



Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Exactas

**“EFECTO DEL 1-METILCICLOPROPENO (1-MCP) SOBRE LA
CALIDAD DE HORTALIZAS ENTERAS Y MÍNIMAMENTE
PROCESADAS”**

Trabajo final de grado

Autor: Juan Facundo Massolo

Director: Dr. Ariel Vicente

Co-director: Dra. Alicia R Chaves

Lugar de Trabajo: CIDCA (Centro de Investigación y Desarrollo en
Criotecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias Exactas. UNLP-CCT La
Plata, CONICET). Calle 47 y 116 s/n°- CP 1900. La Plata, Argentina.

Tel/Fax: (0221) 424-9287 / 425-4853/ 489-0741.

E-mail: facundo_dx@hotmail.com

Año 2009

Este Trabajo Final de Grado para obtener el título de “Licenciado en ciencias y tecnología de los alimentos” de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata, fue realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), bajo la dirección del Dr. Ariel Vicente y Co-dirección de la Dra. Alicia R Chaves.

Año 2009

Dedico este trabajo a Lichi y a Sergio (mamá y papá), quienes han sido pacientes y han vivido mi carrera. También a Bautista y Salvador cuyos roles de hermanos mayores (y también de amigos) han cumplido perfectamente, para bien o para “mal”. Por último, incluyo a mi hermanita, Miranda, quien disfruta de hacerme compañía y logra distraerme con facilidad.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco especialmente al Dr. Ariel Vicente por instruirme de manera exigente en todo sentido durante el desarrollo de esta tesis; a la Dra. Alicia Chaves por darme la posibilidad de trabajar en el grupo de vegetales del CIDCA y proponerme un programa de trabajo; también a la Dra. Analía Concellón, quien ha sido referente de trabajo y ha aportado información acerca de algunos ensayos y resultados de determinaciones similares a las de este trabajo. Agradezco también al Lic. Luis Rodoni por prestarme ayuda en el desarrollo experimental de laboratorio, a Luisina Franco Lorda por su colaboración en los ensayos de 1-MCP en tomate entero, a todos los miembros del grupo de vegetales y compañeros del CIDCA y por último a todas las personas que ayudaron en la revisión de esta presentación.

¡Muchas gracias!

ÍNDICE GENERAL

Pág

<u>1. RESUMEN/ABSTRACT</u>	1
<u>2. INTRODUCCIÓN</u>	3
2.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL ETILENO Y PRODUCCIÓN EN FRUTAS Y HORTALIZAS	3
2.1.1. Breve historia del etileno y su función en plantas	3
2.1.2. Bioquímica de la producción de etileno	3
2.1.3. Factores que afectan la producción de etileno	4
2.2. EFECTOS, USOS Y CONTROL DEL ETILENO EN PRODUCTOS FRUTÍ- HORTÍCOLAS	6
2.2.1. Efectos del etileno en frutas y hortalizas	6
2.2.2. Utilización de etileno para la maduración de frutos	8
2.2.3. Control de la producción de etileno	9
2.3. ACCIÓN DEL ETILENO	10
2.3.1. Vía de señalización	10
2.3.2. Inhibidores de la acción del etileno	11
2.4. PRODUCCIÓN HORTÍCOLA EN LA REGIÓN PLATENSE	13
2.5. MANEJO POSCOSECHA DE TOMATE Y BERENJENA	13
2.5.1. Características generales de calidad y manejo poscosecha de tomate	13
2.5.2. Características generales de calidad y manejo poscosecha de berenjena	15
2.6. UTILIZACIÓN DE 1-MCP EN EL MANEJO POSCOSECHA DE HORTALIZAS	17
<u>3. OBJETIVOS</u>	19
<u>4. MATERIALES Y MÉTODOS</u>	20
4.1. EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE TRATAMIENTOS CON 1-MCP EN TOMATE EN ESTADO DE MADUREZ AVANZADO (ROJO CLARO) ALMACENADO A 20°C	20
4.1.1. Material vegetal, tratamientos y almacenamiento	20
4.1.2. Pérdida de peso	20
4.1.3. Color superficial	20
4.1.4. Firmeza	20
4.1.5. Azúcares y acidez	21

4.2. EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE TRATAMIENTOS CON 1-MCP EN TOMATE TROZADO ALMACENADO A 4°C	21
4.2.1. Material vegetal, tratamientos y almacenamiento	21
4.2.2. Pérdida de peso, color superficial, azúcares y acidez	21
4.2.3. Firmeza	21
4.2.4. Capacidad antioxidante con DPPH [•]	22
4.2.5. Capacidad antioxidante con ABTS ^{•+}	22
4.3. EFECTO DE TRATAMIENTOS CON 1-MCP SOBRE LA CALIDAD DE BERENJENAS REFRIGERADAS	23
4.3.1. Material vegetal, tratamientos y almacenamiento	23
4.3.2. Daño de cáliz y pérdida de peso	23
4.3.3. Color de cáliz, piel y pulpa, clorofila, acidez y azúcares	23
4.3.4. Actividad respiratoria	23
4.3.5. Fenoles totales	24
4.3.6. Actividades enzimáticas	24
4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	25
 <u>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	26
5.1. EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE TRATAMIENTOS CON 1-MCP EN TOMATE EN ESTADO DE MADUREZ AVANZADO (ROJO CLARO) ALMACENADO A 20°C	26
5.2. EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE TRATAMIENTOS CON 1-MCP EN TOMATE TROZADO ALMACENADO A 4°C	28
5.3. EFECTO DE TRATAMIENTOS CON 1-MCP SOBRE LA CALIDAD DE BERENJENAS REFRIGERADAS	30
5.3.1. Deterioro y senescencia de cáliz	30
5.3.2. Deshidratación, ablandamiento, tasa respiratoria, azúcares y acidez	33
5.3.3. Pardeamiento enzimático de semillas y pulpa	35
a. Apariencia de semillas y color de pulpa	35
b. Biosíntesis de compuestos fenólicos	36
c. Actividad de enzimas asociadas a la oxidación de compuestos fenólicos	38
 <u>6. CONCLUSIONES</u>	41
 <u>7. REFERENCIAS</u>	42

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

<u>I. TABLAS</u>	<u>Pág</u>
<u>Tabla 1:</u> Frutos climatéricos y no climatéricos.	5
<u>Tabla 2:</u> Tasa de producción de etileno en diferentes frutos.	5
<u>Tabla 3:</u> Tasa de respiración de tomate en función de la temperatura de almacenamiento.	14
<u>Tabla 4:</u> Tasa de producción de etileno en tomate en función de la temperatura de almacenamiento.	14
<u>Tabla 5:</u> Tasa de respiración de distintos tipos de berenjena a 12,5°C.	16
<u>Tabla 6:</u> Azúcares, acidez y pérdida de peso en tomates control y tratados con 1-MCP durante el almacenamiento a 20°C. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD) a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$.	28
<u>Tabla 7:</u> Azúcares, acidez y capacidad antioxidante por los métodos de DPPH [*] y ABTS ⁺⁺ en tomates control y tratados con 1-MCP y trozados durante el almacenamiento a 4°C. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD) a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$.	29
<u>Tabla 8:</u> Azúcares y acidez en berenjenas control y tratadas con 1-MCP durante el almacenamiento. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD) a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$.	35

II. FIGURAS

<u>Figura 1:</u> Ruta biosintética del etileno en vegetales.	4
<u>Figura 2:</u> Diferentes tipos de berenjena: A) americana violeta, B) japonesa violeta, C) americana rayada y D) americana blanca.	15
<u>Figura 3:</u> Apariencia de tomates control y tratados con 1-MCP en estado de madurez verde maduro almacenados a 20°C por 96 h.	17
<u>Figura 4:</u> A) Apariencia, B) color superficial (hue), y C) firmeza de frutos de tomate cosechados en estado rojo claro, control y tratados con 1-MCP, y almacenados a 20°C. El asterisco indica diferencias del respectivo control a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD).	27
<u>Figura 5:</u> A) Color superficial (hue), B) firmeza, y C) pérdida de peso en tomates rojo claros control y tratados con 1-MCP, trozados y almacenados a 4°C por 8 d. El asterisco indica diferencias del respectivo control a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD).	29

II. FIGURAS

Pág

- Figura 6:** A) Apariencia, y B) daño de cáliz en berenjenas control y tratadas con 1-MCP durante el almacenamiento a 10°C y posterior transferencia a 20°C. El asterisco indica diferencias del respectivo control a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD). 31
- Figura 7:** A) Luminosidad (L^*), B) color (hue) y C) contenido de clorofila en el cáliz de berenjenas control y tratadas con 1-MCP durante el almacenamiento a 10°C y posterior transferencia a 20°C. El asterisco indica diferencias del respectivo control a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD). 32
- Figura 8:** A) Apariencia y actividad respiratoria de berenjenas control y tratadas con 1-MCP durante el almacenamiento a 10°C. El asterisco indica diferencias del respectivo control a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD). 33
- Figura 9:** A) Pérdida de peso, y B) firmeza de berenjenas control y tratadas con 1-MCP durante el almacenamiento a 10°C y posterior transferencia a 20°C. El asterisco indica diferencias del respectivo control a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD). 34
- Figura 10:** A) Pardeamiento enzimático de semillas, y B) Luminosidad (L^*) de pulpa de berenjenas control y tratadas con 1-MCP durante el almacenamiento a 10°C y posterior transferencia a 20°C. El asterisco indica diferencias del respectivo control a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD). 36
- Figura 11:** A) Contenido de fenoles totales, y B) actividad PAL en berenjenas control y tratadas con 1-MCP durante el almacenamiento a 10°C y posterior transferencia a 20°C. El asterisco indica diferencias del respectivo control a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD). 37
- Figura 12:** A) Actividad PPO, y B) POD en berenjenas control y tratadas con 1-MCP durante el almacenamiento a 10°C y posterior transferencia a 20°C. El asterisco indica diferencias del respectivo control a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD). 39

1. Resumen

El 1-MCP es un inhibidor de la acción del etileno recientemente desarrollado que ha mostrado buenos resultados en el retraso de la maduración en frutos climatéricos como el tomate. De todos modos, cuando los tratamientos se realizan en estados de maduración tempranos, su efecto es tan marcado que la utilización pierde sentido desde el punto de vista comercial. Por otra parte, cuando los frutos se tratan con una madurez muy avanzada, las respuestas observadas disminuyen. En este estudio, se evaluó si la aplicación de 1-MCP en tomates en estado de madurez rojo claro permitía mejorar el comportamiento poscosecha de los frutos durante el almacenamiento. Se trataron tomates rojos claros con 1-MCP ($1 \mu\text{L L}^{-1}$, 15 h a 20°C), se almacenaron a 20°C y se evaluaron la evolución del color, firmeza, azúcares, acidez y pérdida de peso. Los frutos tratados con 1-MCP mostraron menor ablandamiento y un retraso en la evolución del color, sin que se observaran alteraciones en los niveles de acidez o de azúcares ni en la deshidratación. Si bien el tratamiento provocó una disminución en la velocidad de maduración, ésta no se detuvo completamente. Los resultados sugieren que la aplicación de 1-MCP en tomates rojos claros resulta eficiente en el retraso de la maduración, sin provocar un efecto tal que impida que los frutos puedan comercializarse. Esto sería de utilidad en situaciones de distribución en las que el acceso a la refrigeración es limitada. Más allá de que resulte atractiva la idea de contar con productos que permitan mantener la calidad de los frutos almacenados a temperatura ambiente, un aspecto de gran importancia es evaluar si las nuevas tecnologías también resultan favorables en condiciones de refrigeración. Las hortalizas mínimamente procesadas deben almacenarse a baja temperatura y esto hace que los efectos positivos de muchos tratamientos de poscosecha se reduzcan o incluso desaparezcan en estas condiciones. A fin de evaluar esto para el 1-MCP, se cosecharon tomates en estado de madurez rojo claro, se trataron como se describió anteriormente, se trozaron en discos y se almacenaron a 4°C . Correspondientes controles sin tratamiento se almacenaron directamente a 4°C . Los frutos tratados mostraron menor ablandamiento, una reducción en la pérdida de peso y un leve retraso en la evolución del color, sin modificaciones indeseables en el contenido de antioxidantes, o acidez, por lo que la aplicación de 1-MCP puede ser de utilidad también en tomate procesado refrigerado. Finalmente, si bien el 1-MCP se ha evaluado principalmente en productos climatéricos, en los que el etileno juega un papel central en la regulación de la maduración, resulta posible que en frutos no climatéricos varios procesos asociados al deterioro estén influenciados por la acción de esta hormona. Las berenjenas (*Solanum melongena*) son frutos no climatéricos, cuya vida poscosecha suele estar limitada por la senescencia del cáliz, la deshidratación excesiva y el pardeamiento enzimático de la pulpa. A fin de analizar el efecto de tratamientos con 1-MCP en estos frutos, se cosecharon berenjenas violetas en estado de madurez comercial, se colocaron en un recipiente hermético en presencia de 1-MCP ($1 \mu\text{L L}^{-1}$, 15 h a 20°C), se almacenaron a 10°C y posteriormente se transfirieron a 20°C . Correspondientes controles sin tratamiento se almacenaron directamente a 10°C . Durante el almacenamiento se determinó el deterioro, color y contenido de clorofila del cáliz, la pérdida de peso, la actividad respiratoria, la firmeza, el color de pulpa, el contenido de azúcares, la acidez, el nivel de fenoles totales y la actividad de enzimas vinculadas al metabolismo fenólico (polifenol oxidasa, PPO; pirogalol peroxidasa, POD; y fenilalanina amonioliasa, PAL). Los tratamientos mantuvieron el color del cáliz y retrasaron su deterioro. Los frutos tratados conservaron mejor la firmeza y mostraron una tasa respiratoria más baja y una menor pérdida de peso. El pardeamiento enzimático de semillas y pulpa fue reducido en los frutos tratados con 1-MCP. Esto se asoció con una reducción en la acumulación de fenoles y una menor actividad PAL, una enzima crucial en su biosíntesis. Los frutos tratados presentaron también menor actividad de enzimas PPO y POD. El presente trabajo permitió analizar 2 aspectos de importancia desde el punto de vista tecnológico vinculados con el uso de 1-MCP en el manejo poscosecha de frutos de tomate. Por un lado, se concluyó que su utilización en frutos rojos claros resulta recomendable y que la realización de tratamientos en frutos destinados al posterior procesamiento y almacenamiento refrigerado muestra efectos favorables. El 1-MCP resulta útil además para mantener la calidad y extender la vida poscosecha de frutos de berenjena (no climatéricos) incrementando los efectos benéficos de la refrigeración.

Palabras clave: 1-metilciclopropeno, frutos climatéricos, frutos no-climatéricos, calidad, poscosecha, madurez, pardeamiento enzimático.

Abstract

1-MCP is a recently developed inhibitor of ethylene action, which has led to good results, as to delaying the ripening process of climacteric fruits such as tomatoes. However, when the treatments are performed at early developmental stages, fruit ripening is arrested, losing the applications feasibility from a commercial perspective. In addition, it has been shown that when 1-MCP is used at advanced ripening stages, the effects are reduced. In this study we evaluated whether or not 1-MCP treatments in light red tomatoes were useful to maintain fruit quality during storage. In order to do this, light red fruits were treated with 1-MCP ($1 \mu\text{L L}^{-1}$, 15 h at 20°C) and stored at 20°C and changes in color, firmness, sugars and acidity were followed. Treated-fruit showed delayed softening and reduced rate in surface color changes, suggesting that 1-MCP could be useful even at advanced ripening stages, maintaining tomato fruit quality. Results suggest that although the application of 1-MCP in light red fruit has lower effects than in less ripe fruit, it is still efficient in maintaining overall quality and reducing excessive softening, with the benefit of keeping the fruit in of commercial maturity conditions longer. This might be useful in situations in which access to low temperature storage is limited. Despite of being attractive to have products that could provide benefits when fruits and vegetables are stored at room temperature, it is important to evaluate those strategies under refrigerated storage commodities. Fresh cut produce should be maintained at low temperatures during retail and distribution. Unfortunately the benefits of several technologies observed in non refrigerated conditions disappear when low temperatures are used. In order to evaluate this in the case of 1-MCP, light red tomatoes were harvested, treated as previously described, cut in discs and stored at 4°C . Corresponding control tomatoes without 1-MCP treatment were held at 4°C . Treated fruits also kept firmer, exhibited reduced exudates and a slight delay in surface color development. This shows that 1-MCP might be also useful in processed and refrigerated fruit. Finally, although 1-MCP has been evaluated mostly in climacteric fruit, in which ethylene has a key role as to the regulation of ripening, it is possible that it could be beneficial to delay several processes associated with senescence and deterioration even in non-climacteric commodities. Eggplant, (*Solanum melongena* L) is a non climacteric fruit for which postharvest storage is usually limited by calyx senescence, excessive dehydration and pulp enzymatic browning. Purple eggplants (cv. Lucía) were harvested at commercial maturity, treated with 1-MCP ($1 \mu\text{L L}^{-1}$, 15 h at 20°C), stored at 10°C and subsequently transferred to 20°C . Corresponding control eggplants without treatment were stored directly at 10°C . During storage calyx deterioration, color chlorophyll content, weight loss, respiration, firmness, peel and pulp color, total phenolics, sugars and acidity and also the activity of enzymes related to phenylpropanoid metabolism (polyphenol oxidase, PPO; pyrogallol peroxidase, POD; and phenylalanine-ammonia lyase PAL) were evaluated. Treated-fruit calyx showed reduced damage and better color than in control fruit and had lower respiration and weight loss. Pulp enzymatic browning was prevented as a consequence of 1-MCP exposure. This was associated with lower accumulation of total phenolics and reduced activity of phenylalanine-ammonia lyase, a key enzyme in phenylpropanoid metabolism. Treated fruit also presented lower polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase activity (POD). Results suggest that 1-MCP proves beneficial when maintaining quality and extending the postharvest life of eggplant thus increasing the benefits of refrigeration.

Keywords: 1-methylcyclopropene, climacteric fruits, non-climacteric fruits, quality, postharvest, ripening stage, enzymatic browning.

