

ALTERACIONES DE LOS POLIFENOLES EN LA ETAPA DE POSCOSECHA

Vicente AR, Concellón A, Viña SZ, Lemoine ML, Rodoni L, Zaro MJ, Hasperue J, Massolo JF, Ortiz CM, González Forte L, Quinteros N, Valerga L, Darré M, Ortiz Araque LC, Pintos F

GITeP, Grupo de Investigación en Tecnología Poscosecha, Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA, CONICET-UNLP) y Laboratorio de Investigación en Productos Agroindustriales (LIPA, FCAyF, UNLP).

E-mail: arielvicente@gmail.com

Si bien algunos compuestos fenólicos pueden ser sintetizados por bacterias y hongos su prevalencia y diversidad se hizo mucho mayor en las plantas superiores. Se considera que sus funciones iniciales estuvieron relacionadas con la adaptación de las plantas a la vida terrestre desde los ambientes acuáticos: la formación de vasos de conducción de agua y sales, la provisión de barreras contra la desecación y la absorción de la radiación ultravioleta. Actualmente, participan en diversos procesos en plantas tales como la regulación hormonal, la defensa, la protección ante el estrés y la comunicación otros organismos. En la actualidad, con más de 8000 estructuras identificadas los polifenoles son los grupos de compuestos secundarios más ubicuos en el reino vegetal. La enorme diversidad de polifenoles se sintetiza gracias a la plasticidad en términos de sustratos posibles, para las enzimas biosintéticas de esta ruta. Otro mecanismo que favorece la generación de compuestos tan diversos a partir de unas pocas enzimas es la formación de complejos multi-enzimáticos. Estos canales metabólicos pueden al variar su conformación sintetizar diferentes polifenoles a partir de un grupo relativamente pequeño de intermediarios comunes.

En los últimos años, ha aumentado el interés en identificar los factores que afectan la acumulación y estabilidad de los polifenoles. En frutas y hortalizas su contenido depende del producto considerado y puede variar entre 0,2 y 5 g equivalentes de ácido gálico por kilogramo de peso fresco. Con unas pocas excepciones, la concentración es mayor en frutas que en hortalizas. Dentro de una misma especie pueden a su vez encontrarse grandes variaciones dependiendo de la cultivar. La acumulación de polifenoles diferirá además notablemente en función de la temperatura a la que se desarrollan los productos, la amplitud térmica, la irradiancia, la disponibilidad de agua y nutrientes y la tecnología de cultivo. Desde la cosecha hasta el consumo los factores que más influyen los niveles de polifenoles son: la madurez, el etileno, el daño mecánico la temperatura de almacenamiento, la atmósfera de almacenamiento la realización de tratamientos antioxidantes o pro-oxidantes y el empleo de otros tratamientos.

-Madurez: Si bien es difícil establecer un único patrón de cambios en los polifenoles solubles, es frecuente observar un descenso durante la maduración. En frutos esto puede comprenderse si se considera que muchos de estos compuestos cumplen una función protectora de las semillas y por tanto su rol, evolutivamente crucial para asegurar la propagación de la especie, finaliza en muchos casos cuando las mismas llegan a la madurez fisiológica. En algunos productos, la caída de compuestos fenólicos solubles se relaciona con el endurecimiento de la cubierta de las semillas (ej. berenjena, uva) y/o bien con la formación de cáscara (ej. zapallo) La disminución en compuestos fenólicos totales en pecíolos (apio), tallos (espárrago) e inflorescencias (alcaucil) se asocia con la lignificación de fibras y haces vasculares. Finalmente, tanto en frutas como en hortalizas la reducción de polifenoles puede ocurrir en ciertos casos simplemente por dilución aparente, debida a la menor tasa de acumulación respecto al crecimiento. En contraposición con lo que ocurre con los fenoles totales las antocianinas suelen mostrar un aumento conforme progresa la madurez, dada su importancia en la pigmentación y atracción de predadores. Durante la maduración del arándano, las antocianinas se acumulan mientras que los ácidos fenólicos disminuyen siendo el resultado una reducción neta de la capacidad antioxidante total. Un patrón similar se da en frutilla y zarzamora.

