

## CALIDAD DE NOPAL VERDURA MÍNIMAMENTE PROCESADO. EFECTO DE TEMPERATURA E INHIBIDORES DEL OSCURECIMIENTO

## QUALITY OF MINIMALLY PROCESSED CACTUS STEMS. EFFECT OF TEMPERATURE AND BROWNING INHIBITORS

**Karla L. Quevedo-Preciado, Mónica A. Villegas-Ochoa, Humberto González-Ríos y Armida Rodríguez-Félix\***

Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Km. 0.6 Carr. A la Victoria, Apdo. Postal 1735. C. P. 83000 Hermosillo, Sonora, México. Tel. 01 (662) 289-2400. Correo electrónico: armida@cascabel.ciad.mx

\* Autor para correspondencia

### RESUMEN

La vida de anaquel de nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) mínimamente procesado es de 1 a 2 d a temperatura ambiente y de 7 d a 5 °C. Los principales problemas que limitan esta vida de anaquel son el oscurecimiento y la secreción de mucílago. En este trabajo se evaluó el efecto de la adición de ácido ascórbico solo o con ácido cítrico en la reducción del oscurecimiento y calidad del nopal verdura mínimamente procesado y envasado en bolsas de polietileno durante el almacenamiento a 5 ° y 10 °C. El material vegetal usado consistió de cladodios tiernos de apariencia fresca que se seleccionaron, se lavaron con agua clorada, se desespinaron y se cortaron en cuadros. Se formaron cuatro fracciones que se asignaron a tratamientos con ácido ascórbico (AA), ácido cítrico (AC), una mezcla de AA y AC, y agua clorada como testigo; todas estas soluciones contenían sorbato de potasio. El producto de cada fracción se envasó en bolsas de polietileno, con 250 g cada una; y se almacenaron por 21 d a 5 °C y por 14 d a 10 °C. Con base en la evaluación de la composición de la atmósfera (O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>) dentro del envase, apariencia (oscurecimiento y secreción de mucílago), firmeza, color y calidad microbiológica (cuenta total de mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales, hongos y levaduras), se concluyó que no es recomendable utilizar ácido cítrico como inhibidor del oscurecimiento. No obstante, con la aplicación de ácido ascórbico es factible extender la vida de anaquel de nopal verdura mínimamente procesado a 11 d a 10 °C y 20 d a 5 °C con una calidad microbiológica aceptable, de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994.

**Palabras clave:** *Opuntia ficus-indica*, oscurecimiento, mucílago, ácido ascórbico, ácido cítrico, productos mínimamente procesados.

### SUMMARY

Minimally processed cactus (*Opuntia ficus-indica*) cladodes have a shelf-life of 1 to 2 d at room temperature, which can be extended to 7 d at 5 °C. The main drawbacks that shorten the shelf-life of cactus cladodes are browning and mucilage secretion. In this work we evaluated the effect of the addition of ascorbic and/or citric acid on the prevention of browning and on maintaining the quality of minimally processed cladodes in storage at 5° or 10 °C. Vegetable material was

tender cladodes of fresh appearance that were sorted, washed with chlorinated water, and spines were removed. Cladodes were cut in dices and the bulk of diced cladodes were divided in four lots that were assigned to treatment with ascorbic acid (AA), citric acid (AC), a mixture of AA y AC, and chlorinated water (control); all these solutions contained 2 g L<sup>-1</sup> potassium sorbate. Diced cladodes of each lot were packed in polyethylene bags, with 250 g each one, and were stored at 5° for 21 d or 10 °C for 14 d. Based on the in-package atmosphere composition (O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub>), appearance (browning and mucilage secretion), firmness, color, and microbiological analyses (total plate count, total coliforms, fecal coliforms, yeasts and molds), it was concluded that it is not recommended to use citric acid as browning inhibitor. However, by treatment with ascorbic acid it is feasible that shelf-life of minimally processed cactus cladodes can be extended for up to 11 d at 10 °C and 20 d at 5 °C. Microbiological quality was acceptable according to the Mexican Official Standards (NOM-093-SSA1-1994).

**Index words:** *Opuntia ficus-indica*, browning, mucilage, ascorbic acid, citric acid, minimally processed products.

### INTRODUCCIÓN

El nopal (*Opuntia ficus-indica*) verdura es una fuente importante de vitamina C y calcio (Pimienta-Barrios, 1993); se considera que su consumo tiene efectos benéficos en la salud humana, e incluyen el tratamiento para diabetes, ateroesclerosis, gastritis y otros (Stintzing *et al.*, 2001). La vida de anaquel del nopal verdura mínimamente procesado es de 1 a 2 d a temperatura ambiente y de 7 d a 5 °C (Rodríguez-Félix y Soto-Valdés, 1992). Los dos principales problemas que limitan su vida de anaquel son oscurecimiento del tejido y secreción de mucílago; la secreción causa un cambio en el color de verde brillante a verde olivo que se asocia con la apariencia de nopal cocido (Rodríguez-Félix, 2002).

El procesamiento mínimo, que incluye las operaciones de pelado, cortado y rebanado, causa el rompimiento celular e incrementa la velocidad de respiración y producción de etileno, así como la síntesis de metabolitos secundarios (Brecht, 1995). Estas reacciones acortan la vida de anaquel del producto al inducir oscurecimiento enzimático, pérdida de firmeza y desarrollo de microorganismos (Ahvenainen, 1996). El oscurecimiento enzimático se debe a la oxidación de compuestos fenólicos por la enzima polifenoloxidasa (PPO), y es una de las causas más importantes de la pérdida de calidad de estos productos, ya que afecta su apariencia, ocasiona malos olores y disminuye su valor nutrimental (Vámós-Vigyázó, 1981; Whitaker y Lee, 1995).

Las técnicas usadas para extender la vida de anaquel de los productos mínimamente procesados incluyen refrigeración, envasado en atmósferas modificadas, uso de aditivos químicos y de películas comestibles (King y Bolin, 1989; García y Barrett, 2002). El envasado en atmósferas modificadas de frutas y hortalizas enteras y mínimamente procesadas disminuye la actividad respiratoria, reduce la pérdida de peso, retraza la maduración y el ablandamiento, y puede minimizar la incidencia de oscurecimiento y el daño por frío del producto (Kader, 1986). Según Guevara *et al.* (2003), es posible extender la vida de anaquel de nopal verdura entero durante el almacenamiento por 35 d a 5 °C, mediante el envasado en atmósferas modificadas pasivas con niveles de oxígeno y dióxido de carbono de hasta 8 % y 7 %, respectivamente.

La aplicación de inhibidores químicos de la actividad de PPO representa el método más común para evitar oscurecimiento enzimático. De los varios inhibidores conocidos, sólo algunos son aceptables en términos de seguridad y costo; los de uso más frecuente son los ácidos ascórbico y cítrico, y el cloruro de sodio. El ácido ascórbico y sus derivados, solo o combinado con ácido cítrico, es ampliamente utilizado en el pretratamiento de frutas peladas y rebanadas (Vámós-Vigyázó, 1995; Walker, 1995). El ácido ascórbico posee la habilidad de reducir las quinonas a compuestos fenólicos, antes de que éstas formen pigmentos oscuros (Walker, 1995), mientras que el ácido cítrico inactiva a la enzima PPO de algunas frutas y hortalizas al disminuir el pH del sistema a un valor inferior a tres; además, forma un complejo con el cobre ubicado en el grupo prostético y así bloquea el sitio activo de la enzima (Lambrecht, 1995).

