

1999. Revista Chapingo Serie Horticultura 5: 345-351.

DAÑOS POR FRÍO Y PRODUCCIÓN DE ETANOL EN AGUACATE (*Persea americana* Mill.) CV. HASS

J. Corrales-García, C. C. Tlapa-Rangel

Universidad Autónoma Chapingo, Depto. de Ingeniería Agroindustrial (DIA), Programa Universitario de Investigación en Alimentos (PUIA). Carretera México-Texcoco Km 38.5 C.P. 56230. Chapingo, Estado de México. México. Fax: (595)41959 E-mail: joelcg@taurus1.chapingo.mx

RESUMEN

Los daños por frío en aguacates 'Hass' se manifiestan claramente hasta que alcanzan su madurez de consumo. Sin embargo, es posible hacer un diagnóstico anticipado cuantificando etanol en pulpa. Los objetivos de este trabajo fueron determinar el efecto de algunos factores sobre daños por frío y producción de etanol y la relación entre estas variables. Frutos de aguacate 'Hass', en madurez fisiológica, con 24 h de frigoconservación a 6°C, provenientes de Uruapan, Michoacán, México, se almacenaron a 2 ó 4°C durante 4, 8, 12, 16, 20 ó 30 días, luego maduraron 6 días al ambiente (el factor período post-frigoconservación tuvo dos niveles: 0 y 6 días). Hubo 24 tratamientos con tres repeticiones. Se evaluó (visualmente) daños por frío externos y se cuantificó el obscurecimiento y el contenido de etanol por cromatografía de gases en pulpa. La información se analizó estadísticamente (análisis de varianza, comparación de medias y correlación entre variables) de acuerdo a un diseño completamente al azar con arreglo de tratamientos factorial: 2x6x2. Los daños por frío, tanto en pulpa como externos, aumentaron significativamente con el período de frigoconservación. Los daños por frío externos se manifestaron con mayor severidad en frutos frigoconservados a 2°C, sin embargo, a nivel pulpa los daños fueron muy ligeros, debido, probablemente a una tolerancia inducida por el almacenamiento a 6°C por 24 h que tuvieron los frutos antes de los tratamientos. Considerando los seis períodos de frigoconservación, se encontró baja correlación ($r = 0.018$) entre daños por frío y producción de etanol. Sin embargo, considerando solamente los tres períodos más cortos (4, 8 y 12 días) se observó una correlación muy superior ($r = 0.971$). Se concluyó que cuando el período de frigoconservación no es mayor a 12 días, la producción de etanol puede ser índice de daños por frío.

PALABRAS CLAVE: Calidad, frigoconservación, postcosecha.

CHILLING INJURY AND ETHANOL PRODUCTION IN AVOCADOS (*Persea americana*, Mill.) CV. HASS

SUMMARY

Chilling injury in avocados (cv. Hass) is clearly manifested only when they ripen. However, it is possible to make a diagnosis in advance by quantifying ethanol in pulp. The objectives of this work were to determine the effect of some factors on chilling injury and production of ethanol and the relationship between these variables. Mature avocado fruits (cv. Hass) from Uruapan, Michoacan were stored for 24 h at 6°C, then they were shipped to Chapingo, Mexico by land. They were then stored at 2° or 4°C during, 4, 8, 12,16, 20 or 30 days and ripened at room temperature for 6 days (periods after cold-storage: 0 and 6 days). There were 24 treatments, with three replications. Visual symptoms of chilling injury, browning and content of ethanol were quantified in pulp at 0 and 6 days after cold storage. The information was analyzed statistically (analysis of variance, comparison of means and correlation between variables) according to an experimental design totally random with a 2x6x2 factorial treatment arrangement. It was observed that visual symptoms of chilling injury as well as chilling injury in pulp, increased as the period of cold storage increased. Chilling injury in peel appeared with greatest severity in those fruits refrigerated at the lowest temperature. However, in the pulp the damages were very slight. It is probable that the low intensity of chilling injury found in pulp, was due to tolerance induced by storage at 6°C previous to shipping. Considering all of the periods of cold-storage, there was little correlation ($r = 0.018$) between chilling injury and production of ethanol but when only the shortest three periods (4, 8 and 12 days) were considered a very high correlation was observed ($r = 0.971$). It was concluded that when a period of cold-storage is 12 days or less, the production of ethanol can be indicative of chilling injury.

