

USO DEL QUITOSANO DURANTE EL ESCALDADO DEL NOPAL (*Opuntia ficus indica*) Y EFECTO SOBRE SU CALIDAD

USE OF CHITOSAN DURING BLANCHING OF NOPAL (*Opuntia ficus indica*) AND ITS EFFECT ON QUALITY

L. E. Robles-Ozuna¹, F. M. Goycoolea¹, M. I. Silveira² y L.C. Montoya B^{1*}

¹ Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo,
A.C. Apdo. Postal 1735. Hermosillo, Sonora, 83000. México.

² Departamento de Investigación y Posgrado. Universidad de Sonora, México.

Recibido 12 de Julio 2005; Aceptado 26 de Abril 2007

Resumen

Los principales problemas asociados con el deterioro del nopal cortado en trozos y empacado son el oscurecimiento, el drenado de mucilago y el rápido crecimiento microbiano. Debido a esto, el nopal preparado para consumo humano directo se considera un producto altamente perecedero, por lo que el objetivo de este estudio fue determinar que efecto tiene el escaldado y la concentración de quitosano utilizado en esta etapa del procesamiento, sobre su calidad. Se evaluó el tiempo de escaldado y la concentración de quitosano en el medio de escaldado y se determinaron cambios en pH, acidez titulable (%), sólidos solubles totales (°Brix), color (L^* , a^* , b^*), volumen de mucilago drenado y la actividad enzimática de polifenol oxidasa (PPO) y peroxidasa POD. Se observó que las variables más afectadas por los tratamientos ($p \leq 0.05$) fueron el color en su verdor (valor a^*) y el volumen de mucilago drenado. La pérdida de color se observó en todos los tratamientos, ya que hubo una reducción del verdor en relación con la materia prima hasta en 50 % y 16%, en las muestras sin quitosano y con quitosano, respectivamente. El volumen de mucilago drenado se redujo en más del 57% mediante la adición de quitosano. En cuanto la actividad enzimática, la PPO se inactivó totalmente y la de POD se redujo cerca del 3 % cuando se empleó quitosano.

Palabras clave: nopalitos, escaldado, quitosano.

Abstract

The major quality problems presented by nopal as a fresh vegetable prepared for direct human consumption are enzymatic browning, mucilage drainage and a fast growth of microorganisms. Such phenomena become evident in relatively short periods of time, making nopal a highly perishable product. The aim of this study was to determine the effects of chitosan addition during blanching on the preservation of nopal quality. Duration of blanching and chitosan concentration were evaluated. Changes in pH, titratable acidity (%), total soluble solids (°Brix), color (L^* , a^* , b^*), mucilage drainage volume and PPO and POD enzymatic activity were determined. It was observed that the most affected variables by the treatments ($p \leq 0.05$) were (color) greenness (a^* value) and mucilage drainage volume. Loss of color was observed in all treatments; but in the case samples with no chitosan addition, the extent of greenness loss was 50% with respect to the raw material, while the use of chitosan reduced the color loss to only 16%. Mucilage drainage volume was reduced up to 57 % by chitosan addition. Also, the PPO enzymatic activity was completely reduced while the POD was reduced up to 3 % with chitosan utilization.

Keywords: nopalitos, blanching, chitosan.

1. Introducción

“Nopalitos” es el nombre tradicional que tienen los cladodios de nopal (*Opuntia ficus indica*) cortados en trozos. Son considerados una hortaliza especial en la dieta mexicana y su consumo se ha recomendado para coadyuvante en enfermedades como diabetes e hipertensión arterial. En la actualidad, la presentación más común y de mayor

aceptación en el mercado nacional es la del producto troceado y empacado en bolsas de polietileno; algunas veces almacenadas bajo refrigeración y otras a temperatura ambiente. La vida de anaquel del producto en estas presentaciones es muy corta debido a tres reacciones críticas de deterioro que ocurren de manera paralela y muy acelerada: a) el rápido cambio del color verde natural a un verde oscuro muy desagradable a la vista y que es producto de

* Autor para la correspondencia: E-mail: lmontoya@cascabel.ciad.mx
Tel. (662) 289 2400 Ext. 231 FÁX (662) 280-0422.

reacciones enzimáticas, de las cuales la enzima responsable es polifenoloxidasas b) el drenado de mucílago, y c) el rápido crecimiento de microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) cuya actividad produce mal sabor y olor convirtiendo al producto en un vehículo potencial de intoxicaciones alimentarias (Rodríguez-Félix y Soto, 1992). Generalmente estos mecanismos presentan un efecto sinérgico que acelera el deterioro general del producto.

Uno de los métodos más utilizados para mantener la calidad de frutas y verduras durante periodos prolongados de almacenamiento es el congelado (Fennema, 1989). La calidad de los vegetales congelados es muy similar a los productos en fresco, además de ser seguros para la salud (Sahagian y Douglas, 1996; Cano, 1996). Una de las etapas críticas durante el tratamiento previo al congelado es el escaldado, el cual consiste en un tratamiento térmico aplicado a los vegetales antes de la etapa de la congelación. Con la aplicación de calor, se logra bajar la carga bacteriana e inactivar las enzimas que causan el deterioro de estos productos (Williams y col., 1986). Específicamente en el caso de la inactivación enzimática, el escaldado debe ser tal que se inactive la enzima responsable del deterioro y se mantenga la calidad del producto (Whitaker, 1991).

