

DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR

EVOLUCION DE DIVERSAS ACTIVIDADES ENZIMATICAS DURANTE LA MADURACION DEL CHIRIMOYO EN ATMOSFERA CONTROLADA

M. Martínez-Cayuela; M. C. Plata; L. Sánchez de Medina; A. Gil y M. J. Faus

RESUMEN

El fruto del chirimoyo tiene un proceso de maduración muy corto, lo cual afecta a su vida comercial. En este proceso están implicadas una serie de enzimas, como son polifenoloxidasas, peroxidasa, catalasa y fosfatasa ácida. Se han estudiado la evolución de las actividades de estas enzimas, almacenando los frutos en atmósfera de CO₂ y en presencia de sulfito.

Los resultados obtenidos indican que existe una disminución en la concentración de proteínas totales, tanto en el epicarpio como en el mesocarpio de los frutos, durante la maduración en presencia de CO₂.

Igualmente se produce una disminución de las actividades enzimáticas con este tratamiento. Esta baja actividad se mantiene, al menos durante tres semanas de almacenamiento. La presencia de sulfito en atmósfera de CO₂, no condiciona variaciones ni en la concentración de proteínas del fruto ni en las actividades enzimáticas.

SUMMARY

Cherimoya fruits after harvesting have a short shelf life thus conditioning their marketing. Polyphenoloxidase, peroxidase, catalase and acid phosphatase are enzymes implicated in the ripening process of cherimoya. We have studied the variations of activity for these enzymes during cherimoya ripening in an CO₂ atmosphere and in the same atmosphere in presence sulphite. There was a marked decrease in the protein contents of both epicarp and mesocarp, during fruit ripening in CO₂ atmosphere. Enzymic activities also decreased at the beginning of the ripening. These low activities were maintained while fruits were in presence of CO₂ or CO₂ and sulphite.

INTRODUCCION

El chirimoyo es un fruto climatérico con una vida media muy corta, lo

cual condiciona su exportación y, aunque hoy el mercado nacional es capaz de absorber la totalidad de la producción, existen previsiones para los próximos años de un gran aumento de ésta, además de que podrían obtenerse unos mayores beneficios si el precio del fruto pudiese elevarse a causa de una venta continuada en los mercados exteriores, con un producto de calidad homogénea.

El término climatérico (1) se refiere al período de vida de ciertas frutas durante el cual se inician una serie de cambios bioquímicos por la producción autocatalítica de etileno, que marcan el cambio del desarrollo a la senectud, y que llevan consigo un aumento de la respiración y conducen a la maduración.

Algunos de los cambios producidos durante el climaterio son perceptibles por los sentidos, tales como el color, textura, dulzura, astringencia, sabor y aroma, pero simultáneamente tienen lugar otros que no son notorios, como la síntesis de RNA y de proteínas (2). Estas proteínas formadas en el climaterio deben corresponder a las enzimas requeridas para producir los cambios indicados y, entre las cuales se encuentran la polifenoloxidasas, peroxidasa, catalasa y fosfatasa ácida.

Puesto que en la respiración se consume oxígeno y se produce anhídrido carbónico, modificando adecuadamente la composición de la atmósfera de las cámaras de almacenamiento, puede inhibirse parcialmente el proceso respiratorio y, por tanto, **prolongar la vida de los frutos.**

Para esta conservación en atmósfera controlada, se puede aumentar la proporción de anhídrido carbónico o se puede disminuir la de oxígeno. La concentración de oxígeno no puede ser inferior a determinados valores, con el fin de evitar la respiración anaerobia que conduce inevitablemente a la formación de sabores anormales.

En el presente trabajo hemos almacenado los frutos del chirimoyo en una cámara con flujo continuo de CO₂, combinando este tratamiento con la presencia o no de sulfito, un inhibidor químico del pardeamiento enzimático (3). Durante este almacenamiento hemos estudiado el contenido de proteínas totales de los frutos, así como la evolución de una serie de enzimas implicadas en procesos de pardeamiento y de maduración. Todo dentro de un amplio estudio que nos permita poder establecer unas condiciones óptimas de maduración, para alargar la vida comercial del fruto del chirimoyo.