2. Introducción

2.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL ETILENO Y PRODUCCIÓN EN FRUTAS Y HORTALIZAS

2.1.1. Breve historia del etileno y su función en plantas

El etileno es un compuesto producido en plantas y que juega un papel central en la regulación de numerosos procesos fisiológicos, como la epinastia, la formación de aerénquimas en plantas anegadas, la abscisión, la defensa ante patógenos y condiciones de estrés, la floración y diferenciación sexual de algunas especies, la senescencia y el control de la maduración de muchos frutos (Kader, 1985; Abeles *et al.*, 1992; Barry *et al.*, 2001). El etileno se ha utilizado para acelerar este último proceso por mucho tiempo (Saltveit, 1999). En India, en la antigüedad, la maduración de mango se promovía en atmósferas generadas por la combustión de paja (Kader, 2002). En la civilización China se quemaba incienso en sitios cerrados para favorecer la maduración de pera (Kader, 2002). Por su parte, los egipcios lo hacían en higo mediante incisiones en la piel. Tras la llegada de los colonizadores a América, bananas y cítricos comenzaron a ser cultivados. Luego de la cosecha y durante el transporte en barco, ambos frutos debían colocarse en bodegas diferentes, ya que si se almacenaban en forma conjunta las bananas se deterioraban antes de su llegada a Europa. Si bien en ese momento no se conocía la causa del problema observado, es probable que éste se debiera a la presencia de hongos del género *Penicillium* (comunes en los cítricos), capaces de producir etileno. Recién en 1901, un estudiante ruso llamado Dimitri Neljubow demostró que el etileno presente en combustibles utilizados en la iluminación de calles era el agente causal de respuestas fisiológicas de las plantas ubicadas en zonas aledañas a las luminarias. Desde entonces, se ha avanzado notablemente en la comprensión del papel central de esta hormona en diferentes procesos biológicos, así como en el desarrollo de estrategias para su uso y control a nivel comercial.

2.1.2. Bioquímica de la producción de etileno

A pesar de que la producción de etileno en vegetales se describió a comienzos del siglo XX, casi 8 décadas fueron necesarias para elucidar su ruta biosintética. Inicialmente se pensó que podía provenir de la degradación del ácido linolénico (Lieberman y Mapson 1962), pero posteriormente el mismo grupo de investigadores sugirió que el aminoácido metionina podía ser el precursor (Lieberman y Mapson, 1963). Adams y Yang (1979) demostraron que la metionina se convierte en S-adenosil metionina (SAM) y que luego es transformado a ácido 1-amino-ciclopropano-1-carboxílico (ACC) por acción de una enzima denominada ACC sintasa (**Figura 1**). El último paso en la producción de etileno involucra la transformación del ACC en etileno, reacción

catalizada por la enzima ACC oxidasa (**Figura 1**). El ACC puede ser conjugado a ACC, malonil-ACC (MACC) a través del enzima malonil transferasa (Mansour *et al.*, 1986).

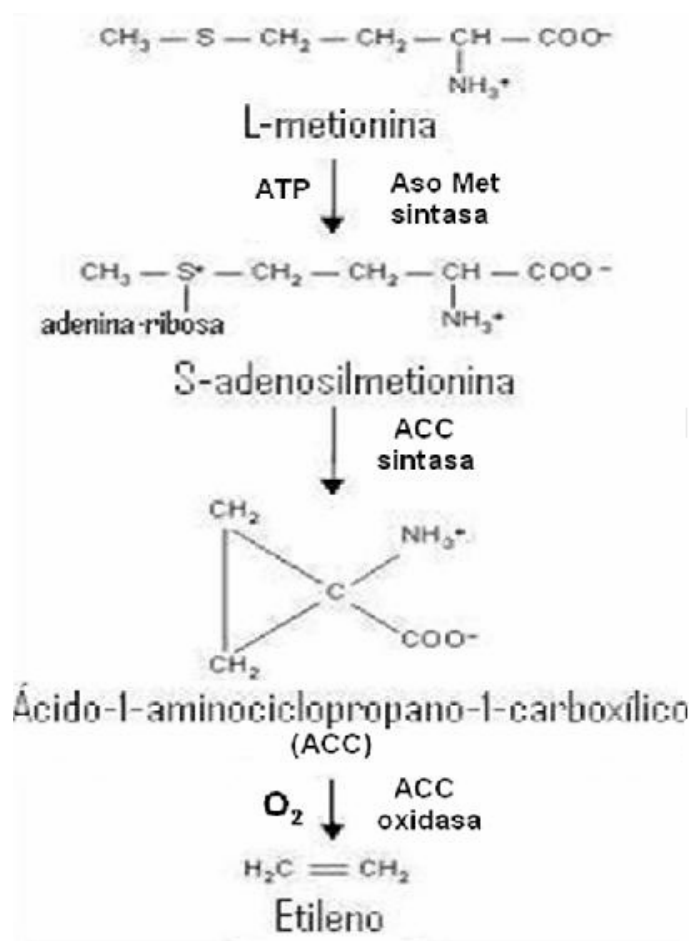


Figura 1: Ruta biosintética del etileno en vegetales.

2.1.3. Factores que afectan la producción de etileno

Un elevado número de factores intrínsecos afectan la biosíntesis del etileno. Algunos de ellos son:

a. Estado de madurez

En 1953 Biale *et al.* descubrieron que durante la maduración de ciertos frutos se detecta un incremento en la tasa respiratoria y en la producción de etileno, mientras que en otros la producción de C_2H_4 y CO_2 no muestra gran variación o bien disminuye. Basados en sus patrones de respiración y producción de etileno, los frutos del primer grupo se clasifican como climatéricos y los frutos del segundo como no-climatéricos. Dentro de los climatéricos podemos mencionar a la manzana, pera, durazno, ciruela, damasco, tomate y numerosos frutos de origen tropical (Kader, 2002). Por otra parte, dentro del grupo de los no climatéricos se incluyen a la uva, cereza, cítricos, pimiento, pepino y berenjena entre otros (**Tabla 1**). Más allá de la diferencia en el patrón de respiración y de producción de etileno entre los frutos climatéricos, y los no climatéricos, en los primeros este compuesto juega en términos generales un rol central en la regulación de la

maduración (Lelièvre *et al.*, 1997). Es importante mencionar que ambos grupos de frutos responden al etileno. En los frutos climatéricos la aplicación de etileno promueve la maduración (Lelièvre *et al.*, 1997). En los frutos no climatéricos, algunas modificaciones particulares (por ejemplo la degradación de clorofila) pueden acelerarse. La definición de climatéricos y no climatéricos hace referencia sólo al patrón de producción de CO₂ y etileno y no a los valores absolutos en los que se liberan. Así la respiración, por ejemplo, puede ser superior en algunos frutos no-climatéricos que en frutos climatéricos.

Tabla 1: Frutos climatéricos y no climatéricos (Kader, 2002).

Frutos climatéricos		Frutos no-climatéricos	
Arándano	Manzana	Ananá	Mandarina
Banana	Maracujá	Berenjena	Naranja
Chirimoya	Melón	Cereza	Níspero
Damasco	Palta	Dátil	Pepino
Durazno	Papaya	Frambuesa	Pimiento
Guayaba	Pelón	Frutilla	Pomelo
Kiwi	Pera	Granada	Tuna
Mango	Tomate	Limón	Uva

b. Producto

La producción de etileno varía entre 0,1 y 100 $\mu\text{L kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ dependiendo del producto (Kader, 2002). Frutos como frutillas, berenjenas y cerezas muestran una baja producción de etileno mientras que otros productos como las manzanas y algunos frutos de origen tropical sintetizan altos niveles del mismo (**Tabla 2**).

Tabla 2: Tasa de producción de etileno en diferentes frutos (Kader, 2002).

Producción de etileno ($\mu\text{L kg}^{-1} \text{h}^{-1}$)		Producto
Muy baja	<0,1	Cereza, dátíl, cítricos, pimientó.
Baja	0,1-1,0	Frutilla, melón, berenjena
Moderada	1,0-10	Plátano, melón, mango, ciruela, tomate.
Alta	10-100	Damasco, palta, guayaba, papaya, durazno, pera.
Muy alta	> 100	Manzana, maracujá

c. Temperatura

En el rango de 10 a 35°C la producción de etileno aumenta en forma exponencial conforme se incrementa la temperatura (Saltveit, 1999). A temperaturas más elevadas, las enzimas vinculadas a la producción de etileno pueden afectarse, y así, provocar una disminución de los niveles de este compuesto (Lurie, 1998). El descenso de la temperatura por debajo de 10°C disminuye la producción de etileno en frutos que no sufren daño por frío pero, en productos susceptibles a las bajas temperaturas, la incrementan (Concellón *et al.* 2005).

d. CO₂ y O₂

Las atmósferas enriquecidas en CO₂ y con bajo O₂ reducen la producción de etileno (Saltveit, 1999). Los niveles óptimos y la magnitud del efecto dependen del fruto considerado. En el caso del oxígeno, en general se requieren concentraciones inferiores a 5% para poder observar los efectos. El CO₂ a una concentración superior al 3% puede reducir la producción de etileno.

2.2. EFECTOS, USOS Y CONTROL DEL ETILENO EN PRODUCTOS FRUTI-HORTÍCOLAS

2.2.1. Efectos del etileno en frutas y hortalizas

En un contexto de almacenamiento y distribución de frutas y hortalizas el etileno es frecuentemente perjudicial. No obstante existen numerosas situaciones en las que el uso de este compuesto puede resultar beneficioso (Abeles *et al.*, 1992). A continuación se describen algunos de los cambios ocasionados por el etileno en vegetales:

a. Pigmentos

El etileno acelera la degradación de clorofila, induciendo el cambio de color de tejidos. Esto reduce la calidad de muchas hortalizas, como lechuga, espinaca, pepino y brócoli. En algunos casos como en la maduración de tomate, la degradación de clorofila puede ser deseable. En cítricos es común la aplicación de etileno para favorecer el “desverdizado” que mejora la calidad visual. En el apio, el etileno resulta favorable para acelerar el blanqueado de los pecíolos. Con respecto a los carotenoides y a las antocianinas en general el etileno promueve su acumulación. En ciertos casos, el aumento del contenido de pigmentos puede ocasionar cambios indeseables. En la ciruela, el sangrado, ocasionado por la acumulación de antocianinas en la pulpa, es exacerbado por el etileno (Manganaris *et al.*, 2008a).

b. Firmeza

Al acelerar la maduración, el etileno provoca un aumento de la tasa de ablandamiento (Saltveit, 1999). Esto se observa principalmente en frutos climatéricos y se asocia con la inducción de proteínas vinculadas a la degradación de la pared celular (Bennett y Labavitch, 2008). En otros productos, como la frutilla, el efecto del etileno sobre el ablandamiento es muy reducido. En los espárragos, la exposición al etileno incrementa la actividad peroxidasa y acelera la biosíntesis de lignina, reduciendo marcadamente la calidad del producto.

c. Pardeamiento enzimático

Otro cambio de color que se ha asociado con la acción del etileno es el pardeamiento enzimático. Este ocurre por acción de enzimas como polifenol-oxidasas y peroxidadas capaces de oxidar compuestos de naturaleza fenólica a quinonas que por posterior polimerización generan pigmentos de color marrón (Selvarajah *et al.*, 2001). Estas enzimas se encuentran ampliamente

distribuidas en la naturaleza y están involucradas además en la lignificación, suberización, catabolismo de auxinas, cicatrización de heridas y defensa contra patógenos. El etileno ha mostrado ser un inductor de algunas isoformas de estas enzimas, estimulando con ello el pardeamiento enzimático. Por otra parte, el etileno puede estimular la síntesis de compuestos fenólicos (López Galves *et al.*, 1996; Lafuente *et al.*, 2001). El pardeamiento enzimático es deseable en el secado de dátiles y en la elaboración de té, pero ocasiona comúnmente el deterioro de productos como banana, berenjena, hongos, lechuga y manzana (Kader, 2002).

d. Abscisión

Inicialmente se creyó que el ácido abscísico era responsable de la separación de diferentes órganos de las plantas, pero, con posterioridad se determinó que el etileno es una hormona central. Esto puede ser favorable para facilitar la cosecha de frutos o para realizar raleos químicos (Kader, 2002). La aplicación en nogal induce la separación de la semilla del fruto y simplifica la cosecha. En otros casos, la abscisión es negativa, como la separación de tomates del pedúnculo cuando se comercializan en racimo, o la pérdida de hojas basales en la coliflor.

e. Azúcares y acidez

Al promover la maduración, el etileno acelera los cambios en azúcares y ácidos que comúnmente acompañan este proceso (Saltveit, 1999). Durante el almacenamiento los ácidos pueden ser utilizados en la respiración. El etileno puede favorecer la hidrólisis de almidón con la consecuente acumulación de azúcares simples (Lelièvre *et al.*, 1997).

f. Cambios en los niveles de compuestos indeseables

El etileno acelera la acumulación de una isocumarina, llamada metoximeleína en zanahorias, que puede otorgar sabor amargo al producto (Kader, 2002). En el caqui, el etileno puede favorecer la polimerización de taninos reduciendo la astringencia.

g. Senescencia

En el almacenamiento de productos horti-frutícolas, la senescencia resulta indeseable. El etileno es precisamente uno de los factores que acelera la senescencia (Abeles *et al.*, 1992) y su remoción o la reducción de su acción puede incrementar la vida poscosecha.

h. Estimulación de la floración y expresión sexual

La floración en ananá puede estimularse con tratamientos con etileno. Los tratamientos permiten a su vez sincronizar la floración de los cultivos y con ella el momento de cosecha. En bulbos de *Iris* y *Narcissus sp* el etileno acelera la floración y en cucurbitáceas estimula la diferenciación de flores femeninas incrementando la producción (Wien, 1999).

i. Desarrollo de enfermedades

Al estimular la maduración y senescencia el etileno influye sobre el desarrollo de enfermedades (Mullins *et al.*, 2000; Lund *et al.*, 1998). En general, la susceptibilidad al ataque de patógenos se incrementa conforme progresa la maduración. Más allá del efecto del etileno sobre la susceptibilidad de los frutos, se ha demostrado que este compuesto puede además favorecer el crecimiento y esporulación de algunos hongos *Penicillium* y *Botrytis* (Díaz *et al.*, 2002; Saltveit, 1999).

j. Respiración

El etileno aumenta la tasa respiratoria de productos climatéricos y no climatéricos (Lelièvre *et al.*, 1997). Debido a que la tasa respiratoria muestra una correlación negativa con la vida poscosecha de las frutas y hortalizas, la remoción o el control del etileno durante el almacenamiento resulta deseable para reducir el deterioro (Kader, 2002).

k. Otros desórdenes

El etileno puede ser responsable de varios desórdenes fisiológicos durante la poscosecha (Kader, 1985). En la lechuga promueve la aparición de manchas pardas en las nervaduras (Kader, 2002). En la papa estimula la brotación y en manzanas la escaldadura superficial (ocasionada por la oxidación del α -farneseno). El daño por frío es un desorden fisiológico ocasionado por el almacenamiento a bajas temperaturas por períodos prolongados (Sevillano *et al.*, 2009). Los síntomas de daño varían según la especie e incluyen el incremento en la susceptibilidad a agentes patógenos, pardeamiento enzimático, maduración irregular, modificaciones texturales, etc. (Sevillano *et al.*, 2009). En ciertos casos se ha demostrado que el etileno se encuentra involucrado en la aparición de algunos síntomas de daño por frío y la utilización de inhibidores ha demostrado ser efectiva para su control. En la palta, la inhibición de la acción del etileno reduce la decoloración de la pulpa, mientras que en el ananá se traduce en un menor pardeamiento enzimático del corazón. Otro fruto en el que el etileno parece estar involucrado en el desarrollo del daño por frío es la ciruela. Contrariamente, en duraznos, el daño por frío se manifiesta por la presencia de una textura harinosa (Brummell *et al.*, 2004) y el etileno ha mostrado ser efectivo en la reducción del problema. (Lurie y Crisosto, 2005).

2.2.2. Utilización de etileno para la maduración de frutos

El etileno suele utilizarse para mejorar la calidad de los productos, ya que promueve la maduración más rápida y uniforme antes de la distribución para su comercialización (Saltveit, 1999). La concentración de etileno requerida para la maduración se ubica en el rango de 0,1 a 1 ppm. De todos modos, en forma práctica se suelen utilizar 20-100 ppm. La temperatura apropiada para la maduración de frutos con etileno es de 20°C (Kader, 2002). Para la banana se recomienda una temperatura algo menor para evitar modificaciones negativas en la textura. La duración de los

tratamientos en términos generales varía de 1 a 3 días. Resulta favorable el uso de circuladores de aire en las cámaras de maduración para permitir un contacto apropiado de los productos con el etileno (Saltveit, 1999). No obstante, el aumento de la velocidad del aire determina que la humedad relativa deba ser elevada (80-95%) para evitar que los productos se deshidraten. Es recomendable mantener el CO₂ por debajo del 1%. El etileno puede ser obtenido a partir de tubos en los que se encuentra presurizado. Si bien teóricamente pueden utilizarse cilindros contenedores de etileno puro, existen comercialmente mezclas de etileno con otros gases como CO₂ o N₂ para reducir el peligro de explosiones. Otra fuente de etileno son los generadores catalíticos que lo producen por deshidratación de alcohol etílico en presencia de diversos catalizadores. El ácido 2-cloroetil-fosfónico es un compuesto aprobado a nivel comercial para su uso en cultivo y poscosecha (Kader, 2002) que a pH superior a 5 se descompone liberando etileno.

