fueron secadas (40 °C, 48 h), molidas (IKA-Werke GmbH & Co. KG, Alemania) y almacenadas a vacío a -20 °C hasta su análisis.

2.2. Determinación del color

En primer lugar, se realizaron dos medidas en cada uno de los 20 frutos de cada variedad con un colorímetro triestímulo CR-400 (Konica Minolta, Japón). En los arilos y los zumos, se efectuaron medidas de reflexión en la región visible e infrarroja (360-900 nm) (1200 ppp), se seleccionó una región óptica de interés (ROI) y se analizaron las imágenes (Matrox Inspector 8.0) para obtener las coordenadas RGB que fueron utilizadas para calcular las coordenadas CIELab correspondientes.

2.3 Determinación del pH, acidez total titulable (ATT), sólidos solubles totales (SST) y firmeza de los arilos

La ATT se calculó mediante una valoración ácido-base en un titulador automático Crison Compact Titrator (Hach Lange Spain S.L.U, España), expresando los resultados en porcentaje (%). El equipo también determinó el pH inicial de la muestra. Por otro lado, el contenido en sólidos solubles totales se determinó con un refractómetro digital (Atago Co. Ltd., Japón). Finalmente, se realizó un test de compresión (Stable Micro Systems Ltd., Reino Unido) en 25 réplicas de cada variedad. Los resultados obtenidos se expresaron en kg.

2.4. Obtención de los extractos y determinación de su capacidad antioxidante

2.4.1. Extracción de compuestos fenólicos libres y conjugados

Se homogeneizó 1 g de muestra con 10 mL de etanol 80% y el residuo sólido se hidrolizó con metanol:HCl 1 N al 10% en un termobloque a 85 °C (OHAUS Europe GmbH, Suiza) durante 1 h para obtener los compuestos fenólicos libres y conjugados modificando la metodología de Redondo et al. (2017) y Perez-Ramirez et al. (2018).

2.4.2 Capacidad de inhibición del radical libre DPPH y capacidad quelante de metales de transición

La capacidad antioxidante total se determinó en base al método de inhibición del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) (Redondo et al., 2017) y por el método de reducción férrica (FRAP) (Redondo et al., 2017) con el que se evalúa la capacidad de una muestra para reducir el hierro férrico (Fe⁺³). En ambos métodos, los resultados se expresaron en mM de equivalentes de Trolox (TE).

2.5. Capacidad antifúngica de los extractos de la piel de granada

Los extractos obtenidos se evaporaron a vacío, recuperando el residuo seco con etanol 3% y Tween 20, hasta obtener una concentración stock de 300 mg mL⁻¹ (Kharchoufi et al, 2018). Para evaluar la actividad antifúngica de los extractos de piel de granada se prepararon diluciones seriadas finales de 8,3-83,3 mg mL⁻¹ que se esterilizaron por filtración y se testaron frente a *Penicillium expansum*, *P. digitatum* y *P. italicum*, *Monilinia fructicola* y *M. laxa*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria* sp. y *Rhizopus stolonifer*. Las cepas se incubaron en caldo patata dextrosa (PDB) y posteriormente en agar patata dextrosa (PDA) (25 °C, 7 d). Se estandarizó la concentración final de las soluciones de esporas a 10⁴ esporas mL⁻¹ y los ensayos se llevaron a cabo en PDB en microplacas de 48 pocillos. Tras la incubación (25 °C, 7 d) se valoró visualmente el crecimiento de los microorganismos, estableciendo la CMI como la concentración en la que no hay aparición de micelio. Además, para algunas especies, se fijó una concentración de inhibición parcial (CIP).

2.6. Análisis estadístico

Se realizó un test ANOVA de una vía y la comparación entre las medias con el test de Tuckey para establecer diferencias entre ambas variedades en cuanto a los parámetros de calidad y la capacidad antioxidante de los extractos de los arilos y la piel.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Calidad de los frutos

En la tabla 1 se resumen los resultados de los parámetros de calidad evaluados. Solo se observaron diferencias significativas entre ambas variedades en el color del zumo, la acidez y el pH. La mayor acidez de ‘Shani-Yonai’ puede estar relacionada con la configuración de antocianinas en el zumo, otorgándole mayor tonalidad roja. Por otro lado, el contenido en sólidos solubles totales concuerda con Holland et al. (2007) y Holland et al. (2014).

3.2. Actividad antioxidante

Las figuras 1 y 2 muestran la capacidad de inhibir el radical DPPH y el poder de reducción férrica de los extractos de la piel y los arilos de ambas variedades. Aunque las propiedades de la fracción comestible no sean despreciables, los resultados obtenidos manifiestan el potencial interés de los subproductos para obtener extractos con aplicaciones funcionales para la industria. ‘Shani-Yonai’ mostró mayor capacidad para inhibir el radical libre DPPH, cuyos resultados concuerdan con los obtenidos por Rosas-Burgos et al. (2016).

3.3. Actividad antifúngica de los extractos de piel de granada

La tabla 2 muestra los resultados obtenidos en el ensayo de inhibición *in vitro* del crecimiento de algunos mohos causantes de podredumbres en pre y postcosecha de productos hortofrutícolas. No se observaron diferencias entre los extractos de ambas variedades de granada, excepto para *Penicillium expansum*, especie para la que el extracto de ‘Emek’ fue más efectivo (33,3 mg mL⁻¹) que el extracto de piel de ‘Shani-Yonai’ (50,0 mg mL⁻¹). Aunque a una concentración inferior, Li Destri Nicosia et al. (2016) también observaron un efecto inhibidor de extractos de granada sobre *Penicillium* spp. y *Botrytis cinerea*. Por otro lado, ‘Piñón Tierno de Ojos’ (PTO8) fue la variedad con mayor

actividad antifúngica, inhibiendo el 50% del crecimiento de *Aspergillus* spp., *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea* y *Fusarium verticilloides* entre 1,8 y 9,0 mg mL⁻¹ (Rosas-Burgos et al., 2016).

4. CONCLUSIONES

El cultivo de las variedades de granado estudiadas proporciona frutos de calidad similar a la de su región de origen, además de ser comparable a la de otras variedades. Por otro lado, la obtención de extractos de la piel de 'Emek' y 'Shani-Yonai' se puede presentar como una alternativa al aprovechamiento de los subproductos procedentes de la industria transformadora, con una potencial aplicación circular en el sector agroalimentario.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación recibida por parte del Grupo de Cooperación GCP2018004600: INNOGRANA, a través del Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural (FEADER), para la realización de este estudio.

REFERENCIAS

- da Silva, L.M.R., de Figueiredo, E.A.T., Ricardo, N.M.P.S., Vieira, I.G.P., de Figueiredo, R.W., Brasil, I.M., Gomes, C.L. 2014. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry* 143: 398-404.
- Holland, D., Hatib, K., Bar-Ya'akov, I. 2007. 'Shani-Yonay' Pomegranate. *HortScience* 42(3): 710-711.
- Holland, D., Bar-Ya'akov, I., Hatib, K. 2014. 'Emek', a Red and Very Early-ripening New Pomegranate Cultivar. *HortScience* 49(7): 968-970.
- Kalaycioglu, Z., Erim, F.B. 2017. Total phenolic contents, antioxidant activities, and bioactive ingredients of juices from pomegranate cultivars worldwide. *Food Chemistry* 221: 496-507.
- Kharchoufi, S., Licciardello, F., Siracusa, L., Muratore, G., Hamdi, M., Restuccia, C. 2018. Antimicrobial and antioxidant features of 'Gabsi' pomegranate peel extracts. *Industrial Crops and Products* 111: 345-352.
- Li Destri Nicosia, M.G., Pangalloa, S., Raphael, G., Romeo, F.V., Strano, M.C., Rapisarda, P., Droby, S., Schena, L. 2016. Control of postharvest fungal rots on citrus fruit and sweet cherries using a pomegranate peel extract. *Postharvest Biology and Technology* 114: 54-61.
- Perez-Ramirez, I.F., Reynoso-Camacho, R., Saura-Calixto, F., Perez-Jimenez, J. 2018. Comprehensive Characterization of Extractable and Nonextractable Phenolic Compounds by High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Quadrupole Time-of-Flight of a Grape/Pomegranate Pomace Dietary Supplement. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66: 661-673.
- Redondo, D., Arias, E., Oria, R., Venturini, M.E. 2017. Thinned stone fruits are a source of polyphenols and antioxidant compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 97(3): 902-910.
- Rosas-Burgos, E.C., Burgos-Hernández, A., Noguera-Artiaga, L., Kacániová, M., Hernández-García, F., Cárdenas-López J.L., Carbonell-Barrachina, A.A. 2016. Antimicrobial activity of pomegranate peel extracts as affected by cultivar. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 97(3): 802-810.

Tabla 1. Parámetros de calidad evaluados en los frutos enteros y los arilos de granadas ‘Shani-Yonai’ y ‘Emek’.

Parámetro ¹		‘Shani-Yonai’	‘Emek’
Color del fruto	L*	43,6 ± 4,1 a	44,8 ± 4,9 a
	a*	52,9 ± 1,5 a	53,3 ± 2,2 a
	b*	26,7 ± 1,8 a	27,3 ± 2,1 a
Color de los arilos	L*	34,9 ± 1,4 a	34,7 ± 1,3 a
	a*	10,8 ± 1,7 a	10,1 ± 1,6 a
	b*	-0,9 ± 0,2 a	-0,6 ± 0,2 b
Color del zumo	L*	41,1 ± 0,7 a	36,9 ± 0,6 b
	a*	19,8 ± 0,7 a	16,8 ± 0,8 b
	b*	-3,5 ± 0,4 a	-2,1 ± 0,3 b
pH		4,3 ± 0,0 a	4,1 ± 0,0 b
Acidez total titulable (ATT) (%)		0,7 ± 0,0 a	0,5 ± 0,0 b
Sólidos solubles totales (SST) (°Brix)		14,1 ± 0,0 a	14,2 ± 0,1 a
Firmeza de los arilos (kg)		0,9 ± 0,0 a	0,9 ± 0,1 a

¹Los resultados se presentan como la media ± desviación estándar. Distinta letra minúscula indica diferencias significativas (p<0,05) entre variedades para cada parámetro analizado.

Tabla 2. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración de inhibición parcial (CIP) de los extractos de piel de ‘Shani-Yonai’ y ‘Emek’ obtenidas frente a las distintas especies de mohos fitopatógenos estudiados.

Microorganismo	‘Shani-Yonai’		‘Emek’	
	CMI (mg mL ⁻¹) ¹	CIP (mg mL ⁻¹)	CMI (mg mL ⁻¹)	CIP (mg mL ⁻¹)
<i>P. italicum</i>	25,0		25,0	
<i>P. expansum</i>	50,0	25,0-33,3	33,3	25,0
<i>P. digitatum</i>	16,6	8,3	16,6	8,3
<i>M. laxa</i>	25,0		25,0	
<i>M. fructicola</i>	25,0		25,0	
<i>Alternaria</i> sp.	8,3		8,3	
<i>B. cinerea</i>	25,0		25,0	8,3
<i>R. stolonifer</i>	25,0		25,0	

¹Los resultados se expresan como la moda de las distintas réplicas (n=4).

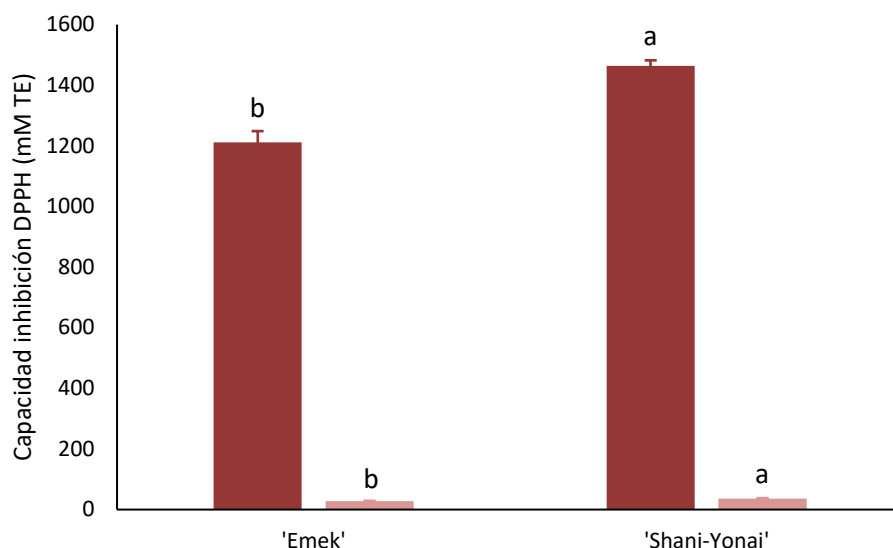


Figura 1. Capacidad para inhibir el radical libre DPPH de los extractos de arilos y piel de las variedades de granada 'Emek' y 'Shani-Yonai'. Los resultados se expresan como la media \pm desviación estándar (n=3). Distinta letra minúscula indica diferencias significativas ($p < 0,05$) entre variedades para la misma fracción de fruto.

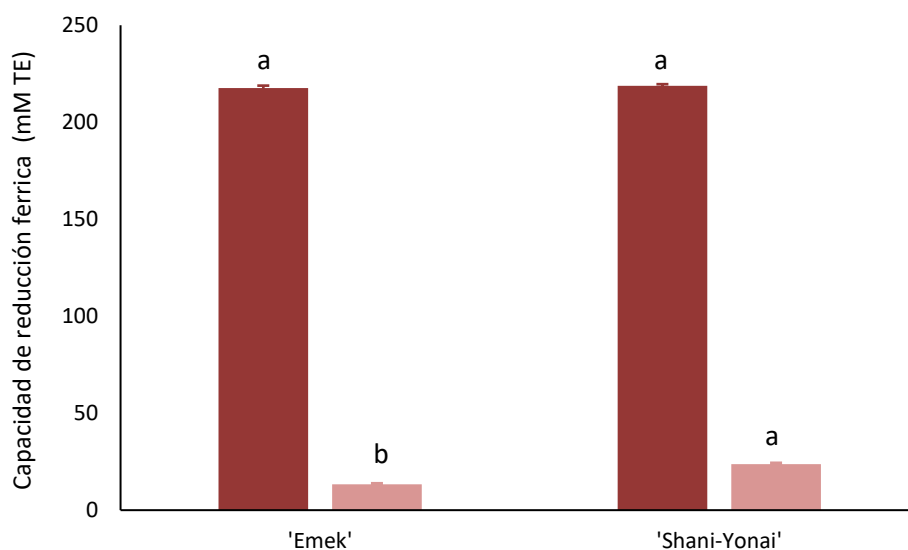


Figura 2. Capacidad de reducción férrica (FRAP) de los extractos de arilos y piel de las variedades de granada 'Emek' y 'Shani-Yonai'. Los resultados se expresan como la media \pm desviación estándar (n=3). Distinta letra minúscula indica diferencias significativas ($p < 0,05$) entre variedades para la misma fracción de fruto.

The use of average calibration model's predictions for the assessment of 'Jintao' kiwifruit quality attributes

Andreia M. Afonso ^a, Maria D. Antunes ^b, Sandra Cruz ^a, Ana M. Cavaco ^a, Rui Guerra ^{a,c}

^a CEOT, FCT, Universidade do Algarve, Campus de Gambelas, 8005-189 Faro, Portugal

^b MED, FCT, Universidade do Algarve, Campus de Gambelas, 8005-189 Faro, Portugal

^c Departamento de Física, FCT, Universidade do Algarve, Campus de Gambelas, 8005-189 Faro, Portugal

Email: mantunes@ualg.pt

Abstract

Yellow fleshed kiwifruit is becoming higher demanded from consumers due to its excellent organoleptic characteristics. The determination of the best ripening stage for harvest high quality fruit with good storage ability is a great issue, since kiwifruit skin does not change while ripen. The traditional methods to follow fruit ripening on-tree present several issues as fruit waste and a small sampling that not represents the orchard. For overcome these disadvantages, and allied to its higher efficiency in terms of time, the use of non-destructive technology is gaining importance. This work focused on a^* , firmness and pH models' predictions for *Actinidia chinensis* Planch cv. Jintao through visible/near infrared spectroscopy (vis-NIRS) and on testing the use of average calibration to improve them. For accomplish this goal, on two orchards located in North Portugal, the principal ripening parameters of kiwifruit 'Jintao' were monitored on-tree along 13 weeks and calibration models were done. After different combinations of pre-processing methods for the construction of partial least square (PLS) calibration models, a^* , firmness and pH models' predictions had a correlation coefficient (R^2) of 0.85, 0.57 and 0.45, and a root mean square error of prediction (RMSEP) of 1.35, 9.47N and 0.12, respectively. However, when the calibration models were used to perform average predictions for each day and for each orchard and then compared with the average reference values, the results showed a significantly improvement with $R^2=0.99-1.00$ and $RMSEP=0.27-0.28$ for a^* ; $R^2=0.96-0.99$ and $RMSEP=1.10-3.80$ for firmness; and $R^2=0.88-0.98$ and $RMSEP=0.03$ for pH. This work proves not only the utility and efficiency of vis-NIRS technology to predict kiwifruit quality attributes, including color, which for yellow fleshed cultivars plays a major role, but also shows an interesting alternative way to do model predictions, specially taking into account that the harvest date of an orchard is based on their averages.

Keywords: Ripening; non-destructive; quality; VIS-NIR; harvest

INTRODUCTION

Fresh fruit and vegetables are of increasing demand by consumers due to the growing concern of people for healthy food. The yellow fleshed kiwifruit *Actinidia chinensis* Planch cv. Jintao is a fruit crop of crescent importance. A main issue for a good quality horticultural fresh product and its behavior postharvest is the correct harvest time. Kiwifruit are harvested when mature but unripe, to perform a long storage period of good eating quality. The flesh of 'Jintao' kiwifruit is green-yellow when harvested and tends to become yellow and yellow-orange during postharvest ripening (Huang *et al.*, 2002). Visual ripening changes through fruit ripening are not possible on kiwifruit since the brown skin colour does not change throughout. So, other internal quality parameters must be determined while kiwifruit is maturing to

determine the optimal harvest date which is considered when the fruit have a firmness of 6.8 kgf cm⁻² and 12% SSC (Huang *et al.*, 2002).

The traditional methods to follow fruit ripening on-tree are destructive, presenting several issues as time consuming, fruit waste and a small sampling that does not represents the orchard (Afonso *et al.*, 2022a). For overcome these disadvantages, and allied to its higher efficiency in terms of time, the use of non-destructive technology is gaining importance and been more used. With the advent of new non-destructive technologies, density or impact force sensors have been developed to provide information on internal fruit quality attributes such as color, dry matter, soluble solids and fruit firmness (Guerreiro *et al.*, 2018; Afonso *et al.*, 2022b). Visible/near-infrared (Vis/NIR) spectroscopy has been applied with significant success in recent decades to determine the internal properties of fruit (Nicolai *et al.*, 2007; Cavaco, *et al.*, 2018, 2021; Guerreiro *et al.*, 2018; Afonso *et al.*, 2022b). This work focused on CIELab a* colour, firmness and pH models' predictions for *Actinidia chinensis* Planch cv. Jintao through vis-NIRS and on testing the use of average calibration to improve them. For accomplish this goal, on two orchards located in Goães – Braga (Portugal), the principal ripening parameters of kiwifruit 'Jintao' were monitored on-tree along 13 weeks and calibration models were done for each one.

MATERIAL AND METHODS

Yellow-fleshed kiwifruit (*Actinidia chinensis* Planch 'Jintao') were picked in two commercial orchards, namely, orchard 1 (41°39'23.6" N, 8°18' 21.6" W, planted 2013) and orchard 2 (41°38' 58.2" N, 8°18' 26.0" W, planted 2014), located in Amares – Braga (Portugal) from 50 randomly tagged trees (25 trees per orchard). Fruit sampling started two months before the commercial harvest season and ended at least one week after it. Vis-NIR spectra were acquired from 375 fruit (200 from orchard 1 + 175 orchard 2) and the standard destructive measurements were made in the next day. The spectroscopy setup consisted of a Vis-NIR spectrometer USB4000 (Ocean Optics, USA), working in the range 345 – 1037 nm, a light source LS-1-LL (Ocean Optics, USA) and a bifurcated fiber with an interactance probe FCR-7UVIR400–2-BX/ME (Avantes, Holland). The absolute reference material was a disk of Spectralon white surface (WS-1, Ocean Optics, USA), held at a constant height (0.47 mm) below the probe. Three spectra were acquired along the equatorial area of each kiwifruit by introducing it into a cup, to avoid sunlight interference, that had a hole to insert the probe, in a setup very similar to the one described by Cavaco *et al.* (2018).

At both opposite equatorial sides of kiwifruit, 1 mm thick skin was removed for pulp firmness measurement by puncture with a texturometer (Chatillon TCD200, Digital Force Gauge DFIS 50, John Chatillon & Sons, Inc., USA) using a cylinder probe of 8 mm at a depth of 7 mm and pulp color with a Chroma Meter CR-300 (Minolta, Japan) using the CIE L*a*b* color space. Juice pH and titrable acidity were determined in kiwifruit juice using a TitroLine 6000 (SI Analytics, Germany).

