



CONSERVACIÓN DE NOPAL VERDURA ‘Milpa Alta’ (*Opuntia ficus indica* Mill.) DESESPINADO EN ENVASES CON ATMÓSFERA MODIFICADA

CONSERVATION OF CACTUS STEMS ‘Milpa Alta’ (*Opuntia ficus indica* Mill.) IN MODIFIED ATMOSPHERE PACKAGING

J. Osorio-Córdoba¹, C. Pelayo-Zaldívar^{1*}, J.R. Verde-Calvo¹, M. Ponce-Valadez²,
F. Díaz de León-Sánchez², E. Bosquez-Molina¹ y Ma. E. Rodríguez-Huezo³

¹Departamento de Biotecnología, ²Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. San Rafael Atlixco 186, Colonia Vicentina, México D.F. CP 09340, México.

³Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec Avenida Tecnológico s/n Colonia Valle de Anáhuac C.P. 55210 Ecatepec, Edo. de México.

Recibido 11 de Octubre 2010; Aceptado 14 de Diciembre 2010

Resumen

Se estudió el efecto del envasado con atmósferas modificadas (EAMs) a 4 °C en la calidad del nopal desespinado variedad Milpa Alta. Se aplicaron atmósferas conteniendo aire, 5 kPa O₂ + 4 kPa CO₂ y nitrógeno, evaluándose los atributos de calidad y la producción de metabolitos de fermentación durante el almacenamiento. Los resultados indicaron que los nopales tuvieron una reducción significativa de acidez titulable (AT), mientras que la firmeza y el color no tuvieron cambios significativos durante el almacenamiento. La pérdida de peso debida a la transpiración fue mayor en los nopales control (6-8%) que en los conservados en EAMs (0.2-0.8%). Todos los nopales presentaron oscurecimiento de las zonas desespinaadas pero el EAM retrasó su aparición y redujo su intensidad. En los nopales en EAM también se encontró un incremento en la producción de acetaldehído y etanol. El EAM con N₂ indujo los niveles más bajos de estos metabolitos y conservó una mejor calidad de los nopales ‘Milpa Alta’ hasta por 20 días.

Palabras clave: calidad, herida, refrigeración, acetaldehído, etanol, cladodios, Milpa Alta.

Abstract

The effect of modified atmosphere packaging (MAP) at 4 °C on the storage life of ‘Milpa Alta’ cactus stems without spines was studied. Atmospheres containing air, 5 kPa O₂ + 4 kPa CO₂ and Nitrogen were applied. Quality attributes and the production of fermentation metabolites were evaluated during the storage. Results indicated that ‘Milpa Alta’ cactus stems had a significant reduction in titratable acidity (TA), but not significant changes were found in firmness and color values in cactus stems during storage. The weight loss was higher in control (6-8 %) than in MAPs stored cactus stems (0.1 to 0.8 %). Control and treated cladodes showed browning symptoms on areas where spines were removed, but MAPs delay the time when they appeared and the damage intensity. Also, cactus stems kept in MAPs showed an increase in acetaldehyde and ethanol production. The MAP with nitrogen induced the lowest levels of fermentation metabolites and preserved the quality of Milpa Alta cactus stems up to 20 days in storage.

Keywords: quality, wounding, refrigeration, acetaldehyde, ethanol, cladodes, cactus stems, Milpa Alta.

*Autora para la correspondencia. E-mail: cpe1@xanum.uam.mx

1 Introducción

Los nopales (*Opuntia* spp.) también conocidos como nopal verdura o nopalitos, son consumidos tradicionalmente en México, pero actualmente son demandados por algunas comunidades de los Estados Unidos, Canadá, Japón, Italia y Turquía debido a su bajo valor calórico, alto contenido en fibra y cualidades nutricionales y funcionales (Stintzing y Carle, 2005; Sáenz, 2004). México cuenta con un gran número de especies de nopal, siendo *O. ficus-indica* la más explotada comercialmente, otras especies como *O. streptacantha* Lemaire, *O. lindhemeiri* Engel, *O. amyclaea* Tenore, *O. megacantha* Salm-Dick y *O. robusta* Wendland son importantes como forraje o por su producción de fruta (tuna) (Rodríguez-Felix, 2002). Dentro de *O. ficus-indica* se encuentra la variedad de nopal verdura Milpa Alta que es una de las más importantes en México por los volúmenes producidos y consumidos (SIAP, 2009).