2.2.3. Control de la producción de etileno

Las estrategias para proteger a los productos fruti-hortícolas contra el etileno pueden ubicarse dentro de tres grupos diferentes: evasión, remoción e inhibición

a. Evasión

El etileno ambiental puede ser producido tanto de forma biológica como no biológica. Las fuentes no biológicas pueden ser la combustión incompleta de hidrocarburos y la quema de desechos agrícolas (Kader, 2002). Las estrategias para evitar la producción biológica de etileno incluyen minimizar los golpes y el tiempo hasta la comercialización (Abeles *et al.*, 1992). La eliminación de restos de cosecha y frutos dañados en plantas de empaque y procesamiento es otra medida eficaz para minimizar las fuentes innecesarias de etileno (Saltveit, 1999). Otro aspecto importante es eliminar aquellos productos con infecciones. La combustión de máquinas utilizadas para el movimiento de mercadería en plantas de almacenamiento puede evitarse mediante la utilización de equipos eléctricos. Por otra parte, se debe evitar fumar ya que el humo del cigarrillo es una fuente de etileno. Desde el punto de vista del almacenamiento poscosecha, resulta importante evitar el almacenamiento de productos incompatibles (por ej. productos altamente sensibles al etileno pero que lo producen en baja proporción como la lechuga con productos con tasa elevada de producción de etileno como la manzana). Por último, se debe respetar el orden de ingreso y salida de la mercadería de modo que lo primero en ingresar sea también lo primero en salir a la venta (Kader, 2002).

b. Remoción

La eliminación de etileno de cámaras de almacenamiento se puede realizar mediante una ventilación apropiada (Saltveit, 1999). Otra alternativa es el uso de generadores de ozono para oxidar al etileno. Estos generadores mantienen bajos niveles de ozono (0,1 ppm) y pueden a su

vez ser utilizados para el control de microorganismos. En frutos envasados se pueden utilizar diferentes compuestos capaces de adsorber al etileno, como el carbón activado, bentonita, sílica gel, celite, vermiculita, perlita y óxidos de aluminio (Kader, 2002). En ciertos casos, los adsorbentes se combinan con otros compuestos capaces de oxidar el etileno. Así, por ejemplo se han utilizado carbón activado y otros adsorbentes impregnados con bromato, dicromato o permanganato de potasio. Los productos más comunes poseen un 4-6 % m/m de KMnO_4 . Para ser efectivos, los soportes deben presentar una elevada relación superficie-volumen. En la medida en que el permanganato se consume los adsorbentes toman color marrón por formación de dióxido de manganeso lo que permite estimar la capacidad remanente de eliminación.

c. Inhibición

La inhibición de la acción del etileno puede realizarse manipulando adecuadamente la atmósfera de almacenamiento, seleccionando variedades con poca sensibilidad o bien mediante el uso de químicos apropiados. La refrigeración más allá de disminuir la biosíntesis de etileno reduce la sensibilidad a este compuesto. Por lo tanto, es recomendable enfriar los productos rápidamente luego de la cosecha y almacenarlos a la temperatura apropiada (Abeles *et al.*, 1992). El CO_2 también es un inhibidor competitivo del etileno por lo que las atmósferas modificadas más allá de su rol sobre la tasa respiratoria y la producción de etileno pueden reducir su acción (Kader, 2002). La utilización de variedades apropiadas puede ser también una estrategia para evitar cambios indeseables ocasionados por el etileno. En tomate, existen materiales de tipo larga vida que se obtienen por cruzamientos con mutantes naturales *rin* y *nor* que más allá de su menor producción de etileno presentan menor sensibilidad a este compuesto. Otro genotipo de tomate que posee maduración detenida es el *never ripe*, que se encuentra precisamente mutado a nivel de uno de los receptores de etileno. Desde el punto de vista biotecnológico, se han obtenido materiales transgénicos con mutaciones a nivel de los receptores u otros genes en su cascada de señalización que presentan también sensibilidad reducida (Giovannoni, 2004). Si bien esto no se ha difundido aún a nivel comercial, representa una alternativa de interés. De todos modos, el bloqueo total de la sensibilidad al etileno en muchos productos es indeseable, ya que se espera que maduren normalmente. Por último, las estrategias químicas basadas en el uso de inhibidores de la acción del etileno se describen en la siguiente sección.

2.3. ACCIÓN DEL ETILENO

2.3.1. Vía de señalización

Históricamente los avances asociados con la identificación de inhibidores efectivos de la acción del etileno fueron más rápidos que aquellos aspectos básicos vinculados con la elucidación de la vía de señalización de esta hormona. Esta área ha sido motivo de numerosos estudios en los últimos años y ha podido avanzarse en forma rápida y sostenida (revisado en Kendrick y

Chang, 2008). El primer gen codificando para un receptor de etileno fue clonado en *Arabidopsis thaliana* (Kendrick y Chang, 2008). En la actualidad se conoce que el genoma de *Arabidopsis* presenta 5 receptores diferentes. En tomate se han identificado 6 genes que codifican para receptores de etileno que se agrupan en 2 familias. Los miembros de la familia I poseen 3 dominios transmembrana, presentan actividad histidina quinasa y parecen ser los más importantes en *Arabidopsis*. Por su parte los miembros de la familia II muestran 4 dominios transmembrana, actividad serina/treonina quinasa y en tomate han mostrado ser relevantes en la regulación de la maduración. Los receptores son homo- o heterodímeros y se localizan en el retículo endoplasmático. El sitio de unión del etileno se orienta hacia el lumen y posee un átomo de cobre necesario para su funcionalidad. Los receptores forman parte de un mecanismo que muestra similitud con los sistemas de 2 componentes de bacterias. Estos son los receptores propiamente dichos y una proteína denominada CTR (**C**onstitutive **T**riple **R**esponse). El modelo actual postula que en ausencia de etileno el sitio de unión del receptor se encuentra libre y la proteína CTR es activa, inhibiendo finalmente (en una vía que posee otros intermediarios) la expresión de genes asociados a la maduración. Cuando el etileno se une a los receptores, la inactivación del dominio quinasa de CTR permite que la señalización corriente abajo continúe y que, factores de transcripción de respuesta al etileno activen genes asociados con la maduración (ej: con la secuencia de consenso GCC en sus promotores). Otro aspecto de gran interés que se ha descrito en los últimos años es que una vez que el etileno se asocia con los receptores, la estabilidad de los mismos disminuye acelerándose su degradación (Kevany *et al.*, 2007). De hecho en tomate se ha demostrado que el etileno acelera la degradación de los receptores y con ello probablemente el ritmo de maduración (Kevany *et al.*, 2007). Se ha identificado y caracterizado otra proteína denominada RTE1 (**R**everision **T**o **E**thylene 1) que regula la sensibilidad del etileno al afectar a los receptores (Hirayama *et al.*, 1999; Wang *et al.*, 2006; Dong *et al.*, 2008). En tomate *GR* (Green Ripe) es un ortólogo de *RTE1* cuya expresión constitutiva resulta en insensibilidad al etileno y en frutos que permanecen verdes (Barry y Giovannoni, 2006).

Si bien se ha avanzado notablemente, sería aún necesario determinar la función de los diferentes miembros de la familia de receptores y los mecanismos de funcionamiento. Esto podría contribuir a comprender mejor la regulación del etileno, y poder modificar en el futuro la sensibilidad a esta hormona mediante estrategias biotecnológicas.

2.3.2. Inhibidores de la acción del etileno

a. Tiosulfato de plata

A mediados de la década del '70 Beyer en DuPont descubrió que los iones plata en bajas concentraciones podían inhibir la acción del etileno (Beyer, 1976). Se considera que la plata reemplazaría al cobre en el receptor de etileno afectando su función. Muchas sales de plata son poco solubles en agua, como el AgNO_3 , que ha mostrado baja movilidad en el sistema vascular

pudiendo ocasionar el manchado de pétalos de flores (Halevy y Kofranek, 1976). Veen y Van de Geijn (1978) hallaron que el tiosulfato de plata era estable y podía movilizarse más fácilmente en el xilema. A pesar de esto, la aplicación de este compuesto se limita a flores debido a que por su toxicidad no se puede utilizar en alimentos.

b. Norbornadieno y diazociclopentadieno

El 2,5-norbornadieno posee la ventaja de ser más específico que la plata, pero para ejercer su acción, se requiere la exposición continua y por otra parte posee olor desagradable, lo que representa desventajas para su uso comercial (Robbins *et al.*, 1985; Sisler y Serek, 1999). Por su parte el diazociclopentadieno es otro inhibidor pero también con uso comercial restringido debido a que cuando se concentra es explosivo y que para ser efectivo, debe someterse a la luz. Hoy se conoce que la radiación provoca la descomposición del DACP produciendo ciclopropanos que son los compuestos con capacidad inhibitoria.

c. 1-MCP

El 1-MCP es un reactivo de naturaleza orgánica, capaz de inhibir la acción del etileno (Sisler y Serek, 1999; 2003). Al bloquear los receptores de etileno, el 1-MCP protege tanto de la acción del etileno endógeno como exógeno (Sisler, 2006). Al retrasar los procesos senescentes y algunos desórdenes fisiológicos de los vegetales, se prolonga la vida útil de los productos y se facilita el almacenamiento, transporte y comercialización (Pessis *et al.*, 2002; Calvo y Sozzi, 2004; Candán *et al.*, 2006; Selvarajah *et al.*, 2001; Manganaris *et al.*, 2007). Una de las ventajas que ofrece este producto es que es efectivo a muy bajas concentraciones, para las que no se han observado riesgos elevados de toxicidad en humanos y animales. Sólo a altas e inusuales concentraciones, podría ocasionar efectos nocivos. El 1-MCP se comercializa en forma de polvo y su nombre comercial es SmartFresh®. El principio activo se encuentra asociado en la formulación a una matriz de γ -ciclodextrina, pero se libera en forma gaseosa tras la disolución del polvo con agua (Blankenship y Dole, 2003). Dicha liberación toma en condiciones normales entre 20 y 30 min. Las concentraciones que se han utilizado son variables, pero en general se ubican entre 0,1 y 1 $\mu\text{L L}^{-1}$. A fin de realizar las aplicaciones, los productos se confinan en una atmósfera donde se libera el 1-MCP por 12 a 24 h. Con respecto a la temperatura de aplicación se han realizado tratamientos exitosos en el rango de 4 a 20°C. Los efectos hallados dependen del producto considerado, de la variedad y del estado de madurez. En general, se ha evaluado su aplicación en frutos climatéricos en los que el etileno posee un rol fundamental regulando la maduración. Con respecto a la influencia del estado de madurez es claramente mayor el efecto observado cuando las aplicaciones se realizan en estados tempranos. En la medida que los tratamientos se retrasan, hay un consecuente menor efecto debido a numerosos procesos vinculados a la maduración que ya se han iniciado (Watkins, 2006). En aplicaciones muy tempranas, la detención de la maduración puede ser tan marcada que pierde sentido la aplicación desde una perspectiva

comercial debido a que los productos requieren excesivo tiempo para alcanzar la madurez óptima de consumo.

2.4. PRODUCCIÓN HORTÍCOLA EN LA REGIÓN PLATENSE

La producción de hortalizas posee importancia en primer término como proveedora de alimentos. En algunos casos (cebolla, ajo) debido a la exportación, constituye una fuente de divisas para el país. Asimismo, la actividad genera un alto número de fuentes de trabajo. Más allá de algunos casos, en los que se observa una regionalización en la producción, la obtención de hortalizas dada su elevada perecibilidad y baja relación precio:volumen se ubica en las cercanías de centros densamente poblados. Este es el caso del Cinturón Hortícola de La Plata, caracterizado por una producción de hortalizas muy importante, destinada principalmente a abastecer al núcleo de consumidores del conurbano Bonaerense y Ciudad Autónoma de Buenos Aires que representa más de un 20% de la población nacional (CHFBA, 2005). Si bien la producción en nuestra región incluye una canasta variada, se obtienen mayoritariamente hortalizas de fruto. Dos productos de importancia dentro de estos son tomate y berenjena que junto con pimiento representan las dos terceras partes del volumen de producción (CHFBA 2005).

2.5. MANEJO POSCOSECHA DE TOMATE Y BERENJENA

2.5.1. Características generales de calidad y manejo poscosecha de tomate

En términos de volumen de producción, el tomate es uno de los principales productos hortícolas en nuestro país luego de la papa. La Región Hortícola de la Plata posee importancia en la producción de tomates con destino principalmente a consumo fresco. La calidad de tomate involucra diferentes atributos tales como la uniformidad de tamaño, forma y color. Asimismo la superficie debe ser de apariencia lisa, y no presentar grietas, escaldaduras, pudriciones, daño por insectos o golpes. Los frutos pueden cosecharse en diferentes estados de desarrollo dependiendo de la estrategia comercial. El estado de madurez mínimo de cosecha se denomina “verde maduro” en el cual los frutos han finalizado su crecimiento y presentan color superficial verde, pero al cortarlos muestran al menos 1 lóculo con gel desarrollado. Los frutos cosechados en este estado de desarrollo pueden completar normalmente su maduración fuera de la planta. La cosecha temprana permite una mayor flexibilidad en poscosecha, pero implica un tiempo necesario para que los frutos avancen hasta el período apto para consumo. Por el contrario, la realización de la cosecha en estados más avanzados permite ofrecer productos listos para su consumo pero con una menor vida de estante. Al tomate larga vida es recomendable cosecharlo en estado rojo maduro.

Los frutos de tomate se caracterizan por presentar una tasa respiratoria moderada. Como se mencionó anteriormente, este parámetro está directamente relacionado con la vida poscosecha de las frutas y hortalizas y es fuertemente influenciado por la temperatura (**Tabla 3**). Uno de los

factores que limita la vida poscosecha de tomate es el ablandamiento excesivo (Cantú *et al.*, 2008). Esto determina una menor aceptabilidad por parte de los consumidores e incrementa la susceptibilidad a patógenos como *Alternaria*, *Botrytis*, y *Rhizopus* o *Geotrichum*. Dado que la refrigeración afecta la tasa de maduración a la velocidad de desarrollo de microorganismos, se recomienda enfriar rápidamente los frutos luego de la cosecha. En tomates esto puede realizarse en forma eficiente por aire forzado, aunque por lo común no se cuenta con las instalaciones necesarias. Posteriormente, resulta recomendable realizar el almacenamiento y distribución en forma refrigerada. Si bien algunos productores y distribuidores cuentan con cámaras de refrigeración en general no se observa una distribución de este producto con cadena de frío.

Tabla 3: Tasa de respiración de tomate en función de la temperatura de almacenamiento (Cantwell y Suslow, 2009).

Temperatura (°C)	Tasa respiratoria (mL CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)
10	6-9
15	8-14
20	14-20
25	18-26

El almacenamiento de tomate a baja temperatura debe realizarse con precaución ya que los frutos son susceptibles al daño por frío. Este desorden se manifiesta comúnmente por la aparición de zonas decoloradas en la superficie de los frutos, la maduración irregular y el incremento de la susceptibilidad a *Alternaria alternata* (Sevillano *et al.*, 2009). Dado que la sensibilidad a este desorden es mayor para frutos verde maduros, en ese estado, los tomates se deben almacenar entre 12 y 14°C. Los frutos rojos maduros pueden almacenarse entre 7 y 10°C por varios días, pero sin refrigeración presentan una vida de estante de 3 a 4 días. Las atmósferas modificadas y controladas no son altamente beneficiosas en tomate, pero niveles de 3% de O₂ y 0-3% de CO₂ provocan algunas mejoras. Concentraciones más elevadas de CO₂ o más bajos que 1% de O₂ pueden ocasionar daños. Con respecto a la influencia del etileno en estos frutos se trata de productos climatéricos con una producción de etileno moderada, que puede reducirse marcadamente mediante la refrigeración (**Tabla 4**).

Tabla 4: Tasa de producción de etileno en tomate en función de la temperatura de almacenamiento (Cantwell y Suslow, 2009).

Temperatura (°C)	Tasa de producción de etileno (μL kg ⁻¹ h ⁻¹)
10	1,2 – 1,5
20	4,3 – 4,9

En algunos casos la aplicación de etileno resulta de utilidad para acelerar la maduración o para homogeneizar lotes con diferentes estados de desarrollo. En algunas ocasiones, resulta necesario por el contrario intentar reducir la producción o acción del etileno. El cuidadoso

manipuleo evitando los golpes y eliminando frutos dañados es una práctica sencilla y efectiva para evitar la exposición a fuentes de etileno innecesarias. Como se mencionó anteriormente, la refrigeración es una práctica que logra este cometido ya que reduce tanto la producción como la sensibilidad al etileno. Otra forma de reducir la acción del etileno es mediante la utilización de inhibidores como el 1-MCP. Si bien ya existen trabajos que muestran que el producto es efectivo para retrasar la maduración de tomate, resulta importante avanzar a fin de analizar algunos aspectos puntuales vinculados con los momentos de aplicación y con la eficacia en casos en los que existan posibilidades de almacenamiento refrigerado.

2.5.2. Características generales de calidad y manejo poscosecha de berenjena

Las berenjenas (*Solanum melongena*) son frutos pertenecientes, al igual que tomate, a la familia de las Solanáceas. Se producen más de 1,8 millones de hectáreas a nivel mundial (FAO, 2009). Existen diferentes tipos tales como la berenjena americana, de tamaño medio a grande, de forma globosa y poco alargada; y la japonesa, con frutos más pequeños y alargados, de color púrpura claro a oscuro (**Figura 2**). Las berenjenas más comúnmente encontradas son las violetas, aunque también se encuentran variedades blancas, negras y púrpuras o de colores mezclados, sobre todo blanco, morado y verde.

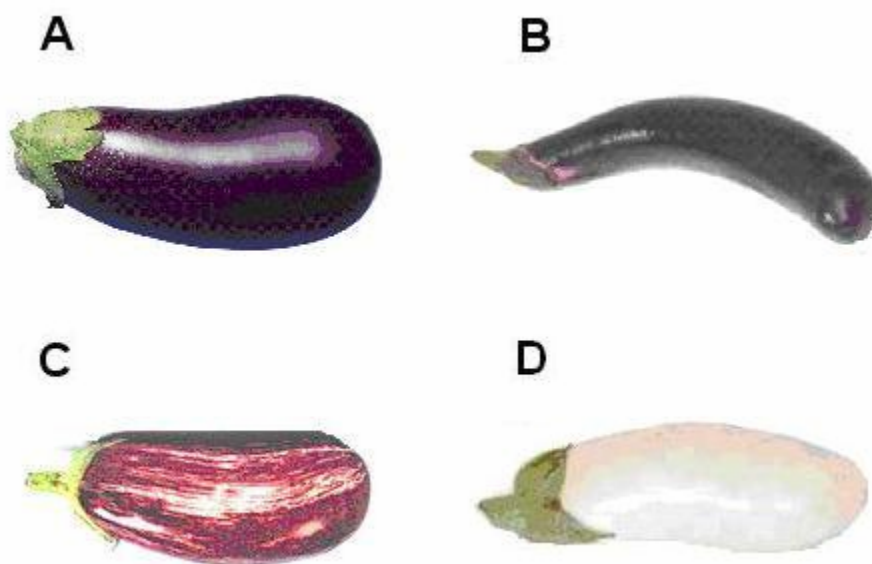


Figura 2: Diferentes tipos de berenjena A) americana violeta, B) japonesa violeta, C) americana rayada y D) americana blanca.

La berenjena americana es claramente la más cultivada, posee menor tasa respiratoria que la japonesa y es menos perecedera que ésta (**Tabla 5**).

Tabla 5: Tasa de respiración de distintos tipos de berenjena a 12,5°C (Cantwell y Suslow, 2009).