KEYWORDS: Quality, cold-storage, postharvest.

INTRODUCCIÓN

El estudio y explicación de los daños por frío en aguacate, como en muchas otras frutas, es muy complejo e importante por sus repercusiones económicas y comerciales.

La temperatura es el factor ambiental más efectivo para controlar la maduración de los productos hortofrutícolas. Sin embargo, para asegurar una conservación exitosa se requiere manejar correctamente este factor para, lo cual se logra refrigerando a temperaturas bajas y específicas, pero nunca inferiores a 0°C. No obstante, algunos frutos, particularmente los de origen tropical o subtropical sufren daños por frío, aún a temperaturas muy por arriba del punto de congelación. (Lyons *et al.*, 1979; Morris, 1982; y Couey, 1982).

De acuerdo con Pesis *et al.* (1994) el aguacate es un fruto subtropical sensible a daños por frío cuando se expone a temperaturas bajas aunque no sean de congelación. Este desorden fisiológico ha sido descrito por varios autores (Eaks, 1976; Chaplin *et al.*, 1982; Couey, 1982; Van Lelyveld y Bower, 1984; Zauberman *et al.*, 1985). De acuerdo con estos autores, los principales síntomas de daños por frío son manchas negras en la epidermis y una decoloración gris o café obscura en el mesocarpio. Sin embargo, estos síntomas sólo se hacen claramente evidentes hasta cuando los frutos alcanzan su

madurez de consumo, lo cual en ciertos casos ya es muy tarde para efectos de comercialización. De hecho, la determinación objetiva de estos daños, que se hace mediante el método de Chaplin *et al.* (1982) está diseñada para frutos en madurez de consumo. Por otro lado, diversos autores han propuesto que la producción de metabolitos como etanol y acetaldehído es un posible índice de daños por frío.

De acuerdo con Morris (1982) dentro de los diversos síntomas de daños por frío que pueden presentarse en los productos hortofrutícolas está la alteración del metabolismo interno, lo que causa un incremento en los niveles de los productos de la respiración anaeróbica y otros metabolitos anormales, resultando la aparición de sabor y aroma desagradables.

El etanol es un metabolito final producido normalmente bajo respiración anaeróbica en muchas plantas superiores (Chang *et al.*, 1982). Sin embargo, el etanol ha sido detectado como un componente normal de manzana y muchas otras frutas maduras bajo condiciones aeróbicas (Nursten, 1970).

Smagula y Bramlage (1977) señalaron que el acetaldehído y etanol han sido implicados en el desarrollo de numerosos desórdenes fisiológicos postcosecha de manzanas como son los daños por frío, y que se asocian con madurez avanzada y senescencia, sin embargo, los mismos autores comentaron que no existe un acuerdo en cuanto al papel que desarrolla en los daños por frío, la acumulación de estos metabolitos.

De acuerdo con Kimmerer y Kozlowsky (1982) mientras un gran número de especies vegetales leñosas y herbáceas producen acetaldehído y etanol en respuesta al estrés causado por déficit de agua, enfriamiento, congelación y exposición al ozono, otras no lo hacen. Estos investigadores también demostraron que la producción de etanol por las plantas bajo estrés no requiere necesariamente de una baja disponibilidad de oxígeno.

Schirra (1992) estudió el comportamiento de toronjas "Star Ruby" sometidas a bajas temperaturas por largos períodos y encontró que la producción de etanol y acetaldehído es un posible índice de daños por frío, ya que las toronjas sometidas a la más baja temperatura (4°C) mostraron mayor daño por frío y produjeron los más altos niveles de etanol y acetaldehído (45 y 0.8 mg·100 ml⁻¹, respectivamente).

Corrales-García (1997) encontró que aguacates refrigerados a 2°C por 30 días en aire presentaron mayor contenido de etanol (como posible manifestación de daño por frío) que aguacates refrigerados a la misma temperatura y período, pero bajo atmósferas controladas; el autor sugirió que las atmósferas controladas lograron mitigar este desorden.