Los nopales en los primeros estadios de desarrollo presentan un metabolismo C3, el cual cambia al metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM) en estados avanzados de desarrollo (Cantwell y col., 1992; Rodríguez, 2009). Los nopales que exhiben el metabolismo CAM presentan cambios en el contenido de ácido málico durante el día, con valores altos en la mañana y más bajos en la tarde, debido a que este ácido se acumula de noche en las vacuolas y en presencia de luz difunde pasivamente de la vacuola al citoplasma, donde es descarboxilado por la enzima málica dependiente de NADP⁺ y el CO₂ así producido ingresa al ciclo de Calvin para la síntesis de carbohidratos (Rodríguez-Félix y Villegas Ochoa, 1998; Corrales-García y Flores-Valdez, 2003; Taiz y Zeiger, 2006). Esto ocasiona que la acidez del nopal fluctúe en el día afectando el sabor, por lo que la cosecha se realiza de 5:00 a 7:00 de la mañana. El corte se efectúa siguiendo el índice propuesto por Rodríguez-Felix y Cantwell (1988) basado en la longitud del cladodio (aproximadamente 20 cm) y número de días de emergencia del brote (35 días) (CODEX STAN 185, 1993). Después de cosechados los nopales, se colocan en canastos, rejas de plástico o se arreglan en forma de pacas cilíndricas para transportarlos al centro de acopio o al mercado de destino; previo a la comercialización se eliminan las espinas junto con

pequeñas porciones de tejido y se efectúa el recorte de todo el borde (rebordeado) del cladodio para darle forma. Los nopales así acondicionados deben venderse en menos de tres días para que tengan la calidad adecuada (Rodríguez-Felix y Villegas-Ochoa, 1998).

El daño físico causado durante el procesamiento mínimo del nopal, incrementa procesos metabólicos como la respiración y producción de etileno, la degradación de los lípidos de las membranas, el oscurecimiento oxidativo, la pérdida de firmeza y agua, y la acumulación de metabolitos secundarios, produciendo deterioro y reduciendo la vida de anaquel del producto (Cantwell y col., 1992; Saltveit, 1998). Estos cambios se vuelven más críticos cuando el nopal se comercializa en mercados distantes de la zona de producción. Por lo anterior, después del procesamiento mínimo de los cladodios se recomienda que las superficies cortadas se mantengan limpias y secas, y se almacenen a temperaturas inferiores a 5 °C (Cantwell, 1995), que son las recomendadas para conservar los productos de procesamiento mínimo. Sin embargo, condiciones inferiores a 10 °C causan daño por frío en los nopales, el cual se manifiesta por oscurecimiento y pérdida del color verde original (Ramayo-Ramírez y col., 1978; Nerd y col., 1997). La presencia de los síntomas antes mencionados, así como los cambios en firmeza, el oscurecimiento de las zonas desespinaadas, y la producción de olores y sabores desagradables hacen que el producto sea rechazado por el consumidor (Rodríguez-Félix y Cantwell, 1988; Corrales-García y Flores-Valdez, 2003).

Se han aplicado diversas técnicas postcosecha para tratar de conservar los atributos de calidad del nopal verdura con espina. Cantwell y col. (1992) encontraron que estos nopales envasados en bolsas de polietileno y almacenados a 5 °C prolongaron su vida de anaquel hasta por 3 semanas sin observar desarrollo de algún síntoma visual de daño por frío. Asimismo, Guevara y col. (2001) reportaron que el nopal con espinas almacenado a 5 °C en atmósferas modificadas con niveles inferiores a 8.6 kPa de O₂ y superiores a 6.9 kPa de CO₂, disminuyeron los síntomas de deterioro de la calidad, mostrando una vida de anaquel de 30 días. También, el uso de una atmósfera pasiva y una activa con 20 kPa de CO₂ redujeron significativamente las pérdidas en fibra, textura, peso y color en nopal con espinas