Tipo	Tasa respiratoria (mL CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)
Americana	30-39
Japonesa	62-69

Dependiendo del cultivo y principalmente de la temperatura y del estado de desarrollo de cosecha, el tiempo desde la floración hasta la obtención del producto puede variar de 25 a 45 días (Esteban *et al.*, 1989). Generalmente, los frutos se cosechan inmaduros antes que las semillas comiencen a alargarse y endurecerse significativamente. La cosecha tardía redundaría en frutos amargos, más fibrosos, con semillas muy grandes y con menor calidad (Esteban *et al.*, 1989). En general, los atributos de calidad de berenjena incluyen: tamaño medio, forma típica de la variedad, buena firmeza, color uniforme en las violetas, sin manchas u otros defectos, brillo superficial, con cáliz turgente y verde intenso y sin pardeamiento enzimático de pulpa o semillas apreciable al corte (Cantwell y Suslow, 2009). Las condiciones óptimas de almacenamiento de berenjena son 10°C y una humedad relativa 90-95%. En estas condiciones, los frutos pueden tener una vida de unas 2 semanas. El daño por frío ocurre a temperaturas inferiores a los 10°C y puede ocasionar un incremento en las pudriciones y la formación de depresiones en la piel que posteriormente forman escaldaduras, siendo la zona del fruto cercana al cáliz la más sensible. Internamente, el daño por frío resulta en un acelerado pardeamiento enzimático de pulpa y semillas (Nothmann, 1986). La berenjena japonesa es más susceptible al daño por frío que la americana aunque algunos trabajos han mostrado resultados opuestos (Molinar *et al.*, 1996). El almacenamiento y/o distribución de frutos en atmósferas controladas o modificadas es moderadamente beneficioso. Bajos niveles de O₂ (3-5%) y concentraciones de CO₂ de 10% retrasan el deterioro de las berenjenas durante algunos días (Cantwell y Suslow, 2009). Un problema importante en la poscosecha de los frutos es la pérdida de peso. Esta se manifiesta por una reducción del brillo superficial, la presencia de arrugas en la piel, pulpa esponjosa, y marchitamiento del cáliz. El enfriamiento por aire forzado y el almacenamiento refrigerado permiten minimizar la deshidratación. Como complemento resulta posible utilizar películas plásticas (Fallik *et al.*, 1995). Otros dos procesos que contribuyen al deterioro de los frutos son la senescencia del cáliz y el pardeamiento enzimático de semillas y pulpa, que si bien ocurren más acusadamente en condiciones de daño por frío también se manifiestan cuando los frutos se almacenan por períodos prolongados. La producción de etileno en berenjena es de baja a moderada (0,1 a 0,7 $\mu\text{L kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a 20°C) y no se observan grandes cambios durante el desarrollo

(Cantwell y Suslow, 2009). Si bien se considera que esta hormona no es crucial en la regulación de la maduración, es posible que varios de los procesos mencionados como causales de deterioro (senescencia, pardeamiento enzimático) estén vinculados en forma directa o indirecta a la acción del etileno.

2.6. UTILIZACIÓN DE 1-MCP EN EL MANEJO POSCOSECHA DE HORTALIZAS

Lejos de ser sólo un producto que ha mostrado buenos resultados a escala experimental, el 1-MCP ha avanzado con éxito por etapas de desarrollo y se ha comenzado a utilizar a nivel comercial (Blankenship y Dole, 2003). El producto se ha aplicado en palta, manzana, pera, tomate, ciruela, flores, entre otros. En nuestro país se utiliza en manzana y pera para retrasar la velocidad de maduración, y para reducir la incidencia y severidad de algunos desórdenes fisiológicos como la escaldadura superficial. También se encuentra aprobado su uso en tomate. En general, se recomienda realizar la aplicación de 1-MCP en forma temprana, de manera que el efecto sea más marcado (CASAFE, 2007). De todos modos, los tratamientos en frutos verdes maduros resultan en una inhibición tan marcada de la maduración que se pierde el sentido tecnológico (**Figura 3**).

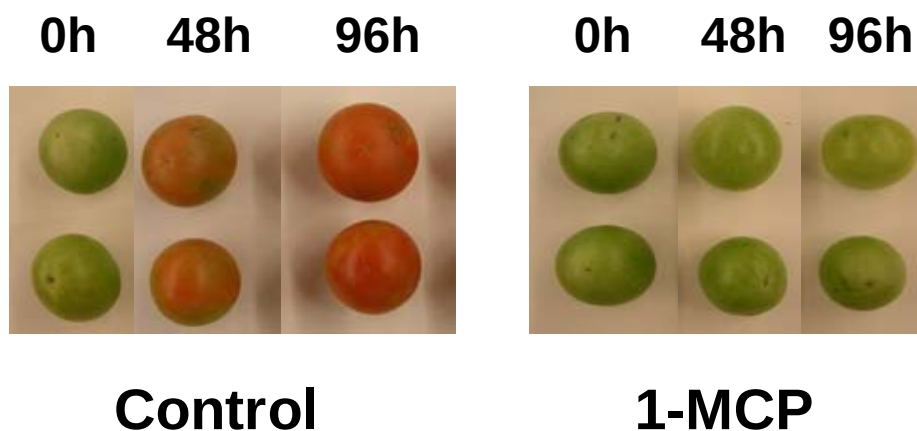


Figura 3: Apariencia de frutos de tomates control y tratados con 1-MCP en estado de madurez verde maduro almacenados a 20°C por 96 h.

Con aplicaciones muy tardías es esperable observar menores efectos, a punto tal que en frutos excesivamente maduros no se observen beneficios (Watkins, 2006). Desde el punto de vista tecnológico resulta de interés responder a la pregunta *¿es de utilidad el uso de 1-MCP en tomates en estado de maduración avanzado de modo de obtener frutos que mantengan mejor la calidad, sin que esto resulte en un efecto tan marcado que dificulte su comercialización y/o consumo?*

Más allá de la búsqueda de tratamientos de poscosecha alternativos, se describió que el almacenamiento de frutas y hortalizas a baja temperatura es la práctica más comúnmente recomendada. De todos modos, en muchos casos, debido a la falta de condiciones apropiadas, y

a la escasez de instalaciones frigoríficas y transportes térmicos, la distribución de frutas y hortalizas enteras se realiza a temperatura ambiente. Diferente es la situación en los productos mínimamente procesados en los que la comercialización a baja temperatura no puede evitarse. Esto es debido a que el daño mecánico durante el procesamiento libera el contenido celular que constituye una fuente de nutrientes que favorece marcadamente el desarrollo microbiano. Por otra parte, el corte incrementa la producción de etileno lo que puede acelerar el deterioro y la velocidad de maduración. Finalmente, debido a que los productos mínimamente procesados son envasados con películas plásticas para permitir condiciones de almacenamiento apropiadas durante la refrigeración, el aumento de la temperatura de almacenamiento puede resultar en la generación de atmósferas con muy bajo nivel de oxígeno o en una elevada acumulación de CO₂ que dañe a los productos. *Resultaría de interés evaluar si la aplicación de 1-MCP en estos productos permite incrementar los beneficios de la refrigeración. Esto es, verificar si la inhibición de la acción del etileno en condiciones de almacenamiento refrigerado logra un retraso más marcado de la maduración y senescencia de los mismos respecto de controles solamente refrigerados.*

Finalmente, los estudios sobre el efecto del 1-MCP en hortalizas no climatéricas han sido muy limitados. De hecho, en nuestro país, se encuentra inscripto para su aplicación en ciruela, manzana pera y tomate, todos productos climatéricos. Esto es esperable ya que el etileno es de vital importancia para la maduración de los frutos mencionados, pero de todos modos, no debe pasarse por alto que el mismo puede ser un importante regulador de procesos de deterioro en todos los productos, sean estos climatéricos o no. Como se mencionó anteriormente, la berenjena es un fruto no climatérico cuyo volumen de producción en el Cinturón Hortícola de la Plata es apreciable. Cuando los frutos son almacenados a temperatura ambiente, los principales factores que determinan la rápida merma de calidad son la deshidratación, la pérdida de firmeza y finalmente el desarrollo microbiano. De todos modos, es posible que en condiciones de refrigeración, el pardeamiento enzimático y senescencia pasen a ser aspectos limitantes en la capacidad de almacenamiento. Es conocido que el etileno acelera la senescencia, por lo tanto, podría pensarse que en condiciones de refrigeración el uso de 1-MCP podría resultar beneficioso. Por otra parte, se ha descrito en algunos sistemas que el etileno puede incrementar la acumulación de enzimas que pueden oxidar fenoles como polifenol oxidasa y/o peroxidasa. En función de esto, en situaciones en las que el pardeamiento enzimático esté limitado por la síntesis *de novo* de enzimas, más que en la posibilidad cierta de reaccionar de sustratos preexistentes por compartimentalización celular, es posible pensar que el bloqueo de la acción del etileno podría indirectamente redundar en un retraso del pardeamiento enzimático. *Por lo tanto, se decidió estudiar el efecto de tratamientos con 1-MCP sobre el deterioro y metabolismo fenólico en frutos no climatéricos como berenjena.*

3.Objetivos

- 1. Analizar la efectividad del 1-MCP en frutos de tomate en estado de madurez avanzado y en frutos trozados refrigerados.***
- 2. Evaluar el efecto de tratamientos con 1-MCP sobre la calidad, vida poscosecha y metabolismo fenólico en berenjena.***

4. Materiales y métodos

4.1. EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE TRATAMIENTOS CON 1-MCP EN TOMATE EN ESTADO DE MADUREZ AVANZADO (ROJO CLARO) ALMACENADO A 20°C

4.1.1. Material vegetal, tratamientos y almacenamiento

Se cosecharon tomates (*Solanum lycopersicum* L.) producidos en el Cinturón Hortícola de La Plata en estado de madurez rojo claro. Los frutos se trasladaron inmediatamente al laboratorio y se dividieron en 2 grupos: a) controles y b) tratados con 1-MCP. El tratamiento con 1-MCP se realizó colocando este producto (en forma sólida) y los frutos en un recipiente hermético. Luego, se agregó la cantidad de agua necesaria para provocar la liberación del gas. El producto comercial (Smart-Fresh®) se utilizó conforme a las especificaciones del fabricante para lograr una concentración de $1 \mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP. Luego de 15 h de tratamiento los frutos se colocaron en bandejas plásticas cubiertas con PVC y se almacenaron a 20°C por 3 ó 7 d. Los frutos control se colocaron en bandejas plásticas y se llevaron directamente a 20°C. Al inicio del experimento y durante el período de almacenamiento se tomaron muestras que se analizaron en fresco o se congelaron en N₂ líquido y conservaron a -20°C. Sobre tejido fresco y/o congelado se realizaron las siguientes determinaciones:

4.1.2. Pérdida de peso

Los frutos se pesaron en una balanza granataria al comienzo del experimento, y durante el almacenamiento a 20°C. Los resultados se expresaron como porcentaje de pérdida de peso.

4.1.3. Color superficial

El color superficial se determinó con un colorímetro (Modelo CR-400, Minolta, Osaka, Japón). Se obtuvieron los valores L*, a* y b* y a partir de éstos se calculó el ángulo hue (arco tangente b*/a*). Se analizaron 20 frutos para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento. Se realizaron 2 determinaciones por fruto en la zona ecuatorial.

4.1.4. Firmeza

Se utilizó un equipo Texture Analyzer (TA.XT2, Stable Micro Systems Texture Technologies, Scarsdale, NY USA), equipado con una sonda plana de 8 mm de diámetro. Los

frutos se deformaron mediante un ensayo de penetración (6 mm) a una velocidad de $0,5 \text{ mm s}^{-1}$ y se registró la fuerza máxima efectuada durante el ensayo. Se analizaron 20 frutos para cada tratamiento y se realizaron 3 mediciones en la zona ecuatorial del pericarpio.

4.1.5. Azúcares y acidez

Se procesaron muestras congeladas con N_2 líquido en un molinillo. Se tomó una porción de 1 g y se extrajeron los azúcares solubles con 5 mL de etanol 96% v/v 96% v/v. Los tubos se agitaron en vortex y se centrifugaron (10 min a $17.000 \times g$ a 4°C). Se colectaron los sobrenadantes y se llevaron a 100 mL con agua. Para la determinación de azúcares se utilizó el método descrito por Yemm y Willis, (1954). Se tomaron 50 μL de extracto y se adicionaron 450 μL de agua. Luego se agregó 1 mL de antrona (2 g de antrona por litro de H_2SO_4 98% m/m), se llevó a ebullición por 10 min, se enfrió y se determinó la absorbancia a 620 nm. Se realizó una curva de calibración utilizando glucosa como patrón ($200 \mu\text{g mL}^{-1}$). Los resultados se expresaron en gramos de glucosa por cada 1000 g de fruto fresco. Para la determinación de acidez los frutos congelados en N_2 se procesaron en un molinillo y 10 g del polvo obtenido se colocaron en un vaso de precipitado. Se adicionaron 100 mL de agua y se determinó el pH. La acidez se determinó titulando con NaOH de normalidad conocida hasta pH 8,2 (AOAC, 1980). Los resultados se expresaron como meq. H^+ por kg de fruto.

4.2. EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE TRATAMIENTOS CON 1-MCP EN TOMATE TROZADO ALMACENADO A 4°C

4.2.1. Material vegetal, tratamientos y almacenamiento

Los frutos se lavaron con NaClO 200 ppm y se trataron con 1-MCP como se describió en la sección 4.1. Finalizado el tratamiento, los frutos se cortaron en discos de aproximadamente 1 cm de espesor, se colocaron en bandejas plásticas, apilados (conservando la forma original del fruto), se cubrieron con PVC y se almacenaron a 4°C por 6 u 8 d. Los frutos control se procesaron, empacaron y llevaron directamente al almacenamiento refrigerado. Durante el almacenamiento se tomaron muestras que se analizaron en fresco o se congelaron en N_2 líquido y se conservaron a -20°C . Sobre tejido fresco y/o congelado se realizaron las determinaciones que se describen a continuación.

4.2.2. Pérdida de peso, color superficial, azúcares y acidez

Las determinaciones se realizaron como se describió en la sección 4.1. Para la determinación de pérdida de peso antes de realizar la pesada se eliminó el exudado presente en las bandejas.

4.2.3. Firmeza

Se utilizó un equipo Texture Analyzer (TA.XT2, Stable Micro Systems Texture Technologies, Scarsdale, NY USA), equipado con una sonda plana de 3 mm de diámetro. Las rodajas se deformaron mediante un ensayo de penetración (2 mm) a una velocidad de $0,5 \text{ mm s}^{-1}$ y se registró la fuerza máxima efectuada durante el ensayo. Se realizaron 50 determinaciones para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento analizado.

4.2.4. Capacidad antioxidante con DPPH[•]

La capacidad para neutralizar radicales libres de los frutos se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Brand-Williams *et al.* (1995). Se empleó un molinillo para triturar el tejido congelado, luego se tomaron 4 g del polvo obtenido y se le adicionaron 4 mL de etanol 96% v/v. Los tubos se agitaron en vortex y se centrifugaron a $17.000 \times g$ por 10 min a 4°C . Se tomó el sobrenadante y se hizo una dilución 1:2 en agua. Alícuotas de dicho extracto (150, 300, 450, 600 μL) y agua en cantidad necesaria para llegar a 600 μL se adicionaron a tubos conteniendo 400 μL de 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH[•]) $0,025 \text{ g L}^{-1}$ en etanol 96% v/v. Se midió la absorbancia a 515 nm a diferentes tiempos en un espectrofotómetro (Modelo UV-Mini 1240, Shimadzu, Columbia, MD, USA) hasta que no se observaron cambios, de manera de hallar el tiempo de lectura para las posteriores determinaciones. Luego se trabajó de igual manera para el análisis de las muestras. Se graficó el porcentaje de DPPH[•] remanente contra el volumen de extracto adicionado y se determinó la cantidad de tejido necesaria para reducir la concentración de DPPH[•] en un 50%, la que se definió como EC_{50} . Las determinaciones se realizaron por triplicado. El poder antioxidante se expresó como $\text{EC}_{50}^{-1} (\text{g}^{-1})$.

4.2.5. Capacidad antioxidante con ABTS^{•+}

Los extractos de los frutos se prepararon agregando 4 g de tomate congelado en N_2 líquido y triturado en molinillo a 4 mL de etanol 96% v/v. Posteriormente la suspensión se centrifugó por 10 min a $17.000 \times g$ y a 4°C y se utilizó el sobrenadante para la determinación. La solución de ABTS^{•+} se preparó por reacción de ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-[3-etilbenzotiazolina]-6-sulfónico) 7 mM con persulfato de potasio 2,45mM. Luego de mantenerse en oscuridad por 16 h se obtuvo la solución del radical. Esta solución se diluyó luego con etanol 96% v/v hasta una absorbancia de $0,70 \pm 0,02$ a 734 nm. La determinación se realizó adicionando 10 μL de extracto etanólico de los frutos a 1 mL de solución de ABTS^{•+} y se midió la absorbancia a 734 nm a tiempo 0 y luego de 6 min. Se verificó además que la absorbancia no cambiara marcadamente a mayores tiempos y se realizaron los correspondientes blancos sin extracto, para verificar la estabilidad de la solución de ABTS^{•+}. Se realizaron 2 extractos por tratamiento y tiempo de almacenamiento analizado y las determinaciones se hicieron por duplicado. Los resultados se expresaron en porcentaje de consumo del ABTS^{•+} por microgramo de tejido.

4.3. EFECTO DE TRATAMIENTOS CON 1-MCP SOBRE LA CALIDAD DE BERENJENAS REFRIGERADAS

4.3.1. Material vegetal, tratamientos y almacenamiento

Se cosecharon berenjenas (*Solanum melongena* L) violetas cv Lucía, se trasladaron al laboratorio y se dividieron en 2 grupos: a) controles y b) tratadas con 1-MCP. El tratamiento con 1-MCP se realizó colocando los frutos en un recipiente hermético. El producto comercial (Smart-Fresh®) se pesó, se colocó dentro del recipiente y se adicionó agua para provocar la liberación del principio activo y lograr una concentración de $1 \mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP. Luego de 15 h los frutos se colocaron en bandejas plásticas cubiertas con PVC y se almacenaron a 10°C por 21 d. Finalizado este período se transfirieron a 20°C por 2 d. Los frutos control se colocaron en bandejas plásticas que se cubrieron con PVC y se llevaron directamente al almacenamiento refrigerado. Durante el almacenamiento se analizaron los frutos en fresco o bien se tomaron muestras de cáliz o pulpa que se congelaron en N₂ líquido y se conservaron a -20°C. Se realizaron las siguientes determinaciones:

4.3.2 Daño de cáliz y pérdida de peso

El daño de los frutos se evaluó determinando el área porcentual de cáliz afectada. La pérdida de peso se determinó pesando los frutos individuales durante el almacenamiento. Para ello, se tomaron 20 frutos para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento analizado. Los resultados se expresaron como porcentaje.

4.3.3. Color de cáliz, piel y pulpa, clorofila, acidez y azúcares

El color superficial de cáliz, piel y pulpa se evaluó con un colorímetro (Minolta, Modelo CR-400, Osaka, Japón) midiendo los parámetros L*, a* y b*. Se analizaron 20 frutos y se realizaron 2 determinaciones por fruto en cada zona mencionada, para cada tiempo de almacenamiento y tratamiento analizado. El contenido de clorofila del cáliz se determinó según Lichtenthaler (1987), utilizando una mezcla de acetona/agua 80:20 para la extracción. Las determinaciones de azúcares y acidez se realizaron como se describió en la sección 4.1 tomando alícuotas apropiadas (15 g de tejido procesado para acidez y 50 μL de extracto etanólico para determinación de azúcares).