Los objetivos de este trabajo fueron determinar el efecto de algunos factores sobre la incidencia de daños por frío y sobre la producción de etanol y acetaldehído, así como la correlación de estas variables.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para este estudio, en octubre de 1998 se obtuvieron aguacates (cv. Hass) de calidad exportación, en madurez fisiológica, provenientes de una empacadora comercial de Uruapan, Michoacán. De acuerdo al informe del técnico de la empresa, los frutos habían permanecido al menos 24 h en la empacadora a 6°C antes de ser transportados

por carretera al laboratorio del Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Autónoma Chapingo. Los aguacates se agruparon en 72 unidades experimentales de 8 frutos cada una, posteriormente a cada unidad experimental se le asignó aleatoriamente uno de los 24 tratamientos derivados de la combinación de dos niveles del factor temperatura (2° y 4°C) seis niveles del factor período de frigoconservación (4, 8, 12, 16, 20 y 30 días) y dos niveles del factor período post-frigoconservación (0 y 6 días al medio ambiente, con aproximadamente 20°C y 60-65% de HR) para completar su maduración. Cada tratamiento tuvo tres repeticiones (unidades experimentales).

Los tratamientos fueron evaluados mediante la determinación de las siguientes variables de respuesta:

Producción de etanol y acetaldehído.

Estos compuestos volátiles se cuantificaron mediante cromatografía de gases siguiendo la técnica de espacio de cabeza (*head space*) propuesta por Davis y Chase (1969). Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes: se utilizó un cromatógrafo de gases marca Hewlett Packard modelo 5890 Series II, con una columna capilar "Chrompack" tipo abierta con capa porosa de sílica fundida y fase estacionaria "poraplot Q", de 27.5 m de largo, 0.32 mm de diámetro interno, 0.45 mm de diámetro externo y un detector de ionización de flama (FID). Las condiciones térmicas fueron 170°, 150°, y 180°C para el inyector, la columna y el detector, respectivamente. El tiempo de corrida fue de 5 min. Los tiempos de retención fueron de 3.5 y 4.4 min. para acetaldehído y etanol, respectivamente. Los resultados se calcularon con base en estándares externos y se expresaron en mg del volátil por 100 g de pulpa.

Daños por frío externos.

Se evaluaron de manera subjetiva por inspección visual usando una escala hedónica de 5 puntos: 0, 1, 2, 3 y 4 que representan el área dañada por manchado en cáscara con respecto al área total del fruto, de acuerdo a los siguientes rangos de porcentajes: 0, 1 a 20, 21 a 40, 41 a 60 y 61 a 100, respectivamente. Esta escala corresponde también a la siguiente interpretación: sin daño en piel (0), daño ligero (1), daño moderado (2), daño severo (3), y daño muy severo (4). Debido a que los frutos de esta variedad cambian de color verde a negro-violáceo durante su proceso de maduración lo que no permite distinguir los daños por frío en la epidermis en madurez de consumo, por lo anterior, esta variable sólo se pudo evaluar al momento de la salida de frigoconservación.

Daños por frío en pulpa.

Este desorden fisiológico (obscurecimiento) se cuantificó colorimétricamente mediante el método propuesto por Chaplin *et al.* (1982). Los resultados de esta variable se expresaron en unidades de absorbancia registradas en un espectrofotómetro "Spectronic 20" a 750 nm de longitud de onda.

Análisis Estadístico.

Los resultados se discutieron con base en un análisis estadístico (análisis de varianza y comparaciones de medias) para el cual se utilizó el paquete computacional de SAS

(1988): Para las variables de etanol y acetaldehído, de acuerdo con un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial, cuyos factores fueron: temperatura, con 2 niveles (2°C y 4°C), período de frigoconservación con 6 niveles (4, 8, 12, 16, 20 y 30 días) y período postfrigoconservación con 2 niveles (0 y 6 días). Para la variable daños por frío en pulpa, de acuerdo a un arreglo factorial 2x6 (sin considerar el factor período postfrigoconservación). Los daños por frío externos (evaluados subjetivamente por inspección visual de la epidermis) no se analizaron estadísticamente. Finalmente se calculó el coeficiente de correlación (r) entre los registros progresivos (en función de los períodos de frigoconservación) de la variable contenido de etanol y los registros correspondientes de daños por frío en pulpa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Producción de etanol y acetaldehído.