almacenado a 5 °C (Guevara y col., 2003). Sin embargo, los estudios sobre la conservación de nopal sin espinas son limitados y los concernientes al envasado en atmósferas modificadas (EAMs) y su efecto en los metabolitos de fermentación son nulos. Nuestro grupo de trabajo encontró que el nopal 'Milpa Alta' sin espinas envasado en atmósfera de N₂ en bolsa polysweat (Bolco, D.F., México) permeable a O₂, H₂O y CO₂ y almacenado a 7 °C ± 1 °C alargó la vida de anaquel hasta por 20 días, manteniendo su calidad (Robles-Rodríguez y col., 2008).

En condiciones anaeróbicas o bajo la influencia de factores de estrés abiótico como las heridas, baja temperatura, elevadas concentraciones de CO₂ y bajas de O₂, se altera la actividad de diversas rutas metabólicas de las plantas (Kozłowski y Pallardy, 1997). En estas condiciones se puede inducir en los tejidos la fermentación etanólica y por tanto la acumulación de alcohol y acetaldehído (Kato-Noguchi y Yasuda, 2007; Dangyang y col., 1994; Kimmerer y MacDonald, 1987).

Debido a la riqueza en compuestos funcionales del nopal, a su diversidad de usos (Stintzing y Carle, 2005; Hernandez-Zaragoza y col., 2007) y a su gran demanda en México y en otros países se busca ofertar un producto que atienda las necesidades del consumidor y conserve su frescura, aroma y sabor típicos. En este sentido, el nopal verdura desespinado y conservado en atmósferas modificadas en envases de tamaño adecuado para el consumidor, constituye un nicho de mercado que todavía no ha sido explotado. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del envasado con atmósferas modificadas en la conservación del nopal desespinado variedad Milpa Alta determinando parámetros indicadores de las condiciones de estrés provocadas por el daño mecánico del desespinado y la atmósfera modificada.

2 Materiales y métodos

2.1 Material biológico

Se colectó nopal verdura (*Opuntia ficus indica* L.) variedad Milpa Alta de plantaciones comerciales ubicadas en Milpa Alta, México, D.F. (19°13'25" N; 99°01'47" O). Los cladodios se cosecharon manualmente por la mañana (6-7 a.m.) y se transportaron en rejas de plástico al laboratorio.

2.2 Aplicación de tratamientos y diseño experimental

Los cladodios se seleccionaron por tamaño (20 a 25 cm de longitud), uniformidad de color y ausencia de defectos de acuerdo a la norma oficial de calidad (CODEX STAN 185, 1993), se desinfectaron con una solución de 200 ppm de cloro activo. Los nopales se dividieron aleatoriamente en dos grupos, sólo uno de ellos se desespinoó y rebordeó. Se llevaron a cabo dos experimentos, teniendo como factores de estudio las heridas ocasionadas por el desespinado y rebordeado, y el envasado con diversas atmósferas modificadas.

En el primer experimento, los cladodios sin espinas se colocaron en bolsas para EAM fabricadas con una película polysweat (Bolco, D.F., México) permeable al O₂, al CO₂ y al vapor de agua (260.6 g O₂/100 in²/24 h/37.8 °C y 90% de H.R.; 6.58 g H₂O/100 in²/24 h a una atmósfera, 23°C y 0% H.R) de 35 micras de espesor. Los envases fueron primero sometidos a vacío utilizando una máquina empacadora Multivac C100 (Alemania), el cual se liberó después con la aplicación de tres atmósferas: 1) aire, 2) nitrógeno y 3) mezcla de 5 kPa O₂ +4 kPa CO₂ complementada con N₂ y se sellaron. Los nopales envasados se almacenaron a 4 °C ± 1 °C.