Actualmente el empleo de compuestos de origen natural, en el procesamiento de alimentos ha tenido gran auge, tal es el caso del quitosano, el segundo polisacárido de mayor abundancia en el mundo que se caracteriza por ser un biopolímero natural, no tóxico y biodegradable (Toledo y Luviano, 1992; Li y col., 1997). Su uso se ha reportado como un absorbente de intercambio iónico en la etapa de clarificación en bebidas y vinos (Noomhorm y col., 1998); para prevenir el encafecimiento en jugo de manzana a 200 ppm o más (Sapers, 1992); en la remoción de compuestos fenólicos (catequinas, flavonoides, ácido cinámico, etc.) (Spagna y col., 1996) los cuales son responsables de alteraciones como el encafecimiento de vinos. Se ha destacado, en los últimos años, su uso como película comestible y degradable en diferentes productos, siendo aplicado por Zhang y Quantick (1998) en fresas para evitar el crecimiento de *Botrytis cinerea* y *Rhizopus* sp. Aún cuando el quitosano es uno de los polisacáridos con mayor uso potencial en alimentos, actualmente no cuenta con autorización oficial por parte de la Food and Drugs Administration (FDA) de E.U.A.; por el contrario, Japón y Noruega sí autorizan su uso en alimentos.

En base a lo anterior, el principal objetivo de este estudio fue determinar el efecto del uso del quitosano, como película, mediante el escaldado del nopal y evaluar el efecto de ambos en los problemas asociados con la calidad de los nopales.

2. Materiales y métodos.

2.1 Materia Prima

Se utilizaron los cladodios de nopal *Opuntia ficus indica* Copena V1, con una longitud de 15 ± 3 cm. Una vez cosechados se almacenaron a temperatura de 5 °C antes del experimento. Para este estudio fueron desespinados a mano para posteriormente trocearse en tiras de 1.0 cm de ancho; para cada tratamiento se emplearon lotes de 4 Kg por duplicado.

2.2 Escaldado

Se utilizó el escaldado por inmersión a una temperatura de 70 °C; el medio para escaldar los nopales, fueron soluciones de quitosano al 0.1, 0.2 y 0.3 p/v, con variaciones en tiempo de 1, 2 y 3 min. El quitosano empleado se obtuvo a partir de la cáscara de camarón, en el laboratorio de Biopolímeros de CIAD, A.C. Este contenía un grado de desacetilación del 80% y se disolvió en soluciones de ácido acético a un pH de 3.5. Para realizar esta operación se emplearon marmitas de 25 L con una relación peso de nopal-volumen de solución de 1:4 (Kg de nopal/L de solución). Una vez realizados los tratamientos, los nopales se congelaron rápidamente empleando N₂ líquido y se almacenaron a -20 °C para sus posteriores evaluaciones, además se utilizaron nopales sin tratamiento como control.

2.3 Acidez titulable y pH

Para estos análisis se utilizaron los métodos propuestos por la A.O.A.C (1990), homogeneizando 10 g de muestra con 50 mL de agua neutralizada. El pH se midió en forma directa y la acidez titulable se midió titulando con NaOH (0.1N). Se empleó un titulador automático (Mettler DL25 titrator), reportando la acidez como porcentaje de ácido cítrico.

2.4 Sólidos Solubles Totales

Se utilizó el método propuesto por la A.O.A.C, (1990). Se homogenizaron 30 g de nopal y se colocó una gota del homogenizado en un refractómetro de Abbe Mark II (American Optical Corp.), los resultados se presentan como °Brix.

2.5 Color

Este parámetro se midió en dos partes del cladodio punta y centro, en el caso de la materia prima. Para el caso del nopal cortado, las tiras se colocaron en forma contigua para las mediciones. En ambos casos se utilizó un colorímetro Minolta CR-300 (Metrolab International) monitoreando en el espacio CIE L*, a* y b*.

2.6 Volumen drenado de mucílago

Se utilizaron 100 gr de muestra y se dejaron reposar en un colador por un tiempo de 30 min. sobre un vaso de precipitado de 600 mL. Transcurrido este tiempo se midieron los mL de líquido drenado, reportándolo de esta manera.

2.7 Actividad Enzimática

Se midió en base a la actividad de peroxidasa (POD) y polifenoloxidasas (PPO), para las cuales en primer lugar fue necesario la obtención de extractos procediendo de la siguiente manera: Se homogenizaron 10 g de muestra con 1 g de Polivinilpolipirrolidona (PVPP) en 50 mL de buffer Fosfato de Sodio 20 mM, a un pH de 8.5. Para lo anterior se utilizó una licuadora por un tiempo de 1 min. El homogenizado se filtró utilizando una malla de algodón para después centrifugarse a 6000g por 30 min a 4 °C. Se utilizó una centrifuga Beckman modelo J2-21 equipada con rotor JA-20. El precipitado se desechó y el sobrenadante se utilizó para medir la actividad de POD y PPO.

2.8 Peroxidasa (POD)

Para la actividad de POD se siguió la técnica propuesta por Ganthavorn y col., (1991). Se utilizó 1 mL de extracto por cada 1.5 mL de Buffer citrato 20 mM pH 3.6 conteniendo o-dianisidina 20 mM y 0.5 mL de peróxido de hidrógeno 10 mM. El ensayo se realizó a 30 °C, tomando las lecturas del cambio de la densidad óptica a 460 nm cada 5 s por 1.5 min. El equipo utilizando fue un espectrofotómetro Lambda 3A UV/VIS (Perkin Elmer Co.) a 460 nm. El coeficiente de extinción empleado en la o-dianisidina bajo estas condiciones fue de $84.49 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ y la actividad enzimática específica, se reportó como residual tomando como 100% la muestra sin tratamiento.