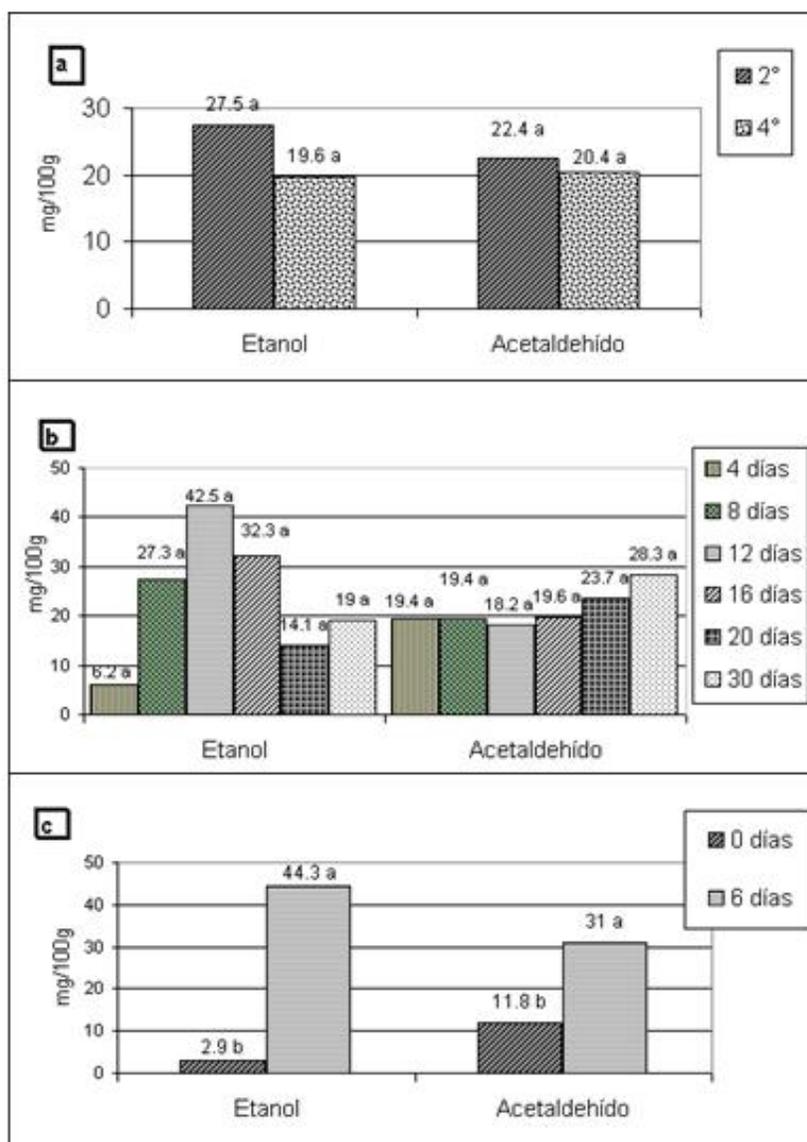
El efecto del factor temperatura sobre la producción de etanol y acetaldehído se muestra en la Figura 1 (a). La mayor producción tanto de etanol como de acetaldehído se presentó en los aguacates que estuvieron a la menor temperatura (2°C) probablemente por una mayor condición de estrés por baja temperatura, lo que va de acuerdo con lo establecido por Kimmerer y Kozlowski (1982) en el sentido de que la producción de etanol y acetaldehído, se debe, entre otras cosas a una condición de estrés. Sin embargo, en este trabajo al parecer el efecto del factor temperatura no tuvo significancia estadística, probablemente debido a que los frutos empleados presentaban cierta tolerancia inducida a daños por frío.

