



Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria

Desarrollos tecnológicos en el marco del Programa Nacional de Agroindustria y Agregado de Valor

Proyecto específico 1130043 (2013-2019)

Andrea Biolatto
Silvina Guidi
Mariana Nanni
Liliana Troilo



Ministerio de Agroindustria
Presidencia de la Nación

EVALUACIÓN POSCOSECHA DE VARIEDADES DE CIRUELAS PARA USO EN LA INDUSTRIA DE LOS ALIMENTOS

G. Corbino¹, G. Valentini¹, M. Murano², R. Dománino²

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - San Pedro. Ruta 9. Km 170

²Instituto Nacional de Tecnología Industrial - Agroalimentos. Av. Gral. Paz 5445 San Martín Bs As.

Correo electrónico: corbino.graciela@inta.gov.ar

RESUMEN

Los ciruelos son un grupo numeroso y diverso de especies frutales. Ellos poseen el potencial para contribuir a la nutrición humana debido a su riqueza en fibras y antioxidantes. El objetivo del presente trabajo fue determinar los parámetros físico-químicos de calidad y analizar la actividad antioxidante, el contenido de compuestos fenólicos y antocianinas de cultivares de ciruelos producidos en San Pedro, con el fin de revalorizar la producción local y evaluar su posible utilización en la industria de los alimentos. La capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales fue superior en los ciruelos sanguíneos, de piel y pulpa roja, Ruby Sweet (RS) y Casita de Chocolate (CC) respecto aquellos de piel y pulpa amarilla Blanco Pavón Arriba (BPA) y Byron Gold (BG). Hubo diferencias significativas en el contenido de antocianinas entre los cultivares rojos, obteniéndose mayores valores para CC. Los resultados sugieren que los ciruelos rojos podrían ser considerados una materia prima interesante para obtener compuestos bioactivos de aplicación en la industria de los alimentos.

Palabras clave: ciruelas, fenoles, antioxidantes, bioactivos, antocianinas

ABSTRACT

Plums are the most numerous and diverse group of fruit tree species. They have the potential to contribute to human nutrition because of their richness in fibre and antioxidants. The aims of this study were to determine quality attributes and to analyze the antioxidant activity, the content of phenolic compounds and anthocyanins plum cultivars produced in San Pedro, in order to revalue local production and assess their possible use in the food industry. The antioxidant capacity and the content of phenolic compounds of the blood plum, red skin and red flesh, Ruby Sweet (RS) and Casita de Chocolate (CC) are greater than yellow cultivars Blanco Pavón Arriba (BPA) and Byron Gold (BG). There were significant differences among red cultivars in anthocyanin content, obtaining greater values for CC. The results suggest that the red plums could be interesting raw material to obtain chemicals to apply in the food industry.

Keywords: prunes, phenols, antioxidants, bioactive anthocyanins

INTRODUCCIÓN

San Pedro (Provincia de Buenos Aires) es una zona tradicionalmente frutícola. La superficie dedicada al cultivo de ciruelo ha ido disminuyendo paulatinamente en los últimos años. Esto se debe a la rápida expansión de los cultivos extensivos como la soja, a la baja rentabilidad de la especie y a la falta de destinos comerciales alternativos. Actualmente, una parte de la producción (30%) de ciruela fuera del estándar comercial, no se cosecha, constituyéndose en un remante.

Los ciruelos son un grupo numeroso y diverso de especies frutales (1). Su fruto es una fuente de azúcares simples, fibras, taninos y minerales. Es rico en pectina, sorbitol y contiene diversos fitoquímicos, tales como flavonoides, compuestos fenólicos y antocianinas (2, 3, 4). Se informa la presencia de los ácidos neoclorogénico y clorogénico, rutina, quercetin 3-rutosido, quercetin 3-xilosido, ácido 3-hidroxycumaroil quínico, procianidina B1 y procianidina B2 (5, 6, 7, 8). Las principales antocianinas encontradas en las ciruelas son cianidin 3-glucósido, cianidin 3-rutinosido, cianidin 3-xilosido, peonidin 3-rutinosido y peonidin 3-glucósido (7).