MATERIAL Y METODOS.

El material biológico utilizado ha sido epicarpio y mesocarpio de frutos de *Annona cherimolia* Mill, variedad *impresa*, que corresponde a la variedad comercial denominada "Fino de Jete" o "Blanca", con un peso comprendido entre 200-400 g.

Los frutos de chirimoyo se almacenaron a 10-12.° C, en el interior de una cámara, a la cual se le acopló en sistema de flujo continuo de CO₂. En una se-

gunda cámara se combinó la atmósfera de CO₂ con sulfito, a una concentración final de 0.05 % del peso de los frutos. Paralelamente se utilizó un tercer lote sin tratamiento, como frutos controles.

Los análisis se realizaron al tiempo cero y a partir de ese momento, en intervalos de una semana. Para la obtención de los extractos, los frutos se lavaron y se secaron con papel de filtro. El epicarpio se separó del mesocarpio con ayuda de pinzas y espátula. La parte correspondiente al mesocarpio fue aislada de las semillas, las cuales se desecharon.

El material biológico así obtenido, se troceó y disgregó en un Sorval Omni-mixer, con un volumen de tampón fosfato sódico 0.1 M pH 7.0-triton x-100 al 1%, diez veces superior al peso. La trituración se realizó manteniendo el recipiente en un baño de hielo durante 5 minutos, a velocidad media. El extracto obtenido se sometió a centrifugación a 10.000 g durante 15 minutos y a 4.° C.

Al sobrenadante obtenido se le adicionó polivinilpirrolidona en estado granular, hasta una concentración de 0.6% peso/volumen. La mezcla se agitó durante 1 hora y finalmente se filtró.

La determinación de las concentraciones de proteínas en los tejidos se realizó por el método de Lowry et al (4). Para la determinación de las actividades enzimáticas, en el caso de la polifenoloxidasas se utilizó el método de Kahn (5), para la peroxidasa el de Putter (6), el de Aebi (7) para la catalasa y el de Walter y Schütt (8) para la fosfatasa ácida.

Los resultados se han expresado como medida de 6-8 frutos \pm error estándar de la media. La comparación entre los resultados obtenidos para los distintos tratamientos, se ha llevado a cabo mediante un test de t-Student.

RESULTADOS Y DISCUSION

La evolución en nuestras condiciones experimentales, de la concentración de proteínas totales de epicarpio y mesocarpio de chirimoyo, se muestra en la figura 1.

En ambos casos se observa un mayor contenido protéico en las muestras sin tratamiento. Cuando se almacenan sólo con CO₂, la concentración de proteínas disminuye progresivamente con el tiempo, siendo muy inferior en el mesocarpio, mientras que en presencia de CO₂ + sulfito, después de algunas variaciones, la concentración disminuye terminando por estabilizarse al final de la experiencia.

Este resultado puede ser importante, ya que las proteínas pueden reaccionar con otros compuestos, generalmente carbohidratos, con los cuales producen una serie de intermediarios carbónicos, muy reactivos y que pueden dar lugar a pigmentos bastantes coloreados. Estas reacciones indeseables ocurren en todos los alimentos y normalmente pueden ser controlados por la adición de sulfitos (3). Sin embargo el buen resultado que hemos obtenido sólo con el CO₂, no lo mejora la presencia simultánea de sulfito.

Se ha postulado que parte del incremento del contenido protéico, que se produce en el climaterio, es el resultado de un aumento en la síntesis de algunas enzimas implicadas en varias reacciones de maduración, siendo el etileno presumiblemente, el factor que pone en marcha este proceso (9). Una de estas enzimas es la polifenoloxidasas (PPO), que es la principal responsable del ennegrecimiento exterior del fruto del chirimoyo durante su maduración. Se trata de una enzima que cataliza la transformación de una serie de compuestos fenólicos en sus correspondientes derivados ortoquinónicos, los cuales por polimerización, dan lugar a compuestos de color oscuro, que son los responsables de la pigmentación (10).