En el segundo experimento se manejaron nopales con y sin espina y dos tipos de envases: clamshell (25.5 largo x 16.5 ancho x 6 cm alto) y las bolsas para EAMs antes citadas. Los nopales con espinas se colocaron en envases clamshell y fueron almacenados a temperatura ambiente (23 °C ± 2 °C) y refrigeración (4 °C ± 1 °C), mientras que los cladodios desespinaados se almacenaron en envases clamshell y bolsas para EAMs, manteniéndose a 4 °C ± 1 °C. En las bolsas para EAMs se aplicaron nuevamente las atmósferas aire, nitrógeno y mezcla de 5 kPa O₂ + 4 kPa CO₂. En todos los experimentos la unidad experimental fue de cuatro nopales y tres repeticiones por tratamiento y el diseño experimental fue completamente al azar. Inmediatamente después de la cosecha y a los 5, 10, 15, 20 y 25 días de almacenamiento se midieron atributos de calidad y metabolitos de fermentación.

2.3 Atributos de calidad

Color. El color verde de los nopales se evaluó en 10 discos de 2.3 cm de diámetro de las áreas libres de espinas de cada cladodio mediante un colorímetro HunterLab Modelo ColorFlex® (Hunter Associates Laboratory, EUA). Con los valores obtenidos se calculó el valor ΔE (grado de diferencia de color en el tiempo) mediante la ecuación:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (1)$$

En donde ΔL^* , Δa^* y Δb^* son las diferencias en los valores de L^* , a^* , y b^* entre el valor inicial antes del almacenamiento y el de la fecha de muestreo (HunterLab, 2010).

Firmeza. La fuerza necesaria para penetrar 7 mm la base del cladodio se determinó usando un penetrómetro (tr®, Italy) equipado con un punzón de 5 mm de diámetro y los resultados se reportan en Newtons (N) (Reid, 2007).

Acidez titulable (AT). Se midió por titulación ácido-base del jugo de nopal verdura obtenido de cada unidad experimental mediante un extractor de jugos eléctrico, utilizando hidróxido de sodio 0.1 N como titulante y fenolftaleína como indicador. Los resultados se expresan como g de ácido málico/100 g de jugo fresco de nopal (AOAC, 2000).

Pérdida de peso. Se utilizó una balanza digital de precisión explorer (OHAUS Corporation® - USA) para medir el peso inicial y las variaciones de peso durante el almacenamiento. Los resultados se expresan en % del peso perdido con respecto al peso inicial (Burton, 1982).

Índice de oscurecimiento. Para evaluar el oscurecimiento de las zonas desespinadas de los nopales se elaboró una escala porcentual en función del área afectada, en donde 0 = ausencia de daño (0% de la superficie afectada); 1= ligero (1-10%); 2 = medio (11 - 20%); 3 = moderado (21-50%); y 4 = severo (> 50 %) (Fig. 1). Con los datos obtenidos se obtuvieron los índices de oscurecimiento aplicando la ecuación:

$$\sum_{i=1}^{i=n} = \frac{(1 \times n_1) + (2 \times n_2) + (3 \times n_3) + (4 \times n_4)}{n} \quad (2)$$

En donde: n_1 = número de nopales en el grado 1, ..., n_4 = número de nopales en el grado 4 y n = número total de nopales.

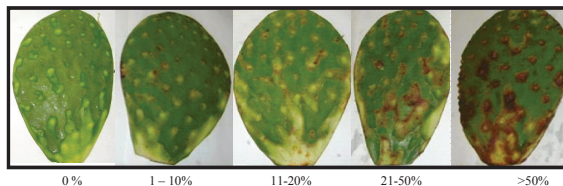


Fig. 1: Escala para evaluar el porcentaje de área afectada con oscurecimiento de nopales almacenados a 4 °C en envases tipo clamshell y EAMs.