Entre los diversos cultivares pueden encontrarse variaciones de estos parámetros (9). Las variedades tipo japonesas (*Prunus salicina*) poseen frutos de piel o pulpa amarilla o rojiza. Las variedades de piel y pulpa roja, llamadas sanguíneas, poseen colores rojos, morados y azules muy atractivos, debido a la presencia de pigmentos antocianínicos (5).

Las variedades tipo japonesas, en general, se utilizan para consumo en fresco. Para este uso, la concentración de sólidos solubles y la acidez son parámetros determinantes para la aceptación, por parte del consumidor, del producto en fresco (10). Los compuestos fenólicos presentes en estas variedades podrían ser utilizados como antioxidantes naturales en alimentos funcionales (11). El intenso color rojo de los extractos de las variedades sanguíneas posee un potencial uso como colorante rojo natural en alimentos (5). Presentan mayor firmeza que los ciruelos europeos (*Prunus doméstica*), utilizados habitualmente para la industria del deshidratado y la elaboración de mermeladas y dulces (12). La consistencia, el estado de madurez, el color y el contenido de pectinas naturales, son características de la materia prima a tener en cuenta para la elaboración de una mermelada.

El objetivo del presente trabajo fue determinar los parámetros físico-químicos de calidad y analizar la actividad antioxidante, el contenido de compuestos fenólicos y antocianinas de cultivares de ciruelo tipo japonés producidos en San Pedro, con el fin de revalorizar la producción local y evaluar su posible utilización en la industria de los alimentos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Químicos

Los reactivos 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Trolox y Folin-Ciocalteu, fueron adquiridos en la firma Sigma-Aldrich (Argentina). El ácido gálico se compró en Fluka (Argentina). Cloruro de potasio, acetato de sodio, carbonato de sodio anhidro, ácido cítrico, metanol y el etanol pertenecen a la marca Cicarelli.

Material vegetal

Frutos de ciruelas de pulpa y piel morada *Casita de Chocolate* (CC) y *Ruby Sweet* (RS) y de pulpa y piel amarilla *Blanco Pavón Arriba* (BPA) y *Byron Gold* (BG) fueron cosechados de plantas cultivadas en lotes experimentales pertenecientes a la Estación Experimental Agropecuaria de INTA San Pedro (Buenos Aires, Argentina 33° 44' 34.7" S, 59° 47' 34.4" W), en enero de 2016. Quince (15) ciruelas de cada variedad fueron seleccionadas al azar entre las cosechadas, las cuales fueron transportadas inmediatamente al laboratorio para su análisis.

Parámetros de calidad

A los frutos seleccionados se les determinó los parámetros físico-químicos peso (P), color de la piel, firmeza (F), pH, sólidos soluble totales (SST) y acidez titulable (AT). Las medidas de color fueron realizadas con un colorímetro Minolta Chroma Meter CR-400 (Osaka, Japan), en la zona ecuatorial del fruto, sobre el sitio opuesto a la sutura. Se utilizó el sistema de color CIELAB (Commission Internationale de l'Éclairage) y se obtuvieron los valores L*(luminosidad), a* b* y el C*(chroma). La firmeza se midió en dos lados opuestos, sobre la zona ecuatorial del fruto, con un durómetro digital Bareiss HPE (Alemania) y se expresó en kg/cm². El pH del homogenato se midió con pH-chímetro (Altronix). Los sólidos soluble totales se determinaron en el jugo con un refractómetro de mano N1 Atago (Osaka, Japan) y los valores se expresaron en grados Brix. La acidez titulable se determinó por titulación de una muestra, de 10 g de homogenato en 100 ml de agua destilada, con NaOH 0.2 N utilizando como indicador fenofaleína (pH 8.2). A partir de los parámetros SST y AT se calculó el ratio.