Puesto que se desconoce el efecto de la adición del ácido ascórbico y del ácido cítrico en la inhibición del oscurecimiento y en la calidad de nopal verdura mínimamente procesado, en este trabajo se evaluó el uso de los ácidos ascórbico y cítrico para reducir el oscurecimiento y pérdida de calidad de nopal verdura mínimamente procesado

envasado en bolsas de polietileno, durante su almacenamiento a 5 °C y 10 °C.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal

Se usó nopal verdura, variedad COPENA F-1, de plantaciones comerciales ubicadas en el municipio de Hermosillo, Sonora. En Octubre del 2001 se efectuó la cosecha del nopal en forma manual, mediante el corte en su base con un cuchillo, justo arriba de su inserción con la penca madre. Los cladodios cosechados se colocaron en cuatro cajas de plástico de 20 kg, y se transportaron inmediatamente después de la cosecha hacia los laboratorios de la institución ubicados a 5 km de las plantaciones. En el laboratorio las cajas se colocaron en un cuarto frío a 10 °C donde permanecieron durante la noche.

### Desarrollo experimental

Se seleccionaron cladodios tiernos de tamaño uniforme de aproximadamente 20 cm de longitud, con apariencia fresca (color verde brillante) y libres de daños y defectos. El material se lavó por inmersión en agua clorada (200 mg L<sup>-1</sup>) a un pH de 6.5 por 4 min, se desespinó manualmente en una área de trabajo refrigerada y bajo condiciones higiénicas (desinfección de cuchillos, uso de guantes, gorros y mascarilla), y luego se lavó por inmersión con agua clorada (200 mg L<sup>-1</sup>) a un pH de 6.5 por 2 min. Los cladodios se cortaron en cuadros de 3 cm<sup>2</sup>, y el producto obtenido se dividió en cuatro fracciones de 12 kg cada una; cada fracción se sumergió por separado y por 1 min, en soluciones de: ácido ascórbico (AA) 0.5 M, ácido cítrico (AC) 0.5 M, ácido ascórbico 0.5 M + ácido cítrico 0.5 M (AA+AC) y agua clorada (200 mg L<sup>-1</sup>, testigo). Todas las soluciones, así como el testigo contenían 0.2 % de sorbato de potasio. Después de drenar el exceso de solución y de secar con toallas absorbentes, el material de cada fracción se envasó en bolsas de polietileno Cryovac PD 960 (Cryovac Sealed Air Corporation, Duncan SC) que contenían 250 g cada una; las bolsas se sellaron con una selladora TEW TISH 400 (TEW Electrical Heating Equipment Co. LTD). Se marcaron 48 bolsas por cada tratamiento, 24 se almacenaron a 5 °C (91 % H R) y 24 a 10 °C (87 % H R), para ser evaluadas a lo largo de 20 d en el primer caso y de 14 d en el segundo. Se efectuó un seguimiento diario en 12 bolsas para evaluar su apariencia (oscurecimiento y secreción de mucílago) y color. La composición de la atmósfera dentro del envase y la firmeza se determinaron por triplicado (3 bolsas) cada 5 d. La calidad microbiológica se evaluó por triplicado cada 7 d. Las características de la película de polietileno de baja densidad (PEBD)

utilizada, de acuerdo con los datos proporcionados por el fabricante, fueron:  $35.5 \mu\text{m}$  de espesor,  $13.95$  a  $17.05 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  (a  $21^\circ\text{C}$  y  $100\%$  HR) de permeabilidad al vapor de agua;  $6\,000$  a  $8\,000 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  de permeabilidad al oxígeno (a  $21^\circ\text{C}$  y  $1 \text{ atm}$ ) y  $19\,000$  a  $22\,000 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  (a  $21^\circ\text{C}$  y  $1 \text{ atm}$ ) de permeabilidad al dióxido de carbono.

**Composición de la atmósfera ( $\text{O}_2$  y  $\text{CO}_2$ ) dentro del envase.** Se tomó  $1 \text{ mL}$  del espacio de cabeza de cada bolsa y se inyectó en un cromatógrafo de gases Varian Star 3400 equipado con detectores de ionización de flama (DIF) y conductividad térmica (DCT), provisto con una columna metálica (Supelco) de  $2 \text{ m}$  de longitud y  $32 \text{ mm}$  de diámetro interno, empacada con Hayesep N. Las temperaturas de inyección y columna fueron  $100$  y  $80^\circ\text{C}$ , respectivamente. La temperatura de los detectores fue de  $120^\circ\text{C}$  para el DIF y  $170^\circ\text{C}$  para el DCT. Se utilizó nitrógeno como gas acarreador a un flujo de  $25 \text{ mL min}^{-1}$ . Los estándares utilizados fueron:  $\text{O}_2$  a  $15\%$  y  $\text{CO}_2$  a  $10\%$ , los cuales se adquirieron a Praxair México S.A de C.V. Los resultados se expresaron como porcentaje de  $\text{O}_2$  y  $\text{CO}_2$  dentro del envase (Artés *et al.*, 1999).

**Apariencia (oscurecimiento y secreción de mucílago).** Se hizo una calificación visual del contenido de las bolsas mediante la escala hedónica:  $0$  = no hay daño o cambio;  $1$  = muy ligero;  $2$  = ligero;  $3$  = moderado;  $4$  = severo;  $5$  = muy severo (Buta *et al.*, 1999). Para definir el límite de aceptabilidad por el consumidor se hizo una evaluación sensorial de la apariencia con un panel no entrenado integrado por  $50$  jueces. Se presentaron las bolsas de nopal mínimamente procesado con los diferentes valores de oscurecimiento y mucílago de la escala hedónica y se les preguntó hasta qué nivel de oscurecimiento y salida de mucílago comprarían el producto. Un valor de dos para oscurecimiento y de uno para secreción de mucílago definieron el límite de aceptabilidad por el consumidor.

**Firmeza.** Se utilizó un penetrómetro Chatillón (DFG-50) provisto de un punzón de  $1.2 \text{ mm}$  de diámetro. Esta medición se realizó en los trozos de nopal ( $20$  trozos por bolsa). Los resultados se expresaron como fuerza (N) requerida para penetrar el tejido (Luna y Barrett, 2000).

**Color.** Se usó un colorímetro Minolta CR-300. Cada bolsa se evaluó en seis puntos (tres de cada lado), y las mediciones se realizaron a través de la bolsa. Se usó la colorimetría de triestímulo o sistema "L", "a", y "b". Los resultados se expresaron como ángulo de matiz (AM) que es el tono del color ya sea rojo, verde, amarillo, azul (Francis, 1980); y diferencia en "L" ( $\Delta L$ ) que es un buen indicador de la intensidad del desarrollo del oscurecimiento enzimático en las áreas de corte en frutas y hortalizas (Sapers y Douglas, 1987; Gorny *et al.*, 2002). Se utilizó

ron las siguientes fórmulas:  $AM = \arctan b/a$  (Francis, 1980) y  $\Delta L = L_{\text{día de muestreo}} - L_{\text{inicial}}$  (Sapers y Miller, 1995).