2.4 Metabolitos de fermentación

El jugo de nopal de cada unidad experimental, obtenido como se indicó previamente para el análisis de AT, se congeló con nitrógeno líquido y almacenó a -20 °C hasta su análisis. Para cuantificar las concentraciones de acetaldehído y etanol en las muestras, se tomaron 6 g del jugo de nopal y se colocaron en un vial de vidrio de 30 mL conteniendo 9 mL de agua destilada y 3.6 g de NaCl para favorecer la liberación de los volátiles de la matriz al espacio de cabeza (Harmon, 1997), el vial se cubrió con un septo de vitón negro, se selló con un aro metálico y agitó en un vórtex Thermolyne 16700 mixer por 90 seg. Para capturar y concentrar los metabolitos de fermentación del espacio de cabeza se utilizó la técnica de microextracción en fase sólida (MEFS), empleando una fibra de sílica de $75 \mu\text{m}$ de espesor recubierta con Carboxen/polidimetilsiloxano (CAR-PDMS) (Supelco, Bellefonte, CA). La fibra se expuso por 10 min al espacio de cabeza, manteniendo el vial durante este periodo en incubación en un baño de agua a 34 ± 1 °C. La fibra se desorbió en un CG Varian 3900 (Varian, Palo Alto, C.A.) equipado con un detector de ionización de flama, utilizando una columna capilar HP-INNOWAX de 0.32 mm I.D., $0.25 \mu\text{m}$ de espesor y 60 m de longitud (Agilent Technologies, USA). Las temperaturas del inyector y del detector fueron de 150 °C y 260 °C, respectivamente. La temperatura inicial del horno fue de 80 °C la cual aumentó 10 °C por minuto hasta alcanzar 130 °C donde permaneció por 6 minutos. Los metabolitos de fermentación se identificaron comparando los tiempos de retención con los de estándares comerciales extraídos, concentrados y analizados con el mismo procedimiento analítico y las concentraciones se calcularon mediante curvas estándar elaboradas con diluciones acuosas de

acetaldehído (Aldrich) y etanol (J.T. Baker).

2.5 Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando el programa Statgraphics Centurion XV versión 15.2.14 aplicando ANOVA multifactorial para determinar si había diferencias significativas entre tratamientos para cada una de las variables analizadas e interacción con los días de almacenamiento. Cuando se detectaron diferencias significativas, se efectuó la comparación múltiple de medias por el método de Tukey ($\alpha = 0.05$). En el caso de pérdida de peso se eliminó la dependencia de los datos del valor inicial y por tanto se analizaron de forma independiente.

3 Resultados y discusión

Se presentan resultados de los dos experimentos realizados; en el caso de atributos de calidad sólo los del segundo experimento dado que el comportamiento fue similar en ambos.

3.1 Atributos de calidad

Durante el almacenamiento, se observó en los cladodios una reducción en la acidez titulable, siendo ésta más notable en los nopales con espina almacenados a temperatura ambiente (Tabla 1). Los EAMs no influyeron significativamente en la reducción de la AT de los nopales. De forma similar, Cantwell *y col.* (1992) reportaron una reducción de la acidez en nopales con espina almacenados en refrigeración. Probablemente esta disminución se deba a que el ácido málico en los cladodios almacenados en condiciones de oscuridad se emplea como sustrato respiratorio, siendo utilizado en el ciclo de Krebs para generar ATP (Taiz y Zeiger, 2006).

En firmeza no se observó una tendencia clara de cambio durante el almacenamiento y en cuanto al efecto de los tratamientos sólo se encontró que los nopales que se almacenaron a temperatura ambiente y que tenían espinas tuvieron valores significativamente más altos que los que se mantuvieron a 4 °C y en EAMs. El aumento en firmeza se explica por la alta pérdida de peso (6-8%) de los tejidos que generó cambios de textura. Este incremento de firmeza no se presentó en los nopales conservados en EAMs ya