Los resultados obtenidos en la actividad de esta enzima en nuestras condiciones, se recogen en la figura 2. Se observa, que el CO_2 inhibe la actividad PPO de epicarpio, normalmente incrementada durante la maduración del fruto, mientras que la adición de sulfito, aunque también consigue la inhibición de la enzima, lo hace de manera más irregular.

Este resultado es muy importante pues nos indica que el almacenamiento en atmósfera de CO_2 , permite alargar la vida comercial del chirimoyo durante 4 semanas, tiempo óptimo para conseguir una adecuada comercialización del fruto.

En el caso del mesocarpio, los tratamientos no tuvieron ningún efecto sobre la pérdida de actividad PPO de los frutos controles.

Otra de las enzimas implicadas en el proceso de maduración, es la peroxidasa. En el caso del epicarpio (figura 3), durante las dos primeras semanas, ambos tratamientos consiguen disminuir esta actividad enzimática y, a partir de este momento, parece ser más efectivo el tratamiento combinado de CO_2 + sulfito. Sin embargo en el mesocarpio, la actividad peroxidásica presentó un comportamiento totalmente independiente de que existiera o no tratamiento.

Otra de las enzimas estudiadas es la catalasa. Esta puede actuar como una hidroxiperoxidasa, generando H_2O_2 en la oxidación de fenoles y otros donadores de H^+ , los cuales pueden ser sustratos para la formación de etileno (11). La figura 4 recoge los resultados obtenidos con la actividad catalasa. En el epicarpio se observa una evolución parecida, tanto en los frutos controles como en los tratados. La actividad más baja se consigue con CO_2 , mientras que la adición de sulfito hace aumentar la actividad incluso por encima de los valores controles. En mesocarpio, se consigue con ambos tratamientos una importante disminución de la actividad catalasa durante las tres primeras semanas. Todo ello nos indica que el tratamiento con CO_2 es el idóneo, para inhibir la actividad de esta enzima, al menos durante 20 días de almacenamiento de los frutos.

Por último, se ha estudiado la evolución de la actividad fosfatasa ácida, enzima de la cual se sabe que aumenta su actividad durante el climaterio de ciertas frutas (12). En la figura 5 se observa, que los dos tratamientos disminuyen la actividad de esta enzima, tanto en epicarpio como en mesocarpio.