Por otro lado se encontró que al aumentar el período de frigoconservación aumentó la producción de etanol (por lo menos durante los 3 primeros períodos) y de acetaldehído, como puede verse en la Fig. 1 (b); este comportamiento coincide con lo observado por Meza (1995) quien encontró una alta producción de etanol y acetaldehído al exponer toronjas sometidas a 5°C por largos períodos. Sin embargo, en este trabajo, después de 12 días, la producción de etanol disminuyó al prolongarse el período de frigoconservación. Este segundo comportamiento coincide con lo establecido por Vega *et al.*, (1997), quienes encontraron que la producción de etanol en aguacates 'Hass' frigoconservados a 2°C tiende a disminuir a medida que aumenta el tiempo de almacenamiento a partir del décimo día de frigoconservación. Este fenómeno se relacionó directamente con la baja actividad de la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH), lo que nos indica que la baja temperatura, aparte de imponer una condición de estrés en los primeros días de almacenamiento, probablemente también inactivó esta enzima cuando el almacenamiento fue más prolongado.

Con respecto a la producción de acetaldehído, a partir del doceavo día de frigoconservación hay una tendencia de incrementos ligeros a medida que es mayor el período de frigoconservación, aunque no se detectaron diferencias significativas entre estos niveles.

En la Figura 1 (c) se puede observar que la producción de etanol y acetaldehído fue significativamente mayor al aumentar el período post-frigoconservación. Esto probablemente tiene que ver con una mayor actividad de las enzimas ADH y piruvato descarboxilasa (PDC), cuando se encuentran a la temperatura del ambiente.

Con todo lo anterior se llegó a la conclusión de que el mejor momento para determinar los contenidos de etanol y acetaldehído no es inmediatamente al salir de frigoconservación, sino unos días después de estar a la temperatura del ambiente. Probablemente también esto explique la baja significancia encontrada en los efectos de la temperatura y del período de frigoconservación, anteriormente comentados.

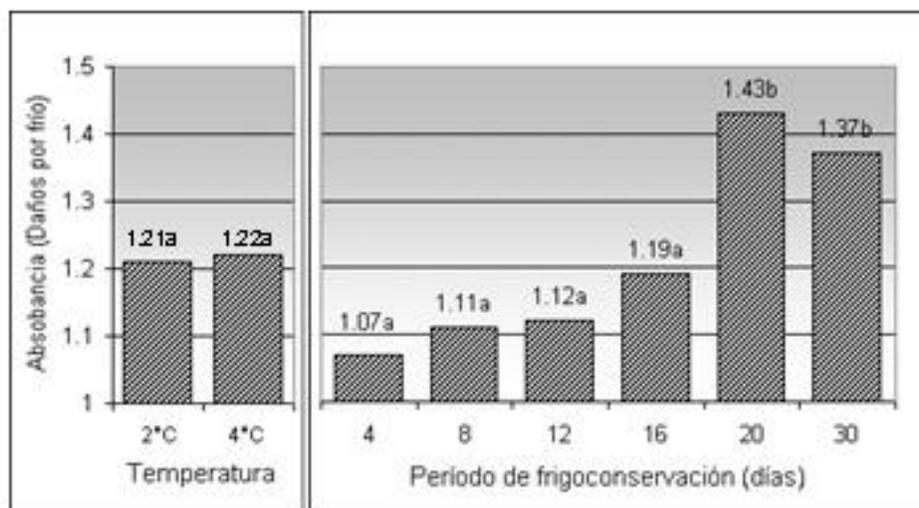


Valores medios seguidos por la misma letra dentro de cada factor y para cada variable son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha = 0.05$).

Figura 1. Efecto global de los factores temperatura (a), período de frigoconservación (b) y período post-frigoconservación (c) en el contenido de etanol y acetaldehído en frutos refrigerados de aguacate 'Hass'.

Daños por frío.

Como se esperaba, los daños por frío cuantificados tanto por absorbancia (nivel de oscurecimiento de la pulpa) como por evaluación visual del aspecto externo del fruto, (Figuras 2 y 3 respectivamente), tendieron a aumentar en función del período de frigoconservación, particularmente después de 16 días.



Nota: Valores medios seguidos de la misma letra dentro de cada factor son estadísticamente iguales (Tukey, alfa = 0.05).