2.9 Polifenoloxidasas (PPO)

La actividad de la PPO se determinó modificando la técnica propuesta por Flurkey y Jen (1978) empleando 1 mL del extracto por cada 1.25 mL de buffer citrato 20 mM pH 3.5 y conteniendo 4-metil-catecol 20 mM como sustrato. El cambio en la densidad óptica se registró cada 15 s por un tiempo de 3 min a una longitud de onda de 410 nm utilizando un espectrofotómetro Lambda 3B Perkin Elmer a una temperatura de 30°C. Se utilizó un coeficiente de extinción de $5.508 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ para el 4-metil-catecol bajo estas condiciones y la actividad enzimática específica se reportó como residual tomando como 100% la muestra sin tratamiento.

2.10 Diseño Experimental

Se empleó un diseño completamente al azar de 12 tratamientos y 2 repeticiones por tratamiento. La estructura de los tratamientos fue la de un arreglo factorial completo de dos factores: Tiempo de Escaldado (**TE**) y Concentración de Quitosano (**CQ**) con tres y cuatro niveles respectivamente. El tiempo de escaldado fue de 1, 2 y 3 min y la concentración de quitosano de 0, 0.1, 0.2 y 0.3 % (p/v).

2.11 Análisis Estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante el análisis de regresión considerando el siguiente modelo:

$R_{ij} = \mu + CQ_i + TE_j + (CQ \times TE)_{ij} + \epsilon_{ijk}$ (1)
Donde: $i = 1, 2, 3, 4$; $j = 1, 2, 3$; $k = 1, 2$. Con este modelo se realizó un análisis de varianza para conocer los efectos de la **CQ**, los **TE** y la interacción entre ambos factores a un nivel de significancia ($\alpha = 5\%$). Todos los análisis se realizaron utilizando la versión 4.04 del JMP4. 1989-2001 SAS Institute Inc.

3. Resultados y discusión.

3.1 Características de la Materia Prima

En la caracterización de los nopalitos, los parámetros fisicoquímicos dados en la Tabla 1 concuerdan con los datos reportados para este producto (Rodríguez-Félix y Villegas-Ochoa, 1998; Montoya y col., 1998).

Tabla 1. Características iniciales de los cladodios de nopal utilizados como materia prima en la investigación.

Características	
pH ^a	3.77 ± 0.003
Acidez Titulable ^a , % Ác. málico	0.64 ± 0.015
Sólidos Solubles Totales ^a , °Brix	1.6 ± 0.19
Color	
Valor ^b L*	40.3 ± 0.28
Valor ^b a*	-5.76 ± 0.26
Valor ^b b*	14.5 ± 0.17
Actividad Enzimática, UI/mg	
Actividad Específica de POD ^a	406 ± 57
Actividad Específica de PPO ^a	7.97 ± 1.15
Drenado ^a , mL	NP

^aValores promedio de 6 repeticiones \pm DE

^bValores promedio de 10 repeticiones \pm DE

NP: No presentó

3.2 Efectos del Escaldado-Quitosano sobre los parámetros fisicoquímicos

Al establecer los efectos del TE y la CQ (Tabla 2), el análisis de varianza reveló que existe una interacción significativa (**CQ X TE**) entre ambas variables sobre

los sólidos solubles totales y el volumen de drenado, presentando un valor de R^2 de 0.5 y 0.98 respectivamente. Además se observan las variables significativas ($p \leq 0.05$) en base al alto valor de R^2 , las cuales fueron: acidez titulable, drenado, valor a^* , y actividad de POD. La discusión de estos efectos se realiza por separado.

Tabla 2 Efecto del tiempo de escaldado y concentración de quitosano sobre las variables de calidad de los nopalitos.

Variable	Coefficiente R^2	Factores		Interacción
		CQ	TE	CQ \times TE
Valor L^*	0.37	---	---	---
Valor b^*	0.32	---	---	---
Valor a^*	0.86	****	****	---
Acidez titulable	0.93	****	---	---
pH	0.51	---	---	---
S. S. T.	0.50	****	****	****
POD	0.75	****	****	---
Drenado	0.98	****	****	****

CQ: Concentración de Quitosano

TE: Tiempo de Escaldado

****: Efecto Significativo ($p \leq 0.05$)

--- Efecto No Significativo ($p \geq 0.05$)

3.3 pH

Se observa en la Tabla 2 que los tratamientos no afectaron el pH. En productos similares, específicamente en conservas de nopal comercializados actualmente, se ha reportado un pH alrededor de 3.8 - 4.2 (Montoya y col., 1998, Montoya y Robles-Ozuna, 2001) similares a los encontrados en este trabajo.

En cuanto al efecto de la CQ sobre el pH no hubo un patrón distinto al presentado con el TE. Este rango de pH es generalmente deseable para este tipo de alimentos debido a que se reduce la posibilidad de crecimiento microbiano, ya que el pH en el cual la mayoría de las bacterias pueden crecer, está por arriba de 4.5 y por debajo de este se disminuye su termoresistencia haciéndolas más fácil de eliminar (Downing, 1996).