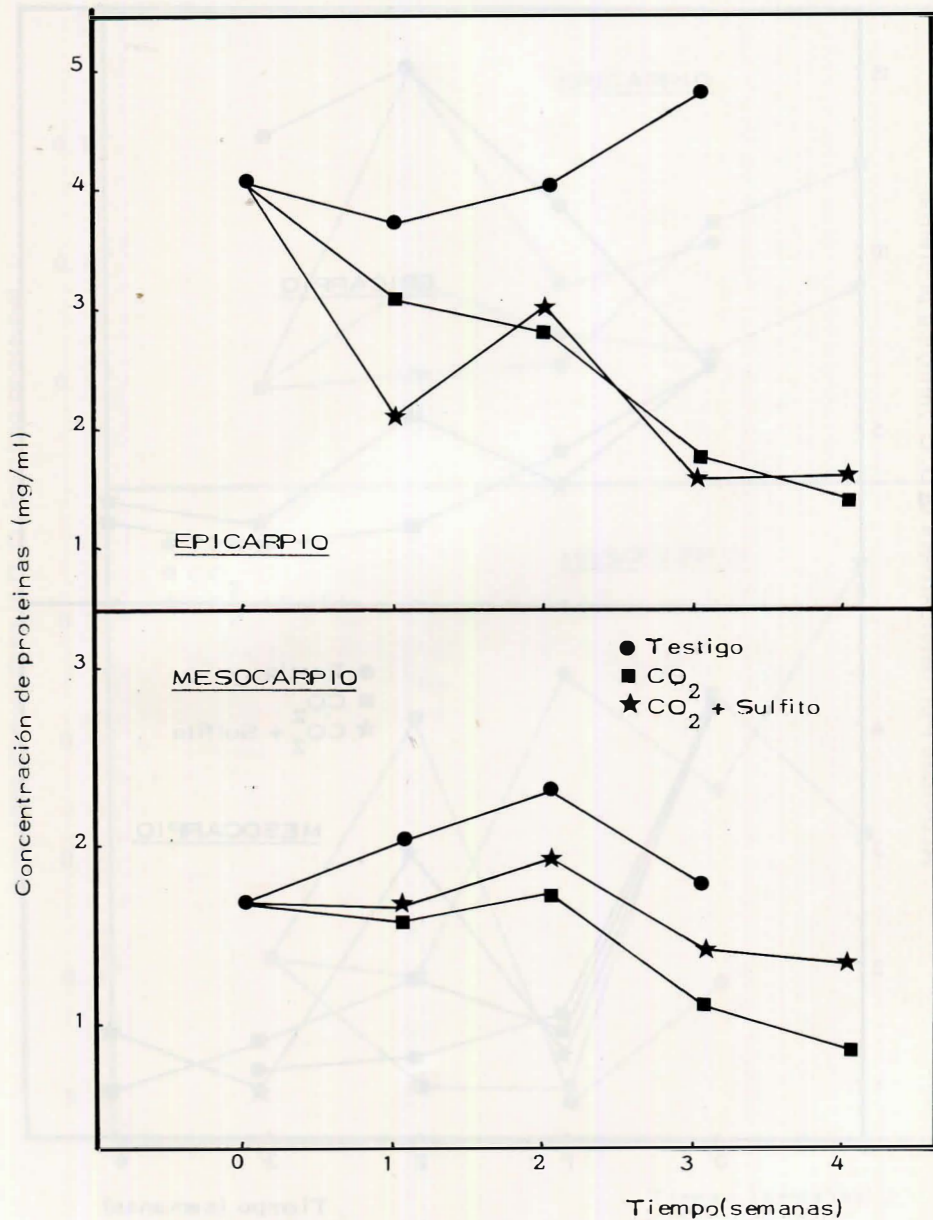


Fig. 1.- Evolución de la concentración de proteínas de chirimoyo durante su maduración en atmósfera controlada.