Figura 2. Efecto global de los factores temperatura (a) y período de frigoconservación (b) sobre la incidencia de daños por frío en frutos refrigerados de aguacate 'Hass'.

Como se observa en la Figura 2 (a) el análisis de comparación de medias no detectó diferencia significativa entre los efectos de los niveles del factor temperatura (2 y 4°C) para sobre los daños por frío en pulpa. Estos resultados hacen pensar que los aguacates empleados para este estudio presentaron una tolerancia inducida considerable a los daños por frío a nivel pulpa, debido probablemente a que los frutos habían sido previamente refrigerados a 6°C al menos durante 24 h, es decir presentaban un acondicionamiento, como el definido por Saucedo (1989).

Respecto al factor período de frigoconservación, como puede verse en la figura 2 (b) a mayor período, mayor es la incidencia de daños por frío, aunque el análisis estadístico solo reflejó diferencia significativa a partir de los 20 días.

A nivel epidermis se observó que los aguacates al término de la frigoconservación, presentaron manchas de color oscuro, las cuales se fueron acentuando cada vez más a partir de los 12 días de frigoconservación (Figura 3). En este sentido Eaks (1976), observó que los frutos de aguacate 'Hass' y 'Fuerte' frigoconservados a 0 y 5°C presentaron daños por frío en piel a partir de la primera semana de conservación.

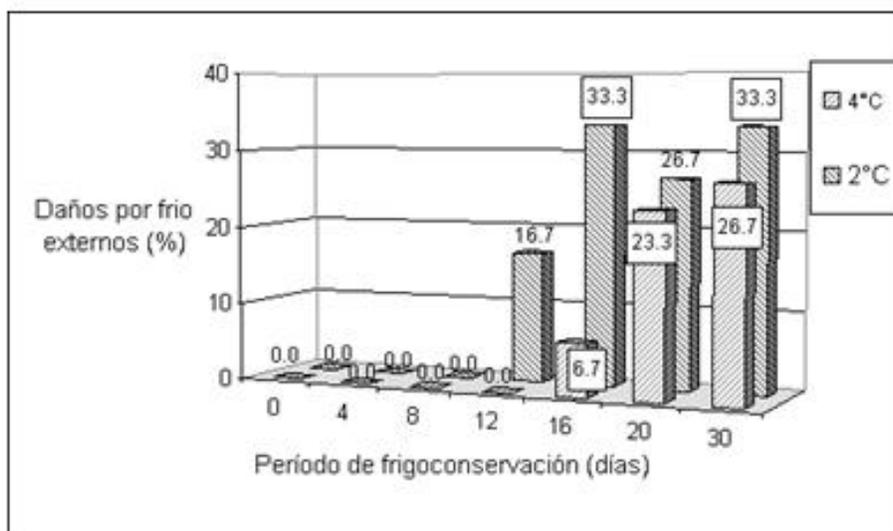


Figura 3. Efecto de diferentes períodos de frigoconservación a 2 ó 4°C en frutos de aguacates 'Hass, sobre el porcentaje de incidencia de daños por frío externos.

CONCLUSIONES

Los daños por frío, tanto en pulpa (oscurecimiento) cuantificados por absorbancia (método objetivo de Chaplin *et al.*, 1982) como por evaluación visual de la epidermis, tendieron a aumentar conforme disminuyó la temperatura y aumentó el período de frigoconservación.

Los daños por frío externos (en la epidermis) se manifestaron con mayor severidad en los frutos almacenados a la menor temperatura (2°C) pero a nivel interno (en pulpa) estos daños fueron, en general de baja intensidad y no hubo diferencias significativas por temperaturas.

Al considerar todos los períodos (seis) de frigoconservación, se encontró una baja correlación ($r = 0.018$ y $r = -0.416$; $p = 0.05$) entre la incidencia de daños por frío en pulpa y la producción de etanol y acetaldehído, respectivamente, sin embargo, hasta el tercer período de frigoconservación, se observó que al incrementarse este período, aumentó la producción de estos metabolitos, de manera que, tomando en cuenta solamente los tres períodos más cortos (4, 8 y 12 días) se observó una correlación muy superior ($r = 0.971$) entre estas variables.