3.4 Valor L^* y b^* .

El efecto de los tratamientos sobre el color de los nopalitos fue evaluado inicialmente explorando los valores de los parámetros L^* , a^* y b^* . Específicamente en el caso del valor L^* y b^* , se observó que el tiempo de escaldado no afectó ($p \geq 0.05$) el color, y lo que concuerda con lo reportado por Montoya y col. (1998) para nopalitos en conserva de esta misma variedad. Es factible considerar que los tratamientos térmicos no fueron lo suficientemente severos como para provocar cambios de color blanco a negro en sus diferentes matices.

3.5 Valor a^*

Generalmente la intensidad del color verde es una de las características más importantes en la determinación de la calidad final de los vegetales verdes procesados térmicamente (Steet y Tong, 1996). Para esto el valor $-a^*$ ha sido utilizado como un parámetro físico que representa esta característica o la pérdida de ella, y Von Elbe y col. (1986) por su parte reportaron que $-a^*$ puede ser usado para detectar cambios en el color verde de los vegetales con estas propiedades. Además se ha reportado una alta correlación lineal con escalas sensoriales (Steet y Tong, 1996).

Los nopalitos son considerados un producto de color verde brillante, y más la variedad Copena VI, siendo este uno de los atributos más importantes para esta hortaliza (Rodríguez-Félix y Villegas Ochoa, 1998). Debido a lo anterior, se evaluó el efecto del TE sobre el valor a^* del producto procesado (Fig. 1) y se encontró que existe una disminución de esta variable que provocó una pérdida del color verde ($p \leq 0.05$). Por otra parte, el análisis de los datos muestra un efecto diferente en cada tiempo de escaldado pero siempre con tendencia a disminuir conforme se incrementa el tiempo de residencia en el escaldado. Este comportamiento puede deberse a la pérdida de clorofila, debido a su conversión a feofitinas, provocado por el aumento en la temperatura, lo cual ha sido reportado en frutas y hortalizas verdes procesados térmicamente (Ahmed y col. 2002; Steet y Tong, 1996; Weemaes y col. 1999).

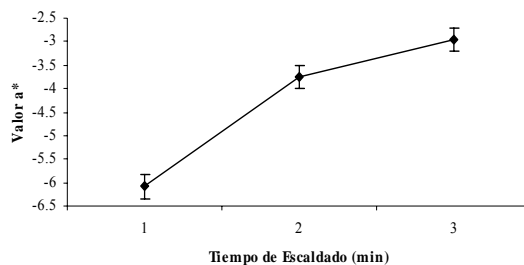


Fig. 1. Efecto del tiempo de escaldado sobre el valor a^* de los nopalitos utilizando quitosano (0.0, 0.1, 0.2 y 0.3 % p/v) en el medio.

Dentro del esquema conservador de la calidad de los vegetales verdes y considerando como una práctica común y obligatoria el empleo de algún tratamiento térmico para prevenir cambios deteriorativos, se buscó minimizar el efecto del calor mediante el uso de quitosano como un beneficio extra y se obtuvo que la adición de quitosano mantuvo el valor $-a^*$ a un nivel aceptable en relación a la materia prima empleada (Fig. 2), siendo estadísticamente iguales las tres concentraciones empleadas en este trabajo. Es posible considerar que el efecto obtenido pudo deberse a la adherencia del quitosano como película en el nopal y que al estar en

el medio de escaldado, provocó una disminución en la degradación del color verde. Específicamente para jugo de brócoli, Van Loey y col. (1998) reportan degradación de clorofila debido a tratamientos térmicos empleando un mínimo de 80 °C, y para ensalada de col se ha reportado esta decoloración cuando se disminuye el pH de 6.1 a 4.7 (Heaton y col., 1996). En el caso de los nopales, es probable que los cambios en el valor a^* se deban más al tratamiento térmico que a los cambios en el pH debido a que en este último los cambios no fueron tan severos.

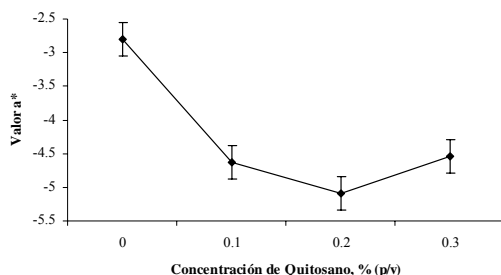


Fig. 2. Efecto de la concentración de quitosano sobre el valor a^* de los nopales escaldados por 1, 2 y 3 min.

3.6 Acidez Titulable

En el caso de los nopales, la acidez del producto es generalmente alta en relación a otras hortalizas, y es en cierto grado una característica del sabor de los nopales (Rodríguez-Félix y Villegas-Ochoa, 1998). En este trabajo, el efecto del TE no resultó en diferencias significativas ($p \geq 0.05$) sobre este parámetro; sin embargo, los valores de acidez obtenidos fueron mayores a los reportados en la materia prima por Cantwell y Rodríguez-Félix (1988). Estudios hechos por Poulsen (1986), referentes a los cambios de acidez en vegetales escaldados, reportan una disminución de los ácidos orgánicos en general, principalmente atribuida a la solubilidad de estos en el medio y que se asocian con un detrimento del valor nutritivo de los alimentos escaldados por inmersión. Sin embargo, en este caso no fue así, el efecto de la lixiviación se contrarrestó debido principalmente a que el medio de escaldado era una solución ligeramente ácida por la forma en la que el quitosano se solubilizó.

Se observó un incremento en la acidez debido al uso de quitosano en cerca del 14 % en relación a la muestra sin quitosano (Fig. 3). Sin embargo, es interesante notar la disminución de esta variable al aumentar la CQ, que pudo ser debido a un efecto de neutralización por parte de los grupos amino sobre las diferentes especies de ácido presentes.