The descriptive statistical analysis was performed in IBM SPSS Statistics 27 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) and multivariate data analysis in MATLAB R2019a, version 9.6 (The MathWorks, Inc., Natick, MA, USA). To compare the dependent variables in each orchard was used the Kruskal-Wallis (MKW) test and a full factorial MANOVA (type III) to check orchard and date effects on the quality attributes. Further multi-comparisons among variables were performed by the Bonferroni test ($p < 0.05$) (Oja, 2010). Absorbance ($\log(1/R)$), standard normal variate transformation (SNV) (Barnes *et al.*, 1989) and the Savitzky-Golay filter (Savitzky and Golay, 1964), either for smoothing or derivation (first and second derivatives) were applied. 3 σ outliers were considered in the norm of the transformed spectra,

in the PLS scores of the calibration samples and in the PLS projected scores of the validation's samples.

The a^* color value, firmness (N) and juice pH calibration models were obtained. Two approaches were taken: in the first one the usual calibration models for each quality attribute and subsequent validation on independent individual fruit were made; in the second approach these models were used to perform the prediction of quality attribute average for each orchard and for each day, as described by Afonso *et al.* (2022b). All data from both orchards and from all measurement days were used to obtain the partial least squares models (PLS) and their performance was characterized by root mean square of error in prediction (RMSEP), the squared correlation coefficient (R^2), the standard deviation ratio (SDR), the bias and the slope (Nicolai *et al.*, 2007). The reference quality attributes average and standard deviation values and their corresponding prediction were calculated. The average predictions were compared with the average reference values, for each day, through a t-test.

RESULTS AND DISCUSSION

The a^* pulp calibration model was made using the range 660-948 nm and values between -17.7 and -4.7. There is an agglomeration of points in lower part of the plot, because the major part of the data was determined when fruit was still very green. The a^* model has good performance with $R^2 = 0.85$, RMSEP= 1.35 N and SDR= 2.60 (Fig. 1A). There are no references in literature to compare our performance model. Since a^* is a colorimetric parameter, it measures the green to red transition, would be expectable the best calibration model included green and yellow range. However, including the wavelength range below 660 nm (red) degraded the model. This can be explained by several points: 1) Spectral range below 500 nm has higher noise; 2) Absorption in range 500-660 nm is largely due to carotenoid content, which changes less than chlorophyll along the ripening process; 3) Skin color may be interfering with the information from the pulp. Near infrared part of the spectrum is less contaminated by mentioned effect, what can explain why the model included this region.

The calibration model of firmness was made using 635-870 nm spectra and a wide range of values (5.1-91.9N), despite an agglomeration of data mainly between 50-70N. The firmness model has a moderate/poor performance with $R^2 = 0.57$, RMSEP= 9.47 N and SDR= 1.52 (Fig. 1B). These results are similar with those obtained by Benelli *et al.* (2021) [RMSEP= 9.9–14.5 N], Fu *et al.* (2007) [6.3–7.0 N], Li *et al.* (2018) [11.9 N] and Vieira *et al.* (2017) [11.6 N], but not at the performance level as Lee *et al.* (2012) [2.8-4.0N] and Li *et al.* (2017) [2.7–4.3 N]. However, Li *et al.* (2017) used the range 400–2500 nm, where the changes of the tissue structure are less hidden.

The model for pH has a poor performance with $R^2 = 0.45$, RMSEP= 0.12 and SDR= 1.3 (Fig. 1C). These results are worse than those found in the literature. Moghimi *et al.* (2010) obtained $R^2 = 0.94$, RMSEP= 0.076 and SDR= 2.6 in the range 400 – 1000 nm, while Zhu *et al.* (2017) obtained $R^2 = 0.91$, RMSEP= 0.015 and SDR= 2.6 in the range 951 – 1670 nm. The difference between our model performance and the literature, can be explained by the limited number of samples in the two references, besides the high-quality benchtop spectrometer used in the former and a possible more adequate wavelength range in the latter.

When the calibration models were used to perform average predictions for each day and for each orchard of the experiment and then compared with the average reference values for the same days and orchards, the results showed a significantly improvement with $R^2= 0.99-1.00$ and RMSEP=0.27-0.28 for a^* (Fig. 2); $R^2=0.96-0.99$ and RMSEP=1.10-3.80 for firmness (Fig. 3); and $R^2=0.88-0.98$ and RMSEP=0.03 for pH (Fig. 4). The average daily

measurements are very close to the average daily predictions as confirmed by the number of asterisks in the three figures, which represents different averages ($p < 0.05$).

In fact, even in the other quality attributes models a good performance was obtained, since in a total of 150 (days x orchards x parameters) predicted mean values, only 12 are different from the real mean value, which represents 8% (Table 1). This percentage can be lower if considering only orchard 1 (3 differences in 80 represents 4%).

CONCLUSIONS

Despite the limitations, this work shows that good calibration models allowed to achieve excellent average models, revealing that prediction of the average attributes for an orchard, at specific dates, is more reliable than the individual prediction. This is an excellent result since orchard management is done essentially through averages and not individual values. Frequent assessment will be able to establish an evolution pattern and predict, in advance, the optimal harvest date. However, future work must be done to confirm and test the reliability of this method, taking in count that 375 fruit is still limited. Furthermore, the average prediction must be challenged not only by fruit from another year, but also by an external validation to reinforce the robustness and applicability.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge Frutas Douro ao Minho (Guimarães, Portugal) for providing the access to the orchards followed in this study and FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia, Portugal, for funding Andreia M. Afonso through a PhD scholarship (SFRH/BD/131462/2017) and for supporting CEOT through the contracts UIDB/00631/2020 CEOT BASE and UIDP/00631/2020 CEOT PROGRAMÁTICO and UIDP/05183/2020 MED strategic project. Part of the work was also supported by the projects NIBAP(ALG-01-0247- FEDER-037303) and OtiCalFrut (ALG-01-0247-FEDER-033652).

References

- Afonso, A.M., Guerra, R., Freitas, L., Veloso, F., Cavaco, A.M., Antunes, M.D. (2022a). Ripening evolution of 'Hayward' kiwifruit orchards. *Acta Hort.* 1332: 379-384.
- Afonso, A.M., Antunes, M.D., Cruz, S., Cavaco, A.M., Guerra, R. (2022b). Non-destructive follow-up of 'Jintao' kiwifruit ripening through VIS-NIR spectroscopy – individual vs. average calibration model's predictions. *Postharvest Biol. Technol.* 188: 1-11.
- Barnes, R., Dhanoa, M.S., Lister, S.J. (1989). Standard normal variate transformation and de-trending of near-infrared diffuse reflectance spectra. *Appl. Spectrosc.* 43: 772–777.
- Benelli, A., Cevoli, C., Fabbri, A., Ragni, L. (2021). Ripeness evaluation of kiwifruit by hyperspectral imaging. *Biosyst. Eng.* 1-11, doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2021.08.009.
- Cavaco, A.M., Pires, R., Antunes, M.D., Panagopoulos, T., Brázio, A., Afonso, A.M., Silva, L., Lucas, M.R., Cadeiras, B., Cruz, S.P., Guerra, R. (2018). Validation of short wave near infrared calibration models for the quality and ripening of 'Newhall' orange on tree across years and orchards. *Postharvest Biol. Technol.* 141: 86–98.
- Fu, X., Ying, Y., Lu, H., Xu, H., Yu, H. (2007). FT-NIR diffuse reflectance spectroscopy for kiwifruit firmness detection. *Sens. Instrum. Food Qual. Saf.* 1, 29–35.
- Guerreiro, A., Vieira, A.I., Brázio, A., Gago, C., Cavaco, A.M., Panagopoulos, T., Veloso, F., Antunes, M.D., Guerra, R. (2018). Quality characterization of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) cv. Hayward using destructive and optical non-invasive methods. *Acta Hort.* 1218: 497-502.

- Huang, H., Wang, S., Huang, R., Jiang, Z., Zhang, Z. (2002). 'Jintao', a novel, hairless, yellow-fleshed kiwifruit. *HortScience* 37: 1135–1136.
- Lee, J.S., Kim, S.C., Seong, K.C., Kim, C.H., Um, Y.C., Lee, S.K. (2012). Quality prediction of kiwifruit based on near infrared spectroscopy. *Hortic. Sci. Technol.* 30: 709–717.
- Li, M., Pullanagari, R.R., Pranamornkith, T., Yule, I.J., East, A.R. (2017). Quantitative prediction of post storage 'Hayward' kiwifruit attributes using at harvest Vis-NIR spectroscopy. *J. Food Eng.* 202: 46–55.
- Li, M., Qian, Z., Shi, B., Medlicott, J., East, A. (2018). Evaluating the performance of a consumer scale SCiOTM molecular sensor to predict quality of horticultural products. *Postharvest Biol. Technol.* 145: 183–192.
- Moghimi, A., Aghkhani, M.H., Sazgarnia, A., Sarmad, M. (2010). Vis/NIR spectroscopy and chemometrics for the prediction of soluble solids content and acidity (pH) of kiwifruit. *Biosyst. Eng.* 10: 295–302.
- Nicolai, B.M., Beullens, K., Bobelyn, E., Peirs, A., Saeys, W., Theron, K.I., Lammertyn, J. (2007). Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: a review. *Postharvest Biol. Technol.* 46: 99–118.
- Oja, H., 2010. *Multivariate Nonparametric Methods with R: an Approach Based on Spatial Signs and Ranks*. Springer Science & Business Media. [https://doi.org/ 10.1007/978-1-4419-0468-3](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0468-3)
- Savitzky, A., Golay, M.J.E. (1964). Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. *Anal. Chem.* 36: 1627–1639.
- Vieira, A., Guerreiro, A., Gago, C., Brázio, A., Guerra, R., Cavaco, A., Panagopoulos, T., Veloso, F., Antunes, M. (2017). An attempt to find a non-destructive method to determine ripeness of kiwifruit (*Actinidia chinensis* Planch. "Jintao"), in: IX international symposium on kiwifruit. *Acta Hortic.* 1218, 489–496.
- Zhu, H., Chu, B., Fan, Y., Tao, X., Yin, W., He, Y. (2017). Hyperspectral imaging for predicting the internal quality of kiwifruits based on variable selection algorithms and chemometric models. *Sci. Rep.* 7, 1–13.

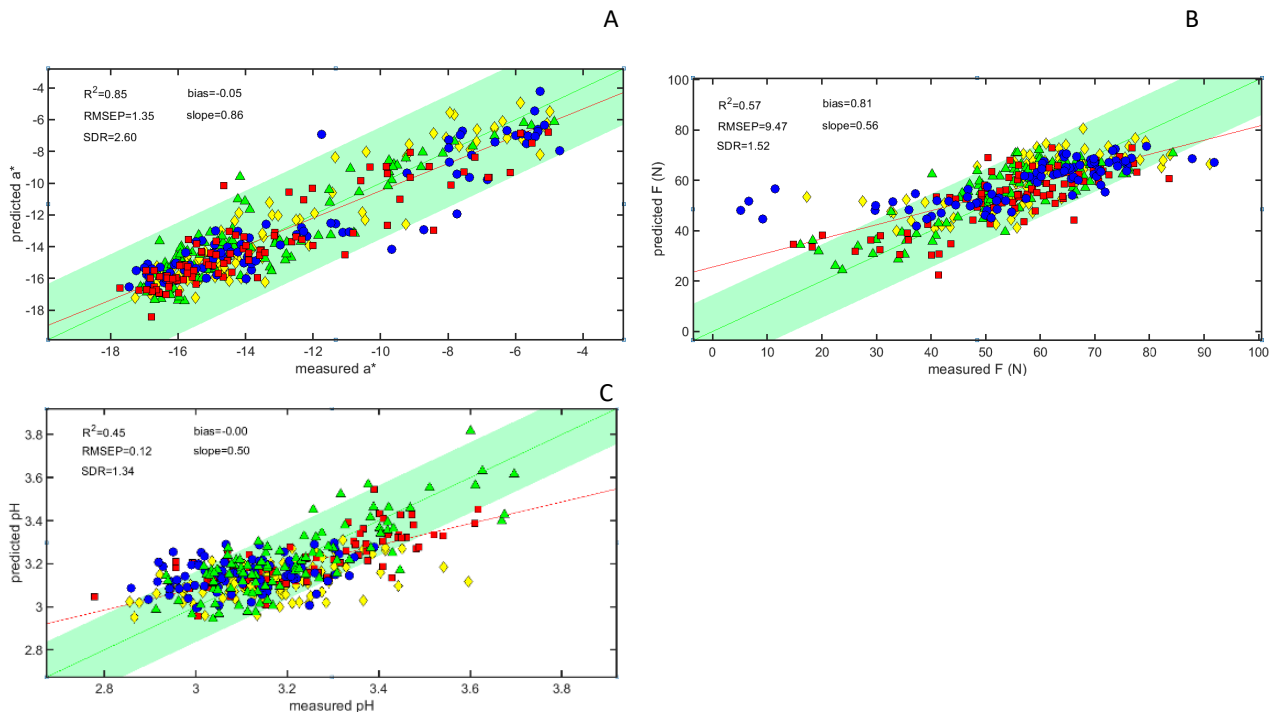


Figure 1 - Measured versus predicted values for kiwifruit a*color, firmness and pH. Each symbol corresponds to one test set. The green shadowed band has a half-width equal to the standard deviation of a*, F(N) or pH.

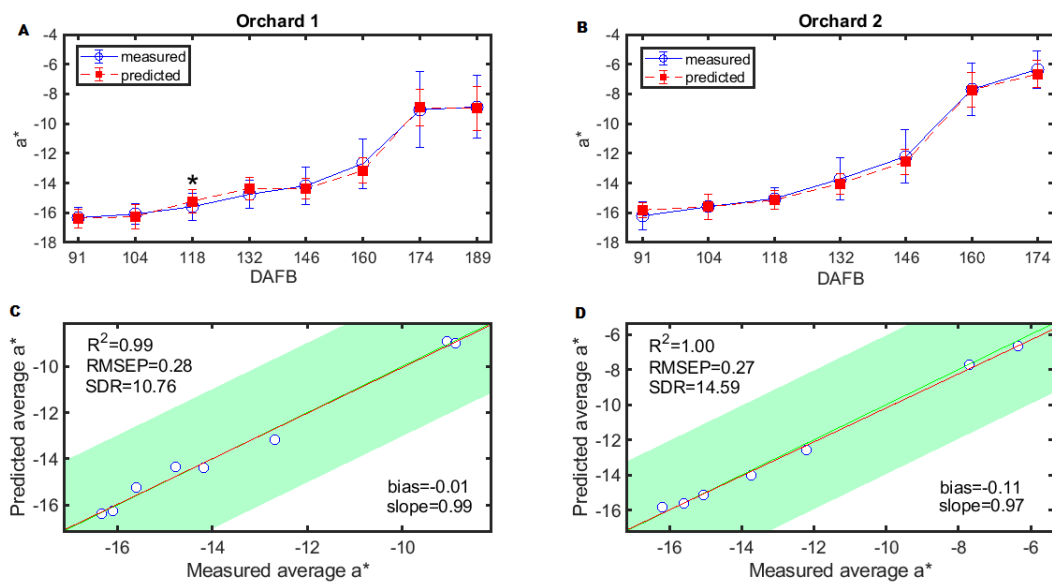


Figure 2 - A: Average measured (open squares / solid line) and predicted (closed squares / dashed line) a* values for each date in orchard 1 (DAFB = Days After Full Bloom). Each point represents the mean of the values in each day and the error bars represent their standard deviation. Statistically different means ($p < 0.05$) are signalled with an asterisk.

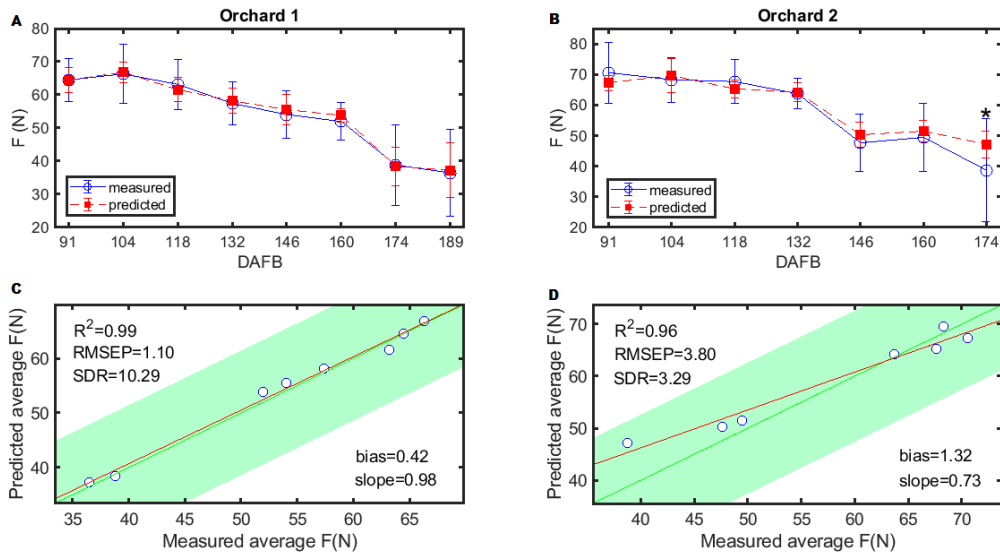


Figure 3 - A: Average measured (open squares / solid line) and predicted (closed squares / dashed line) firmness values for each date in orchard 1 (DAFB = Days After Full Bloom). Each point represents the mean of the values in each day and the error bars represent their standard deviation. Statistically different means ($p < 0.05$) are signalled with an asterisk.

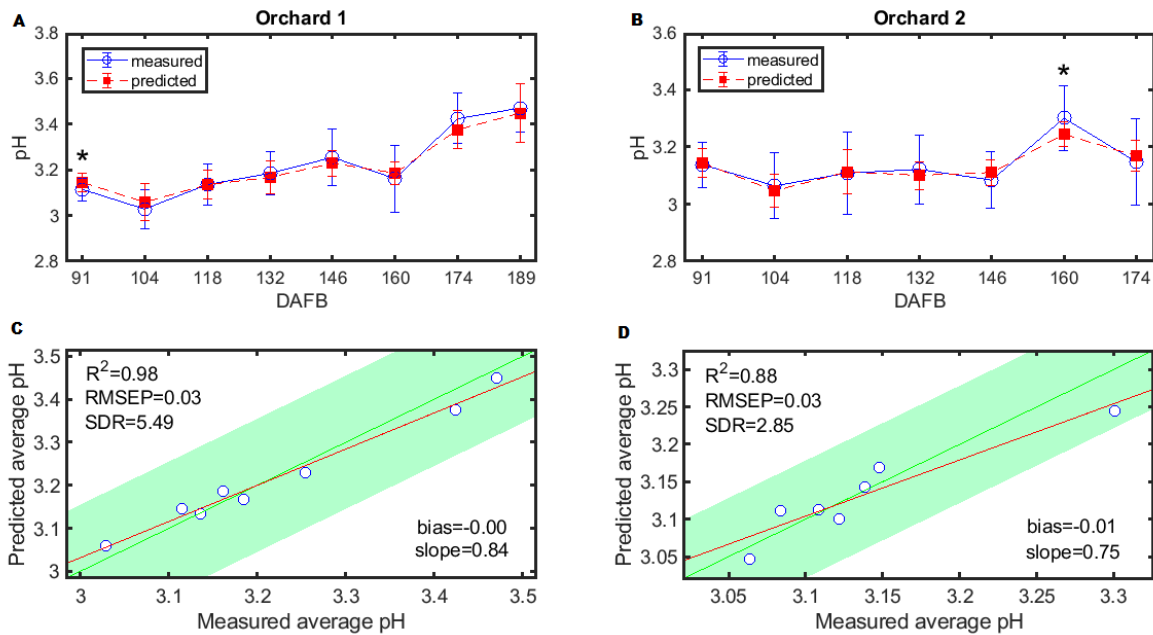


Figure 4 - A: Average measured (open squares / solid line) and predicted (closed squares / dashed line) pH values for each date in orchard 1 (DAFB = Days After Full Bloom). Each point represents the mean of the values in each day and the error bars represent their standard deviation. Statistically different means ($p < 0.05$) are signalled with an asterisk.

Table 1: Significant differences between average measured and average predicted values for each date (1 means difference). DAFB = Days After Full Bloom.

DAFB	Orchard 1								Orchard 2							
	91	104	118	132	146	160	174	189	91	104	118	132	146	160	174	
SSC	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	
F	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
DM	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
TA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
pH	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
L*	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	
a*	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
b*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
Hue	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
Chroma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Propiedades antibióticas del hidrolato de *Satureja montana* L. en bacterias de interés clínico.

C. Gan¹, E. Terrado², D. Ballester², E. Langa² y MR. Pino-Otín².

¹ Universidad San Jorge. Campus Universitario Villanueva de Gállego Autovía A-23 Zaragoza-Huesca, km. 510 50830 Villanueva de Gállego. Zaragoza (España).

cgan@usj.es

² emterrado@usj.es

dballester@usj.es

elanga@usj.es

rpino@usj.es

Resumen

El uso de productos naturales como alternativas a los antibióticos clásicos de síntesis es una tendencia creciente, no sólo por su menor potencial tóxico para el medio ambiente, sino también por sus prometedores resultados tanto en la disminución de la dosis de antibióticos clásicos mediante sinergias, como en la reducción de la generación de resistencias bacterianas.

Dentro de esta búsqueda de nuevos productos naturales bioactivos el interés de los últimos años se ha centrado en los aceites esenciales (AE) de las plantas. Sin embargo, la fracción hidrosoluble del proceso de hidrodestilación utilizado para obtener los AE, denominada hidrolato, que normalmente es desechada, también ha empezado a mostrar interesantes propiedades farmacológicas que pueden añadir valor a estos residuos alargando su ciclo de vida de acuerdo con los principios de la economía circular. El hidrolato de *Satureja montana* L. es un producto prometedor por su actividad demostrada contra algunas bacterias patógenas. Su principal componente volátil es el carvacrol, que es un compuesto altamente bioactivo.