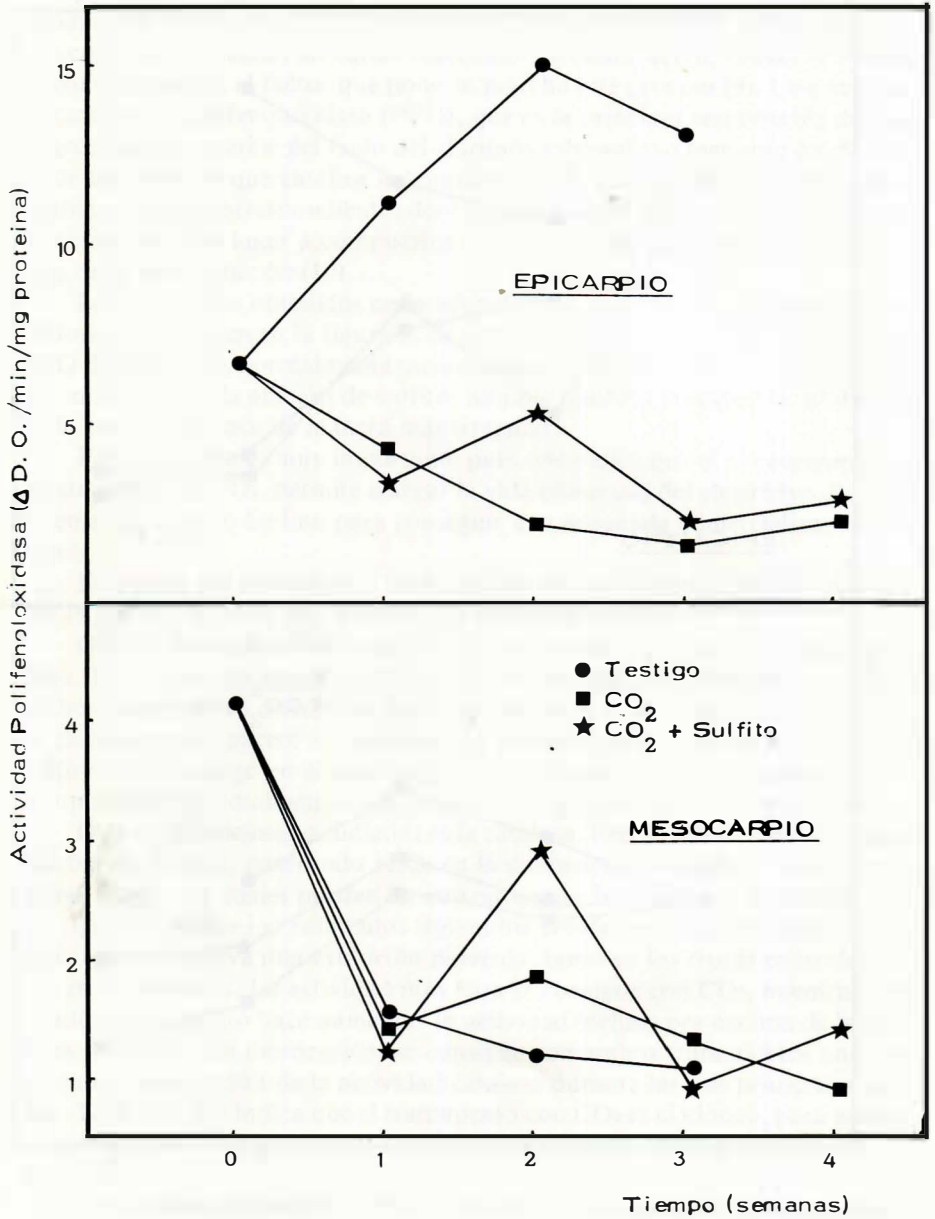


Fig. 2.- Evolución de la actividad polifenoloxidasas de chirimoyo durante su maduración en atmósfera controlada.