**Calidad microbiológica.** La evaluación microbiológica se basó en cuenta total, coliformes totales y fecales, hongos y levaduras. Para esto se tomaron  $10 \text{ g}$  de nopal de cada bolsa o repetición; a cada muestra se le agregaron  $90 \text{ mL}$  de amortiguador de fosfatos y se agitaron por  $5 \text{ min}$  (Andrews y Hammack, 1998). Mediante este procedimiento se obtuvo la solución madre para las determinaciones microbiológicas.

**Cuenta total de microorganismos mesófilos aerobios.** Se aplicó la técnica de Maturin y Peeler (1998), en dos alícuotas de  $1 \text{ mL}$  de cada dilución que se colocaron en cajas de petri. Se agregaron de  $12$  a  $15 \text{ mL}$  de agar Plate Count® (APC) a cada placa; se homogenizó y se dejó solidificar. Se invirtieron las cajas y se incubaron a  $35^\circ\text{C}$  durante  $48 \text{ h}$ . Se efectuó un conteo de las cajas que mostraron un crecimiento de  $25$  a  $250$  colonias; el número de colonias se multiplicó por la dilución de la muestra. Los resultados se reportaron como  $\log_{10}$  de unidades formadoras de colonias por gramo de muestra [ $\log_{10} (\text{UFC/g})$ ].

**Coliformes totales y fecales.** Se prepararon diluciones seriadas de la solución madre y se colocaron por triplicado alícuotas de  $1 \text{ mL}$  en tubos con caldo lauril triptosa que se incubaron a  $35^\circ\text{C}$  durante  $48 \text{ h}$ , según el método de Feng *et al.* (1998). En los tubos que presentaron producción de gas en la campana de fermentación se efectuó una prueba confirmativa con caldo brillante y caldo *E. coli*, para diferenciar entre coliformes totales y coliformes fecales, respectivamente. Se transfirieron de dos a tres asadas a cada tubo y se incubaron los de caldo brillante a  $35^\circ\text{C}$  y los de caldo *E. coli* a  $45.5^\circ\text{C}$  en baño de agua por  $48 \text{ h}$ . La presencia de gas en los tubos indica una prueba positiva. Los resultados se reportaron como el número más probable/g (NMP/g) de coliformes totales o fecales.

**Hongos y levaduras.** Con base en el método de Tourinas *et al.* (1998) se realizaron diluciones seriadas de la solución madre y por duplicado se colocó  $1 \text{ mL}$  de ellas en cajas de petri. A cada placa se agregaron de  $12$  a  $15 \text{ mL}$  de agar papa dextrosa (APD) acidificado con ácido tartárico a  $10\%$ . El material se homogenizó, se dejó solidificar y se incubó a  $25^\circ\text{C}$  durante  $5$  a  $7 \text{ d}$ . Los resultados se reportaron como  $\log_{10}$  (UFC/g).

**Diseño experimental y análisis estadístico.** Para las variables de datos categóricos (oscurecimiento y mucílago) se efectuó una transformación a datos continuos por medio del uso del arcotangente. Se utilizó un diseño experimental en bloques con estructura factorial para dos factores:

Factor A (efecto de temperatura) con dos niveles 5 y 10 °C, y factor B (efecto de inhibidores del oscurecimiento) con 4 niveles: ácido ascórbico, ácido cítrico, mezcla de ácido ascórbico y ácido cítrico, y testigo; y la interacción AB (temperatura e inhibidor del oscurecimiento) y el periodo de almacenamiento (efecto del tiempo) fue el bloque. Se realizó un análisis de varianza por modelos lineales generales (GLM) a un nivel de significancia de 0.05. Cuando hubo significancia se efectuaron comparaciones de medias por la prueba de rangos múltiples de Tukey. Todos los datos fueron procesados en el paquete estadístico NCSS versión 6.0.2 (NCSS, 2001). La unidad experimental fue una bolsa con 250 g de nopal mínimamente procesado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Composición de la atmósfera ( $O_2$ y $CO_2$ ) dentro del envase

La concentración de  $O_2$  dentro del envase disminuyó ( $P < 0.05$ ) durante el almacenamiento (Figura 1A). Se detectó efecto ( $P < 0.05$ ) de temperatura, del inhibidor del oscurecimiento y de su interacción. A 5 °C se registró 37 % más de  $O_2$  que a 10 °C ( $P < 0.05$ ). La menor concentración de  $O_2$  se observó en nopal verdura mínimamente procesado (NVMP) tratado con AC, y la mayor en el tratado con AA ( $P < 0.05$ ). Sin embargo, no hubo diferencias entre el testigo y la mezcla AA+AC. La mayor concentración de  $O_2$  fue observada en NVMP tratado con AA y almacenado a 5 °C. Los mayores niveles de  $O_2$  a 5 °C que a 10 °C se atribuyen a la menor tasa de respiración del producto a menor temperatura (García y Barrett, 2002).

La concentración de  $CO_2$  se incrementó durante el almacenamiento ( $P < 0.05$ ) (Figura 1B). Sin embargo, las concentraciones de  $CO_2$  fueron similares ( $P < 0.05$ ) en ambas temperaturas. El NVMP tratado con AA presentó las concentraciones más bajas de  $CO_2$  ( $P < 0.05$ ) y el tratado con AC exhibió las concentraciones más altas. No hubo diferencias ( $P > 0.05$ ) entre el testigo y la mezcla de AA+AC. La mayor concentración ( $P < 0.05$ ) de  $CO_2$  fue registrada en NVMP tratado con AC y almacenado a 5 °C, y la menor concentración en NVMP tratado con AA y almacenado a 5 °C. Los tratamientos que mantuvieron la concentración más baja de  $O_2$  exhibieron la concentración más alta de  $CO_2$ .

Los niveles de  $O_2$  en ambas temperaturas variaron de 2 a 8 % y los de  $CO_2$  de 5 a 15 %. Estos valores se ubican en el rango de las concentraciones recomendadas para mantener la calidad y vida de anaquel de productos mínimamente procesados (Cantwell, 1992). Guevara *et al.* (2003) reportaron que mediante el envasado en atmósferas modificadas pasivas con niveles de  $O_2$  y  $CO_2$  hasta de 8 %

y 7 % respectivamente, durante el almacenamiento por 35 d a 5 °C de nopal verdura entero, se disminuyó la pérdida de color, firmeza y contenido de fibra, y se redujo la actividad de clorofilasa y la carga microbiana, lo que permitió extender la vida de anaquel de nopal. Adicionalmente, estos autores establecieron que la tolerancia relativa límite al  $CO_2$  de esta hortaliza es de 20 %. Los niveles de  $O_2$  obtenidos en este estudio son similares a los reportados por Guevara *et al.* (2003), mientras que los de  $CO_2$  presentaron valores inferiores a la tolerancia relativa mínima establecida por tales autores.

### Firmeza

La firmeza de NVMP disminuyó ( $P < 0.05$ ) durante el almacenamiento (Figura 1C). El NVMP almacenado a 10 °C presentó valores similares ( $P > 0.05$ ) que el almacenado a 5 °C. El NVMP tratado con AA presentó mayor firmeza ( $P < 0.05$ ) que el tratado con AC y con AC+AA y que el testigo, entre los cuales la firmeza fue similar. Hubo efecto ( $P < 0.05$ ) de la interacción sobre la firmeza; el NVMP tratado con AA almacenado a 5 °C mantuvo los mayores valores respecto al resto de los tratamientos almacenados tanto a 5 °C como a 10 °C, los cuales fueron similares entre sí.