El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad bacteriostática y bactericida del hidrolato de *S. montana* y de su componente principal, carvacrol, sobre 14 cepas de bacterias de interés clínico, utilizando el método de microdilución.

Todas las cepas fueron expuestas a diferentes concentraciones de hidrolato y Carvacrol durante 24 horas. Los resultados mostraron que el hidrolato de *S. montana* fue especialmente eficaz (concentración del 25% v/v) contra *Pasteurella aerogenes*, *Streptococcus agalactiae* y *Acinetobacter baumannii* (prioridad 1 de la OMS). También fue microbicida para otras 7 cepas bacterianas a una concentración del 50% v/v.

Los microorganismos se vieron afectados de forma ligeramente diferente cuando se expusieron al carvacrol solo, lo que posiblemente refleja las interacciones entre los distintos componentes del hidrolato.

Tanto el hidrolato de *S. montana* como el carvacrol presentan actividad antimicrobiana contra una amplia gama de bacterias patógenas. Esta interesante capacidad antimicrobiana de los hidrolatos hace que se deba explorar su uso como antibióticos, ya sea para sustituir a los antibióticos tradicionales en algunos casos, o para actuar en sinergia con ellos y permitir el uso de dosis más bajas.

Palabras clave: Producto natural, Carvacrol, Concentración mínima inhibitoria, Economía circular, Lamiaceae

INTRODUCCIÓN

Los hidrolatos son coproductos de la hidrodestilación de plantas aromáticas para producir aceites esenciales (AE). Recientemente, los hidrolatos han cobrado interés en perfumería y cosmética, como aromatizantes en alimentación, como repelentes de plagas de insectos, y por sus propiedades herbicidas y nematocidas (D'Amato et al., 2018), entre otras.

En los últimos años se han descrito diferentes hidrolatos con actividad antimicrobiana, especialmente para prevenir la colonización y desarrollo de microorganismos patógenos en productos alimentarios (Gil et al., 2009; Sagdic et al., 2013; D'Amato et al., 2018).

Muchos países productores y exportadores de aceites esenciales, desechan estos hidrolatos. Sin embargo, sus crecientes aplicaciones pueden añadir valor a estos productos, que en algunos casos considerados residuos, alargando su ciclo de vida de acuerdo con los principios de la economía circular. Es además, especialmente interesante que posiblemente generen menos resistencia que los antibióticos sintéticos (Lewis y Ausubel, 2006).

El género *Satureja* L. se reporta dentro de la familia Lamiaceae (Zarshenas y Krenn, 2015) y abarca más de 200 especies diferentes de hierbas o arbustos. Este género presenta notables propiedades farmacológicas, como antioxidantes, antiinflamatorias y analgésicas, entre otras (Cabana et al., 2013; Tepe y Cilkiz, 2016; Caprioli et al., 2019).

Los hidrolatos de diferentes especies de *Satureja* también han mostrado actividad antimicrobiana (Sagdic y Ozcan, 2003; Djenane et al., 2011; Sagdic et al., 2013), a veces incluso superior a la que presenta AE de la misma planta porque son activos a concentraciones más bajas. Hasta donde sabemos, las propiedades antimicrobianas del hidrolato de *Satureja montana* sólo se han estudiado en unas pocas bacterias patógenas (Di Vito et al., 2021).

En un trabajo anterior (Pino-Otín et al., 2022), los componentes volátiles más abundantes de *S. montana* fueron identificados como carvacrol, seguido de timol. El carvacrol y el timol son terpenoides con propiedades antimicrobianas probadas en bacterias (García-Salinas et al., 2018), lo que sugiere que el hidrolato puede mostrar una alta bioactividad.

Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar las propiedades antimicrobianas del hidrolato de *S. montana* en 14 microorganismos de interés clínico y comparar su actividad antimicrobiana con la de su principal componente volátil, el carvacrol.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal e hidrolato

El hidrolato de *S. montana* se obtuvo por destilación en una planta piloto de extracción de acero inoxidable equipada con una válvula reductora de presión. El hidrolato (fase acuosa) se decantó del aceite esencial en un embudo de separación y se

filtró antes de su utilización.

El contenido de compuestos orgánicos volátiles del hidrolato, analizado previamente por cromatografía de gases-espectrometría de masas, reveló que el carvacrol era el compuesto más abundante.

Reactivos y disolventes.

El carvacrol (CAS: 499-75-2), con una pureza mínima del 98,0% y un peso molecular de 150,22 g/mol, se obtuvo de Sigma-Aldrich. El disolvente utilizado para disolver el carvacrol fue dimetilsulfóxido (DMSO) (CAS: 67-68-5) de Fisher Bioreagents, con una pureza $\geq 99,7\%$.

Microorganismos.

Para este estudio se seleccionaron las siguientes cepas bacterianas de referencia: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella aerogenes* ATCC 13048, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Pasteurella aerogenes* ATCC 27883, *Staphylococcus aureus* ATCC 9144, *Streptococcus agalactiae* ATCC 12386, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Serratia marcescens* ATCC 13880, *Proteus mirabilis* ATCC 35659 y *Klebsiella pneumoniae* C6.

Los cultivos de microorganismos para los ensayos de actividad antimicrobiana se cultivaron de acuerdo con la hoja de producto de ATCC para cada cepa.

Determinación de la actividad antibacteriana.

Para estudiar las propiedades antimicrobianas del hidrolato de *S. montana* y de su principal compuesto volátil, el carvacrol, se obtuvieron las CMI, mediante el método de microdilución en placas de 96 pocillos de fondo redondo, según la guía del Clinical and Laboratory Standards Institute (SCLI, M07-A9 2018) y la ISO 20776-1 (2019).

Dado que el carvacrol es un compuesto insoluble en agua se utilizó DMSO al 5% (concentración inocua para las bacterias utilizadas) para preparar las soluciones madre para los posteriores ensayos antimicrobianos.

Para los ensayos de microdilución se aplicaron diluciones seriadas desde la columna 1 a la 10, resultando en un volumen final de 100 μL en cada pocillo y dando como resultado un rango de concentración entre 0,004 y 2 mg/mL para el carvacrol y entre 0,1 y 50% v/v para el hidrolato. También se incluyeron en cada experimento un control positivo de crecimiento bacteriano y un control negativo de control de esterilidad, en las columnas 11 y 12 respectivamente.

Tras la incubación, se midió la absorbancia de cada pocillo a 625 nm con un lector de microplacas multimodo BioTek™ Synergy H1 Hybrid. La CMI se consideró como la concentración más baja que inhibió el crecimiento microbiano visible, en comparación con la columna de control de la microplaca de acuerdo con la guía SCLI, M07-A9 (2018). La concentración mínima bactericida (CMB) se evaluó según Mah (2014), considerando que la CMB se corresponde con la menor concentración que elimina el 99,9% de los microorganismos. Para su determinación, se tomó una alícuota de 10 μL de cada columna de las placas de 96 pocillos tras su incubación y se inoculó en una placa de agar. Las placas de agar se incubaron durante 24 horas y se observó si se había producido algún crecimiento. La relación MBC/MIC determina el efecto bactericida o bacteriostático del producto sobre las cepas. En concordancia con Adrar et al. (Adrar et al., 2016), se consideró que un producto natural tenía actividad bactericida cuando $\text{CMB/CMI} \leq 4$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El hidrolato de *S. montana* es generalmente eficaz contra una amplia gama de bacterias a una concentración del 50% v/v. Las CMI más bajas fueron del 25% v/v, para *A. baumannii*, *S. agalactiae* y *P. aerogenes*. Estas concentraciones son similares a las encontradas para otros hidrolatos con efecto antimicrobiano (Boyras y Ozcan, 2006; Wawrzynczak et al., 2021).

Para algunas bacterias, como *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. aerogenes*, *L. monocytogenes* y *E. faecalis*, el hidrolato no provocó ningún efecto a las concentraciones probadas.

Hasta donde sabemos, sólo Di Vito et al. (Di Vito et al., 2021) han estudiado el efecto del hidrolato de *S. montana* frente a varios microorganismos patógenos, de los cuales solo *E. faecalis* era similar a los probados en este estudio, para el cual obtuvieron una CMI en el mismo rango que nuestros resultados (50% v/v). También probaron cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina y susceptibles a la meticilina, y ambas parecían más resistentes que la cepa que probamos en este estudio (*S. aureus* ATCC 9144).

Los hidrolatos de otros géneros de *Satureja* también mostraron actividad bactericida. El hidrolato de *S. hortensis* L demostró tener un efecto bactericida sobre *E. coli* (Sagdic y Ozcan, 2003). Este hidrolato también demostró propiedades bactericidas sobre *S. typhimurium*, *S. aureus* y *K. pneumoniae* de diferentes cepas (Sagdic y Ozcan, 2003). Sin embargo, estos estudios no obtuvieron CMI, ya que utilizaron pruebas de difusión en disco o una disminución del recuento microbiano (ufc/mL) en tomates, pepinos o semillas.

Existe una relación entre la actividad antimicrobiana y los compuestos más abundantes presentes en muchos AE probados (Farang et al., 1989), por lo que debería ocurrir lo mismo con los hidrolatos. Las actividades antimicrobianas de otras especies de *Satureja*, como *S. hortensis*, se han relacionado claramente con la presencia predominante de carvacrol y timol en el hidrolato (Sagdic et al., 2013). Es bien sabido que el carvacrol tienen amplias acciones farmacológicas (Lombrea et al., 2020) y excelentes propiedades antimicrobianas sobre una amplia variedad de bacterias patógenas Gram positivas y Gram negativas (Memar et al., 2017; Kachur y Suntres, 2020). Nuestros resultados reflejan la siguiente sensibilidad al carvacrol, de mayor a menor: *S. typhimurium* > *K. pneumoniae* = *K. aerogenes* = *L. monocytogenes* = *S. aureus* = *P. aerogenes* > *E. coli* = *S. marcescens* > *S. agalactiae* = *A. baumannii* = *E. faecalis* > *B. subtilis*. Mostrando actividad antimicrobiana contra todas las bacterias probadas menos contra *P. aeruginosa*.

Los valores de MBC/MIC para ambos productos fueron en la mayoría de casos igual 1, lo que indica que ambos productos tienen una acción predominantemente bactericida sobre las bacterias ensayadas.

Cabe señalar que el comportamiento del carvacrol es a veces significativamente diferente al del hidrolato sobre las bacterias ensayadas. Así, las bacterias más sensibles a la exposición al hidrolato no son necesariamente las más sensibles al carvacrol (por ejemplo, *S. agalactiae*), y las más resistentes al hidrolato (por ejemplo, *E. coli*) no son las más resistentes al carvacrol. Todo ello demuestra que, a pesar de que las propiedades antimicrobianas del hidrolato de *S. montana* posiblemente radiquen en la presencia de carvacrol, ya que se ha demostrado una clara relación entre las estructuras químicas de los compuestos más abundantes de un extracto vegetal y su actividad antimicrobiana (Farang et al., 1989; Sagdic y Ozcan, 2003), los extractos naturales tienen mecanismos de

acción más complejos que el producto natural puro. Por ejemplo, los diferentes componentes pueden establecer relaciones de sinergia (Zhou et al., 2007), como se ha descrito en el caso del carvacrol y el timol.

CONCLUSIONES

El hidrolato de *S. montana* presenta actividad antimicrobiana contra una amplia gama de bacterias patógenas Gram positivas y Gram negativas. Es especialmente eficaz contra: *P. aerogenes*, *S. agalactiae* y *A. baumannii*, esta última considerada como prioridad 1 por la OMS.

La interesante capacidad antimicrobiana de los hidrolatos hace que deba explorarse su uso como antibióticos, bien para sustituir a los tradicionales en algunos casos o bien para actuar en sinergia con ellos y permitir la disminución de las dosis de estos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo está financiado por la Universidad San Jorge en el marco de las Ayudas a Proyectos Internos de Investigación curso 2021-2022.

REFERENCIAS

- Boyraz, N., and Ozcan, M. (2006) Inhibition of phytopathogenic fungi by essential oil, hydrosol, ground material and extract of summer savory (*Satureja hortensis* L.) growing wild in Turkey. *International Journal of Food Microbiology* 107: 238-242.
- Cabana, R., Silva, L.R., Valentao, P., Viturro, C.I., and Andrade, P.B. (2013) Effect of different extraction methodologies on the recovery of bioactive metabolites from *Satureja parvifolia* (Phil.) Epling (Lamiaceae). *Industrial Crops and Products* 48: 49-56.
- Caprioli, G., Lupidi, G., and Maggi, F. (2019) Comparison of chemical composition and antioxidant activities of two Winter savory subspecies (*Satureja montana* subsp. *variegata* and *Satureja montana* subsp. *montana*) cultivated in Northern Italy. *Natural Product Research* 33: 3143-3147.
- D'Amato, S., Serio, A., Lopez, C.C., and Paparella, A. (2018) Hydrosols: Biological activity and potential as antimicrobials for food applications. *Food Control* 86: 126-137.
- Di Vito, M., Smolka, A., Proto, M.R., Barbanti, L., Gelmini, F., Napoli, E. et al. (2021) Is the Antimicrobial Activity of Hydrolates Lower than that of Essential Oils? *Antibiotics-Basel* 10.
- Djenane, D., Yanguela, J., Montanes, L., Djerbal, M., and Roncales, P. (2011) Antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* and *Satureja montana* essential oils against *Listeria monocytogenes* CECT 935 using laboratory media: Efficacy and synergistic potential in minced beef. *Food Control* 22: 1046-1053.
- Farag, R.S., Daw, Z.Y., Hewedi, F.M., and Elbaroty, G.S.A. (1989) ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SOME EGYPTIAN SPICE ESSENTIAL OILS. *Journal of Food Protection* 52: 665-667.
- Garcia-Salinas, S., Elizondo-Castillo, H., Arruebo, M., Mendoza, G., and Irusta, S. (2018) Evaluation of the Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of Different

Components of Natural Origin Present in Essential Oils. *Molecules* 23.

- Gil, M.I., Selma, M.V., Lopez-Galvez, F., and Allende, A. (2009) Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: Problems and solutions. *International Journal of Food Microbiology* 134: 37-45.
- Kachur, K., and Suntres, Z. (2020) The antibacterial properties of phenolic isomers, carvacrol and thymol. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 60: 3042-3053.
- Lewis, K., and Ausubel, F.M. (2006) Prospects for plant-derived antibacterials. *Nature Biotechnology* 24: 1504-1507.
- Lombrea, A., Antal, D., Ardelean, F., Avram, S., Pavel, I.Z., Vlaia, L. et al. (2020) A Recent Insight Regarding the Phytochemistry and Bioactivity of *Origanum vulgare* L. Essential Oil. *International Journal of Molecular Sciences* 21.
- Mah, T.-F. (2014) Establishing the Minimal Bactericidal Concentration of an Antimicrobial Agent for Planktonic Cells (MBC-P) and Biofilm Cells (MBC-B). *Jove-Journal of Visualized Experiments*.
- Memar, M.Y., Raei, P., Alizadeh, N., Aghdam, M.A., and Kafil, H.S. (2017) Carvacrol and thymol: strong antimicrobial agents against resistant isolates. *Reviews in Medical Microbiology* 28: 63-68.
- Pino-Otín, M.R., Navarro, J., Val, J., Roig, F., Mainar, A.M., and Ballester, D. (2022) Spanish *Satureja montana* L. hydrolate: Ecotoxicological study in soil and water non-target organisms. *Industrial Crops and Products* 178:.
- Sagdic, O., and Ozcan, M. (2003) Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. *Food Control* 14: 141-143.
- Sagdic, O., Ozturk, I., and Tornuk, F. (2013) Inactivation of non-toxigenic and toxigenic *Escherichia coli* O157:H7 inoculated on minimally processed tomatoes and cucumbers: Utilization of hydrosols of Lamiaceae spices as natural food sanitizers. *Food Control* 30: 7-14.
- Tepe, B., and Cilkiz, M. (2016) A pharmacological and phytochemical overview on *Satureja*. *Pharmaceutical Biology* 54: 375-412.
- Wawrzynczak, K., Sadowska, B., Wieckowska-Szakiel, M., and Kalemba, D. (2021) Composition and Antimicrobial Activity of *Myrica gale* L. Leaf and Flower Essential Oils and Hydrolates. *Records of Natural Products* 15: 35-45.
- Zarshenas, M.M., and Krenn, L. (2015) Phytochemical and Pharmacological Aspects of *Salvia mirzayanii* Rech. f. & Esfand. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine* 20: 65-72.

Efecto de la aplicación de alil isotiocianato (AITC) procedente de semilla de mostaza negra en cereza Burlat envasada

P.¹ Calvo, E.¹ Ramos, M.J.¹ Rodríguez, M.J.¹ Serradilla, M.J.^{2,3} Bernalte, F.M.¹ Sánchez

1. Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura (INTAEX-CICYTEX). Avda. Adolfo Suárez s/n, 06007 Badajoz, España. Email: patricia.calvo@juntaex.es
2. Escuela de Ingenierías Agrarias. Universidad de Extremadura. Avda. Adolfo Suárez s/n, 06007 Badajoz, España.
3. Instituto Universitario de Investigación de Recursos Agrarios (INURA), Universidad de Extremadura, Badajoz, España

Resumen

En Extremadura, la fruticultura es un sector de gran incidencia ya que supone una facturación global superior a 350 millones de euros. En el caso de la cereza, más del 33% de la superficie cultivada en España se localiza en Extremadura, siendo la exportación el principal destino de la producción. La cereza es una fruta con alta susceptibilidad a pudriciones fúngicas que limita la calidad óptima final con la que llega al consumidor. El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto del AITC procedente de semilla de mostaza en formato ‘Inbox’ (semilla desengrasada en polvo envasada en bolsitas de celulosa) sobre la calidad de cerezas de la variedad ‘Burlat’. Para ello, cerezas recolectadas en el estado de madurez comercial recomendado para exportaciones a larga distancia fueron confeccionadas en el formato habitual empleado (2kg), sometidas a diferentes tratamientos (presencia de diferente peso de semilla de mostaza negra en el envase y/o tratada con fungicida sintético poscosecha autorizado (Fludioxonil)), y almacenadas en condiciones de refrigeración y humedad controlada. De forma periódica, se determinaron parámetros de calidad estándar y sensorial, porcentaje de frutos podridos, así como recuentos microbiológicos tomando muestras representativas de los diferentes tratamientos. De los resultados obtenidos, cabe destacar que tras 28 días de almacenamiento, las cerezas con 100 mg de semilla de mostaza en el envase presentaron mejor textura así como un color rojo más intenso que las cerezas tratadas con Fludioxonil. En cuanto al control de podredumbres, se observó el mismo efecto en las cerezas tratadas con 100 mg de semilla de mostaza que en las del fungicida sintético.

Palabras claves: *Prunus avium*, calidad poscosecha, conservación, efecto antifúngico

INTRODUCCIÓN

La cereza (*Prunus avium*) es una fruta muy apreciada a nivel mundial por los consumidores debido a su color, aroma, sabor, atributos nutricionales, así como por su alto contenido en compuestos beneficiosos para la salud (Martini et al., 2017; Serradilla et al., 2012).

Según la Base de Datos Estadísticos de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) (2020), la producción española de cereza en 2020 fue de 106.584 toneladas, destinándose el 30% de la producción a la exportación. La fruta para exportación está sometida a una cadena de manipulación muy larga, que a menudo da lugar a pérdidas de calidad, por lo que la industria frutícola confía en gran medida en las tecnologías poscosecha como medio para garantizar la calidad en destino. En cereza, las pérdidas poscosecha se deben principalmente al deterioro por hongos patógenos pertenecientes a los géneros *Penicillium*, *Botrytis*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Cladosporium*, *Alternaria* y *Monilia* (Chand-Goyal y Spotts, 1996; Valero y Serrano, 2010).

En la actualidad, los plaguicidas químicos son las medidas más eficaces y económicas para controlar las enfermedades de poscosecha. En España, para las cerezas, está autorizado el uso de Fludioxonil para los cultivares procedentes de la agricultura convencional. Sin embargo, existe una gran preocupación tanto por la población de patógenos resistentes a los fungicidas, como por la presencia de residuos químicos en la fruta, por lo que en los últimos años se han explorado ampliamente métodos de control alternativos más seguros y respetuosos con el medio ambiente para la gestión de enfermedades poscosecha (Abdipur et al 2020).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación de alil isotiocianato (AITC) procedente de semilla de mostaza negra en formato 'Inbox' (semilla desgrasada en polvo y envasada en bolsitas de celulosa) sobre la calidad de cerezas de la variedad 'Burlat' confeccionada en central hortofrutícola.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las cerezas del cultivar temprano 'Burlat' se recolectaron según las recomendaciones de madurez comercial para almacenamientos prolongados. La confección se llevó a cabo en las instalaciones de la Agrupación de Cooperativas Valle del Jerte S.C.L. (Valdastillas, Cáceres) en el formato habitual para las exportaciones a larga distancia (2 kg), realizándose 6 lotes en función de los siguientes tratamientos:

1. Cerezas sin fungicida químico (Control).
2. Cerezas con fungicida químico (T1).
3. Cerezas sin fungicida químico + Inbox con semilla de mostaza (50 mg) (T2).
4. Cerezas sin fungicida químico + Inbox con semilla de mostaza (100 mg) (T3).
5. Cerezas con fungicida químico + Inbox con semilla de mostaza (50 mg) (T4).
6. Cerezas con fungicida químico + Inbox con semilla de mostaza (100 mg) (T5).