Preparación de los extractos

Se extrajo 100 g de un homogenato obtenido a partir de 10 frutos enteros (pulpa y piel, sin carozo), con 200 ml of etanol (96°) conteniendo ácido cítrico 0.20 % p/p. Este procedimiento se realizó por duplicado obteniéndose dos extractos por variedad de ciruela. Los extractos se filtraron al vacío y almacenaron a -20 °C.

Ensayo del radical DPPH •+

La capacidad antioxidante (CA) se determinó mediante el método del DPPH, el cual se basa en la utilización del radical libre 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (13). Un total de 25 µl de extracto de ciruelas rojas y 50 µl de extracto de ciruelas amarillas se llevaron a 1 ml con etanol (96°). Las muestras diluidas reaccionaron con 2 ml of DPPH• + (150 µM en metanol). La disminución de la absorbancia fue medida en un espectrofotómetro (Perkin Elmer Modelo Lambda 25) a 517 nm luego de 30 minutos de reacción. Los resultados se expresaron en micromoles equivalentes de Trolox/ 100g de peso fresco (µmol ET/100 g PF).

Contenido de Fenoles

Los fenoles (CF) se determinaron por el método de Folin-Ciocalteu (14), utilizando una curva patron de ácido gálico. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de ácido gálico/100 g de peso fresco (mg EAG/ 100 g PF). Las muestras (50 µl de extracto) o el estándar (100, 200, 300, 400, 500, 800, 900 µl de 0.074 µg/µl ácido gálico) se diluyeron con agua y se le adicionaron 50 µl de reactivo de Folin-Ciocalteu (2 N). Se dejó reaccionar 3 minutos y se adicionaron 500 µl de carbonato de sodio 0.1N. Los resultados fueron leídos a 725 nm luego de 1 hora.

Antocianinas

El contenido de antocianinas se determinó de acuerdo al método del pH diferencial (AOAC) (15), basado en el cambio de absorptividad molar que ocurre al enfrentar a una solución de antocianinas a dos tampones diferentes. A 1 ml de extracto etanólico filtrado, se le adicionó 4 ml de agua desionizada (solución A). Se diluye 1 ml de la solución A con 4 ml de la solución del buffer pH 1.0 (cloruro de potasio 0.025 M). Por otro lado, se diluye 1 ml de la solución A con 4 ml de la solución buffer pH 4.5 (acetato de sodio 0.4 M). Se leen las absorbancias de ambas soluciones en espectrofotómetro a 520 y 700 nm, luego de un período de 20-50 minutos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se sometieron a un análisis de variancia (ANOVA) y al test de Tuckey para identificar diferencias entre medias, utilizando el programa *InfoStat versión 2013*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El peso promedio del fruto para los cuatro cultivares de ciruelo analizados se muestra en la Tabla 1. Los mayores pesos fueron para las variedades Ruby Sweet y Byron Gold. La firmeza de este último difirió significativamente del resto. Los frutos de piel amarilla presentaron mayor luminosidad (L*) y valores de b*, mientras que los frutos de piel roja mayores valores de a* (Tabla 1). El color es el indicador más importante de calidad y madurez en muchas especies frutales (16). El mismo se encuentra influido por la concentración y distribución de las antocianinas en la piel (17). El color de la piel y la firmeza se utilizan para determinar el momento

de cosecha ya que ambos parámetros son índices del estado de madurez. No hubo diferencias significativas en los SST entre las 4 variedades analizadas, obteniéndose un promedio de 15.6 °Brix. La variedad más ácida fue Casita de chocolate (pH de 3.08).