-Etileno: El etileno posee particular relevancia en los frutos denominados climatéricos, en los que cumple un rol central regulando la maduración. De todos modos, también induce respuestas en frutos no climatéricos y hortalizas. Los efectos del etileno en los polifenoles son variables. Dado que acelera la maduración y la senescencia, en aquellos productos en los que los polifenoles desciendan con el desarrollo, el etileno favorecerá esta caída. Este es el caso de muchos frutos en los que los polifenoles solubles totales se reducen con la maduración y en hortalizas en las que la lignificación continúa. Contrariamente, el etileno suele inducir la acumulación de antocianinas, que aportan colores rojos y púrpuras característicos a muchos frutos. El etileno puede inducir también otro tipo de respuestas que afecten el nivel de polifenoles: en zanahoria promueve la acumulación de una cumarina (la metoximeleína) que en concentraciones elevadas puede dar sabor amargo. En lechuga de cabeza, induce un desorden denominado *russet spotting*, caracterizado por la formación de manchas anaranjadas o amarronadas en la nervadura central, por oxidación de compuestos fenólicos. Muchas repuestas al daño mecánico que se describen en el siguiente apartado también están mediadas por el etileno.

-Daño mecánico: El daño por golpes, abrasiones, compresiones y cortes posee efectos contrapuestos en los niveles de compuestos fenólicos. Por un lado, se induce su biosíntesis probablemente como parte de una respuesta defensiva. Así, es común ver que el daño incrementa la actividad de la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL), regulatoria en la ruta de síntesis de fenil-propanoides. A partir de ello, algunos autores han propuesto el empleo del daño mecánico como estrategia para aumentar la concentración de polifenoles. Esta respuesta, si bien factible en vegetales procesados es de uso limitado en la práctica, puesto que resulta difícil compatibilizar el requisito de síntesis *de novo* de polifenoles (que requeriría temperaturas de 15-25 °C) con el mantenimiento de la su calidad microbiológica y organoléptica (en la mayor parte de los casos 0-7 °C). El daño mecánico, más allá de estimular la biosíntesis de polifenoles, puede en muchos casos favorecer, por múltiples causas, su degradación. La pérdida de compartimentación celular pone en contacto enzimas polifenoxidasas (PPO) y compuestos fenólicos preexistentes que son rápidamente oxidados. Asimismo, la pérdida de integridad celular puede incrementar la producción de peróxido de hidrógeno, proporcionando un co-sustrato necesario para la degradación de polifenoles mediada por enzimas peroxidadas (POD). Finalmente, las heridas, al eliminar barreras naturales a la difusión de gases, aumentan la tensión de oxígeno a nivel celular, favoreciendo las reacciones de oxidación de polifenoles. En síntesis, los efectos netos del daño mecánico en los polifenoles pueden ser positivos o negativos dependiendo del balance entre los procesos de biosíntesis y degradación.