Una vez confeccionada, la cereza se transportó a las instalaciones del INTAEX en vehículos refrigerados y se almacenó en condiciones de refrigeración y humedad controlada, 1 °C y 90% HR, durante 28 días en condiciones de oscuridad. Se emplearon tres réplicas (cajas) por cada tratamiento y fecha de muestreo. De forma periódica (0, 7, 14, 21 y 28 días de almacenamiento) se determinó la calidad estándar (firmeza, color, sólidos solubles totales (°Brix), pH y acidez titulable, sensorial, porcentaje de frutos podridos y análisis microbiológicos).

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa *IBM SPSS* versión 20. Sobre los resultados obtenidos se aplicó un análisis de varianza ANOVA y test de Tukey ($p < 0.05$), en caso de existir diferencias significativas entre las medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó que tras 28 días de almacenamiento, los tratamientos T1, T3 y T5 presentaron un porcentaje de frutos podridos significativamente inferior ($p < 0.05$) al tratamiento T2 (Figura 1A). De estos resultados podemos deducir que el tratamiento con 100 mg de semilla de mostaza (T3) controla la evolución de las podredumbres al mismo nivel que el fungicida sintético Fludioxonil y que no existe ningún efecto sinérgico entre el fitoquímico y el AITC. En cuanto a los recuentos microbiológicos (Figura 1B), aunque no se aprecian diferencias significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos, sí que se pudo observar que T3 fue el que mostró los menores recuentos de mohos y levaduras. En el análisis de firmeza se registró el valor de fuerza máxima (N) observándose que el tratamiento T3 presentó valores de firmeza significativamente superiores ($p < 0.05$) al T1 (Figura 1C). En los parámetros de color, se observó cómo los tratamientos Control y T1 presentan valores de a^* y C^* significativamente inferiores ($p < 0.05$) al resto de tratamientos, lo que se traduce en un color rojo menos intenso, por lo que se podría deducir que la semilla de mostaza contribuye al mantenimiento del color rojo característico de la cereza, evitándose así el oscurecimiento y, por tanto, aumentando su vida útil (Figura 2). En relación al contenido en sólidos solubles (Tabla 1), observamos que éstos son menores en los tratamientos con semillas de mostaza. Sin embargo, en el análisis sensorial (datos no mostrados), los catadores no detectaron diferencias significativas entre los tratamientos al final del periodo de almacenamiento, así como tampoco la aparición de sabores extraños.

CONCLUSIONES

De este estudio se puede concluir que la utilización de 100 mg de semilla de mostaza (T3) en formato 'Inbox' para la generación de AITC, presenta el mismo efecto sobre el control de podredumbre que el fungicida Fludioxonil (T1), mostrando además las cerezas sometidas al tratamiento T3 mejores valores de firmeza. Por otra parte, los tratamientos con semillas de mostaza mantuvieron el color rojo más vivo e intenso, así como valores de sólidos solubles totales menores. Estos resultados nos sugieren que, además de controlar el desarrollo de podredumbres, el AITC podría tener algún efecto sobre el fruto, retardando la senescencia.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Junta de Extremadura y al Fondo Europeo de Desarrollo Regional por el apoyo económico a través de los Proyecto IB16190 y GR21193.

REFERENCIAS

- Abdipour, M., Malekhossini, P.S., Hosseinifarahi, M., Radi, M. (2020). Integration of UV irradiation and chitosan coating: A powerful treatment for maintaining the postharvest quality of sweet cherry fruit. *Scientia Horticulturae*, 264, 1-8.
- Chand-Goyal, T. & Spotts, R.A. (1996). Postharvest biological control of blue mold of apple and brown rot of sweet cherry by natural saprophytic yeast alone or in combination with low doses of fungicides. *Biological Control* 6, 253–259.
- FAO (2020). <http://www.fao.org>
- Martini, S., Conte, A., Tagliazucchi, D. (2017). Phenolic compounds profile and antioxidant properties of six sweet cherry (*Prunus avium*) cultivars. *Food Research International*, 97, 15-26.
- Padrón, C.A., Padrón, G.M., Montes, A.I., Oropeza, R.A. (2012). “Determinación de color en epicarpio de tomates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) con sistema de visión computarizada durante su maduración”. *Agronomía Costarricense*, 97-111.
- Serradilla, M. J., Martín, A., Ruiz-Moyano, S., Hernandez, A., Lopez-Corrales, M., Cordoba, M. d. G. (2012). Physicochemical and sensorial characterisation of four sweet cherry cultivars grown in Jerte valley (Spain). *Food Chemistry*, 133, 1551-1559.
- Valero, D., Serrano, M. (2010). *Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality*. CRC Press, Boca Raton, FL.

FIGURAS

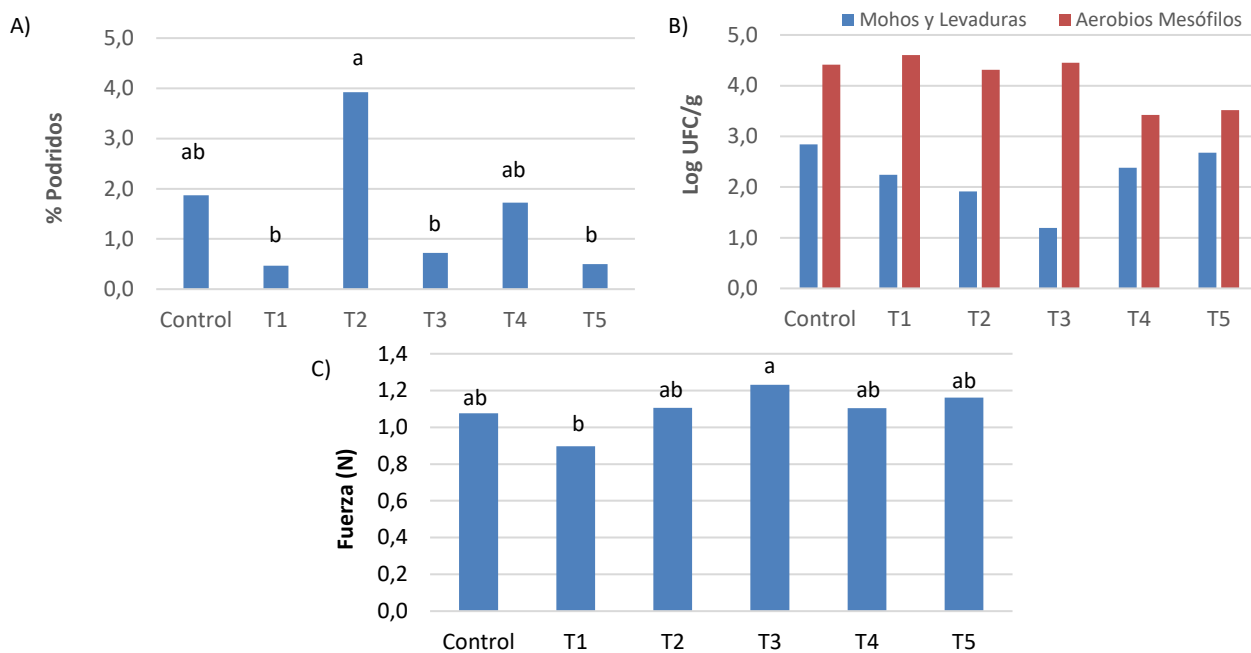


Figura 1. A) Porcentaje de frutos podridos, B) Recuentos microbiológicos y C) Valores de firmeza, en cereza 'Burlat' tras 28 días de almacenamiento en refrigeración. Diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos se indican con letras diferentes.

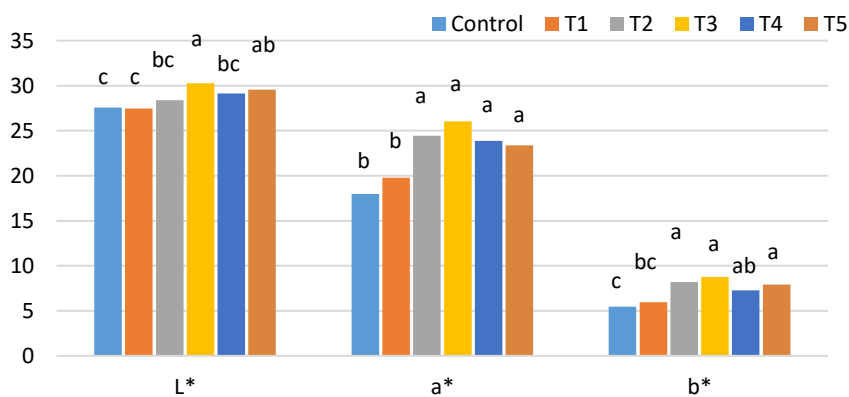


Figura 2. Valores de los parámetros de color de la cereza 'Burlat' tras 28 días de almacenamiento en refrigeración. Para cada parámetro, diferencias significativas ($p < 0.05$) se indican con letras diferentes.

Tabla 1. Valores de sólidos solubles totales (°Brix), Acidez Titulable (g ácido málico/100 g) y pH de la cereza 'Burlat' tras 28 días de almacenamiento en refrigeración. Diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos se indican con letras diferentes.

	° Brix	Acidez	pH
Control	17,00 ± 1,10 ^a	0,30 ± 0,01	4,40 ± 0,06
T1	16,45 ± 0,77 ^{ab}	0,28 ± 0,03	4,44 ± 0,08
T2	16,22 ± 1,42 ^{ab}	0,29 ± 0,01	4,38 ± 0,06
T3	14,95 ± 0,51 ^{bc}	0,29 ± 0,01	4,38 ± 0,04
T4	14,32 ± 0,47 ^c	0,26 ± 0,02	4,37 ± 0,07
T5	15,18 ± 1,64 ^{bc}	0,29 ± 0,04	4,42 ± 0,09

Efecto *in vivo* del alil isotiocianato (AITC) procedente de semilla de mostaza negra sobre *Monillinia laxa* en cultivares de ciruela

P.¹ Calvo, M.S.¹ Blanco, M.J.¹ Rodríguez, M.J.¹ Serradilla, M.J.^{2,3} Bernalte, F.M.¹ Sánchez

1. Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura (INTAEX-CICYTEX). Avda. Adolfo Suárez s/n, 06007 Badajoz, España. Email: patricia.calvo@juntaex.es
2. Escuela de Ingenierías Agrarias. Universidad de Extremadura. Avda. Adolfo Suárez s/n, 06007 Badajoz, España.
3. Instituto Universitario de Investigación de Recursos Agrarios (INURA), Universidad de Extremadura, Badajoz, España

Resumen

Extremadura es la principal región productora de ciruela, con una superficie de cultivo que representa aproximadamente el 45% de la superficie total cultivada en España. El destino principal de la fruta en Extremadura es la exportación a otros países de Europa, pero las altas producciones y la saturación del mercado europeo, ha llevado a fomentar destinos más lejanos siendo necesario aplicar tecnologías poscosecha que incrementen la vida comercial de los frutos. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto *in vivo* del alil isotiocianato (AITC), agente antimicrobiano obtenido de semillas de mostaza negra, sobre el desarrollo de *Monillinia laxa* en cultivares de ciruela. Para ello ciruelas de las variedades ‘Crimson Globe’, ‘Sun Gold’ y ‘Angeleno’ fueron inoculadas con una suspensión de esporas (10^5 esporas / ml) de *Monillinia laxa*, y almacenadas a 2 °C y 99% de humedad relativa en recipientes herméticos con 50 y 100 mg de semilla de mostaza. De forma periódica, se evaluó el porcentaje de frutos podridos mediante inspecciones visuales, observándose para el cultivar ‘Crimson Globe’, que dicho porcentaje fue significativamente superior en el control que en el resto de tratamientos a la semana de almacenamiento, independientemente de la cantidad de semilla de mostaza empleada. El resto de cultivares presentaron un comportamiento similar en fechas más avanzadas del almacenamiento. Por todo ello, se puede concluir que el AITC procedente de semilla de mostaza negra presenta efectos antifúngicos frente a *M. laxa* inoculada, y que dicho efecto depende del cultivar estudiado.

Palabras claves: *Prunus salicina*, conservación, mohos, efecto antifúngico

INTRODUCCIÓN

El sector de frutas y hortalizas en España constituye una actividad económica con un fuerte peso en la producción, exportación y el empleo agrario. Los productos hortofrutícolas españoles presentan unos estándares de calidad muy elevados y se destinan

mayoritariamente a la exportación, siendo España el primer exportador de estos productos en la Unión Europea, junto a Italia y Francia y uno de los principales exportadores mundiales tras China y EEUU (FAO, 2020).

En Extremadura, la fruticultura es un sector de gran incidencia ya que supone una facturación global superior a 350 millones de euros. En este sentido, es la principal productora nacional de ciruela, con una producción de 92.390 toneladas, el 51 % del total nacional (Anuario de Estadística 2019, MAPA). En la actualidad, la ciruela extremeña llega a 48 países de 4 continentes siendo el 15% de las exportaciones extracomunitarias.

Las infecciones fúngicas son la principal causa de deterioro de la fruta fresca durante el transporte, la comercialización y el almacenamiento. En la industria frutícola, las pérdidas poscosecha alcanzan el 5-10% cuando se utilizan fungicidas poscosecha, pero sin el empleo de dichas sustancias estas pérdidas han sido superiores al 50 % en algunas ocasiones (Van Long, 2016). Sin embargo, el uso de agentes químicos en la fruta se considera indeseable, ya que los consumidores buscan alimentos más seguros y saludables con menos aditivos y agentes sintéticos (Riva et al., 2020), por lo que en los últimos años se han explorado ampliamente métodos alternativos basados en sustancias de origen vegetal (Liu et al., 2020) para la gestión de las enfermedades poscosecha.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto *in vivo* del alil isotiocianato (AITC), agente antimicrobiano obtenido de semillas de mostaza negra, sobre el desarrollo de *Monillinia laxa* en cultivares de ciruela.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo con ciruelas de las variedades ‘Crimson Globe’, ‘SunGold’ y ‘Angeleno’ proporcionados por una central hortofrutícola localizada en las Vegas Bajas del Guadiana.

Los frutos se desinfectaron por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio (100 ppm) y se secaron completamente al aire a temperatura ambiente. A continuación, se les practicó una herida con una microespátula esterilizada (3 mm de ancho × 3 mm de profundidad) y se inocularon con 20 µl de una suspensión de esporas de 10⁵ ufc/ml de *Monillinia laxa*. La fruta inoculada se depositó en recipientes herméticos de 1500 ml de capacidad junto con diferentes cantidades de semilla de mostaza (50 y 100 mg), y se almacenó a 2 °C y 99% de humedad relativa.

De forma periódica se realizaron inspecciones visuales para ver la evolución de la fruta y establecer el tiempo que tardan en aparecer las primeras podredumbres. Paralelamente, se envasó fruta en las mismas condiciones pero sin semilla de mostaza (Control) y se llevó a cabo un estudio de susceptibilidad a la podredumbre (S.P.).

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa IBM SPSS versión 20. Sobre los resultados obtenidos se aplicó un análisis de varianza ANOVA y test de Tukey (p<0.05), en caso de existir diferencias significativas entre las medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El estudio para las variedades ‘Crimson Globe’ y ‘SunGold’ se llevó a cabo durante 50 días, realizándose las inspecciones visuales cada 7 días. Para las ciruelas de la variedad

‘Angeleno’, el estudio se prolongó hasta los 80 días debido a su mayor capacidad de almacenamiento. En este caso, las inspecciones visuales se realizaron cada 10 días.

La evolución del porcentaje de frutos podridos (Figuras 1 a 3) empieza a ser significativamente superior ($p < 0.05$) en las ciruelas Control en fechas más tempranas que en el resto de tratamientos, sobre todo en las ciruelas de la variedad ‘Crimson Globe’ (Figura 1), en las que en la primera semana de almacenamiento el porcentaje de frutos podridos está próximo al 80 %. Tras 28 días de almacenamiento las diferencias dejan de ser significativas. Para las ciruelas de la variedad ‘SunGold’ (Figura 2), las diferencias empiezan a apreciarse tras 20 días de almacenamiento, donde el porcentaje de frutos podridos para el Control y las muestras almacenadas junto con 100 mg de semilla está en torno al 40%. En el caso de las ciruelas de la variedad ‘Angeleno’ (Figura 3), a partir de 40 días de almacenamiento, el porcentaje de frutos podridos empieza a incrementarse sobre todo en las ciruelas control aunque sin diferencias significativas ($p > 0.05$). Estas diferencias empiezan a aparecer a los 60 días de almacenamiento, en los que las ciruelas control presentan el 100 % de los frutos podridos. Cabe destacar, que en todos los cultivares se aprecia el mayor número de frutos podridos en el tratamiento Control, seguido del tratamiento con 100 mg de semilla de mostaza, siendo el tratamiento con 50 mg de semilla el que menor número de frutos podridos produce. Esto indica que la cantidad de semilla empleada también influye en la aparición de podredumbres, favoreciendo cantidades mayores de semilla la aparición de podredumbres debido, posiblemente, a un efecto citotóxico del AITC.

CONCLUSIONES

De este estudio, se puede concluir, que el efecto del AITC sobre *Monillinia laxa* depende del cultivar inoculado, siendo este efecto mayor en las ciruelas de las variedades ‘Crimson Globe’ y ‘Angeleno’. También depende de la cantidad de semilla de mostaza, siendo éste, por tanto, un parámetro a optimizar. Sin embargo, de forma general, se observa que ninguno de los cultivares estudiados son especialmente susceptibles a la aparición de podredumbres, detectándose antes los daños por frío que los frutos podridos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Junta de Extremadura y al Fondo Europeo de Desarrollo Regional por el apoyo económico a través de los Proyecto IB16190 y GR21193.

REFERENCIAS

MAPA (2019). <https://www.mapa.gob.es/>

Liu, X., Ji, D., Cui, X., Zhang, Z., Li, B., Xu, Y., Chen, T. & Tian, S. (2020). p-Coumaric acid induces antioxidant capacity and defense responses of sweet cherry fruit to fungal pathogens. *Postharvest Biology and Technology*, 169, 111297.

Riva, S.C., Opara, U.O., Fawole, O.A. (2020). Recent developments on postharvest application of edible coatings on stone fruit: A review. *Scientia Horticulturae*, 262, 109074

Van Long, N.N., Joly, C. & Dantigny, P. (2016). Active packaging with antifungal activities. *International Journal of Food Microbiology*, 220, 73-90.

FIGURAS

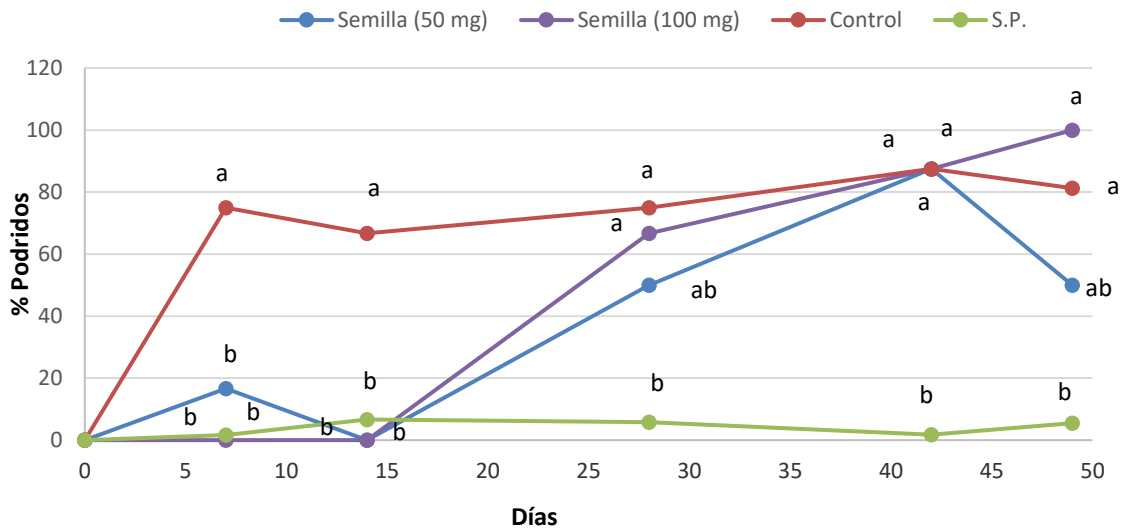


Figura 1. Evolución del porcentaje de frutos podridos de ciruelas del cultivar Crimson Globe inoculadas con *M. laxa* a lo largo del almacenamiento en refrigeración. Para cada tiempo de almacenamiento, diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las medias se indican con letras diferentes.