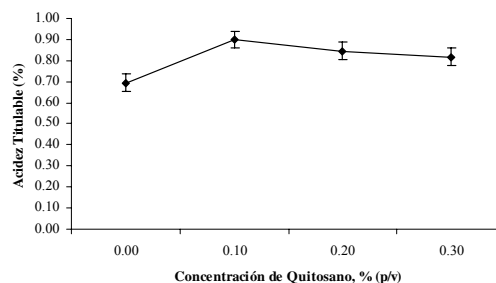


Fig. 3. Efecto de la concentración de quitosano, sobre la acidez titulable de los nopales escaldados por 1, 2 y 3 min.

3.7 Sólidos Solubles Totales.

El efecto global que se produjo por los tratamientos sobre los sólidos solubles totales en los nopales se observa en la Fig. 4. En cuanto al TE, esta variable redujo los °Brix ($p \leq 0.05$) que se mantuvieron en un rango normal para este producto. Este fenómeno ya ha sido reportado en otros trabajos de escaldado de chícharos y vegetales (Selman y Rolfé, 1982; Labuza y Breene, 1989; Poulsen, 1986). Además se ha reportado la disminución de minerales esenciales en espárrago por López y col. (1997) y su pérdida se asocia a la lixiviación y arrastre de los ácidos orgánicos solubles, azúcares, vitaminas y demás carbohidratos hidrosolubles en el medio de escaldado y se acentúa al incrementar el tiempo de escaldado, provocando en consecuencia una disminución del valor nutritivo de estas hortalizas.

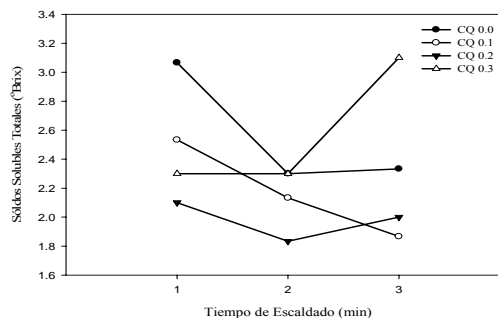


Fig. 4. Efecto de la concentración de quitosano 0.0, 0.1, 0.2 y 0.3 % (p/v) sobre los sólidos solubles totales de los nopales escaldados por 1, 2 y 3 min.

En cuanto al efecto de la CQ sobre los sólidos solubles totales en los nopales, el análisis estadístico muestra que hay una disminución significativa ($p \leq 0.05$). Se observa una tendencia a reducirse cuando se emplearon las primeras dos concentraciones (0.1 y 0.2 %), pero cuando se utiliza la máxima concentración (0.3%) y el mayor tiempo de escaldado los °Brix vuelven a su concentración original. Se ha reportado que el uso de quitosano como película protectora en diferentes vegetales mínimamente procesados ha conferido cierta

protección al medio, e impermeabilidad a los gases. En este caso, la protección fue evidente debido a que se evitó la salida de mucílago y otros componentes hidrosolubles en el medio. Por otra parte, el carácter policatiónico del quitosano pudo interactuar con el mucílago (aniónico) generando una red polimérica que detuvo al mismo tiempo el arrastre de los sólidos solubles totales del producto como lo han reportado Argüelles-Monal y col. (2000) y Howland (1998). Es evidente que el empleo de quitosano a una concentración de 0.3% y tiempo de 3 min en el escaldado, mantiene el contenido de sólidos solubles totales en los nopalitos.

3.8 Drenado

En este trabajo se consideró el volumen de drenado, el líquido liberado por el nopal y que está compuesto principalmente por mucílago y agua. Generalmente, este se refleja en la calidad y es considerado como un mal atributo debido a la apariencia del producto (aspecto gelatinoso y pegajoso) (Rodríguez-Félix y Soto, 1992). La liberación del mucílago es un fenómeno inevitable del procesamiento, ya que este carbohidrato de reserva es liberado por las células, con cualquier tipo de estrés mecánico como rasguños y cortes, por lo que las etapas de desespinado, limpieza y cortado provocan una salida de mucílago. Aunado a estas etapas, la inmersión del nopal en agua promueve también este fenómeno, debido a diferencias en la presión osmótica entre las células especializadas productoras de mucílago y el medio acuoso. En este trabajo esta variable fue altamente afectada por los tratamientos y hasta por la interacción de ambos (Fig. 5).

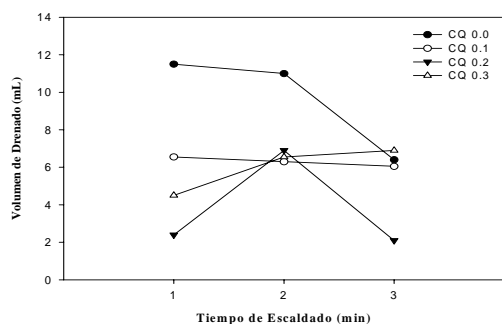


Fig. 5. Efecto de la concentración de quitosano 0.0, 0.1, 0.2 y 0.3 % (p/v) sobre el volumen de drenado de los nopalitos escaldados por 1, 2 y 3 min.