Según Bolin y Huxsoll (1989), los productos mínimamente procesados pierden la firmeza en un corto tiempo durante el almacenamiento a bajas temperaturas. Este comportamiento se atribuye a los cambios acelerados inducidos por el daño causado a las células del tejido durante el cortado o pelado, entre los que se encuentran la liberación de enzimas pectinolíticas y proteolíticas desde las células dañadas al interior de los tejidos, la transformación de protopectina a pectina soluble en agua, disminución en la cristalinidad de celulosa, difusión de azúcares a los espacios intercelulares, adelgazamiento de las paredes celulares, y al movimiento de iones de la pared celular (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003).

### Oscurecimiento

El oscurecimiento en las áreas de corte y desespinado de nopal verdura mínimamente procesado, aumentó ( $P < 0.05$ ) durante el almacenamiento (Figura 2A). El NVMP almacenado a 10 °C mostró valores de oscurecimiento 129% más altos ( $P < 0.05$ ) que el almacenado a 5 °C. También se detectaron diferencias ( $P < 0.05$ ) entre los inhibidores del oscurecimiento evaluados, pues los valores más bajos de oscurecimiento se observaron en el NVMP tratado con AA, y los más altos en el tratado con AC. Hubo efecto significativo ( $P < 0.05$ ) de la interacción, ya que durante el almacenamiento a 5 °C el tratamiento con

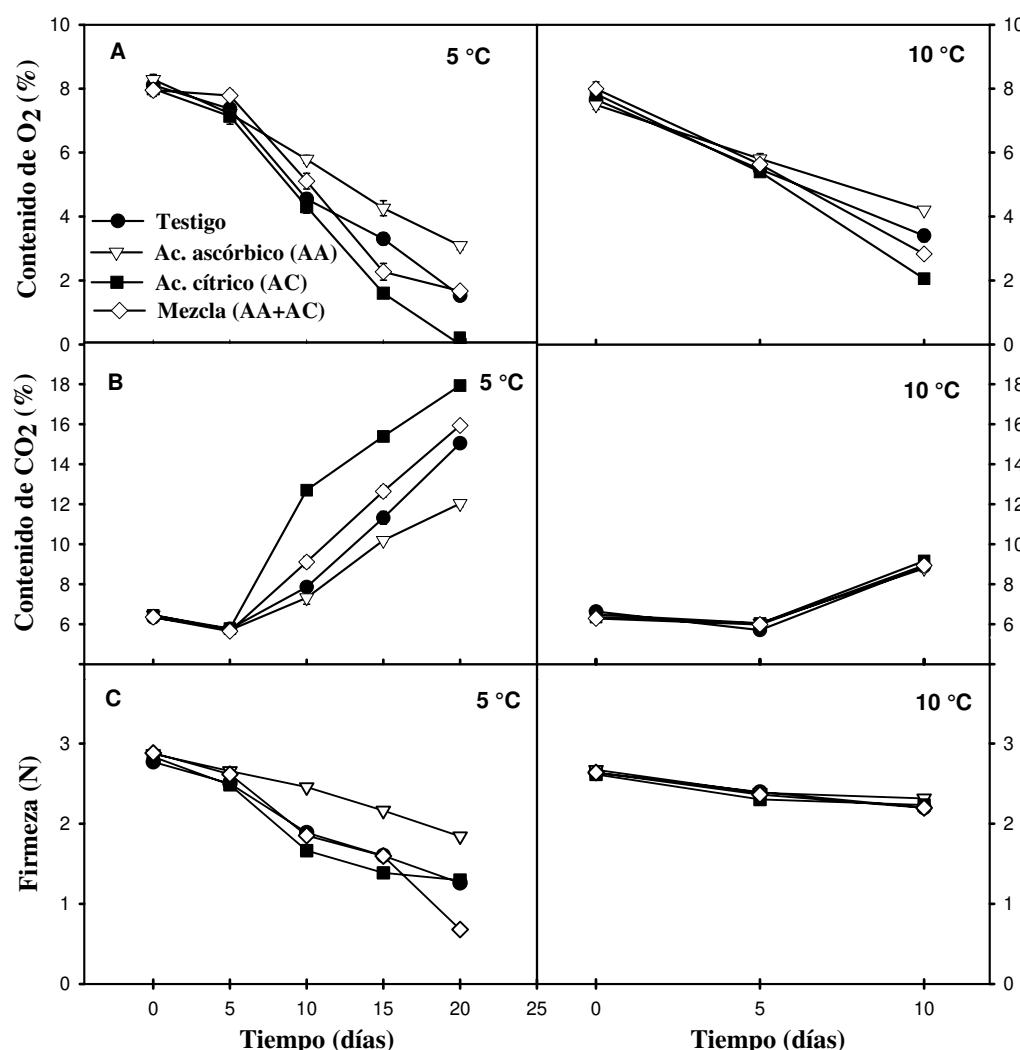


Figura 1. Contenido de oxígeno (A) y dióxido de carbono (B) dentro del envase y firmeza (C) de nopal verdura mínimamente procesado durante el almacenamiento a 5 °C y 10 °C (testigo; ácido ascórbico 0.5 M; ácido cítrico 0.5 M y ácido ascórbico + ácido cítrico 0.5 M. Las barras verticales indican el error estándar ( $n=3$ ).

AA retrasó el inicio del oscurecimiento hasta por 12 d, y tanto este tratamiento como el tratamiento con AA+AC mostraron los menores valores, mientras que el tratamiento con AC produjo el mayor oscurecimiento. El almacenamiento a 10 °C ocasionó que el oscurecimiento se iniciara más rápido en todos los tratamientos, al manifestarse a los 3 d en los nopales tratados con AC y hasta los 6 d en los tratados con AA. Se observó que el tratamiento con AA generó valores de oscurecimiento menores ( $P < 0.05$ ) al resto de los tratamientos almacenados a 10 °C.

Los resultados sugieren que la aplicación de AA, solo o en combinación con AC, disminuye el oscurecimiento del nopal mínimamente procesado y que su efecto inhibitorio es mayor a 5 °C que a 10 °C. Esto se atribuye a que el

frío disminuye las reacciones metabólicas del tejido y al mismo tiempo disminuye la actividad de PPO (García y Barrett, 2002). Estos resultados concuerdan con los de estudios previos (Sapers y Ziolkowski, 1987; Walker, 1995; Ahvenainen, 1996; Dong *et al.*, 2000), que indican que el AA es el inhibidor más efectivo, después de los sulfitos, para la prevención del oscurecimiento enzimático en frutas y hortalizas. Así mismo, Baldwin *et al.* (1996) mostraron que la combinación de AA a 0.5 % y terbutilhidroxiquinona (TBHQ) a 0.02 %, benzoato de sodio a 0.1 % y ácido cítrico incorporados como aditivos en la cubierta comestible Nature Seal®, fue efectiva para extender por una semana a 4 °C la vida de anaquel de rodajas de manzana (*Malus pumila*) y papa (*Solanum tuberosum*).