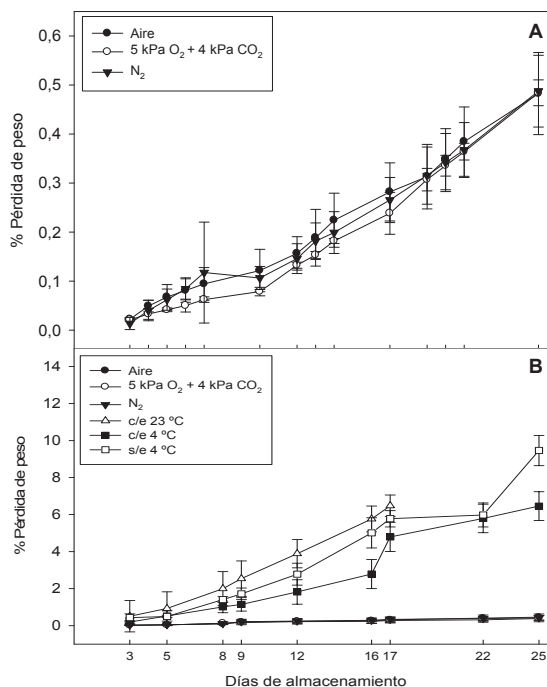


Fig. 2: Pérdida de peso en nopales almacenados a 4 y 23 °C. A - Nopales ‘Milpa Alta’ sin espinas a 4 °C en EAMs; B - Nopales ‘Milpa Alta’ en envases tipo clamshell y EAMs. Los valores representan las medias de tres repeticiones y las barras la desviación estándar.

que la humedad relativa alta dentro de los envases evitó una pérdida excesiva de agua y peso en los tejidos manteniendo la frescura del producto.

Respecto a la variable de color ΔE , no se observaron cambios significativos en los nopales durante los días de almacenamiento y tampoco por efecto de tratamientos (Tabla 1). Guevara *y col.* (2001) reportan que los nopales con espinas almacenados en EAMs mantienen su color, mientras que los controles cambian de un color verde brillante a un verde opaco.

La pérdida de peso (PP) de los nopales ‘Milpa Alta’ sin espinas conservados en aire, N₂ y 5 kPa O₂ + 4 kPa CO₂ fue menor al 1% después de 25 días de almacenamiento (Fig. 2 A, B) y no se registraron diferencias significativas entre tratamientos; en contraste, la PP en los nopales sin espina colocados en envases clamshell a 4 °C fue superior (aproximadamente 10 %) (Fig. 2B). Guevara *y col.* (2003) encontraron que los cladodios con espina envasados en atmósferas pasiva y activa, ésta última con una concentración

Tabla 1. Atributos de calidad de nopal 'Milpa Alta' almacenado en envases tipo clamshell (con espinas a 23 y 4°C, y sin espinas 4°C) y en EAMs (aire, 5 kPa O₂ + 4 kPa CO₂ y N₂). Los valores representan las medias de tres repeticiones y su desviación estándar.