-Temperatura de almacenamiento: Los efectos son dependientes del tipo de producto, duración del almacenamiento y de la temperatura considerada. Cerca de 0 °C se observan normalmente pocos cambios en los polifenoles en productos no sensibles al frío, puesto que se ralentizan tanto la biosíntesis como la degradación. En contraposición, en frutos sensibles a las bajas temperaturas, la refrigeración induce daños que promueven la degradación de compuestos fenólicos. Este es el caso de frutos como ananá, palta, mango, papaya, banana. Muchos otros frutos son sensibles al frío tales como zapallito, berenjena, cítricos, pimiento, tomate. En frutos de carozo como durazno el daño por frío no se manifiesta como una reducción en contenido de polifenoles, sino como una pérdida de jugo y la aparición de una textura harinosa. Esto provoca pérdidas indirectas de compuestos polifenoles puesto que estos productos no tendrán buena aceptabilidad para el consumo. Cuando el almacenamiento se realiza a temperaturas superiores los cambios que se observarán estarán supeditados a las modificaciones típicas de la maduración y desarrollo. Así, en casos en los que los antocianos se acumulen, si la temperatura es suficientemente alta, el proceso continuará. En algunos productos se ha descrito que la baja temperatura puede, al ocasionar un estrés moderado, estimular la síntesis de polifenoles. Esto ha sido observado en berenjenas, que si bien muestran una caída en los fenoles con el desarrollo al ser almacenadas en frío muestran inicialmente una acumulación de ácido clorogénico. La inducción de antocianinas en respuesta al frío también se ha descrito en algunos frutos. En ciruela de pulpa amarilla se considera comúnmente un defecto (sangrado). Contrariamente, la inducción de antocianinas por frío se ha aprovechado para aumentar la coloración roja de la pulpa en naranja sanguínea.

-Atmósfera de almacenamiento: Las atmósferas modificadas y controladas (AM y AC) se basan en la modificación de la concentración de gases en la zona en la que se almacenan los frutos. Puede perseguir diferentes objetivos, dentro de los que se destacan el retraso de la maduración y senescencia, el control de microorganismos fito-patógenos y la reducción de algunos desórdenes fisiológicos. Si bien existen diferentes AM y AC, la estrategia más común es el incremento en la concentración de CO₂ y la reducción de O₂. En general, para tener respuestas fisiológicas los niveles de CO₂ deben ubicarse por encima de 1% y los de O₂ debajo de 5%. Al retrasar la maduración las AM y AC reducirán los cambios normales del desarrollo de los polifenoles, sean estos incrementos o descensos. La baja tensión de oxígeno puede retrasar el pardeamiento enzimático. Esto es de utilidad principalmente en frutas y hortalizas frescas cortadas (IV gama). De todos modos, si los niveles de gases no son adecuados pueden dañar a los productos exacerbando el deterioro. Para el O₂ normalmente no se recomienda el almacenamiento a concentraciones inferiores a 1-2%. Una excepción para esto son los frutos secos, en los que, debido a su muy baja actividad metabólica, el almacenamiento al vacío puede ser una opción. La remoción total del oxígeno permite retrasar el oscurecimiento de las nueces que reduce su calidad y valor comercial a la vez que disminuye los polifenoles. En ciertos casos, el alto nivel de CO₂ pueden también dañar a los vegetales. La tolerancia al CO₂ es marcadamente dependiente del producto. La frutilla puede almacenarse sin problemas con niveles de hasta 15% de CO₂ sin daños. En manzana se recomiendan valores cercanos a 3% y en lechuga puede ocurrir pardeamiento por encima de 1%.

-Tratamientos antioxidantes y pro-oxidantes: Durante la poscosecha de algunos productos se realizan a nivel comercial o bien se han evaluado en forma experimental diversos tratamientos complementarios que pueden tener efectos antioxidantes o pro-oxidantes, por lo que pueden influenciar el nivel de polifenoles. Dentro del

primer grupo puede mencionarse la realización de tratamientos con SO₂. Este compuesto está siendo cuestionado por respuestas alérgicas que pueden ocasionar, pero aún se utiliza mucho en la industria alimentaria. En uva para mercado fresco es posible realizar tratamientos con SO₂ para controlar las podredumbres por *Botrytis cinerea*, que prevendrán también la pérdida de compuestos fenólicos, por tratarse de un compuesto antioxidante con buen poder residual. Las concentraciones elevadas no obstante pueden favorecer la degradación de antocianinas (blaqueado), lo cual es indeseable. Dentro de los tratamientos con potencial oxidante se encuentran las atmósferas con alto nivel de oxígeno (superior a 21%) y los tratamientos con ozono. Las atmósferas hiper-oxigénicas se han empleado experimentalmente con la idea de inducir en los frutos la síntesis de antioxidantes en respuesta a los altos niveles de O₂. Por su parte, los tratamientos con ozono comercialmente se han empleado en bajas concentración en las cámaras de refrigeración para eliminar el etileno por oxidación en frutos muy sensibles a este gas como el kiwi. De todos modos, algunos estudios sugieren que la exposición al ozono por periodos cortos podría ser de utilidad para inducir la síntesis de antioxidantes en frutos. Efectos similares se han informado en vegetales sometidos a tratamientos UV, que incrementan la acumulación de polifenoles, probablemente como estrategia defensiva para absorber la radiación. Estos tratamientos están aún en etapa experimental.