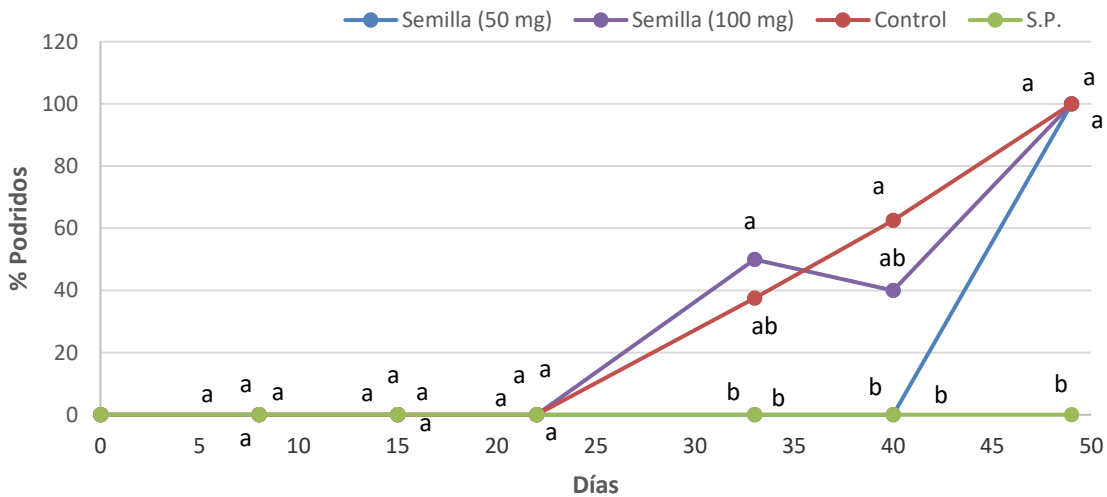


Figura 2. Evolución del porcentaje de frutos podridos de ciruelas del cultivar SunGold inoculadas con *M. laxa* a lo largo del almacenamiento en refrigeración. Para cada tiempo de almacenamiento, diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las medias se indican con letras diferentes.

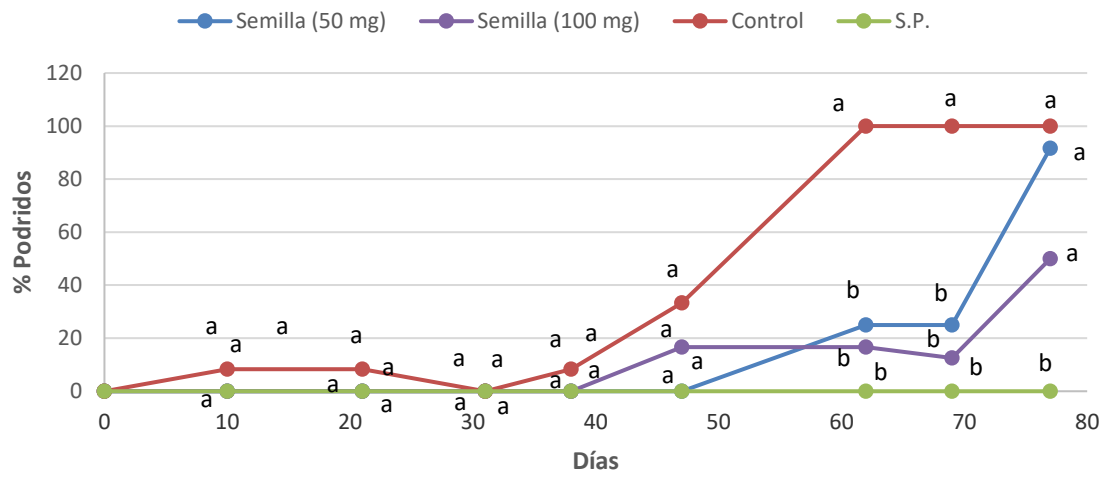


Figura 3. Evolución del porcentaje de frutos podridos de ciruelas del cultivar Angeleno inoculadas con *M. laxa* a lo largo del almacenamiento en refrigeración. Para cada tiempo de almacenamiento, diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las medias se indican con letras diferentes.



POST
2022
ZARAGOZA



SESIÓN

5

- Los daños por frío:
un problema aún por resolver
- Desarrollo de productos
innovadores para los nuevos
mercados

Impacto del ácido oxálico y melatonina sobre la incidencia de daños por frío en almacenamientos prolongados de ciruela japonesa

D., Cortés-Montaña¹, M.J., Serradilla¹, M.J., Bernalte-García², B., Velardo-Micharet^{1*}

¹Área de Postcosecha, Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, Avenida Adolfo Suárez s/n, 06007, Badajoz, España. Email: belen.velardo@juntaex.es

² Departamento de Biología Vegetal, Ecología y Ciencias de la Tierra, Escuela de Ingenierías Agrarias, Universidad de Extremadura. Avd. Adolfo Suárez s/n, 06007, Badajoz, España.

Resumen

Dentro del sector productivo de la ciruela japonesa, el cultivar ‘Angelino’ es de los más importantes desde el punto de vista comercial, tanto por sus volúmenes de producción como por su carácter climatérico-suprimido y por su buena aptitud al almacenamiento postcosecha. No obstante, pese a sus buenas características, es susceptible a la aparición de daños por frío cuando el tiempo o la temperatura de conservación no son las óptimas. De ahí que el objetivo de este trabajo fuera estudiar el efecto de la aplicación precosecha de diferentes concentraciones de ácido oxálico (2, 3 y 5 mM) y melatonina (0.1, 0.3 y 0.5 mM) sobre la calidad estándar y la incidencia de daños por frío durante almacenamientos prolongados. Para ello, se realizaron tres aplicaciones foliares en diferentes momentos de desarrollo y maduración de los frutos de ácido oxálico (AO) y melatonina (M), en tres concentraciones diferentes, teniendo además un tratamiento control (CO). En el momento de la recolección comercial, los frutos fueron almacenados en condiciones de inducción de daños por frío ($3\pm 0,9$ °C y $91\pm 3,6$ % de humedad relativa) durante un total de 60 días. Posteriormente, se simuló un periodo de vida útil (VU) de 5 días a 20°C, realizándose muestreos a los 20+5VU, 40+5VU y 60+5VU. En cada fecha de análisis, se evaluó la firmeza, el contenido en sólidos solubles totales (SST), la acidez titulable (AT), el color de la pulpa y la incidencia o aparición de daños por frío. Las aplicaciones de AO y M no tuvieron un efecto significativo sobre la mejora de la calidad postcosecha de la fruta tratada respecto al CO. En cuanto a los daños por frío, el más importante fue el sangrado, seguido del pardeamiento y el gel. Los tratamientos más efectivos en reducir la incidencia y severidad de los daños por frío en almacenamientos prolongados fueron M0.3 y AO2.

Palabras clave: *Prunus salicina*, sangrado, gel, pardeamiento, color

INTRODUCCIÓN

El ciruelo japonés (*Prunus salicina*, L.) es un cultivo estratégico para el sector frutícola extremeño, liderando la superficie nacional de plantación (6.457 toneladas) y producción (101.100 toneladas) en 2021 (MAPA, 2021). La ciruela ‘Angelino’ es la más producida, tanto por su buena aptitud al almacenamiento postcosecha, como por ser un cultivar extra-tardío (recolección en septiembre), permitiendo a las centrales frutícolas tener una mayor ventana comercial con el manejo postcosecha adecuado. Gran parte de la producción de ciruela ‘Angelino’ se destina a mercados extracomunitarios, que requieren de largos periodos de almacenamiento en los que pueden aparecer de daños por frío. Existen diferentes tecnologías postcosecha (atmósferas controladas o modificadas, premaduración

controlada, calentamientos intermitentes) que reducen la incidencia de daños por frío, si bien la mayoría de ellas no son fáciles de implementar en las centrales frutícolas. El empleo de elicitores puede ser una alternativa a estas tecnologías. En este sentido, aplicaciones de ácido oxálico mejoraron la calidad postcosecha y evitaron la aparición de daños por frío en albaricoque (Wang et al., 2016). Del mismo modo, aplicaciones de melatonina redujeron la incidencia de daños por frío en ciruelas (Du et al., 2021; Xu et al., 2022).

Por ello, el objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la aplicación precosecha de ácido oxálico y de melatonina sobre la calidad estándar y la incidencia de daños por frío durante almacenamientos prolongados en ciruela ‘Angelino’.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y diseño experimental

El estudio se llevó a cabo en ciruelas (*Prunus salicina*, L.) ‘Angelino’, producidas en una finca comercial situada en Entrerríos (Badajoz, España). Se emplearon 3 árboles por tratamiento y concentración de ácido oxálico (AO, 2, 3 y 5 mM) y de melatonina (M, 0.1, 0.3 y 0.5 mM), que fueron contrastados con árboles control (CO). Las aplicaciones se realizaron mediante pulverización foliar en endurecimiento del hueso, cambio de color y tres días antes de la recolección comercial. Tras la recolección, las ciruelas fueron almacenadas en condiciones de inducción de daños por frío (atmósfera normal a $3\pm 0,9$ °C y $91\pm 3,6$ % de humedad relativa) durante 60 días. La periodicidad de los muestreos fue de 20 días, realizándose las determinaciones de calidad tras simular un periodo de vida útil de 5 días a 20 °C.

Métodos de análisis

La firmeza (N) se analizó en las dos caras opuestas del fruto mediante un ensayo de penetración con sonda de 8 mm de diámetro con un Texturómetro Stable Micro Systems TAXT2i (Anname, Pozuelo, Madrid, España). El color de la pulpa se midió con un colorímetro de reflectancia CR-400 (Minolta Camera Co, Osaka, Japón), registrándose las coordenadas del espacio CIELab sobre cuatro puntos equidistantes de la mitad del fruto sobre el que se evaluaba el daño por frío. El contenido en SST y la AT se determinó en 3 homogenizados de fruta por tratamiento. Los SST (°Brix) se cuantificaron con un refractómetro digital portátil PR-01 (Atago CO., LTD, Tokyo, Japan). La AT (% ácido málico) se llevó a cabo en un valorador automático T-50 Graphix (Mettler Toledo, Coslada, Madrid, España), empleando una disolución 0,1 N de NaOH hasta pH 8,1. La incidencia de daños por frío (%) se determinó sobre 4 réplicas de 10 frutos por tratamiento y fecha, identificándose el tipo de daño (sangrado, gel y pardeamiento) y su intensidad mediante una escala de 0 a 3, donde 0=fruto sin daño, 1=daño leve (superficie afectada inferior al 25% del fruto), 2=daño moderado (superficie 25-50%) y 3=daño severo (superficie superior al 50%).

Análisis estadístico

El tratamiento estadístico de los resultados se realizó con el programa SPSS 21 (IBM Statistics, Chicago, IL, USA). Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza ANOVA y test de Tukey ($p<0,05$). La correlación entre los parámetros de calidad y los daños por frío se realizó mediante el test de Pearson bilateral.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los tratamientos no influyeron sobre la calidad de las ciruelas a lo largo del almacenamiento postcosecha. En general, la firmeza se mantuvo en valores medios de $12,3 \pm 0,38$ N durante todo el periodo de análisis (Fig. 1), siendo ésta una característica intrínseca del cultivar 'Angelino'. El contenido medio de SST en todos los tratamientos fue de 16 °Brix, excepto para las ciruelas tratadas con AO5 que presentaron un contenido significativamente ($p < 0,05$) inferior al de los frutos CO hasta los 40+5VU. A partir de esa fecha, el contenido de SST se igualó en todos los tratamientos (Fig. 2). La AT disminuyó gradualmente con los días de almacenamiento postcosecha, pasando de 0,770% (20+5VU) a 0,571% ácido málico (60+5VU). Las ciruelas tratadas con M no presentaron diferencias significativas de acidez titulable con las muestras CO. En cambio, de los tratamientos de AO, la concentración 3 mM dio como resultado frutos con menor acidez hasta los 40+5VU, mientras que la concentración 5mM fue la que presentó mayor acidez. Al final del almacenamiento (60+5VU) todos los frutos presentaron la misma acidez, independientemente del tratamiento recibido (Fig. 3). Nuestros resultados coinciden con los obtenidos por Arabia et al. (2022) en el mismo cultivar, si bien estos autores aplicaron una sola concentración de melatonina (10^{-4} M) sobre fruta ya recolectada. No se dispone, hasta donde llega nuestro conocimiento, de referencias sobre el uso de elicitores aplicados en precosecha en ciruela. En otros frutales relacionados, como la cereza, las aplicaciones en precosecha de ácido oxálico (Martínez-Esplá et al., 2014) y de melatonina (Xia et al., 2020) dieron como resultado frutos más grandes, más firmes y con un mayor contenido de compuestos fenólicos, ácido ascórbico y actividad antioxidante.

El color de la pulpa no se vio afectado por los tratamientos de M ni de AO (Fig. 4), observándose una evolución generalizada del color a largo del periodo de almacenamiento postcosecha debido a la maduración de la fruta y a la aparición de daños por frío. En general, se observó una disminución significativa de L^* , b^* , C y H y un aumento significativo de a^* con los días de almacenamiento postcosecha (datos no mostrados). Esto es debido a que la pulpa de la ciruela 'Angelino', que es amarillo pálido en fruta sana, adquiere pigmentaciones rojas (sangrado) cuando las condiciones de almacenamiento no son las óptimas. El parámetro de color de la pulpa que presentó una mejor correlación con la aparición de daños por frío fue la relación a^*/b^* ($r = 0,879$ a un nivel de significación de $p = 0,000$), debido a que el daño por frío mayoritario fue el sangrado, seguido del pardeamiento y del gel. Sólo a los 60+5VU se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en la incidencia de frutos con sangrado (Fig. 5), presentando las muestras CO un porcentaje significativamente superior a las ciruelas tratadas con M0.3 y AO2 (75%, 37,5% y 35%, respectivamente). El pardeamiento se hizo evidente a partir de los 40+5VU en todos los tratamientos, excepto en M0.1 y M0.3, en los que no apareció hasta los 60+5VU, aunque sin diferencias significativas con las ciruelas CO (Fig. 6). El gel fue el daño por frío menos recurrente y el menos grave, ya que no se dieron casos severos en ninguna fecha de análisis. Aunque no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos, es de destacar que las ciruelas tratadas con M0.3 no desarrollaron gel hasta los 60+5VU, a diferencia del resto de tratamientos que presentaron incidencia, en mayor o menor grado, desde los 40+5VU (Fig. 7). Nuestros resultados coinciden con los obtenidos en ciruelas 'Friar' tratadas en postcosecha con diferentes concentraciones de melatonina (Xu et al., 2022), donde se demostró la relación existente entre la pigmentación roja de la pulpa y la acumulación de la cianidina 3-O-glucósido. Según estos autores, la melatonina previene o

reduce la pigmentación de la pulpa inhibiendo las enzimas involucradas en la biosíntesis de antocianinas.

CONCLUSIONES

Las aplicaciones en precosecha mediante pulverización foliar de melatonina y de ácido oxálico no mejoraron la calidad de los frutos en términos de firmeza, SST o acidez titulable, pero contribuyeron de manera eficaz a reducir la incidencia y severidad de los daños por frío en almacenamientos prolongados, especialmente las concentraciones M0.3 y AO2.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación recibida al proyecto IMPROTEC, cofinanciado por el Programa Operativo del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) 2014-2020 de Extremadura.

REFERENCIAS

- Arabia, A., Munné-Bosch, S., Muñoz, P. (2022). Melatonin triggers tissue-specific changes in anthocyanin and hormonal contents during postharvest decay of Angeleno plums. *Plant Science*, 320, 111287.
- Du H., Guting Liu, Congmin Hua, Dongxiao Liu, Yingying He, Huaipan Liu, Ronald Kurtenbach, Dongtao Ren (2021). Exogenous melatonin alleviated chilling injury in harvested plum fruit via affecting the levels of polyamines conjugated to plasma membrane. *Postharvest Biology and Technology*, 179,111585
- MAPA (2021). Superficies y producciones anuales de cultivos. Disponible en: <https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/agricultura/superficies-producciones-anuales-cultivos/>
- Martínez-Esplá, A., Zapata, P.J., Valero, D., García-Viguera, C., Castillo, S., Serrano, M. (2014). Preharvest application of oxalic acid increased fruit size, bioactive compounds, and antioxidant capacity in sweet cherry cultivars (*Prunus avium* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 3432–3437
- Xia, H., Shen, Y., Shen, T., Wang, X., Zhang, X., Hu, P., Liang, D., Lin, L., Deng, H., Wang, J., Deng, Q., Xiulan Lv. (2020). Melatonin accumulation in Sweet Cherry and its influence on fruit quality and antioxidant properties. *Molecules*, 25, 753; doi:10.3390/molecules25030753.
- Xu Ranran, Limin Wang, Kexin Li, Jiankang Cao, Zhilei Zhao (2022). Integrative transcriptomic and metabolomic alterations unravel the effect of melatonin on mitigating postharvest chilling injury upon plum (cv. Friar) fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 186,111819
- Wang, Zhen, Jiankang Cao, Weibo Jiang (2016). Changes in sugar metabolism caused by exogenous oxalic acid related to chilling tolerance of apricot fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 114, 10–16

FIGURAS

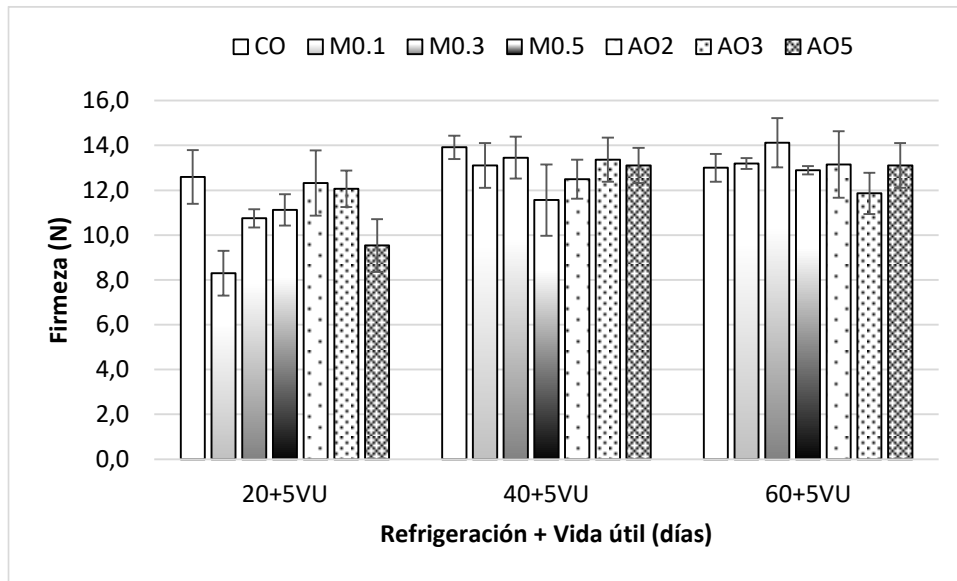


Fig. 1. Efecto de los tratamientos precosecha de melatonina y de ácido oxálico sobre la firmeza de ciruela ‘Angeleno’ durante el almacenamiento postcosecha y vida útil. Valores medios \pm error estándar.