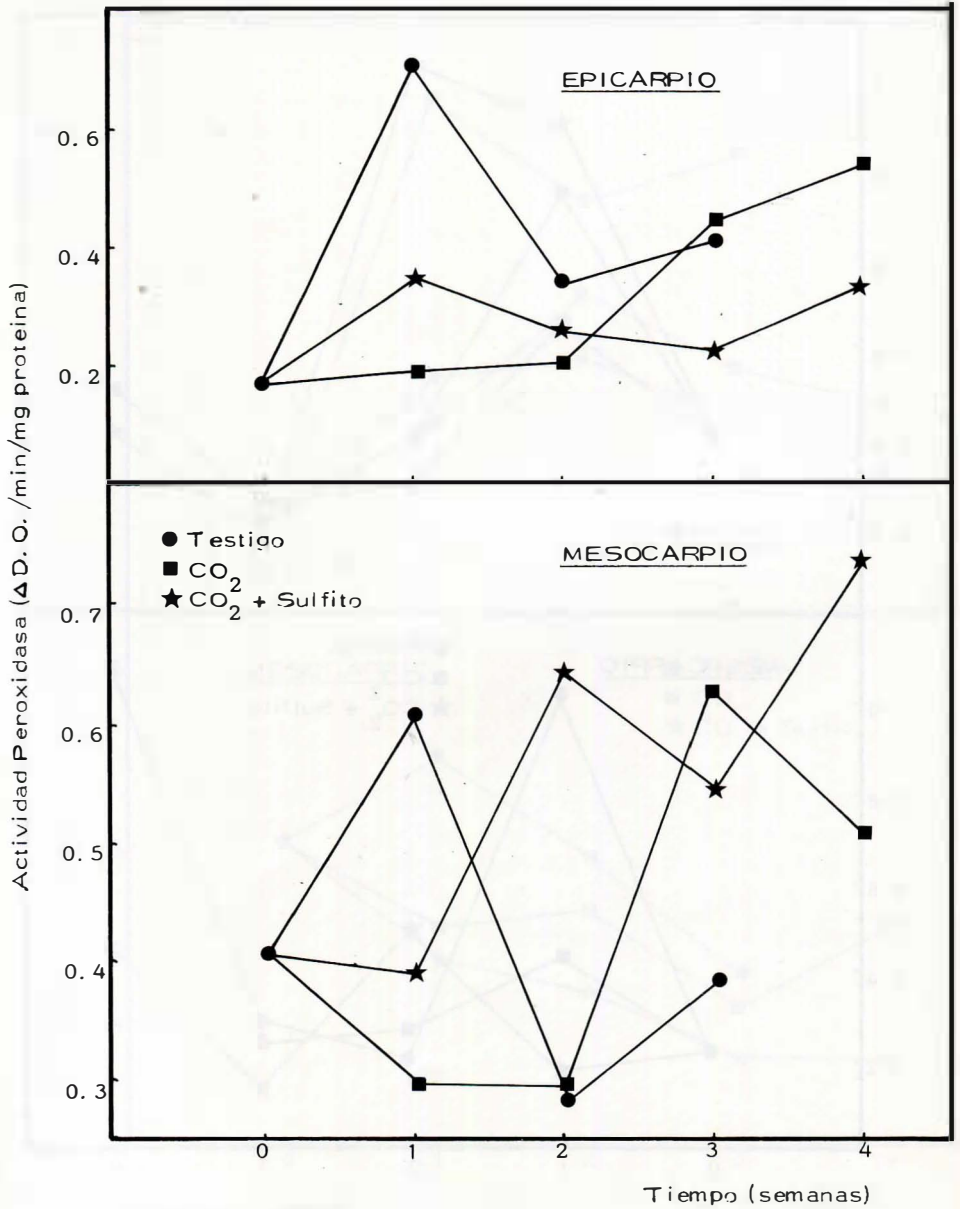


Fig. 3.- Evolución de la actividad peroxidasa de chirimoyo durante su maduración en atmósfera controlada.