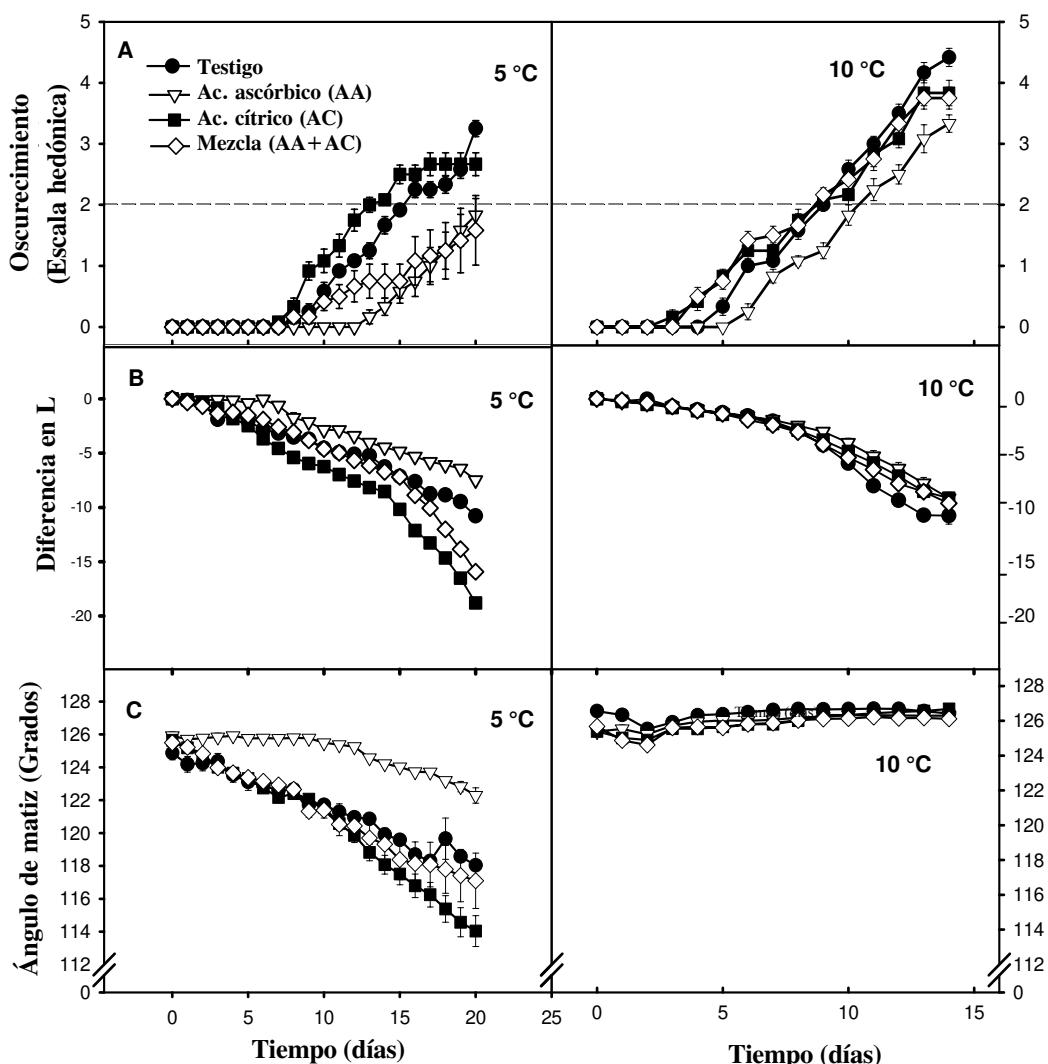


Figura 2. Oscurecimiento (A), diferencia en L (B) y ángulo de matiz (C) de nopal verdura mínimamente procesado durante el almacenamiento a 5 °C y 10 °C (testigo; ácido ascórbico 0.5 M; ácido cítrico 0.5 M y ácido ascórbico + ácido cítrico 0.5 M). Las barras verticales indican el error estándar ( $n=12$ ). -- La línea punteada en (A) indica el límite de aceptabilidad por el consumidor. Escala hedónica: 0= no hay cambio; 1= muy ligero; 2= ligero; 3= moderado; 4= severo y 5= muy severo (Buta et al., 1999).

La atmósfera modificada generada en los diferentes tratamientos a ambas temperaturas pudo influir en la disminución en el oscurecimiento de NVMP, pues se ha reportado que concentraciones de CO<sub>2</sub> de 10 a 30 % retrasan el oscurecimiento de ejotes (*Phaseolus vulgaris*) dañados mecánicamente debido a una disminución en el contenido de fenoles y en la actividad de polifenoloxidasa. Un efecto similar fue observado en lechuga (*Lactuca sativa*) (Kader, 1986).

#### Color

**Diferencia en L ( $\Delta L$ ).** Los valores de  $\Delta L$  disminuyeron ( $P < 0.05$ ) durante el almacenamiento (Figura 2B). Una disminución en el valor de  $\Delta L$  indica oscurecimiento del

tejido (Sapers y Miller, 1995). El NVMP almacenado a 10 °C exhibió mayor ( $P < 0.05$ ) disminución en los valores de  $\Delta L$  que el almacenado a 5 °C. También hubo efecto ( $P < 0.05$ ) del inhibidor del oscurecimiento; el NVMP tratado con AC mostró la mayor ( $P < 0.05$ ) disminución y el tratado con AA la menor ( $P < 0.05$ ). Hubo efecto ( $P < 0.05$ ) de la interacción, pues el NVMP tratado con AA y almacenado a 5 °C produjo la menor disminución y el tratado con AC exhibió la mayor; también en el almacenamiento a 10 °C el tratamiento con AA mostró la menor disminución en los valores de  $\Delta L$ . Es decir, los nopales tratados con AA se oscurecieron menos que los tratados con AC, en las dos temperaturas de almacenamiento.

Son *et al.* (2001) no encontraron diferencias en los valores de  $\Delta L$  de rodajas de manzana después de 3 h de inmersión en AC (1 %) y AA (1 %). En cambio, Castañer *et al.* (1996) reportaron que después de 24 h a 20 °C, los discos de tallos de lechuga tratados con AA (50 g L<sup>-1</sup>) tuvieron menor oscurecimiento que los tratados con AC (100 g L<sup>-1</sup>).

**Ángulo de matiz (AM).** Al inicio del experimento el AM de nopal verdura fue de 125.6 °, valor que representa un color verde. El AM de NVMP disminuyó ( $P < 0.05$ ) al avanzar el periodo de almacenamiento (Figura 2C), y disminuyó más a 5 °C ( $P < 0.05$ ) que a 10 °C. El NVMP tratado con AA superó al tratado con AC. Debido al efecto de la interacción, los mayores valores de AM se registraron en los tratamientos almacenados a 10 °C y en el tratado con AA almacenado a 5 °C, con respecto al resto de los tratamientos almacenados a 5 °C.

La disminución en el ángulo de matiz de nopal verdura mínimamente procesado almacenado a 5 °C está asociada con la secreción de mucílago ya que ésta propicia el cambio de verde brillante a verde olivo. Los cambios mayores en AM ocurrieron en el tratamiento con AC, que produjo la mayor secreción de mucílago. Esto sugiere que los valores de AM no detectan el oscurecimiento que se observa en las áreas de corte y desespinado de nopal mínimamente procesado, pero sí el cambio de color verde brillante a verde olivo.