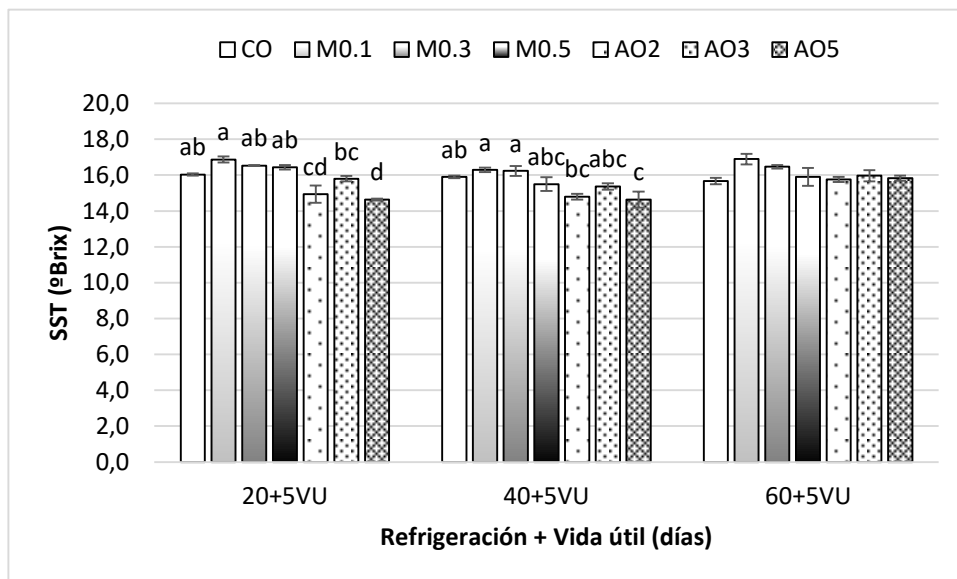


Fig. 2. Efecto de los tratamientos precosecha de melatonina y de ácido oxálico sobre el contenido en SST de ciruela ‘Angeleno’ durante el almacenamiento postcosecha y vida útil. Valores medios \pm error estándar. Para cada fecha de análisis, barras seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

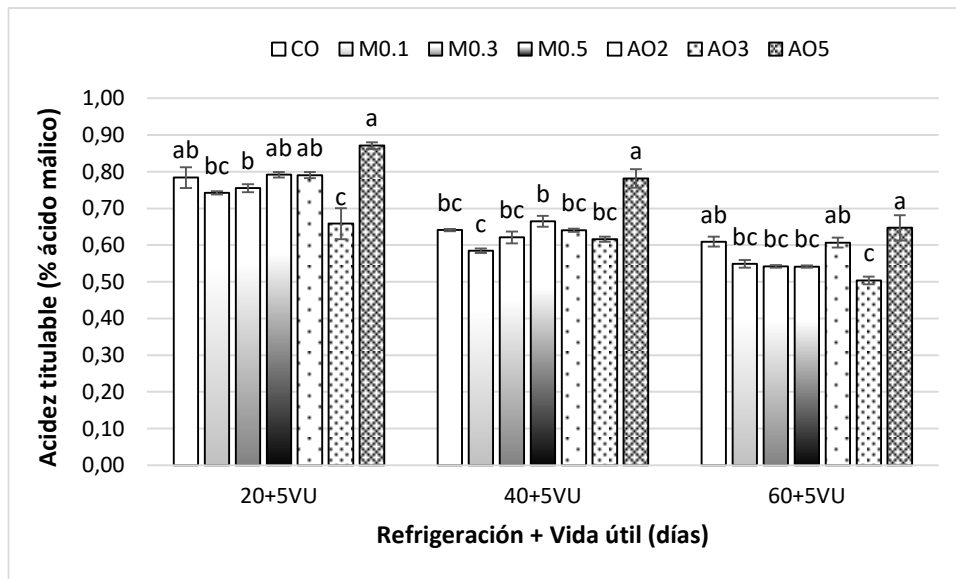


Fig. 3. Efecto de los tratamientos precosecha de melatonina y de ácido oxálico sobre la acidez titulable de ciruela ‘Angeleno’ durante el almacenamiento postcosecha y vida útil. Valores medios \pm error estándar. Para cada fecha de análisis, barras seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

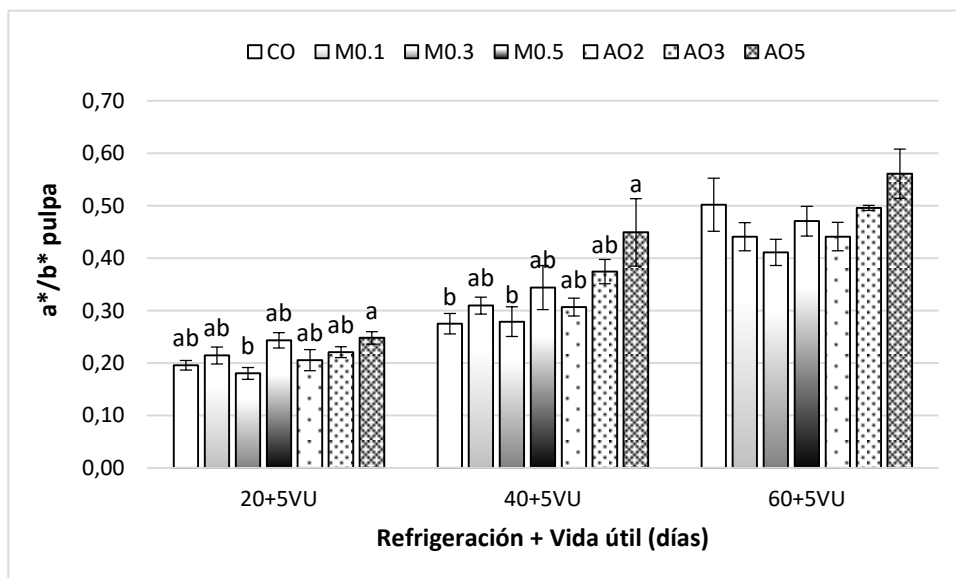


Fig. 4. Efecto de los tratamientos precosecha de melatonina y de ácido oxálico sobre el color de la pulpa (relación a^*/b^*) de ciruela ‘Angeleno’ durante el almacenamiento postcosecha y vida útil. Valores medios \pm error estándar. Para cada fecha de análisis, barras seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

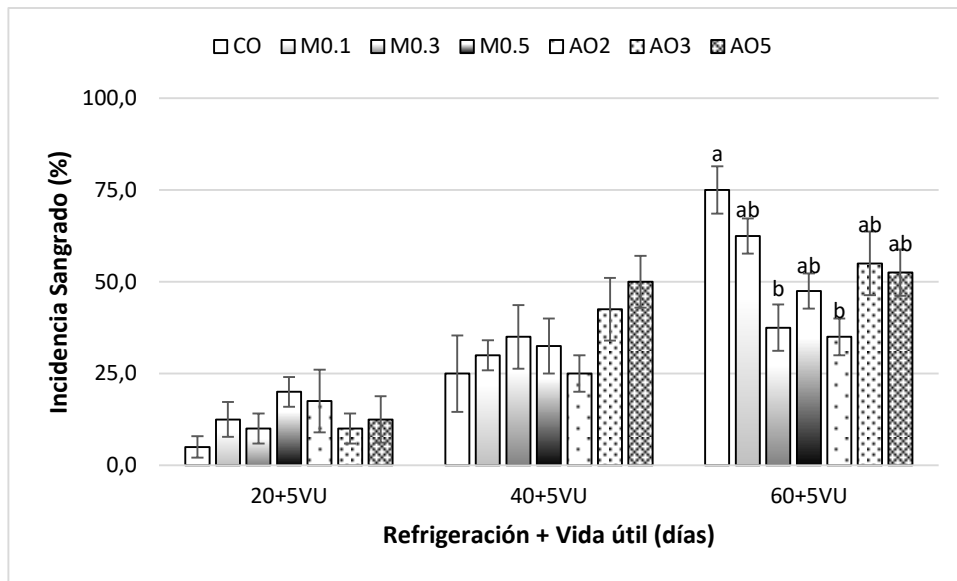


Fig. 5. Efecto de los tratamientos precosecha de melatonina y de ácido oxálico sobre la incidencia de sangrado en ciruela ‘Angeleno’ durante el almacenamiento postcosecha y vida útil. Valores medios \pm error estándar. Para cada fecha de análisis, barras seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

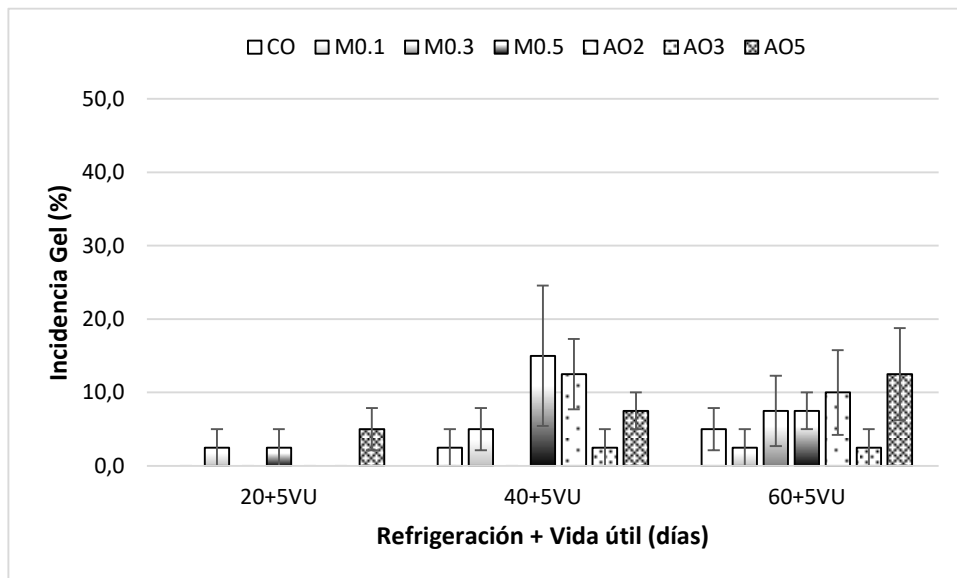


Fig. 6. Efecto de los tratamientos precosecha de melatonina y de ácido oxálico sobre la incidencia de gel en ciruela ‘Angeleno’ durante el almacenamiento postcosecha y vida útil. Valores medios \pm error estándar.

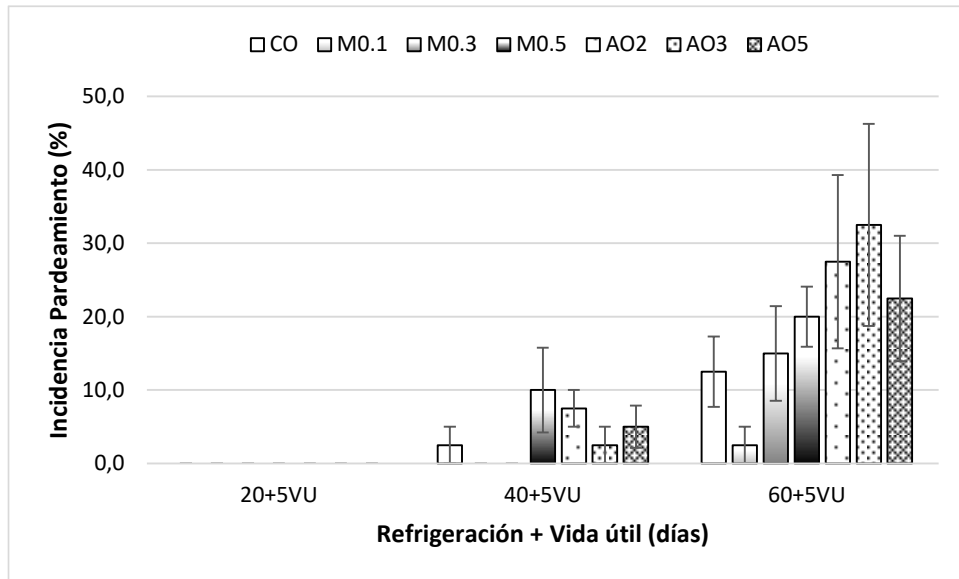


Fig. 7. Efecto de los tratamientos precosecha de melatonina y de ácido oxálico sobre la incidencia de pardeamiento en ciruela 'Angeleno' durante el almacenamiento postcosecha y vida útil. Valores medios \pm error estándar.

El tratamiento precolección con jasmonato de metilo reduce daños por frío y mantiene la calidad en la granada

M.E. García-Pastor¹, M. Serrano², F. Guillén¹, M.J. Giménez¹, D. Valero¹ y P.J. Zapata¹

¹ Departamento de Tecnología Agroalimentaria, Universidad Miguel Hernández, Ctra. Beniel km. 3,2, 03312, Orihuela, Alicante, e-mail: m.garciap@umh.es

² Departamento de Biología Aplicada, Universidad Miguel Hernández, Ctra. Beniel km. 3,2, 03312, Orihuela, Alicante

Resumen

El jasmonato de metilo (JaMe) se produce naturalmente en una amplia gama de plantas superiores y se considera inductor o agente de señalización involucrado en muchos procesos fisiológicos y bioquímicos. En la presente investigación, se estudiaron los efectos del tratamiento JaMe 5 mM en precosecha en la reducción de los daños por frío o ‘chilling injury’ (CI) de la granada durante 90 días de almacenamiento a 2 °C más 3 días a 20 °C y se analizó su relación con los cambios en la composición de ácidos grasos de las membranas celulares. Además, se evaluaron los parámetros de calidad del fruto entero y de sus arilos. Los síntomas externos e internos de daños por frío y el incremento en la fuga de electrolitos se redujeron con el tratamiento. Los principales ácidos grasos en la corteza fueron C16:0, C18:1, C18:2 y C18:3, incrementándose la concentración de ácidos grasos insaturados por el tratamiento en el día 0 y se mantuvieron a niveles más altos durante el almacenamiento, mientras que la concentración de ácidos grasos saturados fue menor en la fruta tratada que en los controles. El tratamiento con JaMe condujo a una reducción significativa en la tasa de respiración de la granada, así como a un retraso en la pérdida de firmeza durante el almacenamiento y un descenso en la pérdida de peso del fruto, principalmente tras 30 y 60 días de almacenamiento. Por otro lado, el ángulo hue fue significativamente menor en los arilos de los frutos tratados, presentando una mayor intensidad de color rojo. Por lo tanto, el tratamiento precosecha de JaMe podría ser una herramienta eficaz para aumentar la capacidad de almacenamiento de la granada mediante el almacenamiento en frío, manteniendo la estabilidad de la membrana, así como manteniendo los parámetros de calidad de la misma.

Palabras clave: JaMe, ácidos grasos, firmeza, color.

INTRODUCCIÓN

La granada (*Punica granatum* L.) es un fruto muy apreciado por los consumidores debido a sus propiedades organolépticas. En España, la variedad ‘Mollar de Elche’ presenta unos atributos de calidad muy buenos, como son un elevado contenido de azúcares y baja concentración de acidez, unas semillas pequeñas y blandas, y un sabor agradable (Nuncio-Jáuregui et al., 2014). Durante el almacenamiento postcosecha, la granada presenta pérdidas de calidad importantes, incluyendo la deshidratación y el pardeamiento de la corteza, la incidencia de podredumbres y la pérdida de firmeza. Para prolongar la capacidad de almacenamiento, la mejor herramienta postcosecha ha sido el almacenamiento en frío. Sin embargo, la granada es sensible a los daños por frío o

‘chilling injury’ (CI) cuando es almacenada a temperaturas inferiores a 5 °C, siendo los principales síntomas la deshidratación, pardeamiento y punteado de la corteza, depresión de la superficie del fruto y mayor susceptibilidad a la incidencia de podredumbres.

El jasmonato de metilo (JaMe) es una hormona vegetal endógena derivada del ácido jasmónico (AJ) y juega un papel importante en el desarrollo vegetal y regulación del crecimiento y maduración del fruto (Wasternack and Strnad, 2016). En un artículo reciente, se ha observado que los tratamientos precosecha con JaMe a las concentraciones de 1, 5 y 10 mM en la granada ‘Mollar de Elche’ retrasaron la maduración postcosecha y mantuvieron los parámetros de calidad durante su almacenamiento a 10 °C, siendo la concentración de 5 mM la más efectiva (García-Pastor et al., 2020). Sin embargo, los efectos del tratamiento precosecha con JaMe reduciendo el CI en granadas almacenadas en frío (< 5 °C) han sido evaluados únicamente en un artículo reciente en la variedad ‘Malas’ (Koushesh Saba and Zarei, 2019), aunque el mecanismo implicado en este efecto no ha sido elucidado todavía. Por ello, el objetivo principal de la presente investigación es evaluar por primera vez los efectos del tratamiento precosecha con JaMe 5 mM en la reducción del CI en granada y su relación con los cambios en la composición de ácidos grasos de la membrana celular durante el almacenamiento. Además, se ha evaluado el efecto del tratamiento precosecha sobre los parámetros de calidad del fruto y de los arilos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental y material vegetal

El experimento se realizó en una parcela comercial ubicada en Elche (Alicante) en 2018, utilizando árboles de 9 años con un marco de plantación de 6 x 5 m de la variedad ‘Mollar de Elche’. Se seleccionaron aleatoriamente tres bloques o réplicas de 3 árboles cada uno para el tratamiento de JaMe 5 mM (Sigma Aldrich, Madrid) y control (tratados con agua destilada). Ambos tratamientos fueron emulsionados con Tween-20 (1 mL L⁻¹) y se aplicaron mediante pulverización foliar a los 80, 110, 140 y 170 días tras de la floración plena de los granados, realizándose el último pase 4 días antes de la recolección. La concentración de JaMe y las fechas de aplicación fueron seleccionadas en base a los resultados obtenidos en experimentos previos realizados en las campañas de cultivo de 2016 y 2017 (García-Pastor et al., 2020). Los frutos fueron recolectados cuando alcanzaron su estado óptimo de maduración de acuerdo a criterios comerciales. Tras la recolección, 10 frutos de cada árbol (30 frutos en total por bloque o réplica) fueron transferidos al laboratorio. Los frutos fueron almacenados y analizados tras 0, 30, 60 y 90 días de almacenamiento a 2 °C [85-90 % de humedad relativa (HR)] más 3 días a 20 °C (55-60 % HR). Por tanto, se realizaron 4 lotes de 15 frutos (5 frutos por réplica, n = 3) para cada tratamiento evaluado.

Determinaciones analíticas

El índice de daños por frío o CI externo e interno se evaluó individualmente en cada fruto según una escala hedónica de 6 puntos basada en el porcentaje de superficie de la corteza, tanto externa como interna, afectada por los síntomas característicos del CI: 0 (sin síntomas), 1 (1-20 %), 2 (21-40 %), 3 (41-60 %), 4 (61-80 %) y 5 (> 81 %). El índice de CI se calculó como: Σ (valor de la escala hedónica) x (número de frutos con la puntuación correspondiente) / (número total de frutos de la muestra). La fuga de electrolitos, expresada como %, fue determinada de acuerdo con el protocolo descrito por Mirdehghan et al. (2007). Los frutos fueron pesados en el momento de la recolección y en cada fecha de muestreo durante el almacenamiento, y la pérdida de peso se expresó

como porcentaje (%) con respecto al peso inicial. El protocolo de análisis de la tasa de respiración del fruto ha sido descrito previamente por García-Pastor et al. (2020). La tasa de respiración fue expresada como $\mu\text{g CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ s}^{-1}$. La determinación de la firmeza del fruto se llevó a cabo individualmente utilizando un texturómetro TXXT2i (Stable Microsystems, Godalming, UK) aplicando una deformación del 5 % del diámetro del fruto. Los resultados fueron expresados en kN m^{-1} . El color de los arilos, expresado como ángulo hue ($^\circ \text{h}$), se midió utilizando un colorímetro (CRC200, Minolta Camera Co., Tokio, Japón). Finalmente, la cuantificación de los ácidos grasos, expresada en mg kg^{-1} de peso seco (PS), fue determinada por cromatografía de gases de alta resolución, de acuerdo con el protocolo descrito por Ferrara et al. (2014) con ligeras modificaciones.

Análisis estadístico

Los resultados son la media \pm ES de tres réplicas. Las comparaciones entre medias se realizaron utilizando el test *t* de Student para examinar si las diferencias entre el control y la fruta tratada eran significativas para un nivel de significancia de $p < 0,05$. Por otro lado, se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) con la prueba de HSD Tukey para evaluar si existían diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los días de conservación. Dicho análisis se realizó con el paquete de software SPSS v.17.0 para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El índice de CI externo e interno incrementó de forma significativa durante el almacenamiento postcosecha. Sin embargo, el tratamiento precosecha con JaMe 5 mM redujo de forma significativa dichos incrementos en comparación con los controles a los 30, 60 y 90 días de almacenamiento (Tabla 1). De igual modo, a pesar de que la fuga de electrolitos en la corteza incrementó significativamente a lo largo del periodo de conservación, dicho incremento se retrasó de forma significativa en los frutos que habían sido tratados con JaMe en precosecha (Tabla 1). Por otro lado, la pérdida de peso también aumentó durante el almacenamiento de forma significativa en todas las granadas almacenadas, aunque el tratamiento con JaMe mostró un retraso significativo en dichas pérdidas de calidad (Tabla 1). El tratamiento precosecha de JaMe redujo significativamente la tasa de respiración en el momento de la recolección y durante el almacenamiento en comparación con los frutos control (Tabla 1). Además, también se observó que el tratamiento era efectivo en el retraso del ablandamiento del fruto tras 90 días de almacenamiento (Tabla 1). Finalmente, el ángulo hue fue significativamente mayor en los controles en el momento de la recolección en comparación con los tratados y estas diferencias se mantuvieron durante el almacenamiento, mostrando una mayor tonalidad rojiza en los arilos de las granadas tratadas con JaMe (Tabla 1).

Los principales ácidos grasos cuantificados en la corteza de la granada ‘Mollar de Elche’ fueron: C16:0 (palmítico), C18:1 (oleico), C18:2 (linoleico) y C18:3 (linolénico), seguidos del C14:1 (miristoleico), C10:0 (cáprico), C14:0 (mirístico) y C18:0 (esteárico) (Tablas 2 y 3). La concentración de C16:0 en la corteza de las granadas control fue significativamente superior en el momento de la recolección frente a la presente en las granadas que habían sido recolectadas de árboles tratados con JaMe (Tabla 2). Todos los ácidos grasos insaturados se encontraron a una concentración significativamente mayor en los frutos tratados en el momento de la recolección, encontrándose el mayor incremento en la concentración de C18:3 (Tabla 3).

Por tanto, el tratamiento precosecha con JaMe 5 mM tendrían un efecto sobre el manteniendo la estructura de la membrana ya que los síntomas de CI y los valores de fuga

de electrolitos fueron significativamente más bajos en los frutos tratados frente a los controles (Tabla 1). Estos efectos resultaron en unos niveles más altos de la ratio de ácidos grasos insaturados frente a saturados, lo cual contribuye a un mantenimiento de la estructura normal de la membrana celular y su función. Además, los índices de CI externos e internos fueron correlacionados con la fuga de electrolitos ($r^2 = 0,823$ y $0,733$, respectivamente). El efecto del tratamiento con JaMe sobre la disminución del CI en granada ha sido publicado recientemente en la variedad 'Malas' (Koushesh Saba y Zarei, 2019), aunque no se evaluó en dicho estudio el efecto sobre los ácidos grasos.

CONCLUSIONES

En conclusión, el tratamiento precosecha con JaMe 5 mM redujo los síntomas internos y externos de CI en la corteza de granada, probablemente manteniendo mejor la estructura de la membrana celular mediante la reducción de las pérdidas de ácidos grasos insaturados y la mejora de la ratio o la relación de ácidos grasos insaturados frente a los saturados. Además, los parámetros de calidad del fruto y/o de los arilos mejoraron como consecuencia del tratamiento evaluado.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad a través del Proyecto AGL2015-63986R y la Comisión Europea con fondos FEDER. Los autores agradecen a la Universidad por la beca predoctoral de M.E. García-Pastor.