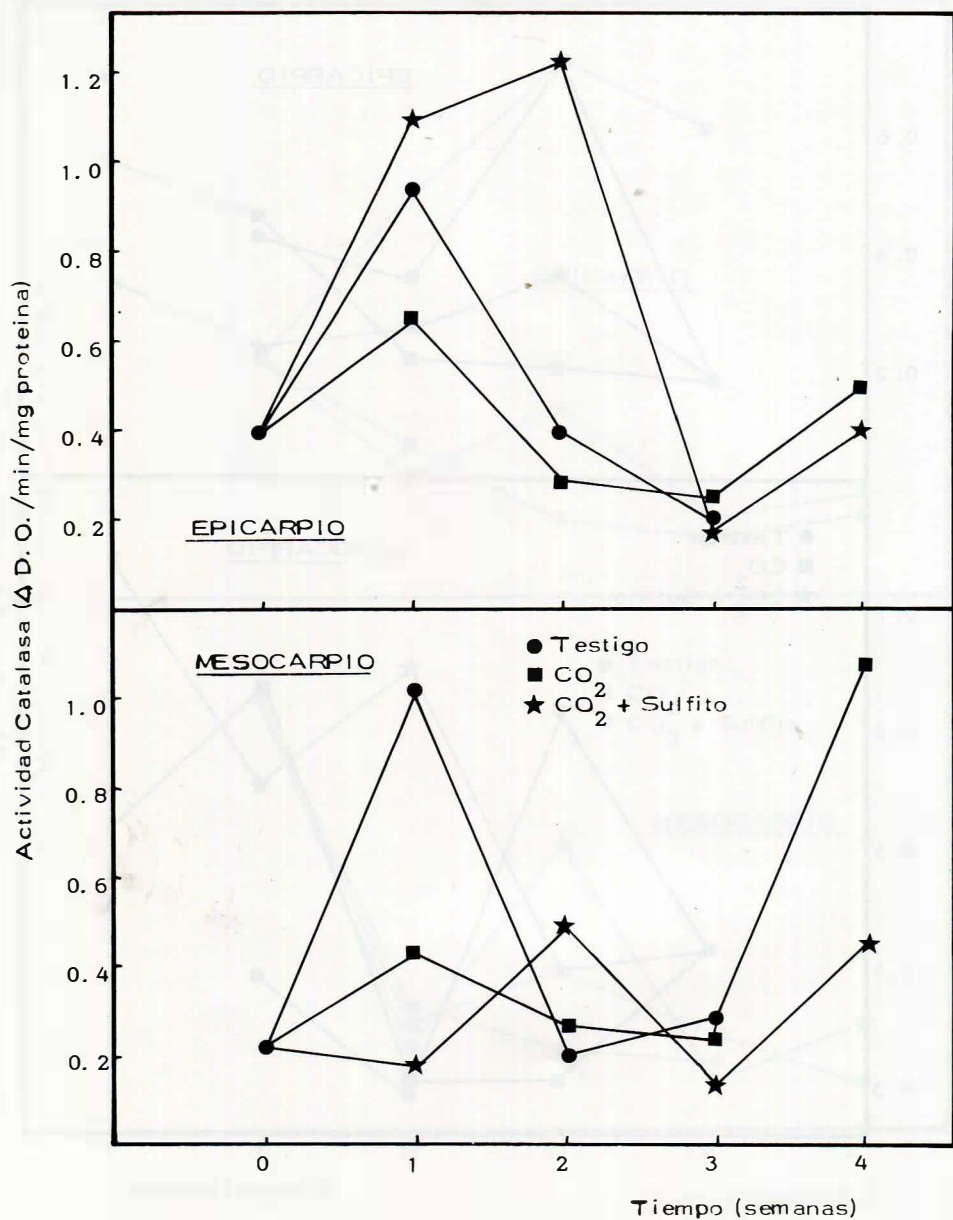


Fig. 4.- Evolución de la actividad catalasa de chirimoyo durante su maduración en atmósfera controlada.