Es posible que la secreción de mucílago haya propiciado un cambio en el pH del tejido y así favorecido la degradación de clorofila. Tijskens *et al.* (2001) reportaron que el cambio de color verde brillante a verde olivo que ocurre durante el escaldado de brócoli (*Brassica oleracea* var. *Itália*) es causado principalmente por la formación de feofitinas debido al intercambio de Mg<sup>2+</sup> por H<sup>+</sup> en el centro del anillo de porfirina de la clorofila; este cambio de color depende del pH del medio y se acelera en tejidos ácidos. Así mismo, Wiley (1994) reportó que la conversión de clorofila a feofitina puede ser causada por acidificación del citoplasma celular, o como resultado de la pérdida de integridad de la membrana causada por la actividad de las enzimas liberadas, adelgazamiento de las paredes celulares o movimiento de iones de la pared celular, debido al daño causado a las células del tejido durante el cortado o al adelgazamiento de las paredes (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003).

### Secreción de mucílago

Esta variable aumentó ( $P < 0.05$ ) durante el almacenamiento (Figura 3A), y a 10 °C la secreción fue menor

( $P < 0.05$ ) que a 5 °C. Se observaron diferencias ( $P < 0.05$ ) entre los inhibidores del oscurecimiento evaluados, pues los valores más altos ( $P < 0.05$ ) de mucílago se registraron en el NVMP tratado con AC, y los más bajos en el tratado con AA y testigo. Pero también hubo efecto ( $P < 0.05$ ) de la interacción, ya que el NVMP tratado con AA y testigo almacenados a 5 °C mostraron valores similares a los tratamientos a 10 °C y rindieron la menor secreción; la más alta secreción ocurrió con AC y con la mezcla AA+AC almacenados a 5 °C.

El mucílago de nopal es un heteropolisacárido soluble en agua y su secreción ocurre comúnmente cuando los cladodios de nopal son cortados (Cárdenas *et al.*, 1997). La mayor secreción de mucílago observada a 5 °C pudiera deberse a una mayor condensación de agua dentro del envase a esta temperatura, pues se ha reportado que uno de los inconvenientes del envasado en películas plásticas es el incremento de la condensación de agua en el interior del envase (Kader y Watkins, 2000).

Al parecer el tratamiento con AC, ya sea solo o mezclado con AA, favorece la secreción de mucílago; tanto a 5 °C como a 10 °C, aunque el efecto fue más notorio a 5 °C. El ácido cítrico tiene la habilidad de atrapar al calcio (Artés *et al.* 1998); estos iones se enlanzan selectivamente a los grupos carboxilo libres del ácido poligalacturónico de las cadenas de pectina, lo que resulta en un reforzamiento de la pared celular y mantenimiento de la turgencia y de la textura del tejido (García y Barrett, 2002). El efecto del ácido cítrico en favorecer la secreción de mucílago de nopal verdura mínimamente procesado, puede deberse a su acción de atrapar al calcio y debilitar la interacción del calcio con la pectina de la pared celular. Tal efecto del ácido cítrico sobre el calcio también pudiera asociarse con la viscosidad del mucílago, ya que el mucílago está presente en los tejidos como sal de calcio (Trachtenberg y Mayer, 1982a), y la viscosidad de este polisacárido depende fuertemente de la concentración de Ca<sup>2+</sup>. Se ha observado que la interacción con Ca<sup>2+</sup> causa la disminución del volumen hidrodinámico en solución y con ello la formación de geles más rígidos; en cambio la ausencia de Ca<sup>2+</sup> conduce a un aumento en el volumen hidrodinámico de la molécula y aunque también hay formación de geles, esto sucede posiblemente por otro mecanismo de gelificación, los geles formados son de menor fuerza mecánica (Trachtenberg y Mayer, 1982b).

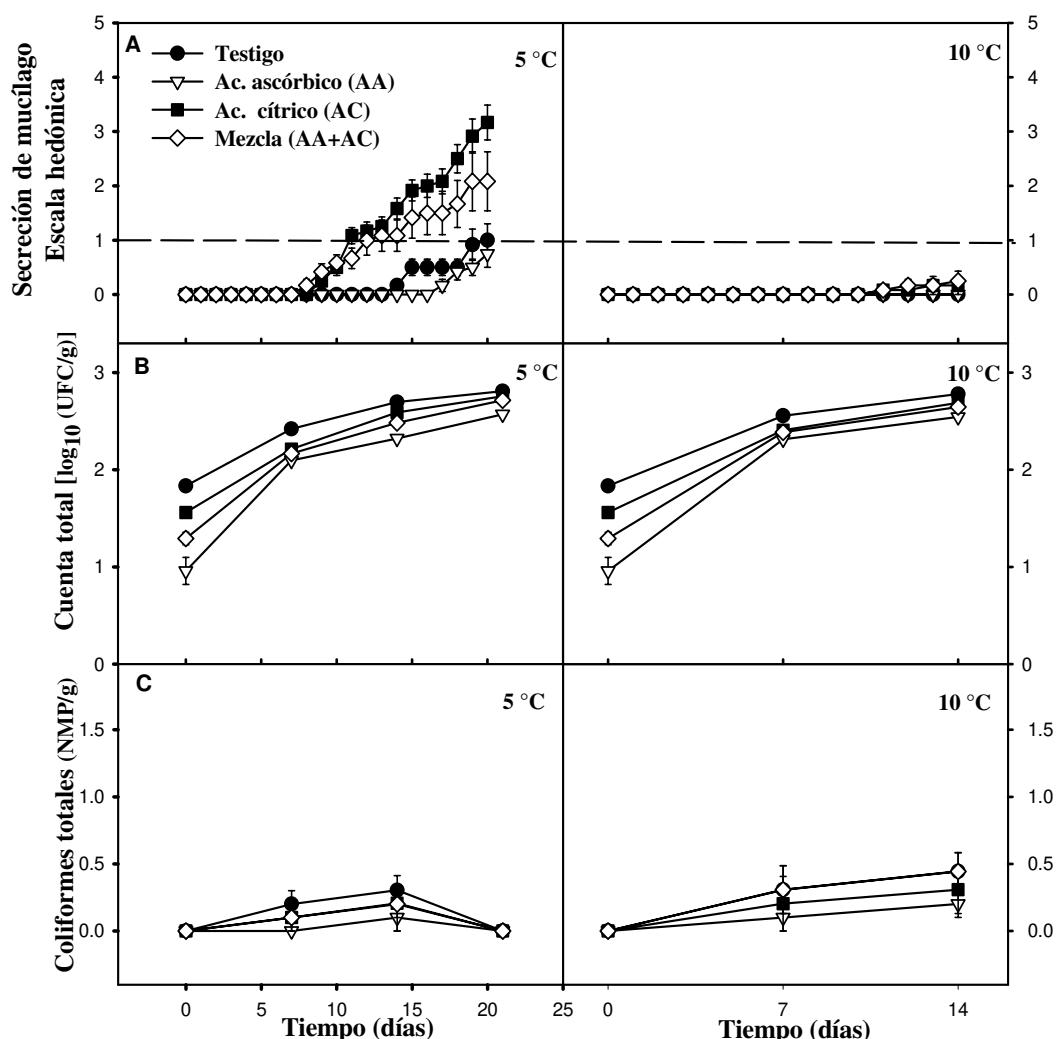


Figura 3. Secreción de mucílago (A), cuenta total de mesófilos aerobios (B), y coliformes totales (C) de nopal verdura mínimamente procesado durante el almacenamiento a 5 °C y 10 °C (testigo; ácido ascórbico 0.5 M; ácido cítrico 0.5 M y ácido ascórbico + ácido cítrico 0.5 M). Las barras verticales indican el error estándar; en A,  $n=12$ . -- La línea punteada indica el límite de aceptabilidad por el consumidor. Escala hedónica: 0= no hay cambio; 1= muy ligero; 2= ligero; 3=moderado; 4= severo y 5= muy severo (Buta et al., 1999). En B y C,  $n=3$ . UFC= unidades formadoras de colonias. NMP= número más probable de coliformes totales.