4.3.4. Actividad respiratoria

La medida se efectuó dentro de la cámara de almacenamiento a 10°C. Los frutos se colocaron en un recipiente hermético y se incubaron por 30 min. La producción de dióxido de carbono se determinó utilizando un sensor IR (Compu-flow, Modelo 8650, ALNOR CA, USA). Se

calculó la actividad respiratoria a partir del volumen del recipiente, masa de los frutos, tiempo de incubación y acumulación de CO₂ y los resultados se expresaron como mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

4.3.5. Fenoles totales

Aproximadamente 2 g de pulpa de los frutos congelados en N₂ líquido y triturados en un molinillo se extrajeron con 6 mL de etanol 96% v/v. La mezcla se homogeneizó y centrifugó a 17.000 x g por 10 min a 4°C. Se tomó el sobrenadante y se llevó a 100 mL con agua destilada. Se adicionaron 400 µL de cada extracto a 800 µL de agua y 200 µL de reactivo Folin-Ciocalteu 1N. Luego de 3 min a temperatura ambiente se adicionaron 1,6 mL de solución de Na₂CO₃ 2% (m/v) en NaOH 0,1N y se agitó en vortex. La mezcla de reacción se incubó por 1 h y se midió la absorbancia a 760 nm. Se prepararon dos extractos para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento analizado y los mismos se analizaron por duplicado. Se midió la absorbancia a 760 nm y se calculó el contenido de compuestos fenólicos utilizando fenol como estándar. El contenido de fenoles totales se expresó como mg de fenol por kg de fruto fresco.

4.3.6. Actividades enzimáticas

a. Actividad fenilalanina amonioliasa (PAL; EC 4.3.1.5)

Aproximadamente 3 g de pulpa de los frutos congelada y triturada en un molinillo se homogeneizaron en un vortex con 10 mL de buffer Na₂B₄O₇·10H₂O 0,1 M, pH 8,8; mercaptoetanol 50 mM, EDTA 2 mM, polivinilpolipirrolidona (PVPP) 30 g L⁻¹. La suspensión se centrifugó a 19.000 x g por 15 min, a 2°C y el sobrenadante se dializó en buffer Na₂B₄O₇·10H₂O 0,1 M (pH 8,8) utilizando una membrana con un corte de 6-8 kDa. La mezcla de reacción se preparó del siguiente modo: 2,2 mL de buffer Na₂B₄O₇·10H₂O 0,03 M de pH 8,8, 500 µL de L-fenilalanina 0,01 M y 300 µL de extracto enzimático. La mezcla se incubó a 35°C y la actividad se determinó espectrofotométricamente a 290 nm a través del incremento en la absorbancia ocasionado por la producción de ácido trans-cinámico. Se prepararon dos extractos para cada tratamiento y para cada tiempo de almacenamiento analizado y las determinaciones se realizaron por triplicado. Los resultados se expresaron como el cambio en la densidad óptica (ΔDO) en una hora bajo las condiciones del ensayo, por kilogramo de fruto.

b. Actividad pirogalol peroxidasa (POD; EC 1.11.1.7)

Aproximadamente 5 g de pulpa de los frutos previamente congelada y triturada se homogeneizaron por 2 min en un vortex con 20 mL de buffer Na₂HPO₄ 0,02 M, NaH₂PO₄ 0,03 M pH 6,5; conteniendo PVPP 10 g L⁻¹, PMSF 1mM, NaCl

1M. La suspensión se centrifugó a $19.000 \times g$ por 15 min, a 2°C y el sobrenadante se utilizó para ensayar la actividad pirogalol peroxidasa. La mezcla de reacción se preparó del siguiente modo: buffer fosfato 50 mM pH 6,5; 300 μL de H_2O_2 8 mM, 200 μL de pirogalol 45 mM y 50 μL de extracto en un volumen total de 3 mL. La mezcla se incubó a 25°C y la actividad se determinó espectrofotométricamente a 430 nm. Se prepararon dos extractos para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento y las determinaciones se realizaron por triplicado. Los resultados se expresaron como el cambio en la densidad óptica (ΔDO) en un segundo bajo las condiciones del ensayo, por kilogramo de fruto.

c. Actividad polifenol oxidasa (PPO; EC 1.10.3.1)

Aproximadamente 5 g de pulpa de los frutos previamente congelada y triturada se homogeneizaron por 2 min en un vortex con 20 mL de buffer Na_2HPO_4 0,02 M, NaH_2PO_4 0,03 M, pH 6,5, conteniendo PVPP 10 g L^{-1} y Tritón-X100 0,1% (v/v). La suspensión se centrifugó a $19.000 \times g$ por 15 min a 2°C y el sobrenadante se utilizó para ensayar la actividad polifenol oxidasa. La mezcla de reacción se preparó del siguiente modo: buffer fosfato 100 mM pH 6,5; 1000 μL de pirocatecol 20 mM, y 50 μL de extracto en un volumen total de 3 mL. Se prepararon dos extractos para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento y las determinaciones se realizaron por triplicado. La actividad se determinó espectrofotométricamente a 410 nm. Los resultados se expresaron como el cambio en la densidad óptica (ΔDO) en un segundo bajo las condiciones del ensayo, por kilogramo de fruto.

4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los experimentos se realizaron de acuerdo a un diseño factorial. Los datos se analizaron por medio de un ANOVA empleando el software SYSTAT (Systat Software, Inc. Chicago, IL, USA) y las medias se compararon con el test de LSD a fin de determinar las diferencias mínimas significativas a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$.

5. Resultados y discusión

5.1. EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE TRATAMIENTOS CON 1-MCP EN TOMATE EN ESTADO DE MADUREZ AVANZADO (ROJO CLARO) ALMACENADO A 20°C

Desde su aparición el 1-MCP ha sido evaluado en frutas, hortalizas y flores. Inicialmente el producto se utilizó con éxito en el retraso de la senescencia de flores bajo el nombre comercial EthylBlock®. Con posterioridad se observaron efectos favorables en el control de la velocidad de maduración y en la disminución de algunos desórdenes fisiológicos en frutas y hortalizas (Calvo y Sozzi, 2004; Yuan y Carbaugh, 2007, Manganaris *et al.*, 2008a). Actualmente en Estados Unidos el 1-MCP se encuentra aprobado para su utilización en un alto número de productos y en la Argentina se ha registrado en manzana, pera, ciruela y tomate (CASAFE, 2007). Los trabajos científicos realizados hasta la fecha en tomate muestran que los tratamientos con 1-MCP permiten retrasar marcadamente la maduración (Mostolfi *et al.*, 2003; Wills y Ku, 2002, Krammes *et al.*, 2003). Si bien el grado de retraso observado depende de las condiciones del tratamiento (Watkins, 2006), el estado de desarrollo en el que este se realiza parece ser crucial. Así, por ejemplo en tomate, la realización de tratamientos en estado verde maduro o virado resultó en la aparición de podredumbres y síntomas de deshidratación antes de completar la maduración, lo que es indeseable desde el punto de vista tecnológico (Hurr *et al.*, 2005). Debido a que el uso de 1-MCP en forma exitosa requeriría un retraso, pero no una inhibición irreversible en la biosíntesis de pigmentos y de otros cambios asociados a la maduración normal, en el presente trabajo se realizaron los tratamientos en un estado rojo claro a fin de evaluar si resultaba posible lograr efectos beneficiosos, como consecuencia de minimizar la acción del etileno, pero sin que esto redundara en un alto grado de inhibición de la maduración. Los frutos tratados con 1-MCP mostraron un menor desarrollo de color luego de 3 días de almacenamiento a 20°C (**Figura 4A**). A fin de realizar determinaciones objetivas, se siguió el cambio en el ángulo hue conforme los frutos se mantuvieron a 20°C. Al inicio del almacenamiento no se encontraron diferencias entre los frutos control y tratados. No obstante, luego de 3 d a 20°C los frutos tratados con 1-MCP evidenciaron un menor descenso del valor de hue indicando un menor desarrollo de color rojo superficial (**Figura 4B**). Posteriormente los frutos tratados continuaron su evolución en el color y luego de 7 d a 20°C no se encontraron diferencias entre frutos controles y tratados con 1-MCP. Mostofi *et al.* (2003) también hallaron que el uso de 1-MCP retrasó el desarrollo de color en tomate. De todos modos, a diferencia de lo encontrado en nuestro trabajo para frutos rojo claros, estos autores

describieron que el uso de 1-MCP en frutos verdes maduros ocasionó un retraso irreversible en el desarrollo de color que a su vez ocurrió en forma desacoplada con el ablandamiento.

El 1-MCP ha mostrado ser efectivo en la reducción del ablandamiento en diversos frutos (Watkins, 2006). Como se describió anteriormente, en general resulta de utilidad la búsqueda de tecnologías que permitan retrasar, pero no inhibir el ablandamiento de los frutos. En nuestro trabajo se observó que los tratamientos con 1-MCP permitieron retrasar la pérdida de firmeza (**Figura 4C**). De todos modos, el ablandamiento de los frutos tratados con 1-MCP continuó durante el almacenamiento y luego de 7 d a 20°C no difirieron significativamente en el nivel de firmeza respecto al observado en los frutos control.

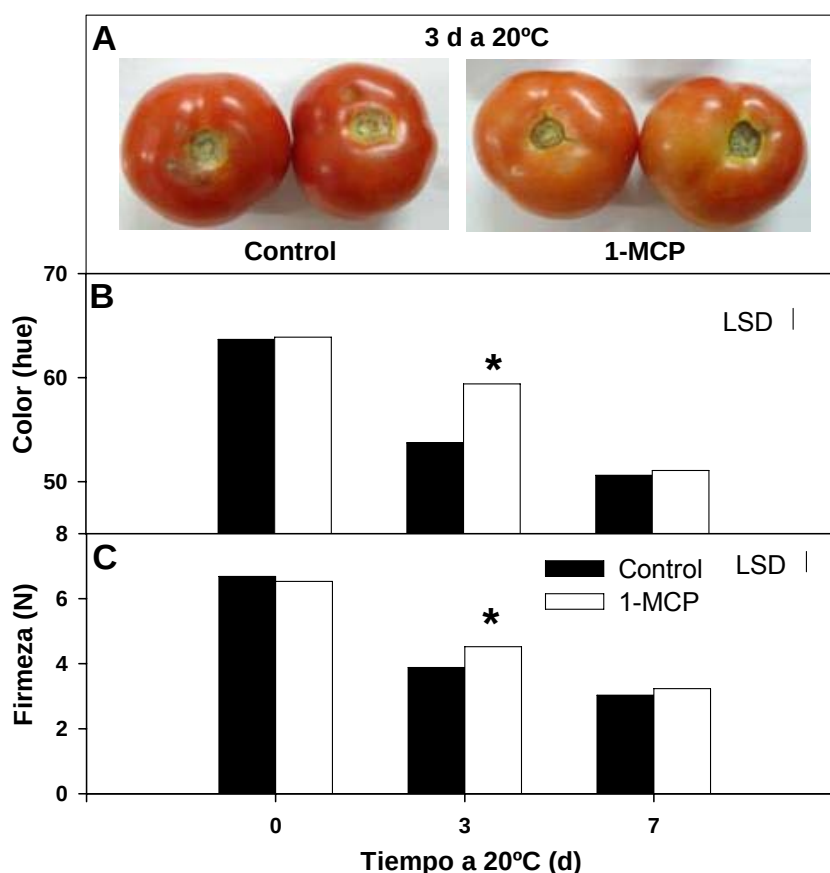


Figura 4: A) Apariencia, B) color superficial (hue) y C) firmeza de tomate cosechado en estado rojo claro, control y tratados con 1-MCP, y almacenados a 20°C. El asterisco indica diferencias del respectivo control a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD).

El ablandamiento de frutos se encuentra vinculado con la degradación de las paredes celulares como consecuencia de la acción de diversas proteínas capaces de clivar los polisacáridos parietales, o bien alterar las interacciones entre estos (Vicente *et al.*, 2007). Estudios bioquímicos muestran que la acumulación de ciertas proteínas de degradación de pared celular como por ejemplo poligalacturonasas y expansinas en tomate se incrementa durante la maduración y se encuentra positivamente regulada por el etileno (Rose *et al.*, 2000; Giovannoni 2001 y 2004). La reducción temporaria en el ablandamiento observada en los frutos tratados con 1-MCP podría estar asociada con un retraso en la expresión de estas proteínas. En diversos

frutos se ha encontrado que el 1-MCP reduce la acumulación de proteínas asociadas al metabolismo de pared celular (Watkins, 2006). Los mayores niveles de firmeza hallados en los frutos tratados podrían redundar en una menor susceptibilidad al ataque de patógenos oportunistas de poscosecha como *Botrytis cinerea*, que se desarrollan más fácilmente en tejidos en los que el desensamblaje de pared ha progresado en forma más marcada (Cantu *et al.*, 2008).

Con respecto a otros atributos vinculados al sabor de los frutos se observó que la acidez se redujo conforme avanzó el tiempo de almacenamiento. Si bien esta tendencia se visualizó tanto en frutos control como tratados, la pérdida de acidez durante el almacenamiento fue menor en los frutos sometidos al tratamiento con 1-MCP (**Tabla 6**). Los azúcares no mostraron diferencias significativas entre frutos control y tratados (**Tabla 6**). Por último, la deshidratación se incrementó conforme avanzó el tiempo de almacenamiento y aunque se observó una tendencia de los frutos tratados a perder menos peso estas diferencias no fueron significativas (**Tabla 6**).

Tabla 6: Acidez, azúcares y pérdida de peso en tomates enteros control y tratados con 1-MCP durante el almacenamiento a 20°C. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD) a un nivel de significancia de $\alpha=0,05$.

Tratamiento		Tiempo a 20°C (d)			LSD
		0	3	7	
Acidez (meq. H ⁺ kg ⁻¹)	Control	68,2	62,5	50,0	6,2
	1-MCP	67,0	65,6	59,4	
Azúcares (g kg ⁻¹)	Control	32	31	34	4,2
	1-MCP	34	34	30	
Pérdida de peso (%)	Control	0	ND	2,36	0,72
	1-MCP	0	ND	1,69	

En síntesis, si bien los efectos de los tratamientos con 1-MCP en estado de madurez rojo claro resultan menores que aquellos observados en frutos menos maduros, permiten retrasar transitoriamente el ablandamiento y el desarrollo de color superficial, con el beneficio de mantener a los frutos en un estado en el que pueden ser comercializados y consumidos durante una semana contra 3 días de los frutos control a 20°C.

5.2. EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE TRATAMIENTOS CON 1-MCP EN TOMATE TROZADO ALMACENADO A 4°C

Un segundo aspecto que se decidió explorar es si en tomates mínimamente procesados refrigerados, aún podían observarse beneficios como consecuencia de tratamientos con 1-MCP. El procesamiento consistió en la eliminación del pedúnculo de los frutos, el lavado con hipoclorito 200 mg L⁻¹ y posteriormente el trozado en discos de 1 cm de espesor de manera de obtener un producto cuyo destino podría ser, por ejemplo, servicios de preparación y distribución de pizzas o hamburguesas. La **Figura 5** muestra el efecto del 1-MCP sobre el color, la firmeza y la pérdida de peso de tomate trozado. Los frutos tratados presentaron también en este caso, al igual que en frutos enteros, un retraso en la evolución del color (**Figura 5A**). El ablandamiento continuó durante

el almacenamiento, pero ocurrió más lentamente en los frutos tratados con 1-MCP antes del procesado (**Figura 5B**). Luego de 8 d a 4°C los frutos tratados mantuvieron una firmeza 50% superior a los frutos control. La pérdida de peso por deshidratación y exudado luego de 6 d de almacenamiento también fue menor en los frutos tratados con 1-MCP, pero posteriormente no se encontraron diferencias (**Figura 5C**). Tanto la disminución en el desarrollo de color como el menor ablandamiento en los frutos tratados pueden comprenderse, ya que es conocido que el etileno acelera esos procesos. La reducción de pérdida de peso en los frutos tratados podría asociarse con una menor degradación de los tejidos lo cual podría aumentar la resistencia al flujo de vapor de agua desde los frutos al medio y con una menor exudación.

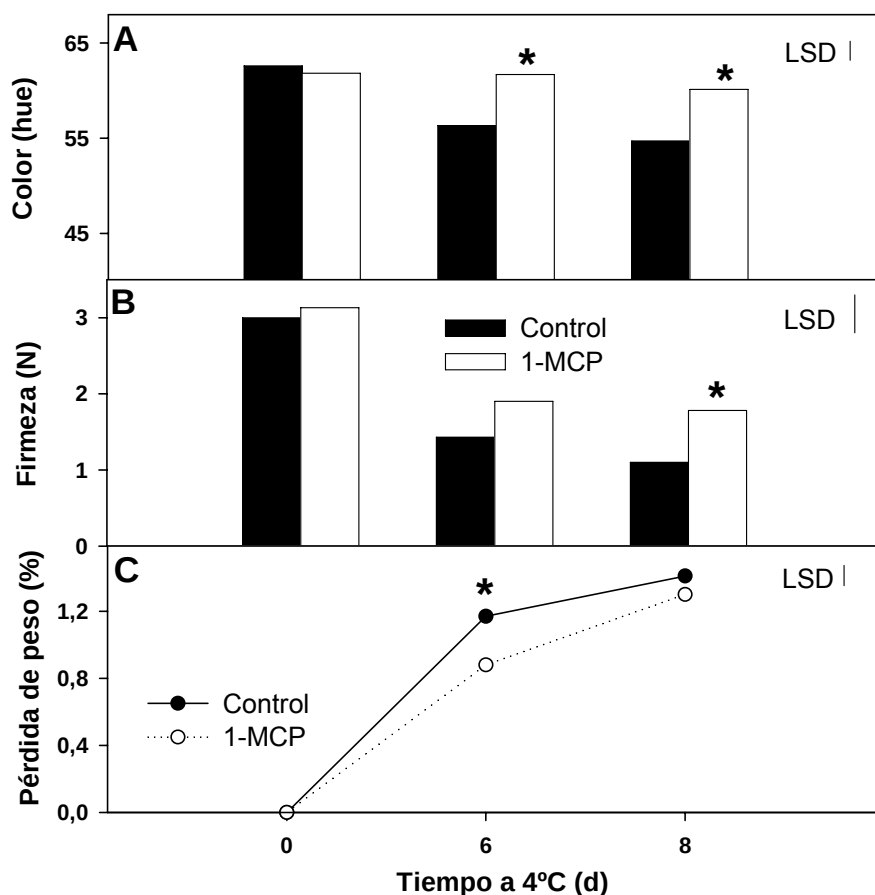


Figura 5: A) Color superficial (hue), B) firmeza y C) pérdida de peso en tomates rojo claros control y tratados con 1-MCP, trozados y almacenados a 4°C por 8 d. El asterisco indica diferencias del respectivo control a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD).