REFERENCIAS

- Ferrara, G., Gianaspro, A., Mazzeo, A., Giove, S.L., Stella Matarrese, A.M., Pacucci, C., Punzi, R., Trani, A., Gambacorta, G., Blanco, A., and Gadaleta, A. 2014. Characterization of pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes collected in Puglia region, Southeastern Italy. *Sci. Hort.* 178: 70-78.
- García-Pastor, M.E., Serrano, M., Guillén, F., Giménez, M.J., Martínez-Romero, D., Valero, D., and Zapata, P.J. 2020. Preharvest application of methyl jasmonate increases crop yield, quality and bioactive compounds of pomegranate at harvest and maintains during postharvest storage. *J. Sci. Food Agric.* 100: 145-153.
- Koushesh Saba, M., and Zarei, L. 2019. Preharvest methyl jasmonate's impact on postharvest chilling sensitivity, antioxidant activity, and pomegranate fruit quality. *J. Food Biochem.* 43: e12763.
- Mirdehghan, S.H., Rahemi, M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Valverde, J.M., Zapata, P.J., Serrano, M., and Valero, D. 2007. Reduction of pomegranate chilling injury during storage after heat treatment: role of polyamines. *Postharvest Biol. Technol.* 44: 19-25.
- Nuncio-Jáuregui, N., Calín-Sánchez, A., Carbonell-Barrachina, A., and Hernández, F. 2014. Changes in quality parameters, proline, antioxidant activity and color of pomegranate (*Punica granatum* L.) as affected by fruit position within tree, cultivar and ripening stage. *Sci. Hort.* 165: 181-189.
- Wasternack, C., and Strnad, M. 2016. Jasmonate signaling in plant stress responses and development - active and inactive compounds. *N. Biotechnol.* 33: 604-613.

TABLAS

Tabla 1. Índice de daños por frío o ‘chilling injury’ (CI) externo e interno, fuga de electrolitos, pérdida de peso, tasa de respiración y otros parámetros físico-químicos de las granadas controles y tratadas con JaMe 5 mM en el momento de la recolección y tras 30, 60 y 90 días de almacenamiento a 2 °C + 3 días a 20 °C.¹

Parámetro	Días	Control	JaMe 5 mM
Índice de CI externo	0	-	-
	30	1,40 ± 0,10 ^{aB}	0,33 ± 0,07 ^{bB}
	60	2,47 ± 0,48 ^{aAB}	0,87 ± 0,17 ^{bA}
	90	4,13 ± 0,48 ^{aA}	1,20 ± 0,17 ^{bA}
Índice de CI interno	0	-	-
	30	0,73 ± 0,23 ^{aC}	0,06 ± 0,01 ^{bC}
	60	2,20 ± 0,06 ^{aB}	0,43 ± 0,03 ^{bB}
	90	4,35 ± 0,65 ^{aA}	1,93 ± 0,18 ^{bA}
Fuga de electrolitos (%)	0	27,72 ± 0,99 ^{aD}	27,72 ± 0,99 ^{aD}
	30	66,68 ± 2,13 ^{aC}	44,16 ± 3,17 ^{bC}
	60	77,90 ± 1,86 ^{aB}	56,13 ± 2,38 ^{bB}
	90	89,87 ± 3,29 ^{aA}	70,98 ± 2,87 ^{bA}
Pérdida de peso (%)	0	-	-
	30	10,28 ± 0,40 ^{aC}	7,13 ± 0,13 ^{bC}
	60	17,39 ± 0,55 ^{aB}	12,57 ± 0,54 ^{bB}
	90	18,98 ± 0,27 ^{aA}	16,04 ± 0,40 ^{bA}
Tasa de respiración (µg CO ₂ kg ⁻¹ s ⁻¹)	0	5,96 ± 0,41 ^{aA}	5,14 ± 0,43 ^{bA}
	30	6,61 ± 0,61 ^{aB}	6,00 ± 0,58 ^{bB}
	60	6,14 ± 0,60 ^{aAB}	5,61 ± 0,34 ^{bB}
	90	4,48 ± 0,39 ^{aC}	4,06 ± 0,29 ^{bC}
Firmeza (kN m ⁻¹)	0	26,10 ± 0,41 ^{bA}	28,08 ± 0,62 ^{aA}
	30	18,94 ± 0,46 ^{bB}	25,19 ± 0,83 ^{aB}
	60	18,54 ± 0,72 ^{bB}	21,83 ± 0,89 ^{aC}
	90	18,01 ± 0,52 ^{bB}	19,98 ± 0,48 ^{aC}
Color de los arilos (° h)	0	34,47 ± 0,70 ^{aA}	31,15 ± 0,50 ^{bA}
	30	33,86 ± 0,60 ^{aA}	30,80 ± 0,51 ^{bA}
	60	32,82 ± 0,90 ^{aA}	29,02 ± 0,86 ^{bA}
	90	31,53 ± 1,20 ^{aA}	25,99 ± 0,34 ^{bB}

¹ Diferentes letras minúsculas y mayúsculas muestran diferencias significativas entre los tratamientos y días de conservación, respectivamente, para un nivel de significancia de $p < 0,05$.

Tabla 2. Concentración de ácidos grasos saturados (mg kg⁻¹ PS) de las granadas controles y tratadas con JaMe 5 mM en el momento de la recolección y tras 30, 60 y 90 días de almacenamiento a 2 °C + 3 días a 20 °C.¹

Ácidos grasos saturados	Días	Control	JaMe 5 mM
C10:0	0	4,27 ± 0,20 ^{aA}	3,50 ± 0,40 ^{aA}
	30	0,97 ± 0,28 ^{aB}	0,80 ± 0,36 ^{aB}
	90	0,28 ± 0,08 ^{aB}	1,00 ± 0,43 ^{aB}
C14:0	0	2,38 ± 0,64 ^{aA}	2,21 ± 0,37 ^{aA}
	30	1,69 ± 0,23 ^{aA}	2,02 ± 0,19 ^{aA}
	90	1,41 ± 0,08 ^{bA}	2,22 ± 0,07 ^{aA}
C16:0	0	19,16 ± 1,24 ^{aA}	16,09 ± 1,05 ^{aA}
	30	10,37 ± 0,70 ^{aB}	7,61 ± 0,66 ^{bB}
	90	6,88 ± 0,24 ^{aC}	4,10 ± 0,56 ^{bC}
C18:0	0	0,88 ± 0,07 ^{aA}	1,50 ± 0,17 ^{aA}
	30	0,17 ± 0,04 ^{aA}	0,40 ± 0,02 ^{aB}
	90	0,09 ± 0,01 ^{bA}	0,40 ± 0,04 ^{aB}

¹ Diferentes letras minúsculas y mayúsculas muestran diferencias significativas entre los tratamientos y días de conservación, respectivamente, para un nivel de significancia de $p < 0,05$.

Tabla 3. Concentración de ácidos grasos insaturados (mg kg⁻¹ PS) de las granadas controles y tratadas con JaMe 5 mM en el momento de la recolección y tras 30, 60 y 90 días de almacenamiento a 2 °C + 3 días a 20 °C.¹

Ácidos grasos insaturados	Días	Control	JaMe 5 mM
C14:1	0	20,23 ± 5,07 ^{aA}	55,14 ± 8,42 ^{aA}
	30	8,89 ± 4,50 ^{aA}	27,13 ± 5,81 ^{aB}
	90	7,34 ± 0,38 ^{aA}	29,31 ± 4,67 ^{aB}
C18:1	0	155,00 ± 10,00 ^{bA}	239,85 ± 19,44 ^{aA}
	30	72,73 ± 9,59 ^{bB}	152,87 ± 27,23 ^{aB}
	90	37,25 ± 5,44 ^{bC}	91,41 ± 11,22 ^{aB}
C18:2	0	170,00 ± 11,49 ^{bA}	289,44 ± 19,51 ^{aA}
	30	58,82 ± 10,61 ^{bB}	149,25 ± 25,21 ^{aB}
	90	47,26 ± 8,60 ^{aB}	57,79 ± 9,51 ^{aC}
C18:3	0	128,31 ± 18,14 ^{bA}	253,76 ± 16,89 ^{aA}
	30	71,10 ± 9,08 ^{bB}	171,11 ± 20,16 ^{aB}
	90	29,06 ± 4,71 ^{aC}	51,42 ± 11,52 ^{aC}

¹ Diferentes letras minúsculas y mayúsculas muestran diferencias significativas entre los tratamientos y días de conservación, respectivamente, para un nivel de significancia de $p < 0,05$.

Aplicación de tratamientos postcosecha con melatonina para incrementar la calidad y reducir daños por frío en calabacín (*Cucurbita pepo* L.)

J. Medina-Santamarina, M. Serrano, S. Castillo, M.C Ruiz-Aracil, M.I.M Ilea, F. Guillén. Grupo de Investigación en Post-recolección de Frutas y Hortalizas, CIAGRO, Universidad Miguel Hernández. Carretera de Beniel km 3.2, 03312, Orihuela (Alicante). e-mail: fabian.guillen@umh.es

Resumen

La conservación a bajas temperaturas constituye una de las mejores estrategias para incrementar la vida útil del calabacín ya que este fruto tiene una vida útil corta. Sin embargo, este producto es muy sensible a las bajas temperaturas pudiendo desarrollar daños por frío. Estos daños provocan depresiones en la piel incrementando las pérdidas de peso y reduciendo la calidad general. En este estudio, mediante inmersiones hemos evaluado el efecto de los tratamientos con melatonina (MT) sobre la reducción de los daños por frío en calabacines cv. Cronos durante su posterior almacenamiento a 4 °C. Además, hemos comparado este efecto con la aplicación de compuestos ampliamente utilizados para preservar la calidad como el 1-metilciclopropeno (1-MCP). Los tratamientos aplicados de forma independiente mejoraron algunos parámetros de la calidad, pero no fueron capaces de controlar los daños por frío durante todo el estudio pese a que mitigaron su impacto. Sin embargo, cuando se aplicaron los distintos compuestos combinados entre sí, los parámetros de calidad se mantuvieron de forma más efectiva. Este es el primer estudio donde se observa que la aplicación de sustancias de origen natural como la MT combinada con 1-MCP podrían incrementar de forma sinérgica la tolerancia a los daños por frío, incrementando la vida útil del calabacín durante el almacenamiento en refrigeración.

Palabras clave: 1-MCP, almacenamiento, elicitor, post-recolección, refrigeración.

INTRODUCCIÓN

El calabacín es un fruto que se recolecta en un estado inmaduro presentando una alta actividad metabólica y una baja protección por parte de la epidermis. Es por ello por lo que este fruto presenta una vida útil muy corta (Megías, et al., 2016). Una forma de reducir la actividad metabólica y con ello alargar la vida útil es mediante el almacenamiento a bajas temperaturas. Sin embargo, estos productos vegetales muestran una alta susceptibilidad a sufrir daños por frío. Estos daños se presentan como depresiones en la superficie del fruto, que llegan a traspasar la epidermis y por tanto penetrar en la pulpa. A este daño se le conoce como pitting. La aplicación de inhibidores de la producción de etileno como es el 1-metilciclopropeno (1-MCP), ha mostrado ser eficiente a la hora de reducir los daños por frío en calabacín (Megías, et al., 2017). Además, también se ha observado una mejora en la tolerancia a las bajas temperaturas mediante técnicas que incrementen los niveles de compuestos bioactivos en estos frutos (Zheng et al., 2008), ya que el incremento de los sistemas antioxidantes puede reducir el número de especies reactivas de oxígeno, las cuales incrementan bajo temperaturas subóptimas, siendo uno de los signos fisiológicos que experimentan los frutos durante el estrés debido al frío (Megías et al., 2016). La melatonina (MT) es un elicitor o molécula que se encuentra de forma natural en todos los órganos de las plantas y que tiene diferentes acciones mostrando además un importante efecto incrementando la tolerancia a los daños por frío de diferentes frutos. (Arnao y Hernández-Ruíz, 2019). Sin embargo, no existen datos sobre el efecto que tienen tratamientos postcosecha con MT en calabacín. Por ello en este estudio vamos a evaluar el efecto que tienen inmersiones con MT, y lo compararemos con la protección que el 1-MCP es capaz de aportar a los calabacines.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los calabacines (*Cucurbita pepo* L. cv. Cronos) objeto de este estudio fueron recolectados en una finca de un productor local en Orihuela. En el laboratorio se seleccionaron sólo aquellos frutos que no presentaban daños mecánicos o fisiopatías de cualquier tipo y se realizaron 3 réplicas de 5 calabacines por tratamiento y día de muestreo. Los tratamientos aplicados fueron Inmersiones con agua destilada (control), inmersiones con MT 1 mM, 1-MCP (2400 ppb), y un tratamiento combinado en el que los frutos fueron sumergidos en soluciones de MT 1 mM y posteriormente tratados con 2400 ppb de 1-MCP. Las inmersiones tuvieron una duración de 1 hora. Los tiempos de inmersión, así como las dosis de MT, fueron seleccionadas de un estudio previo realizado con la misma variedad (datos no mostrados). La dosis de 1-MCP fue escogida de entre las ensayadas en esta variedad por Megías et al., (2016). Los tratamientos con 1-MCP se realizaron mediante la mezcla de pastillas comerciales liberadoras de este compuesto a las dosis aplicadas, con una solución activadora comercial, todo proporcionado por SmartFresh (AgroFresh Inc., Philadelphia, PA) en contenedores herméticos de 130 L. Todos los frutos se almacenaron a 4 °C con una humedad relativa del 90% para ser posteriormente muestreados tras diversos periodos de almacenamiento en frío más dos días más a 20 °C. La respiración se determinó mediante sistema estático de forma individual en 6 calabacines de cada tratamiento; el peso, y la firmeza se determinaron individualmente en cada calabacín de cada réplica (n=3). La evaluación del color se determinó utilizando el sistema CIELAB (L*,a*,b*) por medio de un colorímetro triestímulo Minolta modelo CR200, realizándose tres medidas del color para cada fruto en tres puntos equidistantes longitudinalmente (n=3). Estos parámetros han sido evaluados de forma similar a la descrita por Serrano et al., (1998). La fuga de electrolitos fue evaluada en 16 discos de la piel de cada uno de los lotes por triplicado siguiendo el método descrito por Mao et al., (2007). Los daños por frío se evaluaron de forma visual siguiendo las indicaciones descritas por Megías et al., (2014). Esta evaluación se realizó a ciegas y al azar. Este experimento tiene un diseño completamente aleatorio. Las diferencias entre los distintos tratamientos se han estudiado mediante análisis de la varianza. Cuando las diferencias mostradas por las distintas muestras han resultado ser significativas, las medias se han separado mediante el Test de Tukey. Todos los análisis se han realizado con el paquete de Software SPSS v. 20.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tras evaluar los resultados obtenidos tras el almacenamiento en condiciones de refrigeración subóptima, pudimos comprobar que los lotes tratados con MT y 1-MCP fueron capaces de reducir la respiración. Sin embargo, la reducción más significativa ($p < 0,05$) de este parámetro se observó en aquellos frutos tratados con 1-MCP y con la combinación de MT con 1-MCP (Tabla 1). Este efecto se ha observado en calabacines de distintas variedades tratadas con 1-MCP (Megías et al., 2016) pudiendo estar influyendo en una menor senescencia de estos frutos. En una revisión reciente (Wang et al., 2020) se muestra como la MT ha mostrado una alta eficacia sobre los frutos reduciendo parámetros relacionados con la senescencia, pero incrementando otros relacionados con su desarrollo y maduración. Además, en otros estudios se ha demostrado la conversión de la MT en ácido γ -aminobutírico (GABA) (Shelp, Bown y McLean, 1999). Este incremento de GABA provee a la célula de un inmediato sustrato energético que utiliza para recuperarse del estrés, incrementándose el balance energético neto en las células vegetales y cubriendo las necesidades energéticas de la planta.

El color no mostró importantes diferencias durante el almacenamiento de los calabacines en ninguno de los parámetros evaluados (datos no mostrados) aunque los calabacines tratados con MT (sólo o combinado con 1-MCP) mostraron un ligero mantenimiento de las características iniciales del ángulo Hue* (Tabla 1). Con respecto a las pérdidas de peso los tratamientos no fueron capaces de retrasar este parámetro de forma tan significativa ($p < 0,05$) como cuando se aplicó el tratamiento combinado de 1-MCP + MT (Tabla 1). En estos frutos las pérdidas de peso se retrasaron mostrando valores de pérdidas de peso inferiores que el resto de los lotes. Megías et al., (2016)

observaron que los lotes tratados con 1-MCP en 9 variedades de calabacín, incluyendo la variedad objeto de este estudio, no consiguieron reducir las pérdidas de peso en la mayoría de las variedades estudiadas. La variedad Cronos en dicho estudio, tampoco se vio afectada por el 1-MCP con respecto a este parámetro pese a mejorar la calidad general de todos los calabacines. Por tanto, esta nueva metodología podría dar lugar a un incremento adicional de la calidad mediante la combinación de tratamientos, con respecto a la aplicación únicamente con 1-MCP. Por otro lado, la firmeza de los frutos mostró los mejores niveles tras la aplicación de MT y 1-MCP solos o combinados entre sí, obteniendo los mejores resultados mediante la combinación de tratamientos (Tabla 1) aunque sin diferencias significativas ($p < 0,05$). Diferentes autores han demostrado la acción de la MT estimulando la expresión de genes relacionados con la estructura de la pared celular (Zhai et al., 2018) reduciendo la degradación de sustancias pécticas, responsable del ablandamiento de los frutos.

Cuando evaluamos la fuga de electrolitos, pudimos comprobar que este parámetro resultó afectado, retrasando significativamente ($p < 0,05$) su evolución. Sin embargo, los valores más bajos los encontramos con el tratamiento combinado de MT + 1-MCP. La MT es capaz de mantener la fluidez de la membrana celular, disminuyendo la oxidación celular (Arnao y Hernández-Ruiz, 2019). Esta acción que por sí sola no tuvo un efecto tan positivo sobre los calabacines pudo actuar de forma aditiva al mantenimiento de las estructuras de pared celular por parte del 1-MCP (Zhai et al., 2018). Este hecho podría ser la causa por la que los frutos que recibieron tratamientos combinados fueron los que mejor controlaron los daños por frío, reduciendo tanto el área afectada como la severidad de este desorden (Tabla 1). En distintos frutos como piña, aguacate, o ciruela (Selvarajah , Bauchon y John, 2001; Pesis et al., 2002; Candan, Graell y Larrigaudiere, 2006) la acción inhibitoria del etileno por el 1-MCP suele estar relacionada con la reducción de los daños por frío y el mantenimiento de la calidad del fruto. Sin embargo, en otros productos vegetales como el calabacín, albaricoque y tomate parece demostrado que la inducción de etileno provocada por los daños por frío incrementa la tolerancia a estos daños en un amplio número de variedades (Megías et al., 2016). La MT entre otros aspectos tiene un alto potencial antioxidante, por lo que se ha relacionado en otros estudios este aspecto con la menor oxidación de compuestos fenólicos que dan lugar al oscurecimiento por la acción del pardeamiento enzimático (Zhang et al., 2018). Por tanto, es posible que la combinación de ambos tratamientos incrementara la tolerancia a los daños por frío mediante la suma de sus efectos individuales, dando lugar a productos con mayor calidad comercial dando lugar a un mayor rendimiento económico.

CONCLUSIONES

La efectividad del tratamiento postcosecha con MT sobre la calidad del calabacín es limitada durante el almacenamiento en refrigeración, mientras que los tratamientos con 1-MCP han demostrado un efecto parcial en varios de los parámetros estudiados. Sin embargo, cuando ambos compuestos se aplican combinados, se observa un efecto sinérgico de la aplicación conjunta manteniendo la calidad de los calabacines por lo que esta tecnología podría ser una herramienta beneficiosa para mantener la calidad de este producto vegetal.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido financiada por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades mediante el Proyecto RTI2018-099664-B-I00 y la Comisión Europea con fondos FEDER.

REFERENCIAS

- Arnao M.B., Hernández-Ruiz J. (2019). Melatonin: A New Plant Hormone and/or a Plant Master Regulator?. Trends Plant Sci. 24(1): 38-48.
- Candan, A.P., Graell, J. and Larrigaudiere, C. (2008). Roles of climacteric ethylene in the development of chilling injury in plums. Postharvest Biol. Technol. 47: 107-112.