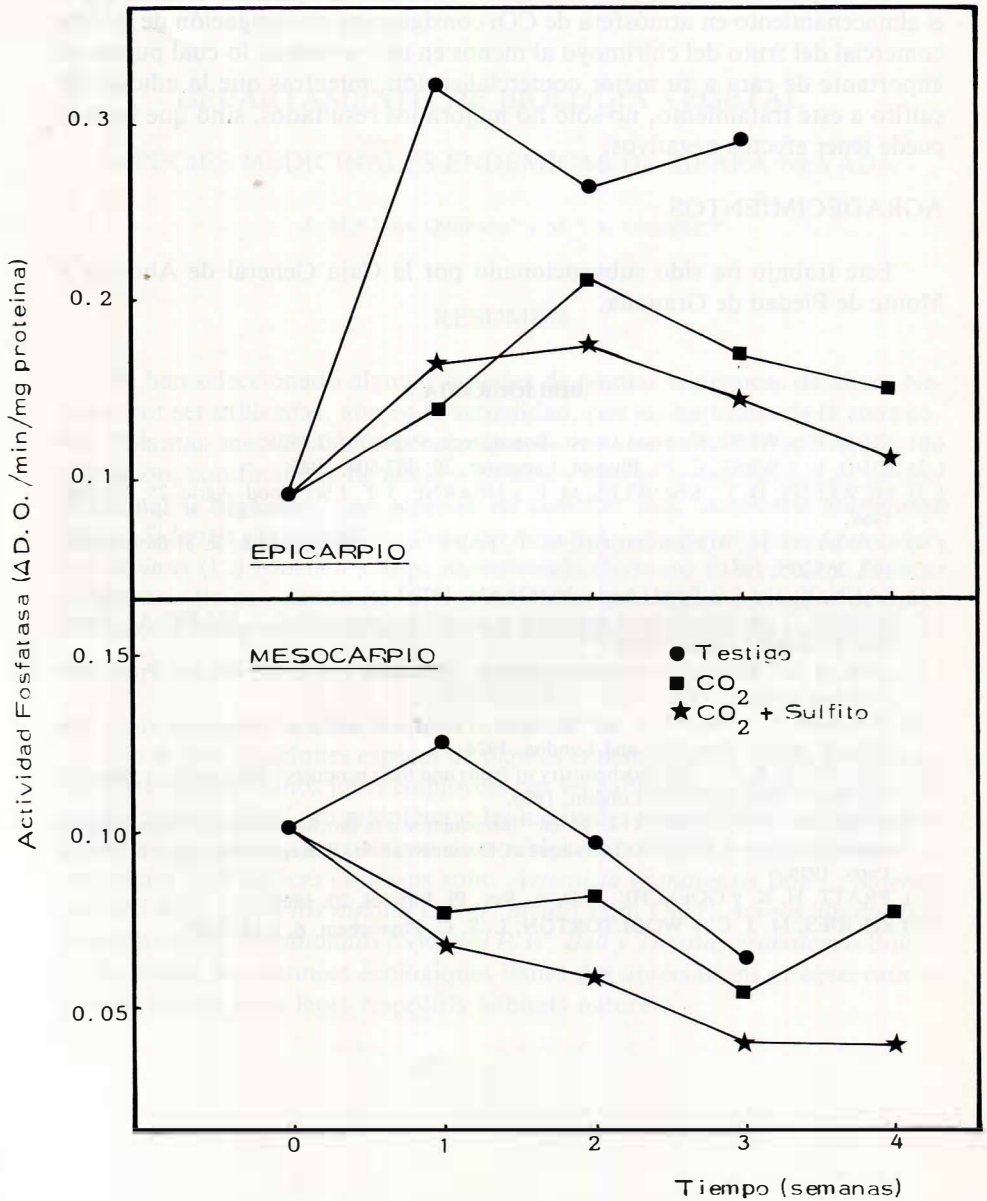


Fig. 5.- Evolución de la actividad fosfatasa ácida de chirimoyo durante su maduración en atmósfera controlada.

El conjunto de todos los resultados obtenidos nos permite concluir, que el almacenamiento en atmósfera de CO₂ consigue una prolongación de la vida comercial del fruto del chirimoyo al menos en tres semanas, lo cual puede ser importante de cara a su mejor comercialización, mientras que la adición de sulfito a este tratamiento, no sólo no mejora los resultados, sino que incluso puede tener efectos negativos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido subvencionado por la Caja General de Ahorros y Monte de Piedad de Granada.

BIBLIOGRAFIA

- (1) KIDD, F. y WEST, C. Food Invest. Board, tech. Paper n.º 2. 1925.
- (2) KIDD, F. y WEST, C. Pl. Physiol. Lancaster, 20, 467-504, 1945.
- (3) MCWEENY, D. V., KNOWLES, M. E. y HEARNE, J. F. J Sci. Food. Agric. 25, 735-746. 1968.
- (4) LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, M. J., FARR, A. C. y RANDALL, R. J. Biol. Chem. 193, 265-275. 1951.
- (5) KAHN, V. J. J Sci. Food. Agric. 30, 634-638. 1979.
- (6) PUTTER, J. en "Methods of enzymatic analysis" Bergmeyer Vol. 2, 285-290. Ac. Press. New York and London. 1974.
- (7) AEBI, H. en "Methods of enzymatic analysis" Bergmeyer Vol. 2, 673-684. Ac. Press. New York and London. 1974.
- (8) WALTER, K. y SHUTT, C. en "Methods of enzymatic analysis" Bergmeyer Vol. 2, 856-860. Ac. Press, New York and London. 1974.
- (9) DILLEY, D. R. en "The Biochemistry of fruits and their products" Hulme Vol. 1, 200-203. Ac. Press. New York and London. 1970.
- (10) CHEFTEL, V. C. y CHEFTEL, H. en "Introduction a la Biochemie et á la Technologie des aliments" Vol. 1, 382-386. Technique et Documentation, Entreprise Moderne d'Édition. París. 1976.
- (11) PRATT, H. K. y GOESCHE, J. D. A. Rev. Pl. Physiol. 20. 1969.
- (12) RHODES, M. J. C. y WOOLTORTON, L. S. C. *Phytochem.* 6, 1-12, 1967.