Finalmente, el nivel de azúcares no mostró variaciones (**Tabla 7**). Por otra parte, los frutos tratados no presentaron alteraciones en la acidez o en el contenido de antioxidantes totales medidos a partir de la reacción de los extractos etanólicos de los frutos con los radicales ABTS^{•+} o DPPH[•] (**Tabla 7**).

Tabla 7: Azúcares, acidez y capacidad antioxidante por los métodos de DPPH[•] y ABTS^{•+} en tomates control y tratados con 1-MCP y trozados durante el almacenamiento a 4°C. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD) a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$.

Tratamiento			Tiempo a 4°C (d)		LSD
		0	6	8	
Acidez (meq H ⁺ kg ⁻¹)	Control	27,4	30,4	24,9	7,4
	1-MCP	27,7	32,9	28,0	
Azúcares (g kg ⁻¹)	Control	22,3	23,5	24,6	5,8
	1-MCP	19,5	19,5	22,9	
Antioxidantes DPPH [•] (g ⁻¹)	Control	18,2	20,2	18,7	3,6
	1-MCP	19,0	18,8	17,7	
Antioxidantes ABTS ^{••} (% de consumo de ABTS ^{••})	Control	22,2	24,4	27,4	3,5
	1-MCP	20,7	26,1	25,9	

En la evaluación de nuevos tratamientos de poscosecha resulta crucial analizar si permitirán mejorar los beneficios de la principal tecnología disponible. En productos mínimamente procesados, determina que la distribución deba realizarse a bajas temperaturas, por lo que la búsqueda de estrategias complementarias a la refrigeración toma eminente sentido práctico. Los resultados hallados en nuestro estudio, muestran que la realización de tratamientos con 1-MCP más allá de ser positiva en frutos enteros no refrigerados, permite mantener la calidad de frutos de tomate procesados e incrementar los beneficios de la refrigeración. Además de reducir las respuestas ocasionadas por el etileno normalmente producido durante la maduración de tomate, es conocido que el daño mecánico provoca un incremento transitorio en la producción de este compuesto. Es posible que la realización de pre-tratamientos con 1-MCP permita evitar o al menos minimizar los efectos asociados con el incremento del nivel de etileno como consecuencia del corte.

5.3. EFECTO DE TRATAMIENTOS CON 1-MCP SOBRE LA CALIDAD DE BERENJENAS REFRIGERADAS

5.3.1. Deterioro y senescencia del cáliz

El 1-MCP ha sido estudiado con bastante detalle en productos climatéricos (Blankenship y Dole, 2003; Watkins, 2006). Inclusive, los 4 productos para los que se encuentra aprobado su uso en nuestro país pertenecen a este grupo, y sólo unos pocos trabajos han analizado su efecto en productos no climatéricos (Jiang *et al.*, 2001; Selverajah *et al.*, 2001). Esto probablemente se debe a aspectos económicos y de mercado y a que es esperable un efecto más marcado de la aplicación de un inhibidor de la acción del etileno en frutos en los que esta hormona posea un rol fundamental en la maduración. De todos modos, debe tenerse en cuenta que el etileno participa en muchos procesos que pueden asociarse con el deterioro de los productos, más allá de la maduración, como la senescencia y abscisión, entre otros. Por lo tanto, en productos en los que los factores que limitan la capacidad de almacenamiento poscosecha estén directa o indirectamente asociados con el etileno, la utilización de 1-MCP podría retrasar el deterioro, sean los frutos climatéricos o no. Consecuentemente, se decidió evaluar el efecto del 1-MCP sobre la calidad de berenjenas refrigeradas. Dado que estos frutos son sensibles al daño por frío, se realizó el almacenamiento a 10°C, temperatura a la cual la vida poscosecha es máxima (Esteban

et al., 1989; Molinar *et al.*, 1996). Cuando los frutos de berenjena se almacenan a temperatura ambiente, en general la deshidratación, el ablandamiento excesivo y eventualmente el desarrollo de microorganismos, resultan ser los factores determinantes del deterioro, que ocurren antes que se observe una decoloración apreciable en el cáliz. De todos modos, cuando los frutos se almacenaron a baja temperatura, la senescencia y el deterioro del cáliz fueron los primeros síntomas de pérdida de calidad que se visualizaron. El daño en el cáliz comenzó en forma incipiente en los extremos, luego de 1 semana de almacenamiento y se manifestó inicialmente como marchitamiento. Posteriormente, el daño fue generalizándose, observándose en una primera etapa la decoloración y pardeamiento enzimático de los tejidos y al final del almacenamiento el desarrollo de hongos (**Figura 6A**). El daño en el cáliz fue marcadamente menor en los frutos tratados con 1-MCP, que mantuvieron color verde más intenso. Si bien al final del almacenamiento la senescencia del cáliz también se manifestó en forma incipiente en los frutos tratados, la severidad de la misma (expresada como % de área dañada por fruto) fue significativamente menor a la de los frutos control (**Figura 6B**). El cambio de color del cáliz durante el almacenamiento se evaluó en forma objetiva a partir de la medición de la luminosidad (L^*) y el tono de color (hue). Inicialmente no se encontraron diferencias en la luminosidad entre frutos controles y tratados. Luego de 21 días a 10°C, los frutos tratados no mostraron variaciones respecto al valor inicial, mientras que en los frutos control se observó una marcada reducción, indicando un oscurecimiento (pardeamiento enzimático) del cáliz (**Figura 7A**). El hue de los frutos control también disminuyó conforme avanzó el tiempo de almacenamiento, cambiando de los tonos verdes hacia los más amarillentos o pardos. Los frutos tratados mostraron luego de 21 días a 10°C y 2 d a 20°C valores de hue superiores a los observados en los frutos control (**Figura 7B**).

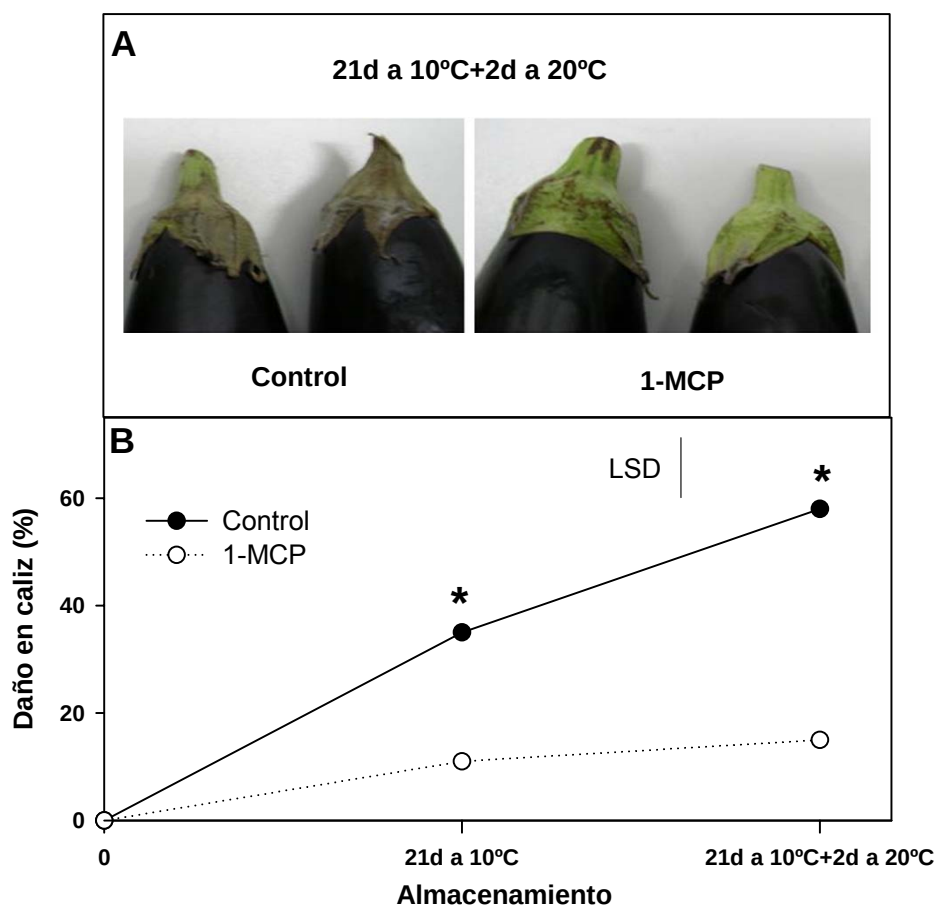


Figura 6: A) Apariencia y B) daño de cáliz en berenjenas control y tratadas con 1-MCP durante el almacenamiento a 10°C por 21 días y posterior transferencia a 20°C por 2 días. El asterisco indica diferencias del respectivo control a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD).

Finalmente se determinó el contenido de clorofila del cáliz, que se redujo durante el almacenamiento tanto en los frutos control como tratados. Si bien los frutos tratados con 1-MCP mostraron una velocidad de degradación algo menor, las diferencias no fueron significativas (**Figura 7C**). Por lo tanto, los resultados sugieren que el principal cambio en el color fue el pardeamiento enzimático del cáliz que ocurrió en forma más marcada en los frutos tratados con 1-MCP. Los tratamientos fueron por lo tanto eficaces para retrasar el deterioro y la senescencia del cáliz de los frutos. El tratamiento de berenjenas con soluciones de Sanosil-25 (un desinfectante que contiene peróxido de hidrógeno y plata como estabilizante) 0,5% permitió reducir el ataque microbiano (Fallik, *et al.*, 1994). Si bien los autores atribuyeron el efecto principalmente al peróxido de hidrógeno, resulta interesante que los iones plata son inhibidores de la acción del etileno en muy baja concentración y parte de la reducción del daño podría haberse debido a un retraso de la senescencia del cáliz al minimizar la acción de la hormona, como se observó en nuestro trabajo.

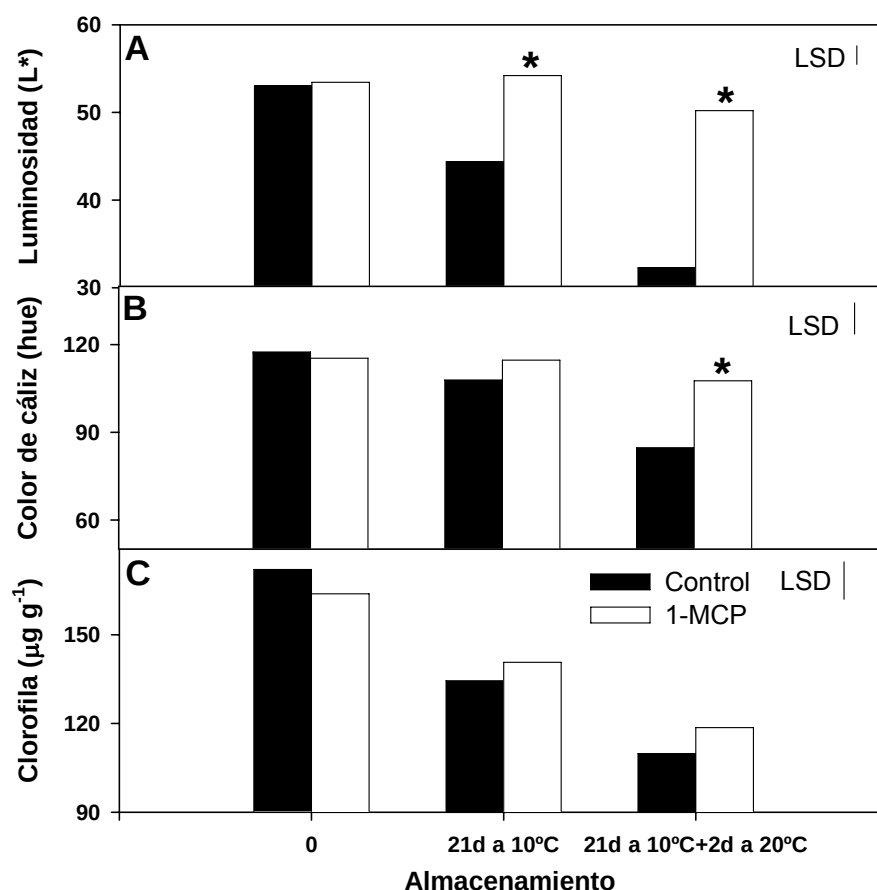


Figura 7: A) Luminosidad (L*), B) color (hue) y C) contenido de clorofila en el cáliz de berenjenas control y tratadas con 1-MCP durante el almacenamiento a 10°C y posterior transferencia a 20°C. . El asterisco indica diferencias del respectivo control a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD) a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$.

5.3.2. Deshidratación, ablandamiento, tasa respiratoria, azúcares y acidez

Durante los primeros días de almacenamiento se determinó la actividad respiratoria de los frutos. Luego de 5 d a 10°C los frutos tratados con 1-MCP mostraron menor tasa respiratoria que los frutos control (**Figura 8B**). Con respecto a la apariencia general, inicialmente se observó que las berenjenas tratadas mantuvieron mayor brillo que las controles. Jha *et al.*, (2002) hallaron una correlación positiva y lineal entre la deshidratación de berenjenas y la pérdida de brillo superficial. Posteriormente, cuando el almacenamiento se prolongó por 21 d y luego se transfirieron los frutos a 20°C por 2 d, los frutos control presentaron claros síntomas de deshidratación (**Figura 8A**), que no se manifestaron en los frutos tratados con 1-MCP.

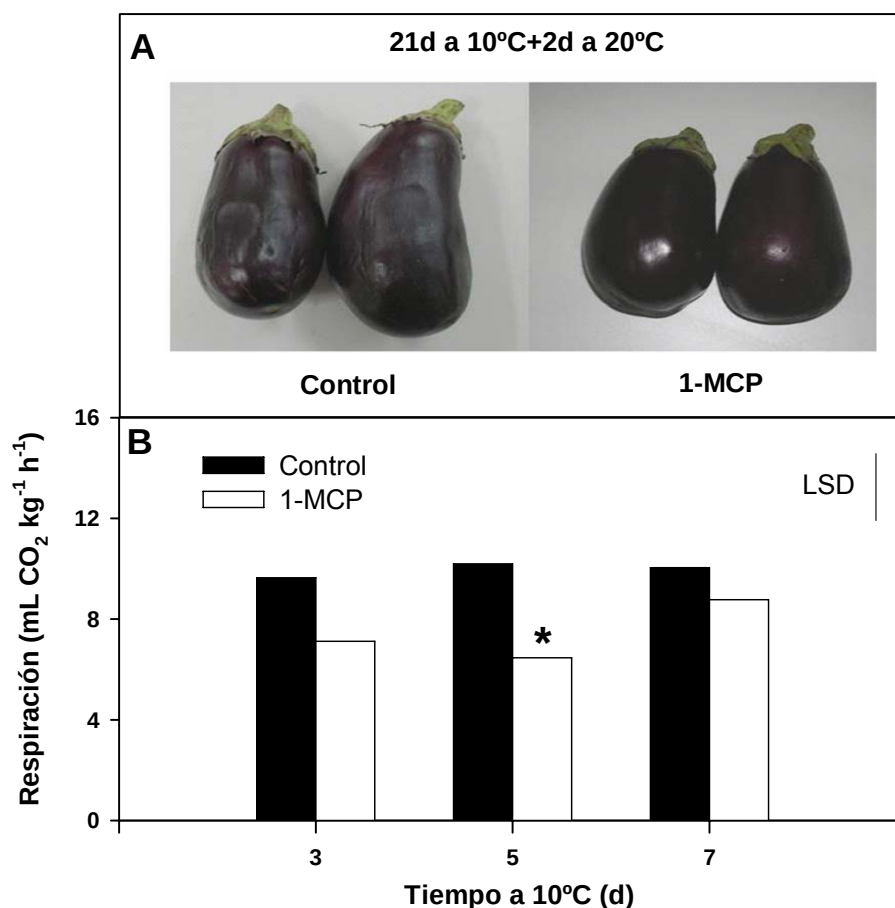


Figura 8: A) Apariencia y B) actividad respiratoria de berenjenas control y tratadas con 1-MCP durante el almacenamiento a 10°C. El asterisco indica diferencias del respectivo control a un nivel de significancia de $\alpha=0,05$. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD).

Los resultados muestran coherencia con los cambios observados en la pérdida de peso, que fue marcadamente menor en los frutos tratados con 1-MCP (**Figura 9A**). Del mismo modo, los frutos tratados mantuvieron una firmeza significativamente superior a los controles (**Figura 9B**). El ablandamiento en berenjena se ha asociado en mayor grado con modificaciones estructurales (ej. separación de semillas de los frutos del tejido circundante) y con la deshidratación. Algunos estudios han mostrado que la mayor parte del intercambio de agua (60%) en berenjena ocurre sólo a través del cáliz (Díaz Pérez, 1998). A partir de esto, este autor sugirió que los tratamientos que procuran reducir la pérdida de agua a través del cáliz podrían ser beneficiosos para extender la vida poscosecha de berenjena. Es posible relacionar los cambios observados en la pérdida de peso y deshidratación con las modificaciones descritas anteriormente para el cáliz de los frutos. El menor daño en el cáliz como consecuencia de los tratamientos con 1-MCP podría indirectamente haber redundado en una menor deshidratación y pérdida de firmeza. Estos efectos si bien podrían ser pequeños en condiciones de almacenamiento por períodos cortos, se manifiestan en forma importante en situaciones de almacenamiento prolongado.

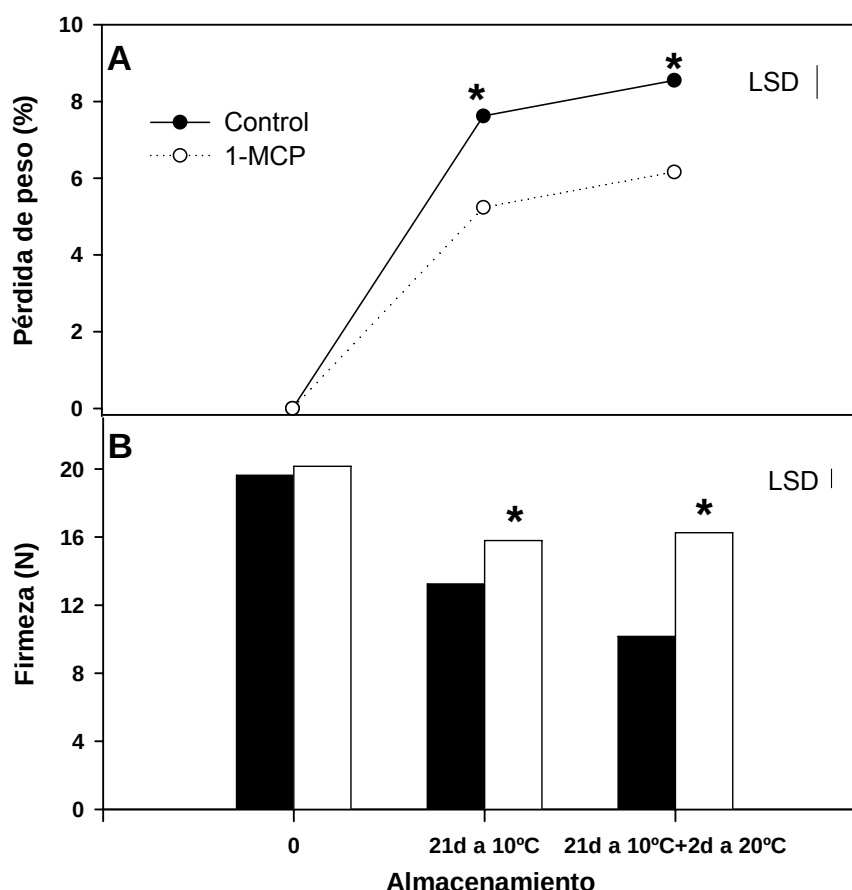


Figura 9: A) Pérdida de peso y B) firmeza de berenjenas control y tratadas con 1-MCP durante el almacenamiento a 10°C y posterior transferencia a 20°C. El asterisco indica diferencias del respectivo control a un nivel de significancia de $\alpha=0,05$. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD).