- Mao, L.C., Wang, G.Z., Zhu, C.G. and Pang, H.Q. (2007). Involvement of phospholipase D and lipoxygenase in response to chilling stress in postharvest cucumber fruits. *Plant Sci.* 172: 400-405.
- Massolo, J.F., Concellón, A., Chaves, A.R. and Vicente, A.R. (2013). Use of 1-methylcyclopropene to complement refrigeration and ameliorate chilling injury symptoms in summer squash. *CYTA J. Food* 11:19-26.
- Megías, Z., Martínez, C., Manzano, S., Barrera, A., Rosales, R., Valenzuela, J.L., Garrido, D. and Jamilena, M. (2014). Cold-induced ethylene in relation to chilling injury and chilling sensitivity in the non-climacteric fruit of zucchini (*Cucurbita pepo* L.). *LWT Food Sci. Technol.* 57:194-199.
- Megías, Z., Martínez, C., Manzano, S., García, A., Reboloso-Fuentes, M.M., Valenzuela J.L., Garrido, D. and Jamilena, M. (2016). Ethylene biosynthesis and signaling elements involved in chilling injury and other postharvest quality traits in the non-climacteric fruit of zucchini (*Cucurbita pepo*). *Postharvest Biol. Technol.* 113: 48-57.
- Megías, Z., Martínez, C., Manzano, S., García, A., Aguado, E., Garrido, D., Reboloso, M.M., Valenzuela, J.L. and Jamilena, M. (2017). Postharvest cold tolerance in summer squash and its association with reduced cold-induced ethylene production. *Euphytica* 213(1).
- Pesis, E., Dvir, O., Feygenberg, O., Arie, R.B., Ackerman, M. and Lichter, A. (2002). Production of acetaldehyde and ethanol during maturation and modified atmosphere storage of litchi fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 26: 157–165.
- Selvarajah, S., Bauchot, A.D. and John, P. (2001). Internal browning in cold-stored pineapples is suppressed by a postharvest application of 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biol. Technol.* 23: 167–170.
- Serrano, M., Pretel, M.T., Martínez-Madrid, M.C., Romojaro, F. and Riquelme, F. (1998). CO₂ treatment of zucchini squash reduces chilling-induced physiological changes. *J. Agric. Food Chem.* 46: 2465-2468.
- Shelp, B.J., Bown, A.W. and McLean, M.D. (1999). Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid. *Trends plant sci.* 4(11), 1360-1385.
- Wang, S.Y., Shi, X.C., Wang, R., Liu, F. and Laborda, P. (2020). Melatonin in fruit production and postharvest preservation: A review. *Food Chem.* 320: 126642.
- Zhai, R., Liu, J.L., Liu, F.X., Zhao, Y.X., Liu, L.L., Fang, C., Wang, H.B., Li, X.Y. Wang, Z.G., Ma, F.W. and Xu L.F. (2018). Melatonin limited ethylene production, softening and reduced physiology disorder in pear (*Pyrus communis* L.) fruit during senescence. *Postharvest Biol. Technol.* 139: 38-46.
- Zhang, Y., Huber, D.J., Hu, M., Jiang, G., Gao, Z., Xu, X., Jiang, Y and Zhang Z. (2018). Delay of postharvest browning in Litchi fruit by melatonin via the enhancing of antioxidative processes and oxidation repair. *J. Agric. Food Chem.* 66 (28): 7475-7484.
- Zheng, Y., Fung, R.W.M., Wang, S.Y. and Wang, C.Y. (2008). Transcript levels of antioxidative genes and oxygen radical scavenging enzyme activities in chilled zucchini squash in response to superatmospheric oxygen. *Postharvest Biol. Technol.* 47: 151-158.

TABLAS

Tabla 1. Características de los calabacines tras un almacenamiento de 9 días a 4 °C más 2 días a 20 °C una vez aplicados los diferentes tratamientos.

Parámetro	Tras 9 días de almacenamiento 4 °C+ 2 días a 20 °C			
	Control	MT	1-MCP	1-MCP+MT
Angulo Hue	124,77 ± 0,27ab	125,03 ± 0,30a	124,05 ± 0,23b	125,34 ± 0,25a
Pérdida de peso (%)	5,22 ± 0,22ab	5,35 ± 0,42a	5,57 ± 0,25a	4,12 ± 0,18b
Firmeza (N)	36,93 ± 1,89a	40,02 ± 2,36a	40,76 ± 1,87a	44,25 ± 2,18a
Tasa de Respiración (mg CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)	121,01 ± 4,37a	119,89 ± 3,48ab	107,05 ± 3,76b	85,13 ± 3,27c
Fuga de Electrolitos (%)	26,51 ± 0,61a	22,08 ± 0,53b	17,09 ± 0,46c	12,34 ± 0,36d
Índice de Daño por frío (Superficie 1-5)	3,36 ± 0,11a	3,51 ± 0,13a	2,54 ± 0,11b	2,00 ± 0,12c
Índice de Daño por frío (Severidad 1-5)	3,29 ± 0,11ab	3,76 ± 0,32a	3,00 ± 0,09b	2,16 ± 0,11c

Los datos han sido expresados como la media ± ES. Para cada parámetro diferentes letras dentro de la misma fila muestran diferencias significativas ($p < 0,05$).

Evaluación de la aptitud al secado de las variedades de higuera ‘Zidi’ y ‘Conadria’

A.J. Galán¹, A.I. Galván¹, M.J. Serradilla², F. Pérez-Gragera¹, S. Ruiz-Moyano^{3,4}, A. Martín.^{3,4} y M. López-Corrales^{1*}.

¹Instituto de Investigación Finca La Orden-Valdesequera (CICYTEX). Área de Fruticultura Mediterránea. A.V. Km 372. 06480 Guadajira, Badajoz. margarita.lopez@juntaex.es

²Área de Postcosecha, Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, Avenida Adolfo Suárez s/n, 06007, Badajoz.

³Nutrición y Bromatología, Escuela de Ingenierías Agrarias, Universidad de Extremadura, 06007, Badajoz.

⁴Instituto Universitario de Investigación en Recursos Agrarios (INURA), Universidad de Extremadura, 06006, Badajoz.

Resumen

El higo seco es uno de los principales frutos secos consumidos en todo el mundo. Este producto se caracteriza por ser una buena fuente de vitaminas, minerales, carbohidratos, fibra y compuestos fenólicos. Extremadura lidera la producción de higo en España, cuyo destino principal es la producción de higo seco. Por tradición, las variedades cultivadas para la producción en seco en esta región son ‘Calabacita’, ‘Picholetera’, ‘La Casta’ y ‘Cuello Dama Blanco’, todas ellas con frutos de color de piel entre el amarillo verdoso y el verde amarillento. Pese a ello, cada vez son más los productores que muestran interés en la búsqueda de variedades que les permitan acceder a nuevos mercados. El objetivo de este trabajo ha sido evaluar la aptitud al secado en términos de calidad de dos variedades de higuera de diferente tonalidad de piel, ‘Zidi’ morada y ‘Conadria’ verde amarillento. Para ello, durante la campaña de 2021, se recolectaron higos frescos de estas variedades, realizándose el proceso de deshidratado de forma natural en un secadero solar y, posteriormente, se evaluó su calidad. En cuanto a los parámetros de calidad, se determinó peso, firmeza, color, contenido en sólidos solubles (CSS), acidez titulable, pH, humedad y actividad de agua (a_w), al inicio y al final del secado. Durante este periodo, la variedad ‘Zidi’ tuvo una pérdida de peso del 76,8% y ‘Conadria’ de 60,5%, con un peso medio final de 20,7 y 10,9 g, respectivamente. El CSS final fue de 82,6 °Brix para ‘Conadria’ y de 80,6 °Brix para ‘Zidi’. La firmeza aumentó tras el secado con valores medios de 1,5 y 2,1 N/mm para ‘Zidi’ y ‘Conadria’, respectivamente. El grado de aceptación sensorial de ambas variedades fue bueno, obteniéndose una puntuación media de 5,8 para ‘Conadria’ y 7,3 para ‘Zidi’ sobre 10. En conclusión, estos resultados sugieren que las variedades estudiadas mostraron una calidad adecuada y podrían, junto con las variedades tradicionales, ampliar la oferta comercial en base a las necesidades de los mercados.

Palabras clave: *Ficus carica* L., higo seco, calidad, actividad de agua, sensorial

INTRODUCCIÓN

El secado es uno de los métodos de conservación de alimentos más antiguos que siguen utilizándose actualmente (Nurlaila et al., 2019). En concreto, en el higo la deshidratación tiene un papel fundamental ya que aumenta su vida postcosecha de 7 a 10 días (fresco) a más de un año (seco) (Chessa, 1997). Esto facilita su transporte, almacenamiento y disponibilidad.

Extremadura lidera la producción de higo en España, destinada principalmente al consumo en seco. Por tradición, las variedades cultivadas para la producción en seco en esta región son ‘Calabacita’, ‘Picholetera’, ‘La Casta’ y ‘Cuello Dama Blanco’, todas ellas con frutos de color de piel entre el amarillo verdoso y el verde amarillento. No obstante, cada vez más productores muestran interés en incorporar variedades con diferentes características sensoriales que les permitan acceder a nuevos mercados. Un estudio realizado por Şen et al. (2010) mostró que, en una evaluación sensorial, el color es el principal factor que determina el nivel de aceptación de los higos por parte de los consumidores. De hecho, en España únicamente se consumen higos secos de variedades de piel verde amarillenta.

En el presente trabajo se evaluó la aptitud al secado en términos de calidad de dos variedades de higuera con diferente tonalidad de piel, ‘Zidi’ morada (Figura 1) y ‘Conadria’ verde amarillento (Figura 2), cultivadas para la producción en fresco y seco en los países de origen de cada una de ellas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los higos frescos de las variedades Zidi y Conadria fueron recolectados durante la campaña 2021 en el Banco de Germoplasma de higuera, ubicada en el Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX), Guadajira (Badajoz). Los frutos se deshidrataron de forma natural en un secadero solar con ventilación forzada mediante extracción hasta alcanzar una humedad inferior al 24% (Figura 1). Diariamente los higos se voltearon de forma manual, promoviendo el soleado y secado uniforme de todas sus caras. Un total de 25 frutos por variedad y punto de muestro fueron escogidos al azar para determinar sus características de calidad. Los parámetros de calidad determinados para evaluar la aptitud para el secado de las variedades seleccionadas fueron los siguientes: peso (g) mediante una balanza (AE-166 Mettler Toledo); color usando un espectrofotómetro (Konica Minolta CM600D) y determinando las coordenadas de color L^* a^* b^* ; firmeza expresada en N/mm medida con un texturómetro (TA-XT Plus; TPA al 6% de deformación); contenido en sólidos solubles (CSS) empleando un refractómetro digital y expresando los resultados en °Brix; el pH y la acidez titulable (AT) medidos mediante un valorador automático y determinando el % de ácido cítrico; la actividad de agua (a_w) ((LabMASTER- a_w , Novasina AG); la humedad fue determinada acorde al método oficial AOAC en una estufa a 104 °C hasta pesada constante y expresada en %. Estas determinaciones se realizaron al inicio y al final del ensayo de secado, exceptuando el porcentaje de humedad y la pérdida de peso que se determinó cada 48 h. Por último, los higos deshidratados de ambas variedades fueron escaldados y analizados sensorialmente por 15 catadores previamente entrenados. Se les pidió que evaluaran su grado de satisfacción utilizando una escala hedónica de nueve puntos (1= no me gusta mucho; 9= me gusta mucho). Todas las evaluaciones se realizaron en cabinas individuales con

iluminación blanca y a temperatura ambiente. Los datos fueron analizados estadísticamente con el programa SPSS v.25.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los valores medios obtenidos para los parámetros de calidad analizados en las variedades de higo ‘Zidi’ y ‘Conadria’ antes y después del secado. Los frutos frescos presentaron un peso medio inicial de $52,5 \pm 15,1$ g para la variedad ‘Zidi’, algo menor en ‘Conadria’ con $46,9 \pm 10,3$ g y con humedades de 77,3 y 81,9%, respectivamente. Ambas variedades necesitaron un periodo de 14 días en el secadero para alcanzar la humedad comercial del higo seco ($< 24\%$). En la Figura 3 se muestra las pérdidas de peso durante el secado. Los resultados mostraron una pérdida de peso exponencial durante los 6 primeros días, estabilizándose en días posteriores y finalizando el secado en este secadero solar con un descenso en el peso inicial de 76,8% en ‘Conadria’ y 65,3% en ‘Zidi’. El peso de los higos secos es un factor crítico para determinar la calidad del producto (Galván et al., 2021). El peso medio de los higos de ‘Conadria’ ($10,9 \pm 1,4$ g) fue similar a los cultivados en California (Haug et al., 2013), oscilando entre los rangos medios descritos para la variedad ‘Calabacita’ (8-11 g) por Galván et al (2021). Sin embargo, los pesos medios de los higos de ‘Zidi’ fueron muy superiores con $20,7 \pm 7,3$ g., similares a los obtenidos con esta variedad en Túnez (Aljane y Ferchichi, 2007).

La a_w , en ambas variedades, descendió hasta llegar a 0,6. Este parámetro es muy importante para asegurar su estabilidad sanitaria, ya que limita el desarrollo de hongos toxigénicos como especies de *Aspergillus* sección *Flavi*, los cuales requieren una a_w mínima de 0,78 (Gilbert y Senyuva, 2008).

En la variedad ‘Conadria’, el pH medio descendió notablemente situándose en 4,8 para los frutos secos. De igual forma, en esta variedad la AT media aumento de 0,1% en fresco a 1% para seco. Respecto a los valores medios de CSS, la variedad ‘Conadria’ en fresco presentó valores medios inferiores a ‘Zidi’, con 17,7 y 23,4 °Brix, respectivamente, sin embargo, tras el secado fueron similares entre sí. Ambas variedades mostraron valores finales de CSS en el rango a los descritos para la variedad ‘Calabacita’ de 80-84 °Brix (Galván et al., 2021).

El proceso de secado afecta tanto a la textura como al color del fruto. Durante este proceso se produce un importante incremento de la dureza (Ansari et al., 2014). Los valores de firmeza media obtenidos para los higos secos de la variedad Zidi fueron de $1,5 \pm 0,4$ N/mm y $2,1 \pm 0,7$ N/mm para ‘Conadria’, observándose diferencias significativas entre ambas variedades. Así, la variedad ‘Zidi’ mostró una mejor aptitud para el secado, ya que presentó una textura más blanda que es más apreciada por el consumidor. Respecto al color, en ambos casos se produjo una disminución lógica de la luminosidad (L^*) con el secado. Por otro lado, respecto a las coordenadas a^* (rojo/verde) y b^* (amarillo/azul) la variedad ‘Zidi’ se caracterizó por valores próximos a 0 en ambas coordenadas, dando lugar a tonos más oscuros (azules y verdes). En cambio, ‘Conadria’ varía durante el secado de un tono más verdoso y amarillo ($a^* = -6,5$; $b^*=35,4$) a más rojizo y pérdida de amarillo ($a^* = 8,5$; $b^*=25,9$).

Finalmente, la evaluación de la aceptabilidad global de ambas variedades mostró valores superiores a 5. En particular, la variedad ‘Zidi’ solo fue puntuada por 1/15 catadores por debajo del 5, obteniendo una media de 7,3, mientras que ‘Conadria’ tuvo una aceptación

menor con una media de 5,8 puntos, con 5/15 catadores valorando los frutos por debajo del 5, aunque no se observaron diferencias significativas entre ambas variedades ($p > 0,05$).

CONCLUSIONES

Las variedades estudiadas mostraron una calidad adecuada y podrían, junto con las variedades tradicionales, ampliar la oferta comercial en base a las necesidades de los mercados. Destacan los higos secos de ‘Zidi’ por su mayor peso y alta aceptabilidad, que posibilita la comercialización de estos higos de coloración más oscura en el mercado nacional e internacional.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación al Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) por el proyecto RTA2017-000032-C01 y al Gobierno de Extremadura por el Grupo de Investigación GR21198 del “Fondo Europeo de Desarrollo Regional FEDER”. A.J. Galán y A.I Galván agradecen al Ministerio de Economía, Industria y Competitividad por las becas predoctorales Ref. PRE2018-086475 y Ref. BES-2017-079830.

BIBLIOGRAFÍA

- Aljane, F., & Ferchichi, A. (2007). Morphological, chemical and sensory characterization of Tunisian fig (*Ficus carica* L.) cultivars based on dried fruits. *Acta Horticulturae*, 741, 81–86.
- Ansari, S., Maftoon-Azad, N., Farahnaky, A., Hosseini, E., & Badii, F. (2014). Effect of moisture content on textural attributes of dried figs. *International Agrophysics*, 28(4), 403–412.
- Chessa, I. (1997). Fig. In: S. Mitra (ed.). *Postharvest physiology and storage of tropical and subtropical fruits*. 245–268.
- Galván, A. I., Serradilla, M. J., Córdoba, M. G., Domínguez, G., Galán, A. J., & López-Corrales, M. (2021). Implementation of super high-density systems and suspended harvesting meshes for dried fig production: Effects on agronomic behaviour and fruit quality. *Scientia Horticulturae*, 281
- Gilbert J, Senyuva H. (2008). Fungal and mycotoxin contamination of dried figs [*Ficus carica*]: a review. *Mycotoxins*.58:73–82.
- Haug, M. T., King, E. S., Heymann, H., & Crisosto, C. H. (2013). Sensory profiles for dried fig (*Ficus Carica* L.) cultivars commercially grown and processed in California. *Journal of Food Science*, 78(8), 1273–1281.
- Nurlaila, W., Desa, M., Mohammad, M., & Fudholi, A. (2019). Review of drying technology of fig.
- Şen, F., Meyvaci, K. B., Aksoy, U., Koç, S., Sarilar, S., & Kocatürk, R. (2010). Changes in quality of dried fig fruit and processed fig products under cold and ambient storage conditions. *Acta Horticulturae*, 877, 853–860.

TABLAS

Tabla 1. Valores medios \pm SD de los parámetros físico-químicos de las variedades ‘Zidi’ y ‘Conadria’ al inicio (fresco) y al final del secado (seco).

Parámetros	‘Zidi’		‘Conadria’		
	Fresco	Seco	Fresco	Seco	
Humedad (%)	77,3 \pm 0,2	23,5 \pm 0,2*	81,9 \pm 0,2*	21,8 \pm 0,3	
Peso (g)	52,5 \pm 15,1	20,7 \pm 7,3*	46,9 \pm 10,3	10,9 \pm 1,4	
a _w	1,0 \pm 0,0	0,6 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0	0,6 \pm 0,0	
pH	5,7 \pm 0,0	5,6 \pm 0,0*	6,0 \pm 0,0*	4,8 \pm 0,0	
AT (% A.Cítrico)	0,2 \pm 0,0	0,5 \pm 0,1	0,1 \pm 0,0	1,0 \pm 0,1*	
CSS (°Brix)	23,4 \pm 0,1*	80,6 \pm 0,3	17,7 \pm 0,1	82,4 \pm 0,1*	
Firmeza (N/mm)	0,7 \pm 0,2	1,5 \pm 0,4	0,6 \pm 0,2	2,1 \pm 0,7*	
Color	L*	42,4 \pm 5,0	33,9 \pm 7,3	60,7 \pm 3,2*	44,6 \pm 8,7*
	a*	1,0 \pm 1,4*	1,6 \pm 1,7	-6,5 \pm 1,4	8,5 \pm 1,5*
	b*	0,2 \pm 2,3	0,5 \pm 2,4	35,4 \pm 3,2*	25,9 \pm 4,5*

* Indica diferencias significativas ($p < 0,05$) dentro de un mismo estado (fresco o seco) entre las dos variedades (Zidi y Conadria)

FIGURAS



Fig. 1. Imagen de higos de la variedad Zidi durante el proceso de secado y una vez finalizado el mismo.

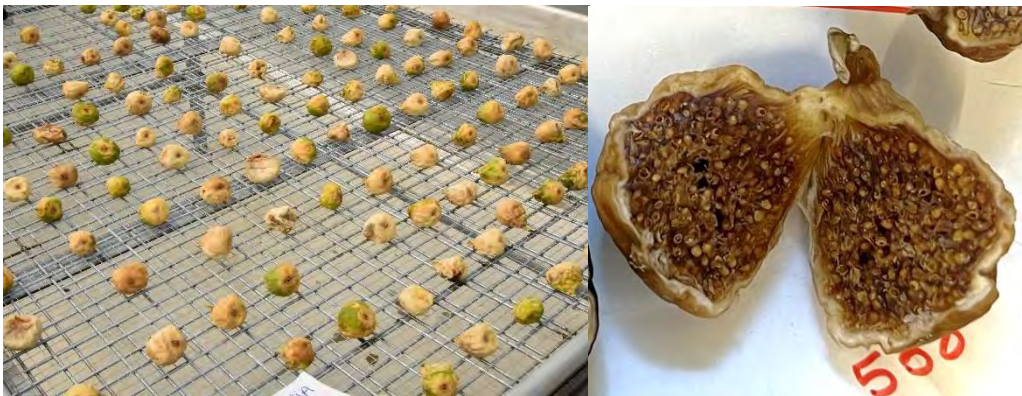


Fig. 2. Imagen de higos de la variedad Conadria durante el proceso de secado y una vez finalizado el mismo.

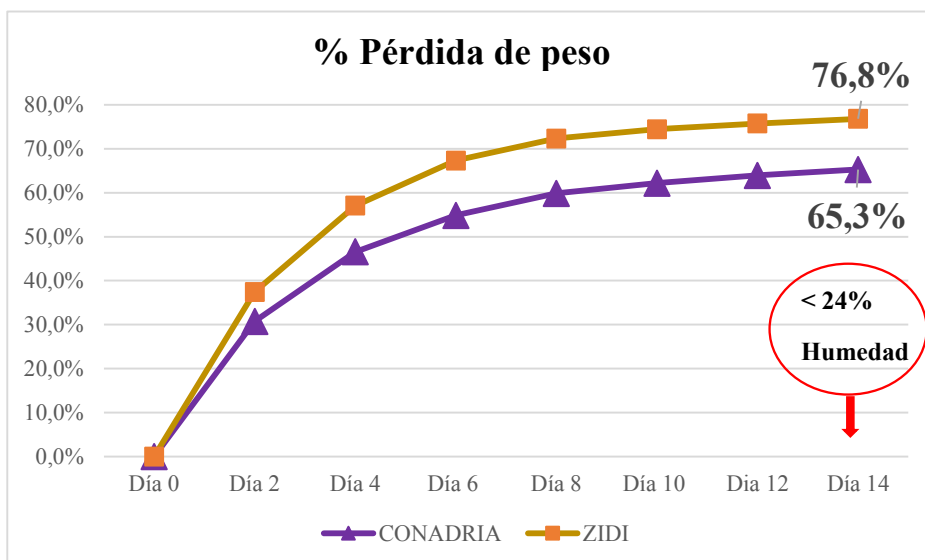


Fig. 3. Evolución del porcentaje de pérdida de peso de los higos de las variedades 'Conadria' y 'Zidi' a lo largo del proceso de secado bajo condiciones de secadero solar.

ORGANIZAN



Universidad
Zaragoza

PATROCINAN



PROMOCIONAN



COLABORAN



MEDIA PARTNER