### Calidad microbiológica

**Cuenta total de mesófilos aerobios (CTMA).** La población de mesófilos aerobios aumentó ( $P < 0.05$ ) durante el almacenamiento (Figura 3B), y más a 10°C que a 5°C. El nopal tratado con AA presentó la menor concentración ( $P < 0.05$ ) de microorganismos y el nopal testigo la mayor. No hubo un efecto de la interacción ( $P > 0.05$ ). Después de 20 d a 5 °C y 14 d a 10 °C, los distintos tratamientos presentaron una carga microbiana entre 2.5 y 2.8 log<sub>10</sub> UFC/g.

Los procesos de corte y pelado durante la elaboración de estos productos, promueven el aumento de la población de microorganismos y el acortamiento de su vida útil. Se considera que ésta termina cuando la población microbiana alcanza  $1 \times 10^7$  UFC/g [ $7 \log_{10}$  (UFC/g)] (Guerzoni et al., 1996). Sin embargo, la Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994 especifica que para ensaladas de hortalizas verdes crudas o de frutas, el límite máximo permisible de la cuenta total de mesófilos aerobios es de  $1.5 \times 10^5$  UFC/g [ $5.18 \log_{10}$  (UFC/g)]. Los valores de cuenta total de mesófilos aerobios de nopal verdura mínimamente procesado en

este trabajo resultaron ser menores a los límites descritos por Guerzoni *et al.* (1996), y menores a los límites máximos permitidos por la mencionada Norma Oficial Mexicana. Se considera entonces que la calidad microbiológica del producto fue buena y no limitó su vida de anaquel. Esto puede atribuirse al efecto combinado de las buenas condiciones de higiene, al uso de agua clorada durante la preparación del producto, al tratamiento con ácido ascórbico, al uso de sorbato de potasio a 0.2 %, y al almacenamiento a baja temperatura.

El empleo de agua clorada (50 a 200 mg L<sup>-1</sup>) durante el procesamiento (Guerzoni *et al.*, 1996; Brackett, 1992) combinado con el almacenamiento a 5 °C y una buena sanidad durante la elaboración y manejo de vegetales mínimamente procesados, reducen el crecimiento microbiano y permiten obtener una vida de anaquel satisfactoria de dichos productos (Luna y Barrett, 2000). Wiley (1994) reportó que el efecto antimicrobiano del sorbato de potasio sobre el crecimiento de *Salmonella pseudomonas*, *Yersinia enterocolitica* y bacterias ácido lácticas es potenciado por los ácidos orgánicos, específicamente el cítrico y el láctico.

**Coliformes totales y coliformes fecales.** Los coliformes totales aumentaron ( $P < 0.05$ ) durante el almacenamiento (Figura 3C). Aunque se encontraron valores muy bajos en ambas temperaturas, el NVMP almacenado a 5 °C superó ( $P < 0.05$ ) al almacenado a 10 °C. No se observó un efecto ( $P < 0.05$ ) de los antioxidantes evaluados en los coliformes totales y tampoco hubo un efecto de la interacción. No se registró crecimiento de coliformes fecales en ninguno de los tratamientos evaluados tanto a 5 °C como a 10 °C.

Se ha reportado que durante el almacenamiento a 5 °C de ensaladas a base de pepino (*Cucumis sativus*), zanahoria (*Daucus carota*) lechuga (*Lactuca sativa*) envasadas en atmósferas modificadas, *E. coli* 0157:H57 disminuye rápidamente y permanece sólo por un corto tiempo. En cambio, durante el almacenamiento a 12° y 21 °C se produce un incremento en la población del patógeno. Así mismo, se ha indicado que el uso de 0.1 % de sorbato de potasio o benzoato de potasio solos tiene un efecto mínimo en *E. coli* 0157:H57. Sin embargo, la combinación de ambos compuestos inhibe significativamente a este microorganismo (Martínez *et al.*, 2000).

**Hongos y levaduras.** No se encontró crecimiento de hongos y levaduras en ninguno de los tratamientos evaluados, ni a 5 °C ni a 10 °C. En el presente estudio, la aplicación de cloro (200 mg L<sup>-1</sup>) antes y después del desespinado y la utilización de 0.2 % de sorbato de potasio inhibieron el desarrollo de hongos y levaduras en nopal ver-

dura mínimamente procesado. En el caso de los productos hortícolas cortados en fresco, es prácticamente ineludible recurrir a la conservación a bajas temperaturas ( $\leq 5$  °C) para frenar el deterioro y el desarrollo de hongos y bacterias en el producto (Artés *et al.*, 1998). Brul y Coote (1999) reportaron que el ácido sórbico inhibe el crecimiento de hongos y bacterias, así como la germinación de esporas de bacterias.

## CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, no se recomienda utilizar ácido cítrico como inhibidor del oscurecimiento del nopal verdura mínimamente procesado, pero sí se recomienda usar ácido ascórbico para disminuir el oscurecimiento, la pérdida de firmeza, la secreción de mucílago y mantener el color verde del nopal verdura mínimamente procesado durante el almacenamiento a 5 °C y 10 °C. Con la aplicación de ácido ascórbico es factible extender la vida de anaquel de nopal verdura mínimamente procesado a 11 d a 10 °C y 20 d a 5 °C, con una calidad microbiológica aceptable de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ahvenainen R (1996) New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruits and vegetables. Trends Food Sci. and Technol. 7:179-187.
- Andrews W H, T S Hammack (2003) Food sampling and preparation of sample homogenate. Ch. 1. In: Bacteriological Analytical Manual Online. Edition 8. Revision A. Food and Drugs Administration FDA. Bureau of Foods. Division of Microbiology. USA. <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html>. Agosto, 2004.
- Artés F, M Castañer, M I Gil (1998) El pardeamiento enzimático en frutas y hortalizas mínimamente procesadas. Int. J. Food Sci. Technol. 4:377- 389.
- Artés F, M A Conesa, S Hernández, M I Gil (1999) Keeping quality of fresh-cut tomato. Postharvest Biol. Technol. 17:153-162.
- Baldwin E A, M O Nisperos, R D Hagenmaier (1996) Improving storage life of cut apple and potato with edible coating. Postharvest Biol. Technol. 9:151-163.
- Bolin H R, C C Huxsoll (1989) Storage stability of minimally processed fruit. J. Food Proc. Preserv. 13:281-292.
- Brackett R E (1992) Shelf stability and safety of fresh produce as influenced by sanitation and disinfection. J. Food Prot. 55:808-814.
- Brecht J K (1995) Physiology of lightly processed fruits and vegetables. Hort Science 30(1):18-21.
- Brul S, P Coote (1999) Preservatives agents in food: mode of action and microbial resistance mechanism. Int. J. Food Microbiol. 50:-17.
- Buta J G, H E Molina, D W Spaulding, C Y Wang (1999) Extending storage life of fresh-cut apples using natural products and their derivatives. J. Agric. Food Chem. 47:1-6.
- Cantwell M (1992) Postharvest handling systems: minimally processed fruits and vegetables. In: Postharvest Technology of Horticultural Crops. A A Kader (ed). 2nd Ed. Division of Agricultural and Natural Resources. University of California, Publication 3311. pp:277-281.
- Cárdenas A, I Higuera-Ciapara, F M Goycoolea (1997) Rheology and aggregation of cactus (*Opuntia ficus-indica*) mucilage in solution. J. Prof. Assoc. Cactus Develop. 2:152-159.