Finalmente se determinó el contenido de azúcares y la acidez en la pulpa de berenjenas observándose para ambos atributos un aumento durante el almacenamiento tanto en frutos control como tratados con 1-MCP (**Tabla 8**). Esto es coincidente con lo hallado por otros autores que mostraron que ya luego de 10 d de almacenamiento la acidez de los frutos se incrementa disminuyendo el pH (Concellón *et al.*, 2007). Esteban *et al.*, (1989) mostraron aumentos de 30% de azúcares durante el almacenamiento por 14 d.

Tabla 8: Azúcares y acidez en berenjenas control y tratadas con 1-MCP durante el almacenamiento. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD) a un nivel de significancia de $\alpha=0,05$.

Tratamiento		Almacenamiento			LSD
		0	21d a 10°C	21d a 10°C+2d a 20°C	
Azúcares (g kg ⁻¹)	Control	21	22	30	8,5
	1-MCP	22	23	28	
Acidez (meq. H ⁺ kg ⁻¹)	Control	9,7	14,3	17,8	2,9
	1-MCP	10,2	15,2	18,3	

Los resultados de nuestro estudio sugieren que estos cambios serían independientes del etileno. Por lo que los tratamientos con 1-MCP no alteran la evolución normal en atributos asociados con la calidad organoléptica como la acidez y el contenido de azúcares.

5.3.3. Pardeamiento enzimático de semillas y pulpa

a. Apariencia de semillas y color de pulpa

El pardeamiento enzimático es un problema importante durante el almacenamiento de frutas y hortalizas (López Gálvez *et al.*, 1996). En algunos productos, como lechuga, puede ocurrir en forma superficial. En ananá, se manifiesta en forma importante en la pulpa y en berenjena en la pulpa y semillas, lo que determina una reducción marcada de la calidad. En estos frutos, el desorden se asocia con el almacenamiento prolongado y con la aparición de síntomas de daño por frío (Concellón *et al.*, 2007; Cantwell y Suslow, 2009). En nuestro trabajo, se pudo observar que las berenjenas control presentaron luego de 21 d a 10°C mayor pardeamiento enzimático de semillas que los frutos tratados con 1-MCP (**Figura 10A**). Estas diferencias se incrementaron cuando los frutos se transfirieron a 20°C por 2 d. El color de pulpa se evaluó a partir de la determinación de la luminosidad (L^*). Inicialmente, o bien después de 21 d a 10°C, no se hallaron diferencias entre frutos control y tratados, pero cuando estos se transfirieron a 20°C el pardeamiento enzimático de pulpa aumentó rápidamente en los frutos control. Por el contrario, la luminosidad de pulpa de los frutos tratados fue comparable con la que se determinó al comienzo del almacenamiento (**Figura 10B**).

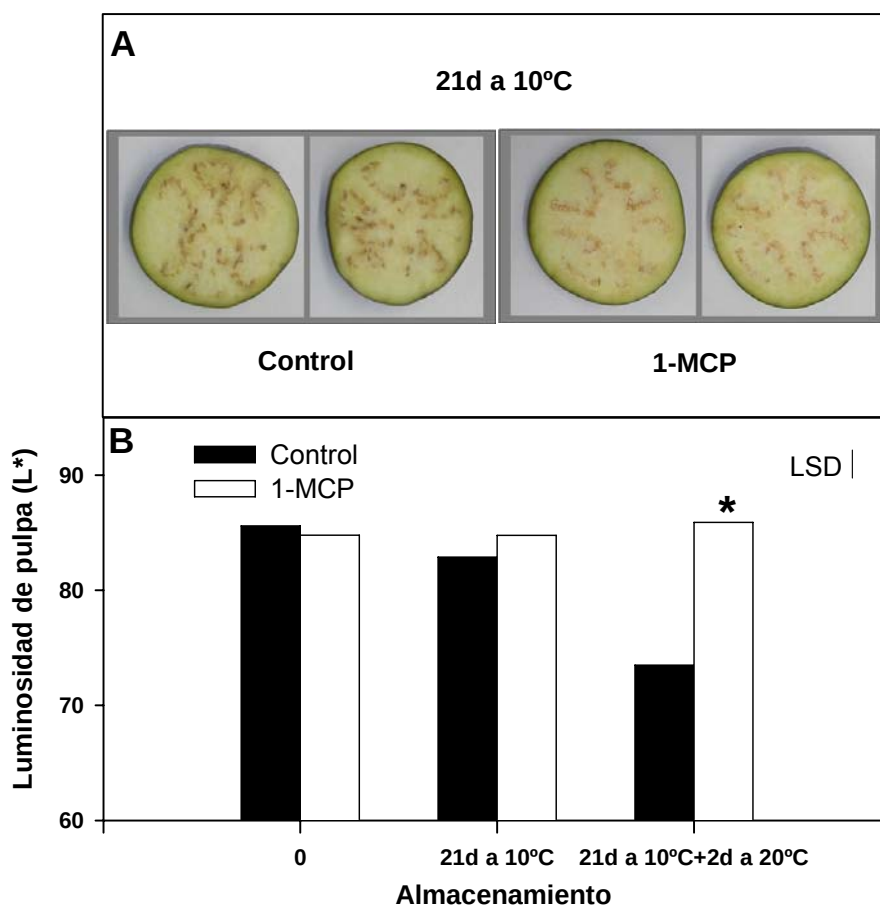


Figura 10: A) Pardeamiento enzimático de semillas y B) luminosidad (L^*) de pulpa de berenjenas control y tratadas con 1-MCP durante el almacenamiento a 10°C y posterior transferencia a 20°C. El asterisco indica diferencias del respectivo control a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD).

b. Biosíntesis de compuestos fenólicos

El pardeamiento enzimático ocurre como consecuencia de la oxidación de compuestos fenólicos. En algunos productos los sustratos pueden estar disponibles y las reacciones de oxidación se favorecen por descompartimentalización celular. Independientemente, los niveles de fenoles parecen ser importantes en berenjena con respecto al grado de pardeamiento enzimático. Así, en una colección de diferentes variedades e híbridos de berenjena, se observó una correlación positiva entre el nivel de fenoles totales y el pardeamiento enzimático de los diferentes genotipos (Prohens *et al.*, 2007). El contenido de fenoles totales en las berenjenas de la variedad estudiada (Lucía) al momento de la cosecha fue cercano a 800 mg kg⁻¹ (**Figura 11A**). El ácido clorogénico (ácido 5-cafeil-quínico), que se ha descrito como uno de los compuestos fenólicos más abundantes en berenjena (Singh *et al.*, 2009) en nuestro estudio representó más del 90% del total de fenoles al momento de cosecha (datos no mostrados). Otros compuestos similares que se han descrito incluyen isómeros de ácido clorogénico (ácidos 3 y 4-cafeil-quínico), un derivado acetilado (ácido 3-acetil-5-cafeil-quínico) y la N-cafeil-putrecina (Whitaker *et al.*, 2003). Todos estos compuestos se consideran como los principales sustratos para el pardeamiento enzimático en berenjena. Durante el almacenamiento a 10°C, el contenido de fenoles totales se incrementó

en los frutos control, mientras que en los frutos tratados con 1-MCP no se observaron variaciones respecto al contenido inicial (**Figura 11A**). Finalmente, el contenido de fenoles aumentó en los frutos tratados al ser transferidos a 20°C, alcanzando un nivel similar al de los frutos control. Es importante considerar que las determinaciones de contenido de fenoles en estado estacionario son el resultado del balance entre biosíntesis y degradación de estos compuestos. Dado que los frutos control evidenciaron, al transferirse a 20°C, un rápido aumento del pardeamiento enzimático de la pulpa por oxidación de fenoles, es posible que la biosíntesis de compuestos de naturaleza fenólica haya continuado siendo elevada en los frutos control. Una de las etapas regulatorias en la ruta biosintética de los compuestos fenólicos es la desaminación del aminoácido fenilalanina por acción de la enzima PAL. En berenjena se observó que la actividad PAL se incrementó durante el almacenamiento a 10°C en los frutos control, no observándose variaciones en los frutos tratados con 1-MCP (**Figura 11B**). Consecuentemente los frutos control mostraron una actividad PAL significativamente superior que los tratados. Si bien la actividad se redujo al transferirse los frutos a 20°C, las diferencias entre frutos control y tratados se mantuvieron.

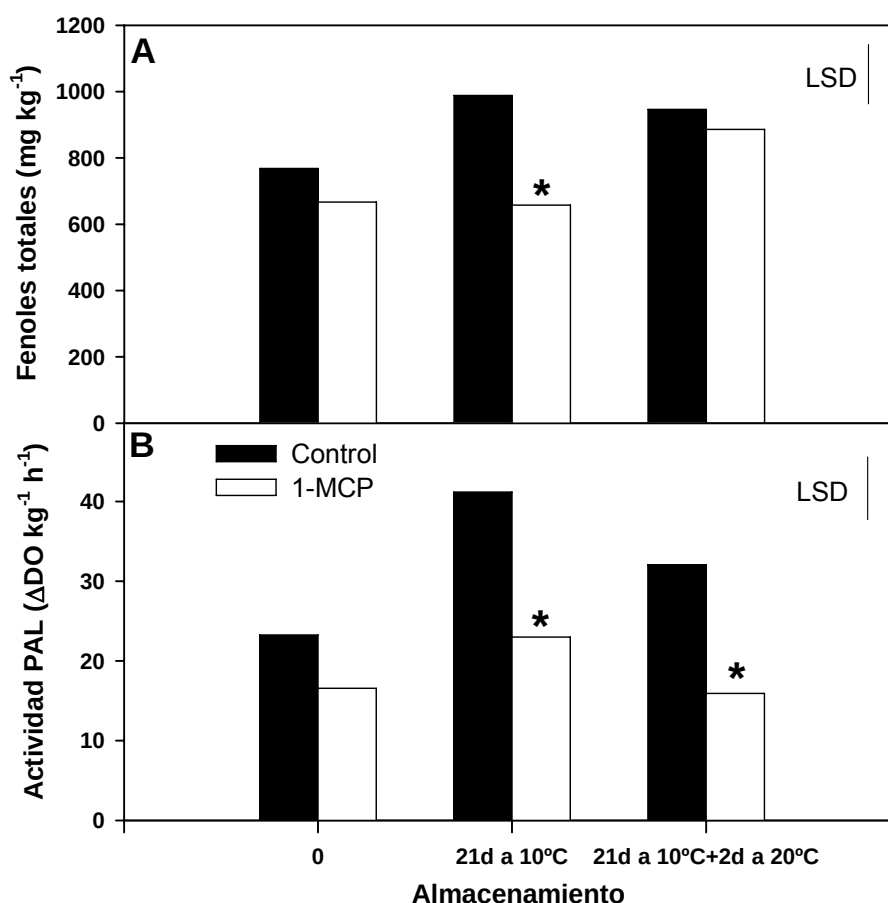


Figura 11: A) Contenido de fenoles totales y B) actividad PAL en berenjenas control y tratadas con 1-MCP durante el almacenamiento a 10°C y posterior transferencia a 20°C. El asterisco indica diferencias del respectivo control a un nivel de significancia de $\alpha=0,05$. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD).

La actividad PAL ha mostrado ser inducida por el etileno en varias especies y por condiciones de estrés abiótico como por ejemplo las bajas temperaturas en varias especies. Así, por ejemplo Sanchez Ballesta *et al.* (2000), hallaron en mandarinas almacenadas a 12°C un aumento en la expresión de PAL. Particularmente en berenjena la inducción de PAL a baja temperatura y la posterior reducción en concomitancia con el aumento del pardeamiento enzimático han sido informadas (Kozukue *et al.*, 1979). En otras frutas y hortalizas se ha observado que el etileno incrementa la acumulación de PAL (Hyodo *et al.*, 1991; Lafuente *et al.*, 2001). En ciruela, la realización de tratamientos con 1-MCP redujo la acumulación de PAL inducida por las bajas temperaturas (Manganaris *et al.*, 2008b). Los resultados hallados en nuestro trabajo muestran que la acumulación de compuestos fenólicos, continúa durante el almacenamiento. Los frutos tratados muestran una menor tasa de acumulación de fenoles que los controles. El tratamiento con 1-MCP permite mantener menor actividad PAL, lo que sugiere que la inducción de esta enzima involucrada en la síntesis de sustratos para el pardeamiento enzimático provocado por las bajas temperaturas, sería mediado por el etileno.

c. Actividad de enzimas asociadas a la oxidación de compuestos fenólicos

Más allá de la importancia del nivel de sustratos, el pardeamiento enzimático requiere de la actividad de enzimas como polifenoloxidasas (PPO) y peroxidasa (POD). Su función en plantas se ha asociado con la defensa contra el ataque de patógenos e insectos (Yoruk *et al.*, 2003). Desde el punto de vista de frutas y hortalizas como alimentos, dichas enzimas son reconocidas como un serio problema. Las PPOs catalizan la oxidación de fenoles a quinonas utilizando al oxígeno como aceptor final de electrones, mientras que en las peroxidadas el aceptor final es el peróxido de hidrógeno (Yoruk *et al.*, 2003). Posteriormente a la formación de quinonas, reacciones secundarias no enzimáticas conducen a la formación de melaninas que otorgan a los tejidos color marrón. Las peroxidadas son hemo-proteínas, mientras que las PPOs contienen 2 sitios de unión de cobre involucrados en la reacción de óxido reducción (Beaulieu *et al.*, 1999). Tanto las PPOs como PODs son ubicuas en plantas y se ha mostrado que pueden inducirse por condiciones de estrés biótico y abiótico (Beaulieu *et al.*, 1999). En nuestro trabajo, la actividad PPO mostró un incremento durante el almacenamiento refrigerado. Posteriormente cuando los frutos de transfirieron a 20°C, la actividad disminuyó, manteniéndose en niveles significativamente menores en los frutos tratados (**Figura 12A**). Concellón *et al.*, (2004) mostraron que la actividad PPO de berenjenas aumenta luego de 12 d a 10°C. En ananá la refrigeración indujo la acumulación de transcritos de PPO (Selverajah *et al.*, 2001).

Con respecto a la actividad peroxidasa, se detectó un incremento sostenido de esta enzima durante el almacenamiento en los frutos controles, que mostraron mayor actividad que los tratados con 1-MCP después de 21 d a 10°C (**Figura 12B**). Esta diferencia se mantuvo aún luego de 2d a 20°C. En las berenjenas tratadas, se observó al final del almacenamiento una actividad

POD similar a la hallada al momento de cosecha (**Figura 12B**). Los resultados sugieren que el etileno estaría involucrado en el incremento en la actividad PPO y POD de berenjena durante el almacenamiento. Algunos estudios han descrito aumentos en PPOs y PODs, las cuales pudieron ser inducidas por el etileno (Stahmann *et al.* 1966).

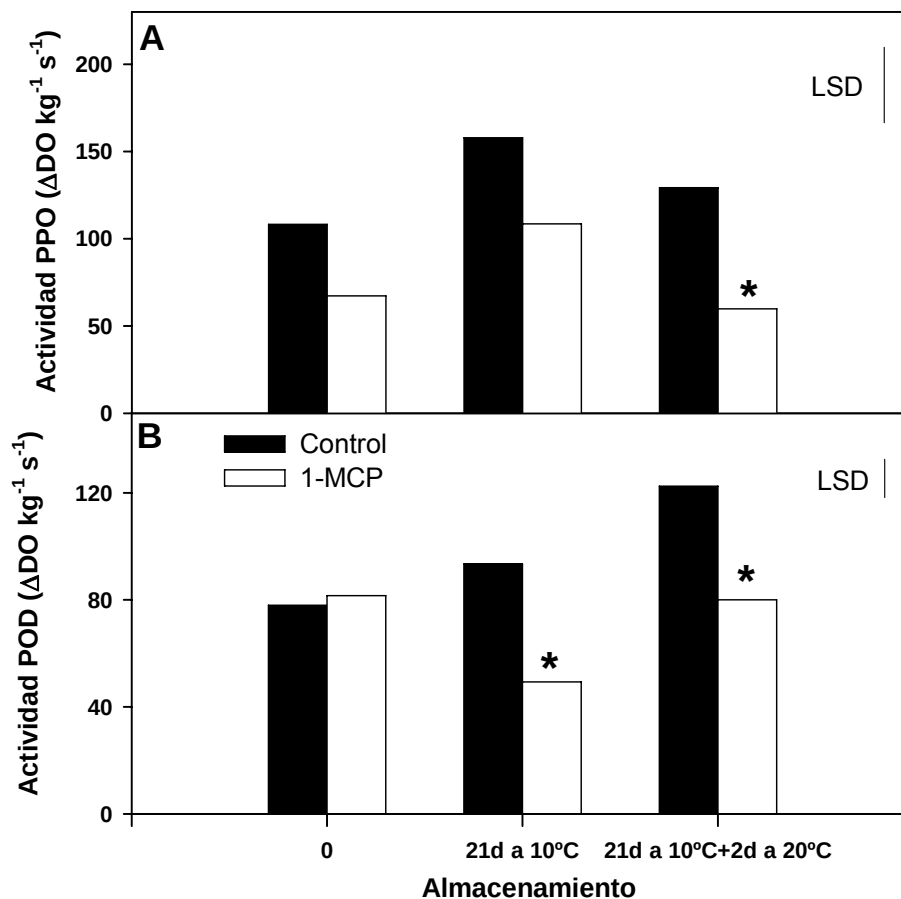


Figura 12: A) Actividad PPO y B) POD en berenjenas control y tratadas con 1-MCP durante el almacenamiento a 10°C y posterior transferencia a 20°C. El asterisco indica diferencias del respectivo control a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$. Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD).