Cuando el período de frigoconservación no es mayor a 12 días, el contenido de etanol en pulpa puede ser un índice de daños por frío.

LITERATURA CITADA

CORRALES-GARCÍA, J. 1997. Physiological and biochemical responses of "Hass" avocado fruits to cold-storage in controlled atmospheres. In: Seventh international controlled atmosphere research conference, Volume 3: Fruits other than apples and pears. Postharvest Horticulture Series No. 17: 69-74.

- COUEY, M. H. 1982. Chilling injury of crops of tropical and subtropical origin. HortScience 17: 162-165.
- CHANG, L. A.; HAMMET, L. K.; PHARR, D. M. 1982. Ethanol, alcohol dehydrogenase and pyruvate decarboxylase in storage roots of four sweet potato cultivars during simulated flood damage and storage. Journal of the American Society of Horticultural Science 107: 674-677.
- CHAPLIN, G.R.; WILLS, B.H.; GRAHAM, D. 1982. Objective measurements of chilling injury in the mesocarp of stored avocados. HortScience 17 (2): 238-239.
- DAVIS, P.L.; CHASE, W.G. 1969. Determination of alcohol in citrus juice by gas chromatographic analysis of head space. HortScience 4: 117-119.
- EAKS, I. L. 1976. Ripening, chilling injury and respiratory response of 'Hass' and 'Fuerte' avocado fruits at 20°C following chilling. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 101: 583-540.
- KIMMERER, T.W.; KOZLOWSKI, T.T. 1982. Ethylene, ethane, acetaldehyde and ethanol production by plants under stress. Plant Physiology 69: 840-847.
- LYONS, J.M.; RAISON, J. K.; GRAHAM, D. 1979. Low temperature stress in crop plants – The role of the membrane. Academic Press. New York, NY, USA. 565 p.
- MEZA, R. J. 1995. Preacondicionamiento en el control de daños por frío y calidad en toronja cv Ruby Red. Tesis de Maestría en Ciencias, Area de fruticultura, Colegio de Postgraduados, México. 78 p.
- MORRIS, L.L. 1982. Chilling injury of horticultural crops: An overview. HortScience 17: 161-162.
- NURSTEN, H.E. 1970. Volatile compounds: The aroma of fruits. pp. 239-268. In: The Biochemistry of Fruits and their Products. Vol. 1. A.C. Hulme (ed.), Academic Press, New York, USA.
- PESIS, E.; AMPUNPONG, CH.; SHUSIRI, B.; HEWETT, E.W. 1994. Enhancement of ethylene and CO₂ production in apple fruit following short-term exposure to high CO₂. Postharvest Biology and Technology 4: 309-317.
- SAUCEDO V., C. 1989. Influencia de la conservación en condiciones variables y programada sobre fisiología y calidad de mandarina "Fortune" y aguacate "Hass" y "Fuerte". Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, España. 201 p.
- SCHIRRA, M. 1992 Behaviour of "Star Ruby" grapefruits under chilling and non-chilling storage temperature. Postharvest Biology and Technology 2:315-327.
- SMAGULA J.M., BRAMLAGE, J. M..1977. Acetaldehyde accumulation Is it a cause of physiological deterioration of fruits?. HortScience 12: 200-203.
- VAN-LELYVELD, L. J.; BOWER, J.P. 1984. Enzyme reactions leading to avocado mesocarp discoloration. HortScience 59: 257-263.
- VEGA-GARCIA, M.; CARRILLO-LOPEZ, A.; ORDORICA-FALOMIR, C.; VALDEZ-TORRES, B.; YAHIA, E. M. 1997. Actividad de ADH, PDC Y producción de acetaldehído y etanol en aguacate (*Persea americana*, Mill.) cv Hass dañado por frío. Programa y resúmenes del XXVIII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Mazatlán, Sinaloa, México. p. 35.
- ZAUBERMAN, G.; FUCHS, Y.; AKERMAN, M. 1985. Peroxidase activity in avocado fruit stored at chilling temperatures. Scientia Horticulturae 26: 261-265.