El efecto del TE, promedió alrededor de los 8 mL de drenado y este resultado indica un aumento significativo ($p \leq 0.05$) en relación al producto sin escaldar. También se aprecia en la Fig. 5, que el quitosano a cualquier concentración (0.1, 0.2 y 0.3%) provocó una disminución ($p \leq 0.05$) del volumen de drenado, presentando un mínimo aproximado de 4

mL cuando se empleó en concentraciones de 0.2 %. En este caso la reducción de la salida del mucílago y agua de los nopalitos debido al quitosano es similar a lo reportado en estudios sobre el uso de películas de quitosano que impidieron la pérdida de humedad, en calabazas y chile Bell según El Ghaouth y col. (1992), además Chen y col. (1996) también ha reportado comportamientos similares usando quitosano y otros polímeros como barreras protectoras y envases bioactivos.

En ambos comportamientos se observa un valor promedio alrededor de los 6 mL, que puede considerarse relativamente bajo, pero es evidente que la interacción entre las dos variables, concentración de quitosano y tiempo de escaldado, fue lo que provocó este resultado ya que mientras el quitosano disminuye el volumen de drenado, el TE provoca lo contrario.

3.9 Polifenoloxidasas (PPO)

La polifenoloxidasas (PPO) es una enzima ubicada en el reino vegetal. Generalmente para el procesador de hortalizas su acción está principalmente relacionada con el encafecimiento enzimático de los productos frescos, además de causar modificaciones en el sabor y color de las hortalizas enlatadas o congeladas (Vámos-Vigyázó, 1981).

La mayoría de los vegetales requieren de un tratamiento térmico o escaldado corto para inactivar enzimas y estabilizar la calidad antes y durante el almacenamiento congelado de las hortalizas (Halpin y Lee, 1987). En los nopalitos frescos se ha reportado la actividad de PPO como una causa del deterioro (Rodríguez Félix y Soto, 1992). En este trabajo, la actividad de PPO fue eliminada debido a los tratamientos y a que es altamente termolábil como se ha reportado por Zawitowski y col. (1992).

El empleo de quitosano como agente inhibidor de la actividad de PPO fue estudiado por Zhang y Quantick (1997) en frutos de litchi con resultados exitosos ya que la formación de una película externa en el fruto evitó el contacto directo con el oxígeno atmosférico, disminuyendo la actividad enzimática y en consecuencia el oscurecimiento de los frutos. En este trabajo, las concentraciones de quitosano empleadas con resultados favorables en la inhibición de la PPO, fueron hasta 10 veces menores que las reportadas en otros frutos enteros. La ventaja también es posible atribuirla a la suma del efecto del tiempo de escaldado y la adición de quitosano en el medio, ya que el efecto de ambos factores por separado induce la reducción de la actividad enzimática como ha sido señalado en diversos reportes (Halpin y Lee, 1987; Cano y col., 1997).

3.10 Peroxidasa (POD)

Esta enzima contiene un grupo hem, responsable de catalizar un gran número de reacciones, donde un peróxido es reducido mientras que un donador de electrones es oxidado. Por esto es la responsable de la disminución en color y sabor de vegetales sin escaldar (López y col., 1994). Además POD es considerada como la enzima más termoresistente y es usada para evaluar la eficiencia en procesos de escaldado de hortalizas (Rodríguez-Saona y col., 1995; Ganthavorn y col., 1991; Halpin y Lee, 1987; Williams y col., 1986).

En lo referente a procesamiento en nopal son muy pocos estudios que hacen referencia a la actividad de POD en esta hortaliza; sin embargo, un estudio de purificación y caracterización por Padiglia y col., (1995), en el que se reportó una inactivación térmica del 50% a 60 °C por un tiempo de una hora en la enzima purificada, confirma su alta termoresistencia. En este trabajo, los TE empleados no llegaron a inactivar totalmente la POD, pero si redujeron significativamente su actividad ($p \leq 0.05$) (Fig. 6). La mínima actividad obtenida representa alrededor del 3 %, tomando como 100% la actividad en la muestra fresca; sin embargo, esta actividad puede ser capaz de desarrollar sabores y olores indeseables aún a temperaturas de congelación como lo ha reportado Whitaker (1984). Por otra parte es importante señalar que el tiempo y temperatura de escaldado deben de ser optimizados en base a los principales atributos de calidad, ya que si buscamos inactivar totalmente la POD se puede obtener un sobreescaldado que generalmente provoca detrimento en textura, color, valor nutritivo, entre otras características (Williams y col., 1986).

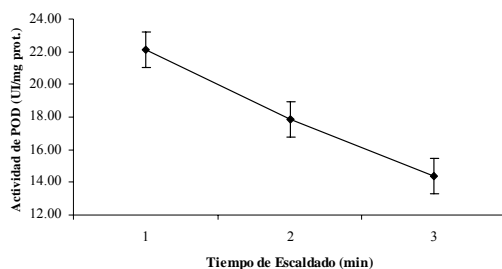


Fig. 6. Efecto del tiempo de escaldado sobre la actividad enzimática de POD de los nopalitos utilizando quitosano (0.0, 0.1, 0.2 y 0.3 % p/v) en el medio.

Zhang y Quantick (1997) también reportan una disminución de la actividad de la POD cuando emplean películas de quitosano en litichi debido también a la barrera al oxígeno que forma el polímero; sin embargo, en este trabajo la actividad de esta enzima fue muy variable (Fig. 7) ya que muestra dos máximos y dos mínimos con lo que es difícil elucidar lo que ocurre. Esto permite considerar que el

empleo de CQ más altas podrían ayudar a describir con más precisión su efecto sobre esta enzima.