- Castañer M, M I Gil, F Artés, F A Tomás-Barberán (1996)** Inhibition of browning of harvested head lettuce. *J. Food Sci.* 61: 314-316.
- Dong X, R E Wrolstad, D Sugar (2000)** Extending shelf life of fresh-cut pears. *J. Food Sci.* 65:181-186.
- Feng P, S D Weagant, M A Grant (2002)** Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria. Ch. 4. *In: Bacteriological Analytical Manual Online*. Edition 8. Revision A. Food and Drugs Administration FDA. Bureau of Foods. Division of Microbiology. USA. <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-4.html>. Agosto, 2004.
- Francis F J (1980)** Color quality evaluation of horticultural crops. *HortScience* 15:58-59.
- Garcia E, D M Barrett (2002)** Preservative treatments for fresh-cut fruits and vegetables. *In: Fresh-cut Fruits and Vegetables: Science, Technology, and Market*. O Lamikanra (ed). CRC Press, Boca Raton, Florida. pp:267-303.
- Gorny J R, B Hess-Pierce, R A Cifuentes, A A Kader (2002)** Quality changes in fresh-cut pear slices as affected by controlled atmospheres and chemical preservatives. *Postharvest Biol. Technol.* 24:271-278.
- Guerzoni M E, A Gianotti, M R Corbo, M Sinigaglia (1996)** Shelf-life modeling for fresh-cut vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 9:195-207.
- Guevara J C, E M Yahia, E Brito de la Fuente, S P Biserka (2003)** Effects of elevated concentrations of CO<sub>2</sub> in modified atmosphere packaging on the quality of prickly pear cactus stems (*Opuntia* spp.). *Postharvest Biol. Technol.* 29:167-176.
- Kader A A (1986)** Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. *Food Technol.* 40:99-104.
- Kader A A, C B Watkins (2000)** Modified atmosphere packaging- Toward 2000 and beyond. *HorTechnology* 10:483-486.
- King A D, H R Bolin (1989)** Physiological and microbiological storage stability of minimally processed fruits and vegetables. *Food Technol.* 2:132-135.
- Lambrecht H S (1995)** Sulfite substitutes for the prevention of enzymatic browning in foods. *In: Enzymatic Browning and its Prevention*. C Y Lee, J R Whitaker (eds). American Chemical Society. ACS Symposium Series 600. Washington, D.C. pp:313-323.
- Luna G I, D M Barrett (2000)** Comparison of calcium chloride and calcium lactate effectiveness in maintaining shelf stability and quality of fresh-cut cantaloupes. *Postharvest Biol. Technol.* 19:61-72.
- Martínez A, R V Díaz, M S Tapia (2000)** Microbiological ecology of spoilage and pathogenic flora associated to fruits and vegetables. *In: Minimally Processed Fruits and Vegetables. Fundamental Aspects and Applications*. S M Alzamora, M S Tapia, A López-Malo (eds). An Aspen Publication. Gaithersburg, Maryland. pp:43-62.
- Maturin L J, J T Peeler (2001)** Aerobic plate count. Ch. 3. *In: Bacteriological Analytical Manual Online*. Edition 8. Revision A. Food and Drugs Administration FDA. Bureau of Foods. Division of Microbiology. USA. <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-3.html>. Agosto, 2004.
- NCSS (2001)** Number Cruncher Statistical System. Guiders Lines. Version 6.0.2. USA.
- Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-(1994)** Bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. Secretaría de Salud. Estados Unidos Mexicanos.
- Pimienta-Barrios E (1993)** Vegetable cactus (*Opuntia*). *In: Pulses and Vegetables*. J T Williams (ed). Chapman & Hall. London, England. pp:177-191.
- Rodríguez-Feliz A, H Soto Valdez (1992)** Quality changes of diced nopal during storage in polyethylene bags. *In: Proc. 3rd. Annual Texas Prickly Pear Council Conference*. P Felker, J Moss (eds). July 24-25. Kingsville, Texas. pp:22-25.
- Rodríguez-Félix A (2002)** Postharvest physiology and technology of cactus pear fruits and cactus leaves. *In: Proc. 4th International Congress on Cactus Pear and Cochineal*. A Nefzaoui, P Inglesi (eds). Oct. 22-28. Hammamet, Tunisia. *Acta Hort.* 581:191-199.
- Sapers G M, F W Douglas (1987)** Measurement of enzymatic browning at cut surfaces and in juice of raw apple and pear fruits. *J. Food Sci.* 52:1258-1262.
- Sapers G M, M A Ziolkowski (1987)** Comparison of erythorbic and ascorbic acids as inhibitors of enzymatic browning in apple. *J. Food Sci.* 52:1732-1747.
- Sapers G M, R L Miller (1995)** Heated ascorbic/citric acid solution as browning inhibitor for pre-peeled potatoes. *J. Food Sci.* 60:762-776.
- Soliva-Fortuny R C, O Martín-Belloso (2003)** New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: a review. *Trends Food Sci. Technol.* 14:341-353.
- Son S M, K D Moon, C Y Lee (2001)** Inhibitory effects of various anti-browning agents on apple slices. *Food Chem.* 73:23-30.
- Stintzing F C, A Schieber, R Carle (2001)** Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *Eur. Food Res. Technol.* 212: 396-407.
- Trachtenberg S, A M Mayer (1982a)** Mucilage cells, calcium oxalate crystals and soluble calcium in *Opuntia ficus-indica*. *Ann. Bot.* 50:549-557.
- Trachtenberg S, A M Mayer (1982b)** Biophysical properties of *Opuntia ficus-indica* mucilage. *Phytochemistry* 21:2835-2843.
- Tijssens L M, S A Barringer, E S Biekman (2001)** Modelling the effect of pH on the colour degradation of blanched broccoli. *Innovative Food Sci. Emerging Technol.* 2:315-322.
- Tournas V, M E Stack, P B Mislicvec, H A Koch, R Bandler (2001)** Yeast, molds and mycotoxins. Ch. 18. *In: Bacteriological Analytical Manual Online*. Edition 8. Revision A. Food and Drugs Administration FDA. Bureau of Foods. Division of Microbiology. USA. <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-18.html>. Agosto, 2004.
- Vámos-Vigyázó L (1981)** Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 15: 49-127.
- Vámos-Vigyázó L (1995)** Prevention of enzymatic browning in fruits and vegetables: A review of principles and practice. *In: Enzymatic Browning and its Prevention*. C Y Lee, J R Whitaker (eds). American Chemical Society. ACS Symposium Series 600. Washington, D.C. pp:49-62.
- Walker J R L (1995)** Enzymatic browning in fruits: Its biochemistry and control. *In: Enzymatic Browning and its Prevention*. C Y Lee, J R Whitaker (eds). American Chemical Society. ACS Symposium Series 600. Washington, D.C. pp:8-22.
- Whitaker J R, C Y Lee (1995)** Recent advances in chemistry of enzymatic browning. An Overview. *In: Enzymatic Browning and its Prevention*. C Y Lee, J R Whitaker (eds). ACS Symposium Series 600:2-7.
- Wiley R C (1994)** Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables. Chapman & Hall. New York. 368 p.