Tabla 1. Parámetros de calidad a cosecha, peso del fruto (P), firmeza (F), color de la piel (L*, a*, b* y C*), pH, sólidos solubles totales (SST) y ratio, de las variedades de ciruelo utilizadas en el ensayo. Los valores representan la media de 15 repeticiones

Cultivar	P (g)	F (kg/cm ²)	L*	a*	b*	C*	pH	SST (° Brix)	Ratio SST/AT
CC	33.73 b	53.90 b	29.55 d	12.00 a	3.81 c	12.60 c	3.08 c	15.14 a	6.75 c
RS	78.46 a	46.95 c	35.85 c	14.09 a	10.52 b	17.67 b	3.41 a	15.54 a	12.48 a
BPA	43.30 b	57.10 b	50.57 b	0.33 b	33.51 a	33.57 a	3.31 ab	15.52 a	10.79 b
BG	84.73 a	74.03 a	58.09 a	1.57 b	35.38 a	36.14 a	3.24 b	16.24 a	13.13 a

Letras diferentes dentro de una misma columna indican que existen diferencias estadísticamente significativas (p<0.05) entre las variedades

El contenido de fenoles totales de los extractos metanólicos acidificados de las cuatro variedades analizadas, medido por el método de Folin-Ciocalteu, estuvo en el rango de 85.6-245.96 mg EAG/ 100 g PF. Los mayores valores se hallaron en los frutos de piel y pulpa roja. Estos resultados concuerdan con los hallados por Valero et al. (12). Vasantha Rupasinghe et al. (9) informan un valor de 198 mg EAG/ 100 g PF para una selección de ciruelo japonés, mientras que Kim et al. (3) hallaron un rango de valores, para seis cultivares, de 174-375 mg EAG/100 g PF.

La capacidad antioxidante, medida por el método del radical DPPH, expresado como µmol ET/100 g PF se muestra en la Tabla 2. Las ciruelas rojas poseen una CA entre 2-3 veces superior a las variedades de piel amarilla. La mayor capacidad antioxidante la presentó Ruby Sweet, 1269.78 µmol ET/100 g de PF. Los compuestos fenólicos predominantes en ciruelos son los derivados del ácido hidroxicinámico, como el ácido clorogénico y neoclorogénico. Estos podrían ser responsables de la mayor capacidad antioxidante de Ruby Sweet. Casita de chocolate superó a Ruby Sweet en el contenido de antocianinas. La mayoría de los compuestos fenólicos, particularmente las antocianinas, están concentradas en la piel de los frutos (18), pero en las variedades sanguíneas, la pulpa también podría contribuir a los valores hallados. El color de la piel podría estar correlacionado con el contenido de compuestos fenólicos (9), sin embargo el valor de a* (piel) para Casita de chocolate y Ruby Sweet no difirió significativamente.

Tabla 2. Capacidad antioxidante (CA), contenido de fenoles totales (CF) y antocianinas (A) de fruto entero de las variedades de ciruelo utilizadas en el ensayo. Los resultados son promedio de 10 frutos y se encuentran expresados en base fresca

Cultivar	CA (µmol ET/100g)	CF (mg EAG/100 g)	A (mg eq.Cianidin 3-glucósido/g)
CC	869.70 b	144.22 b	9.30 a
RS	1269.78 a	245.96 a	4.17 b
BPA	531.64 c	117.58 c	-
BG	401.81 d	85.60 d	-

Letras diferentes dentro de una misma columna indican que existen diferencias estadísticamente significativas (p<0.05) entre las variedades

CONCLUSIONES

Los resultados mostraron una significativa influencia del cultivar sobre el peso del fruto, la firmeza, el color, el ratio, la capacidad antioxidante, el contenido de fenoles y de antocianinas., observándose una diversidad en los tres últimos parámetros mencionados. Debido a que los cuatro cultivares analizados pertenecen a lotes implantados dentro de una misma superficie, conducida en forma similar, la variabilidad encontrada podría atribuirse al genotipo. Las variedades de ciruelas sanguíneas se destacaron por su elevada actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos (antocianinas), los cual las posiciona como materia prima interesante para ser utilizadas como colorantes naturales o fuente de sustancias bioactivas, para aditivar diferentes matrices alimenticias. El contenido de fenólicos, relacionado con la astringencia es un factor a considerar según el destino de la fruta.