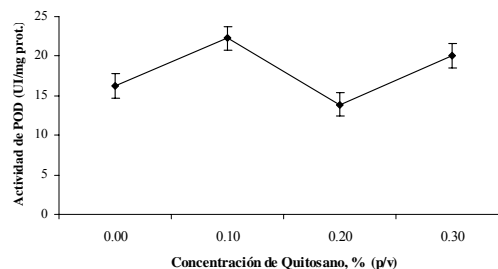


Fig. 7. Efecto de la concentración de quitosano sobre la actividad enzimática de POD de los nopalitos escaldados por 1, 2 y 3 min.

Conclusiones

El TE y la CQ, presentaron efectos sobre la mayoría de las variables evaluadas. Se presentaron interacciones entre el TE y CQ sobre el contenido de sólidos solubles totales y el volumen de drenado.

Inicialmente el valor a^* , fue favorecido por la adición de quitosano a cualquier concentración y el aumento en el TE generó la pérdida de color verde aumentando el valor a^* .

La combinación de los tiempos de escaldado y el uso de distintas concentraciones de quitosano, provocaron una disminución total de la actividad de polifenoloxidasas y en el caso de peroxidasa se obtuvo una máxima actividad remanente cercana al 3%, con una concentración de quitosano del 0.2 % y un tiempo de escaldado de 3 min.

Referencias

- A.O.A.C. (1990). *Official Methods of Analysis*. (15 th. Ed.) Association of Official Analytical Chemists. Arlington Virginia USA.
- Ahmed, J., Shivare, U.S. y Shandu, K.S. 2002. Thermal Degradation Kinetics of Carotenoids and Visual Color of Papaya Puree. *Journal of Food Science* 67(7) 2692-2695.
- Argüelles-Monal, W., Cabrera, G., Peniche, C. y Rinaudo, M. (2000). Conductimetric Study of the Interpolyelectrolyte Reaction Between Chitosan and polygalacturonic acid. *Polymer*. 41, 2373-2378.
- Cano M.P. (1996). Vegetables. En: *Freezing Effects on Food Quality*. (Jeremiah L. E. Ed.) Marcel Dekker Inc. New York NY USA. 247.
- Cano M.P. Hernández A. y De Ancos B. (1997). High Pressure and Temperature Effects on Enzyme Inactivation in Strawberry and Orange Products. *Journal of Food Science* 62(1) 85-88
- Cantwell M. y Rodríguez-Felix A. (1988). Developmental Changes in Composition

- and Quality of Prickly Pear Cactus Cladodes (Nopalitos). *Plant Foods for Human Nutrition* 38, 83-93.
- Chen, M.A., Yeh, G.H., y Chiang B.H. (1996). Antimicrobial and Physicochemical Properties of Methylcellulose and Chitosan Films Containing Preservative. *Journal of Food Processing and Preservation*. 20, 379-390.
- Downing, D.L. (1996). A Complete Course in Canning and Related Process. En: Book II: *Microbiology, Packaging, HACCP & Ingredients*. CTI Publications Inc. Maryland USA. 11.
- El Ghaouth, A. Ponnampalam, R., Castaigne, F. y Arul, J. (1992). Chitosan Coating to Extend the Storage Life of Tomatoes. *Hortscience*. 27(9), 1016-1018
- Fennema O. (1989). The Frozen food Industry: Key to Competitiveness, Technical Innovations in Freezing and Refrigeration of Fruits Vegetables (D.S. Reid, ed.) *International Institute of Refrigeration*. Paris. P:1.
- Flurkey, W.H. y Jen J.J. (1978). Peroxidase and polyphenoloxidase activities in developing peaches. *J. Food Sci.* 43(5), 1826.
- Ganthavorn, C, Nagel C. y Powers, J.R. (1991). Thermal Inactivation Of Asparagus Lipoxigenase And Peroxidase. *Journal of Food Science* 56(1), 47-49.
- Halpin, B.E. y Lee, C.Y. (1987). Effect of Blanching on Enzyme Activity and Quality Changes in Green Peas. *Journal of Food Science* 52(4), 1002-1005.
- Heaton, J.W., Lencki, R.W. y Marangoni, A.G. (1996). Kinetic Model for Chlorophyll Degradation in Green Tissue. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 44 (2), 399-402
- Howland, A I. (1998). Microencapsulation of shark liver oil with a calcium alginate/chitosan coating. Tesis. Universidad de La Habana Cuba.
- Labuza T.P., Breene M. (1989). Application of "Active Packaging" for Improvement of Shelf-Life and Nutritional Quality of Fresh and Extended Shelf-Life Foods. *Journal of Food Processing and Preservation* 13, 1-69.
- Li, Q., Dunn, E.T., Grandmaison, E.W. y Goosen, M.F.A. (1997). Applications and Properties of Chitosan. In: *Applications of Chitin and Chitosan*. Por Goosen M.F.A. Ed. Technomic Publications. Lancaster Pennsylvania USA. pp 3.
- López, G., Ross, G., Rincón, F., Martínez, Periago, C., Ortuño, J. (1997). Modifications in the Content of Green Asparagus (*Asparagus Officinalis*, L) During Development and Processing (Blanching and Canning). *Journal of Food Quality*. 20:461-469.
- López, P., Sala, J.F., De la Fuente, J.L., Condón, S., Raso, J. y Burgos, J. (1994). Inactivation of Peroxidase, Lipoxigenase, and Polyphenoloxidase by Manothermosonication. *Journal of Agricultural Food Science* 42, 252-256.
- Montoya B.L.C., Molina, S.C., Santos, B.V y Robles. O.L.E. (1998). Evaluación de la Calidad de Nopalitos en Salmuera, elaborados a partir de diferentes cultivares. *Revista Iberoamericana de Tecnología Poscosecha*. 2(1), 85-91
- Montoya, B.L.C. y Robles-Ozuna L. (2001). Determinación del Tiempo de Escaldado en Manzana de los Cultivares Starking Delicious y Golden Delicious para su Procesamiento. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 4(1), 76-81
- Noomhorm, A, Kuponsak, S y Chandkrachang, Y. (1998). Deacetylated chitin used as adsorbent in production of clarified pineapple syrup. *Journal of Scientific Food Agriculture* 76, 226.
- Padiglia, A, Cruciani, E, Pazziaglia, G, Meda, R y Floris, G. (1995). Purification and characterization of Opuntia Peroxidase. *Phytochemistry*. 38(2), 295-297.
- Poulsen, KP. (1986). Optimization of Vegetable Blanching. *Food Technology* 40 (6), 122-129.
- Rodríguez-Félix, A. y Soto, V.H. (1992). Quality changes of diced nopal during storage in polyethylene bags. 3rd. Annual Texas Prickly Pear Council. *Proceedings*. July 24-25. Kingsville, Texas. 22-25.
- Rodríguez-Félix, A. y Villegas-Ochoa, M.A. (1998). Postharvest Handling of Cactus (*Opuntia* spp.) Stems. *Cactus net Newsletter*. (Inglese P. And Sáens-Hernández C. Eds.) Universidad de Chile., Santiago, Chile. 10-13.
- Rodríguez-Saona, L. E., Barret, D.M. y Selivonchick, D.P. (1995). Peroxidase and Lipoxigenase Influence on Stability of Polyunsaturated Acids in Sweet Corn (*Zea mays* L.) During Frozen Storage. *Journal of Food Science* 60(5), 1041-1044.
- Sahagian E.M y Douglas.Goff H. (1996). Fundamentals Aspects of Freezing Process. En: *Freezing Effects on Food Quality*. (Jeremiah L.E Ed.). Marcel Dekker Inc. New York. NY USA. 1-50.
- Sapers, G.M. (1992). Chitosan Enhances Control of Enzymatic Browning in Apple and Pear Juice by Filtration. *Journal of Food Science* 57(5), 1192-1193.