El control del pardeamiento enzimático en el manejo poscosecha de frutas y hortalizas en muchos casos se ha realizado mediante la aplicación de antioxidantes como el ácido ascórbico (Altunkaya y Gökmen, 2008). Tanto el EDTA, capaz de quelar metales necesarios para la actividad enzimática, y el ácido cítrico, el cual puede también cumplir esta función además de reducir el pH, han mostrado ser efectivos para reducir la actividad de enzimas como PPO y POD (Altunkaya y Gökmen, 2008). Estas estrategias han resultado de utilidad en productos enteros que muestran reacciones de pardeamiento enzimático superficial (ej. lechuga) o procesados, pero no en aquellos en los que la manifestación ocurre principalmente a nivel interno como berenjena. Las atmósferas bajas en O_2 , pueden ser eficaces en algunos productos, y la refrigeración es una estrategia eficiente si el almacenamiento se realiza por períodos cortos y si los frutos no sufren daño por frío (Kader, 2002). Los resultados de nuestro trabajo muestran que el pardeamiento enzimático que ocurre en berenjenas parece estar regulado, al menos en parte, por el etileno y

que la inhibición de la acción de esta hormona lo retrasa claramente. El efecto del 1-MCP parece estar asociado con una menor acumulación de sustratos al reducir la actividad de la enzima PAL. Por otra parte, los frutos tratados muestran menor actividad PPO y POD. De todas maneras, no es posible descartar que el efecto del 1-MCP se asocie además con un retraso general de la senescencia de los tejidos que reduciría el deterioro y el contacto de enzimas y sustratos por descompartmentalización. Finalmente, más allá del efecto sobre el pardeamiento enzimático, los resultados hallados muestran que el 1-MCP permite minimizar otros cambios asociados con el deterioro de los frutos como la senescencia del cáliz, la pérdida de peso y el ablandamiento. En síntesis, los resultados de nuestro estudio muestran que el 1-MCP, más allá de ser favorable para controlar la maduración de frutos climatéricos como tomate, puede resultar beneficioso para mantener la calidad y reducir el deterioro general de frutos no climatéricos, como las berenjenas.

6. Conclusiones

- Los tratamientos con 1-MCP en estado de madurez rojo claro reducen la velocidad de ablandamiento y la maduración de tomate almacenado a 20°C. El efecto del 1-MCP es transitorio y finalmente los frutos maduran con normalidad. La aplicación de tratamientos en este estado, si bien redunda en un menor efecto que el que se observa en frutos menos maduros, resulta en un producto que conserva la calidad encontrándose en un estado en el que puede ser consumido. Esto podría resultar favorable para aportar mayor flexibilidad a la cadena de distribución de tomate.*
- La realización de tratamientos con 1-MCP en tomate antes del procesamiento reduce el deterioro durante el almacenamiento a baja temperatura. La aplicación de 1-MCP en estos casos podría ser positiva para incrementar los beneficios de la refrigeración.*
- Berenjenas tratadas con 1-MCP muestran un mejor comportamiento durante el almacenamiento refrigerado a 10°C que frutos control. Los principales efectos favorables incluyen un retraso de la senescencia del cáliz, una reducción en la deshidratación y menor pardeamiento enzimático.*
- La disminución en el pardeamiento enzimático en berenjenas tratadas con 1-MCP se asocia con una menor actividad fenilalanina-amonió liasa (PAL) y una reducción en la acumulación de sustratos fenólicos, así como con una más baja actividad de enzimas asociadas a la oxidación de fenoles como polifenol oxidasa (PPO) y pirogalaol peroxidasa (POD).*

7. Referencias

- Abeles FB, Morgan PW, Saltveit Jr. ME. 1992. Ethylene in plant biology. Second edition. San Diego: Academic Press. 414 pp.
- Adams DO, Yang SF. 1979. Ethylene biosynthesis: Identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. *Proc. Natl Acad Sci. USA.* 76, 170-174.
- Altunkaya A, Gökmen V. 2008. Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). *Food Chem.* 107, 1173-1179.
- AOAC, 1980. *Methods of Analysis*, 13th ed., Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC.
- Barry CS, Fox EJ, Yen H, Lee S, Ying T, Grierson D, Giovannoni JJ. 2001. Analysis of the ethylene response in the epinastic mutant of tomato. *Plant Physiol.* 127, 58-66.
- Barry CS, Giovannoni JJ. 2006. Ripening in the tomato Green-ripe mutant is inhibited by ectopic expression of a protein that disrupts ethylene signalling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103, 7923-7928.
- Beaulieu M, Beliveau GM, Lacroix M. 1999. Dose rate effect of irradiation on phenolic compounds, polyphenol oxidase, and browning of mushrooms (*Agaricus bisporus*). *J. Agric. Food Chem.* 47, 2537–2543.
- Bennett AB, Labavitch JM. 2008. Ethylene and ripening-regulated expression and function of fruit cell wall modifying proteins. *Plant Sci.* 175, 130-136.
- Beyer EM. 1976. Silver ion, a potent antiethylene agent in cucumber and tomato. *Hort-Science* 11, 195-96.
- Blankenship SM, Dole JM. 2003. 1-Methylcyclopropene: a review. *Postharvest Biol. Technol.* 28, 1-25.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.* 28, 25-30.
- Brummell DA, Dal Cin V, Lurie S, Crisosto CH, Labavitch JM. 2004. Cell wall metabolism during the development of chilling injury in cold-stored peach fruit: association of mealiness with arrested disassembly of cell wall pectins. *J. Exp. Bot.* 55, 2041-2052.
- Calvo G, Sozzi GO. 2004. Improvement of postharvest storage quality of “Red Clapp's” pears by treatment with 1-methylcyclopropene at low temperature. *J. Hort. Sci. Biotech.* 79, 930-934.
- Candán AP, Graell J, Crisosto C, Larrigaudiere C. 2006. Improvement of storability and shelf-life of 'Blackamber' plums treated with 1-methylcyclopropene. *Food Sci. Technol. Int.* 12, 437-443.
- Cantu D, Vicente AR, Dewey M, Bennett AB, Labavitch JM, Powell ALT. 2008. The simultaneous suppression of tomato polygalacturonase and expansin reduces the susceptibility of ripe fruits to *Botrytis cinerea*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 105, 859–864.
- Cantwell M, Suslow TV. 2009. Eggplant: Recommendations for maintaining postharvest quality. En: <http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/Veg/eggplant.shtml>.

- CASAFA. 2007. Guía de Productos Fitosanitarios. Cámara de Sanidad Agropecuaria y fertilizantes. 13 edición. Editor Pórfido D. Impreso en Ardila y Asociados SA. Argentina. 2252 pp.
- CHFBA. 2005. Censo Hortiflorícola Provincia de Buenos Aires. Ministerio de Asuntos Agrarios. Provincia de Buenos Aires. Argentina. 115 pp.
- Concellón A, Añón MC, Chaves AR. 2004. Characterization and changes in polyphenol oxidase from eggplant fruit (*Solanum melongena* L.) during storage at low temperature. Food Chem. 88, 17–24.
- Concellón A, Añón MC, Chaves AR. 2005. Effect of chilling on ethylene production in eggplant fruit. Food Chem. 92, 63-69.
- Concellón A, Añón MC, Chaves AR. 2007. Effect of low temperature storage on physical and physiological characteristics of eggplant fruit (*Solanum melongena* L.). LWT 40, 389–396.
- Díaz J, ten Have A, van Kan JAL. 2002. The role of ethylene and wound signaling in resistance of tomato to *Botrytis cinerea*. Plant Physiol. 129, 1341-1351.
- Díaz Pérez, JC. 1998. The calyx was the main route for fruit water loss. Transpiration rates in eggplant fruit as affected by fruit and calyx size. Postharvest Biol. Technol. 13, 45–49.
- Dong C-H, Rivarola M, Resnick JS, Maggin BD, Chang C. 2008. Subcellular co-localization of *Arabidopsis* RTE1 and ETR1 supports a regulatory role for RTE1 in ETR1 ethylene signalling. Plant J. 53, 275-286.
- Esteban RM, Molla E, Villarroya MB, Lopez-Andreu FJ. 1989. Changes in the chemical composition of eggplant fruits during storage. Scientia Hort. 41, 19-25.
- Fallik E, Aharoni Y, Grinberg S, Copel A, Klein JD. 1994. Postharvest hydrogen peroxide treatment inhibits decay in eggplant and sweet red pepper. Crop Prot. 13, 451-454
- Fallik E, Temkin-Gorodeiski N, Grinberg S, Davidson H. 1995. Prolonged low-temperature storage of eggplants in polyethylene bags. Postharvest Biol. Technol. 5, 83–89.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2009. Visitada Agosto de 2009 en <http://faostat.fao.org>
- Giovannoni JJ. 2001. Molecular biology of fruit maturation and ripening. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 52, 725–749.
- Giovannoni JJ. 2004. Genetic regulation of fruit development and ripening. Plant Cell 16, S170–S180.
- Halevy AH, Kofranek AM. 1976. Silver treatment of carnation flowers for reducing ethylene damage and extending longevity. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 102, 76-77.
- Hirayama T, Kieber JJ, Hirayama N, Kogan M, Guzman P, Nourizadeh S, Alonso JM, Dailey WP, Dancis A, Ecker JR. 1999. RESPONSIVE-TO-ANTAGONIST1, a Menkes/Wilson disease related copper transporter, is required for ethylene signaling in *Arabidopsis*. Cell. 97, 383-393.
- Hyodo H, Tanaka K, Suzuki T. 1991 Wound-induced ethylene synthesis and its involvement in enzyme induction in mesocarp tissue of *Cucurbita maxima*. Postharvest Biol. Technol. 1, 127-136

- Hurr BM, Huber DJ, Lee JH. 2005. Differential responses in color changes and softening of 'Florida 47' tomato fruit treated at green and advanced ripening stages with the ethylene antagonist 1-methylcyclopropene. *HortTechnol.* 15, 617–622.
- Jha SN, Matsuoka T, Miyauchi K. 2002. Surface gloss and weight of eggplant during storage. *Biosyst. Eng.* 81, 407–412.
- Jiang Y, Joyce DC, Terry LA. 2001. 1-methylcyclopropene treatment affects strawberry fruit decay. *Postharvest Biol. Technol.* 23, 227-232.
- Kader AA. (editor). 2002. *Postharvest technology of horticultural crops*, third edition. University of California, Agriculture and Natural Resources, Publication 3311, 535 pp.
- Kader AA. 1985. Ethylene-induced senescence and physiological disorders in harvested horticultural crops. *HortScience* 20, 54-57.
- Kendrick MD, Chang C. 2008. Ethylene signaling: new levels of complexity and regulation. *Curr. Opin. Plant Biol.* 11, 1–7.
- Kevany BM, Tieman DM, Taylor MG, Cin VD, Klee HJ. 2007. Ethylene receptor degradation controls the timing of ripening in tomato fruit. *Plant J.* 51, 458-467.
- Kozukue N, Kozukue E, Kishiguchi M. 1979. Changes in the contents of phenolic substances, phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and tyrosine ammonia-lyase (TAL) accompanying chilling-injury of eggplant fruit. *Scientia Hort.* 11, 51-59.
- Krammes JG, Megguer CA, Argenta LC, Amarante CVT, Grossi D. 2003. Uso do 1-metilciclopropeno para retardar a maturação de tomate. *Hortic. Bras.* 21, 611–614.
- Lafuente MT, Zacarias L, Martínez-Téllez MA, Sanchez-Ballesta MT, Dupille E. 2001. phenylalanine ammonia-lyase as related to ethylene in the development of chilling symptoms during cold storage of citrus fruits. *J. Agric. Food Chem.* 49, 6020–6025.
- Lelièvre JM, Latche A, Jones B, Bouzayen M, Pech JC. 1997. Ethylene and fruit ripening. *Physiol. Plantarum.* 101, 727-739.
- Lichtenthaler HK, 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Meth Enzymol.* 148, 350–382.
- Lieberman M, Mapson LW. 1962. Fatty acid control of ethane production by sub-cellular particles from apples and its possible relationship to ethylene biosynthesis *Nature* 195, 1016 - 1017.
- Lieberman M, Mapson LW. 1963 Genesis and Biogenesis of Ethylene. *Nature* 204, 343 - 345
- López-Gálvez G, Saltveit M, Cantwell M. 1996. Wound-induced phenylalanine ammonia lyase activity: factors affecting its induction and correlation with the quality of minimally processed lettuces. *Postharvest Biol. Technol.* 9, 223-233.
- Lund ST, Stall RE, Klee HJ. 1998. Ethylene regulates the susceptible response to pathogen infection in tomato. *Plant Cell* 10, 371-382.
- Lurie S, Crisosto C. 2005. Chilling injury in peach and nectarine *Postharvest Biol. Technol.* 37, 195-208.

- Lurie S. 1998. Postharvest heat treatments. *Postharvest Biol. Technol.* 14, 257-269.
- Manganaris GA, Vicente AR, Crisosto CH, Labavitch, JML. 2007. Effect of dips in a 1-methylcyclopropene-generating solution on 'Harrow Sun' plums stored under different temperature regimes. *J. Agric. Food Chem.* 55, 715-720.
- Manganaris, G, Vicente, AR, Crisosto CH, Labavitch JM. 2008a. Effect of delayed storage and continuous ethylene exposure on flesh reddening of 'Royal Diamond' plums. *J. Sci. Food Agric.* 88, 2180-2185.
- Manganaris G, Vicente AR, Crisosto C. 2008b. Plum fruit quality: Postharvest handling, storage and alleviation of chilling injury symptoms. *CAB Reviews*.
- Mansour R, Latché A, Vaillant V, Pech JC, Reid MS. 1986. Metabolism of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid in ripening apple fruits. *Physiol. Plant.* 66, 495-502.
- Molinar R, Trejo E, Cantwell M. 1996. The development of chilling injury in three types of eggplants. En : <http://postharvest.ucdavis.edu/datastorefiles/234-236.pdf>
- Mostolfi Y, Toivonen PMA, Lessani H, Babalar M, Lu CW. 2003. Effects of 1-methylcyclopropene on ripening of greenhouse tomatoes at three storage temperatures. *Postharvest Biol Technol* 27, 285–292.
- Mullins ED, McCollum TG, McDonald RE. 2000. Consequences on ethylene metabolism of inactivating the ethylene receptor sites in diseased non-climacteric fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 19, 155-164.
- Nothmann J. 1986. Eggplant. In: S. Monselise (Editor), *Handbook of fruit set and development*. CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 145-152.
- Pessis E, Ackerman M, Ben-Arie R, Feygenberg O, Feng X, Apelbaum A, Goren R, Prusky D. 2002. Ethylene involvement in chilling injury symptoms of avocado during cold storage. *Postharvest Biol. Technol.* 24, 171-181.
- Prohens J, Rodríguez-Burruezo A, Raigón MD, Nuez F. 2007. Total phenolic concentration and browning susceptibility in a collection of different varietal types and hybrids of eggplant: Implications for breeding for higher nutritional quality and reduced browning. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 132, 638-646.
- Robbins JA, Reid MS, Paul JL, Rost TL. 1985. The effect of ethylene on adventitious root formation in mung bean (*Vigna radiata*) cuttings. *J. Plant Growth Reg.* 4, 147–157.
- Rose JKC, Cosgrove DJ, Albersheim P, Darvill AG, Bennett AB. 2000. Detection of expansin proteins and activity during tomato fruit ontogeny. *Plant Physiol.* 123, 1583-1592.
- Saltveit ME. 1999. Effect of ethylene on quality of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 15, 279-292.
- Sanchez-Ballesta MT, Zacarias L, Granell A, Lafuente MT. 2000. Accumulation of Pal transcript and Pal activity as affected by heat-conditioning and low-temperature storage and its relation to chilling sensitivity in mandarin fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 2726–2731.

- Selvarajah S, Bauchot AD, John P. 2001. Internal browning in cold-stored pineapples is suppressed by a postharvest application of 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biol. Technol.* 23,167–170.
- Sevillano L, Sanchez-Ballesta MT, Romojaro F, Flores FB. 2009. Physiological, hormonal and molecular mechanisms regulating chilling injury in horticultural species. *Postharvest technologies applied to reduce its impact J. Sci. Food Agric.* 89, 555-573.
- Singh AP, Luthri D, Wilson T, Vorsa N, Singh V, Banuelos GS, Pasakdee S. 2009. Polyphenols content and antioxidant capacity of eggplant pulp. *Food Chem.* 114, 955–961.
- Sisler EC, Serek M. 1999. Compounds controlling the ethylene receptor. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 40, 1-7.
- Sisler EC, Serek M. 2003. Compounds interacting with the ethylene receptor in plants. *Plant Biol.* 5, 473-480.
- Sisler EC. 2006. The discovery and development of compounds counteracting ethylene at the receptor level. *Biotechnol. Adv.* 24, 357-367.
- Stahmann MA, Clare BG, Woodbury W. 1966. Increase disease resistance and enzyme activity induced by ethylene and ethylene production by black rot infected sweet potato tissue. *Plant Physiol.* 41, 1505-1512.
- Suslow TV, Cantwell M. 2009. Tomato: Recommendations for maintaining postharvest quality En: <http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/Veg/tomato.shtml>.
- Veen H, van de Geijn SC. 1978. Mobility and ionic form of silver as related to the longevity of carnations. *Plants* 140, 93-96.
- Vicente AR, Saladié M, Rose JKC, Labavitch JM. 2007. The linkage between cell wall metabolism and fruit softening: looking to the future. *J. Sci. Food Agric.* 87, 1435–1448.
- Wang W, Esch JJ, Shiu S-H, Agula H, Binder BM, Chang C, Patterson SE, Bleecker AB. 2006. Identification of important regions for ethylene binding and signaling in the transmembrane domain of the ETR1 ethylene receptor of *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2006, 18, 3429-3442.
- Watkins CB. 2006. The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables. *Biotechnol. Adv.* 24, 389-409.
- Whitaker BD, Stommel JR. 2003. Distribution of hydroxycinnamic acid conjugates in fruit of commercial eggplant (*Solanum melongena* L.) cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 51, 3448-3454.
- Wien, HC. 1999. Peppers. En: *The physiology of vegetable crops*. CABI publishing Cambridge 662 pp.
- Wills RBH, Ku VVV. 2002 Use of 1-MCP to extend the time to ripen of green tomatoes and postharvest life of ripe tomatoes *Postharvest Biol. Technol.* 26, 85–90.
- Yemm EW, Willis AJ. 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochem. J.* 57, 508-514.
- Yoruk R, Marshall MR. 2003. Physicochemical properties and function of plant polyphenoloxidases: A review. *J. Food Biochem.* 27, 361-422.

-Yuan R, Carbaugh DH. 2007. Effects of NAA, AVG, and 1-MCP on ethylene biosynthesis, preharvest fruit drop, fruit maturity, and quality of 'Golden Supreme' and 'Golden Delicious' apples. HortScience. 42,101-105.