-Otros tratamientos: Los tratamientos con sales de calcio pueden estabilizar las membranas celulares y reforzar las paredes celulares de los frutos. Por lo tanto, puede retrasar la degradación de polifenoles descrita, en respuesta al daño mecánico. Por otro lado, en algunas variedades de caqui, los taninos solubles pueden ser tan elevados que pueden dar sensación de astringencia a los consumidores. En este producto puede ser necesario reducir los niveles de polifenoles solubles. Para ello se han empleado diferentes estrategias tales como la exposición a CO₂ en altas concentraciones y la realización de tratamientos con etanol.

El interés en incrementar la disponibilidad de polifenoles y aumentar su incorporación en las dietas ha dado lugar estrategias de promoción del consumo, de mejora genético de especies ya conocidas y de identificación de nuevos "superfrutos". Dentro del primer grupo, se observan campañas de información y concientización. La segunda estrategia se basa en la incorporación de características vinculadas con el valor nutricional en algunos programas de mejoramiento que históricamente focalizaron más en aspectos relacionados con el rendimiento y la resistencia a adversidades de los cultivos. También se ha intentado incrementar la acumulación o estabilidad de polifenoles empleando estrategias de ingeniería genética. Experimentalmente, han producido frutos de tomate color púrpura ricos en antocianinas. Comercialmente se ha lanzado en Estados Unidos una variedad de manzana transgénica bajo el nombre Arctic®. Esta variedad ha sido suprimida en la enzima PPO, con el fin de retrasar la oxidación de compuestos fenólicos. Un tercer camino que se ha perseguido para maximizar la disponibilidad de polifenoles ha sido identificar fuentes con niveles extraordinarios de estos compuestos. Tal es el caso de la granada, fruto cultivado desde la antigüedad, pero en forma muy acotada hasta se reconoció el potencial de sus polifenoles. Otro fruto que siguió ese recorrido fue el arándano azul, desconocido prácticamente hasta la década del 80, pero que creció rápidamente conforme obtuvo el mote de "super-fruto". Similar suerte, podrían correr otros como el açai.

Si bien cada una de estas propuestas anteriores podría eventualmente realizar una contribución, pareciera que el camino orientado a mejorar las cadenas de distribución y las condiciones de manejo poscosecha ha sido, sino olvidado, al menos poco explotado. La FAO ha estimado que a nivel mundial las pérdidas en la etapa distribución-consumo de frutas y hortalizas equivalen a 30-40% del volumen de producción. La situación en nuestro país en este aspecto no parece diferir marcadamente del panorama mundial que pone en evidencia una enorme inversión anual en recursos (agua, suelo, trabajo, semillas, fertilizantes y tiempo) para obtener alimentos que son finalmente descartados. En ese contexto, mejorar el manejo de las frutas y hortalizas en la poscosecha pareciera ser una estrategia improrrogable para reducir los riesgos microbiológicos, minimizar pérdidas de calidad organoléptica y nutricional. Manteniendo a los productos a la temperatura y humedad relativa (HR) recomendadas (0, 7-10 o 14 °C según producto y 85-95% de HR), reduciendo los golpes y en ciertos casos recurriendo a atmósferas modificadas controladas bien diseñadas (1-15% CO₂ y 1-5% O₂ según producto) podría reducirse la gran cantidad de polifenoles que luego de cada ciclo productivo son desechados como desperdicios.