- Selman, J.D. y Rolfe, E.J. (1982). Effects of water blanching on pea seeds. *Journal of Food Technology* 17, 219-234.
- Spagna, G, Pifteri, P.G, Rangoni, C, Mattivi, F., Nicolini, G. y Palmonari, R. (1996). The stabilization of white wines by absorption of phenolic compounds on chitin and chitosan. *Food Res. Int.* 29 (3-4), 241-248.
- Steet, J.A. y Tong, C.H. (1996). Degradation Kinetics of Green Color and Chlorophylls in Peas by Colorimetry and HPLC. *Journal of Food Science* 61(5), 924-927.
- Toledo, G.A.R. y Luviano S.A.R.. (1992). Comparación de Métodos de Extracción de Quitina y Quitosano a partir de Cáscara de Camarón y Análisis Preliminar de su Producción en Planta Piloto. *Tesis*. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México.
- Vámos-Vigyázó, L. (1981). Polyphenol Oxidase and Peroxidase in Fruits and Vegetables. *Critical Reviews, in Food Science and Nutrition* CRC. 15(1), 49-127.
- Van Loey, A., Ooms, V., Weemaes, C., Van den Brock, I., Ludikhuyze, L., Indrawati, Denys, S. y Hendrix, M. (1998). Thermal and Pressure-Temperature Degradation of Chlorophyll in Broccoli (*Brassica oleracea* L. Italica) Juice: A kinetic study. *Journal of Agriculture Food Chemistry* 46(12), 5289-5294.
- Von Elbe, J.H., Huang, A.S., Attoe, E.L. y Nank, W.K. (1986). Pigment Composition and Color of Conventional and Veri-green Canned Beans. *Journal of Agriculture Food Chemistry* 34, 52-54.
- Weemaes, C.A., Ooms, V., Van Loey, A.M y Hendrickx, M.E. (1999). Kinetics of Chlorophyll Degradation and Color Loss in Heated Broccoli Juice. *Journal of Agriculture Food Chemistry* 47, 2404-2409.
- Whitaker J.R. (1984). Mechanism of Oxidoreductases Important in Food Component Modifications. En: *Chemical Changes in Food During Processing*. (Richardson T. And Finley J.W. Eds.) AVI Pub. Co. West port CT. 121-76.
- Whitaker JR. (1991). Enzymes: monitors of food stability and quality. *Trends in Food Science & Technology* 94-97.
- Williams, C, Miang, H.L, Chen, A.O, Pangborn, R.M. y Whitaker J.R. (1986). Blanching of Vegetables for Freezing Wich Indicator Enzyme to Choose. *Food Technology* 40 (6), 130-140.
- Zawitowski, J., Biliaderis, C.G. y Eskin, N.A.M. (1992). Polyphenol Oxidase. En: *Oxidative Enzymes*. (Robinson D.S. and Eskin N.A.M. Eds.) Elsevier London. 217-271.
- Zhang, D. y Quantick, P. C. (1997). Effects of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 12, 195-202.
- Zhang, D. y Quantick, P.C. (1998). Antifungal effects of chitosan coating on fresh strawberries and raspberries during storage. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*. 73(6), 763-767.