Los resultados ameritan el desarrollo de tecnologías simples de aislamiento y purificación, y futuras evaluaciones de performance de esas sustancias en diferentes matrices alimenticias.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece los aportes realizados por el Proyecto Específico No. 1130043 “Estrategias para la Diferenciación de Alimentos y el Desarrollo de Nuevos Productos Alimentarios” PNAIyAV-INTA), para realización del presente trabajo.

REFERENCIAS

- 1- Blazek, J. (2007). A survey of the genetic resources used in plum breeding. *Acta Horticulturae*. 734: 31-45.
1. Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science Technology*. 28:25-30.
- 2- Fu, L.; Xu, B.T.; Xu, X.R.; Gan, R.Y.; Zhang, Y.; Xia, E.Q.; Li, H.B. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry*. 129: 345-350.
- 3- Kim, D.O.; Jeong, S.W.; Lee, C.Y. (2003). Antioxidants capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*. 81: 321-326.
- 4- Stacewicz-Sapuntzakis, M.; Bowen, P.E.; Hussain, E.A.; Damayanti-Wood, B.I.; Farnsworth, N.R. (2001). Chemical composition and potential health effects of prunes: A Functional Food? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 41: 251-286.
- 5- Fanning, K.J.; Topp, B.; Russell, D.; Stanleyd, R.; Netzel, M. (2014). Japanese plums (*Prunus salicina* Lindl.) and phytochemicals – breeding, horticultural practice, postharvest storage, processing and bioactivity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 94: 2137–2147.
- 6- Bobrich, A.; Kent, J.; Fanning, K.J.; Rychlik, M.; Russell, D.; Top, B.; Netzel, M. (2014). Phytochemicals in Japanese plums: impact of maturity and bioaccessibility. *Food Research International* 65:20–26.
- 7- Usenik, V.; Štampar, F.; Veberič, R. (2009). Anthocyanins and fruit colour in plums (*Prunus domestica* L.) during ripening. *Food Chemistry*. 114. 529-534.
- 8- Piga, A.; Del Caro, A.; Corda, G. (2003). From plums to prunes: influence of drying parameters of polyphenols and antioxidants activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 12, 3675–3681.
- 9- Vasantha Rupasinghe, H.P.; Jayasankar, S.; Lay, W. (2006). Variation in total and antioxidant capacity among European plum genotypes. *Scientia Horticulturae*. 108: 243-246.
- 10- Crisosto, C.H.; Garner, D.; Crisosto, G.M.; Bowerman, E. (2004). Increasing ‘Blackamber’ plum (*Prunus salicina* Lindell) consumer acceptance. *Postharvest Biology and Technology*. 34: 237-244.
- 11- Li, Y.; Lai, P.; Chen, J.; Shen, H.; Tang, B.; Wu, L.; Weng, M. (2016). Extraction optimization of polyphenols, antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities from *Prunus salicina* Lindl, *Food Science and Technology*. 36. On-line versión ISSN 1678-457x
- 12- Valero, Y.; Colina, J.; Ineichen, E. (2012). Efecto del procesamiento sobre la capacidad antioxidante de la ciruela criolla (*Prunus domestica*). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 62: 363-369.
- 13- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*. 28, 25-30.
- 14- Swain, T.; Hillis, W.E. (1959).The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 10:63-68.
- 15- Lee, J. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC International*. 88: 1269-1278.
- 16- Drake, S.R.; Proebsting, E.I.; Jr Spayd, S.E. (1982). Maturity index for the color grade of canned dark sweet cherries. *Journal of the American Society of Horticultural Science*. 107: 180-183.
- 17- Gao, L.; Mazza, G. (1995). Characterization, quantitation and distribution of anthocyanins and colourless phenolics in sweet cherries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 343-345.
- 18- Tomás-Barberán, F.A.; Gil, M.I.; Cremin, P.; Waterhouse, A.L.; Hess-Pierce, B.; Kader, A.A. (2001). HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 4748-4760.