Variable	Tratamiento	Días de almacenamiento					
		0	5	10	15	20	25
Acidez titulable (% ácido málico)	Con espinas 23°C	0.82 ± 0.02 ^{a*}	0.64 ± 0.02 ^a	0.46 ± 0.02 ^a	0.44 ± 0.02 ^a	0.39 ± 0.02 ^a	-
	Con espinas 4°C	0.82 ± 0.02 ^a	0.81 ± 0.00 ^b	0.68 ± 0.02 ^b	-	-	-
	Sin espinas 4°C	0.82 ± 0.02 ^a	0.79 ± 0.02 ^b	0.67 ± 0.02 ^b	0.55 ± 0.02 ^b	0.43 ± 0.02 ^b	0.42 ± 0.00 ^a
	Aire	0.82 ± 0.02 ^a	0.69 ± 0.02 ^b	0.61 ± 0.02 ^b	0.61 ± 0.02 ^b	0.53 ± 0.02 ^b	0.55 ± 0.02 ^a
	5 kPa O ₂ + 4 kPa CO ₂	0.82 ± 0.02 ^a	0.78 ± 0.02 ^b	0.69 ± 0.02 ^b	0.56 ± 0.04 ^b	0.51 ± 0.02 ^b	0.43 ± 0.02 ^a
	N ₂	0.82 ± 0.02 ^a	0.70 ± 0.02 ^b	0.64 ± 0.02 ^b	0.64 ± 0.02 ^b	0.53 ± 0.02 ^b	0.41 ± 0.02 ^a
	Con espinas 23°C	30.02 ± 3.93 ^a	35.45 ± 6.16 ^a	35.21 ± 3.61 ^a	38.03 ± 4.79 ^a	35.71 ± 2.02 ^a	-
	Con espinas 4°C	30.02 ± 3.93 ^a	28.41 ± 2.89 ^b	31.39 ± 2.83 ^b	-	-	-
	Sin espinas 4°C	30.02 ± 3.93 ^a	23.43 ± 3.31 ^b	26.69 ± 5.68 ^b	27.60 ± 4.22 ^b	31.75 ± 5.61 ^b	25.56 ± 2.83 ^a
	Aire	30.02 ± 3.93 ^a	28.03 ± 5.38 ^b	23.67 ± 5.27 ^b	26.76 ± 3.68 ^b	28.50 ± 3.61 ^b	29.28 ± 3.81 ^a
Firmeza (N)	5 kPa O ₂ + 4 kPa CO ₂	30.02 ± 3.90 ^a	27.74 ± 3.32 ^b	30.40 ± 2.91 ^b	31.69 ± 3.28 ^b	30.75 ± 5.77 ^b	25.68 ± 2.72 ^a
	N ₂	30.02 ± 3.93 ^a	27.33 ± 4.16 ^b	27.35 ± 4.60 ^b	29.76 ± 4.90 ^b	29.13 ± 3.28 ^b	28.30 ± 2.25 ^a
	Con espinas 23°C	0	3.99 ± 2.14 ^a	5.41 ± 1.42 ^a	5.65 ± 1.95 ^a	4.49 ± 1.93 ^a	-
	Con espinas 4°C	0	4.46 ± 2.01 ^a	3.95 ± 1.78 ^a	-	-	-
	Sin espinas 4°C	0	2.01 ± 1.23 ^a	3.38 ± 0.73 ^a	3.23 ± 0.68 ^a	3.37 ± 0.91 ^a	-
	Aire	0	3.26 ± 2.63 ^a	3.16 ± 1.39 ^a	3.78 ± 1.42 ^a	1.96 ± 1.59 ^a	2.64 ± 2.05 ^a
	5 kPa O ₂ + 4 kPa CO ₂	0	3.68 ± 1.19 ^a	2.59 ± 1.81 ^a	2.53 ± 1.97 ^a	2.55 ± 1.58 ^a	2.66 ± 1.96 ^a
	N ₂	0	3.81 ± 2.17 ^a	4.19 ± 2.09 ^a	2.43 ± 1.34 ^a	2.53 ± 1.51 ^a	2.87 ± 1.48 ^a
	Color (ΔE)						

*Las medias seguidas por la misma letra dentro de las columnas no son significativamente diferentes (Tukey HSD 95%).

inicial de 20 kPa de CO₂, tuvieron menores PP ($\approx 2\%$) que los nopales empacados en cajas de cartón ($> 25\%$) a los 25 días de almacenamiento a 5 °C. Los nopales con espina almacenados a 4 °C en envases clamshell, mostraron una PP menor que los cladodios sin espina en este tipo de envase, pero mayor cuando se les almacenó a temperatura ambiente (6 – 8% a los 15 días de almacenamiento) (Fig. 2 B). Las pérdidas de peso ocasionan pérdidas económicas importantes por la reducción del peso neto de los envases y los cambios indeseables de calidad (marchitez, arrugamiento, pérdida de brillo) (Wills y col., 1998). Generalmente, los productos que pierden más del 5% de su peso original se ven afectados en su apariencia visual (Kader, 1992).

El oscurecimiento que aparece en los tejidos expuestos donde las espinas se eliminaron, empezó a observarse a los 10 días de almacenamiento a 4 °C en los nopales en envases clamshell y a los 15 días en todos los nopales en EAMs donde el daño fue además menos intenso (Fig. 3). Este resultado es similar al período de conservación encontrado por nuestro grupo de trabajo para nopales envasados en una atmósfera de N₂ a 7 °C \pm 1 °C (Robles-Rodríguez y col., 2008) y concuerda con Guevara y col. (2001) quienes reportaron que el oscurecimiento en las zonas desespinaadas del nopal fue más severo en la muestra control que no estuvo en EAMs. Asimismo, el menor daño se presentó en los nopales envasados en atmósferas con aire y nitrógeno.

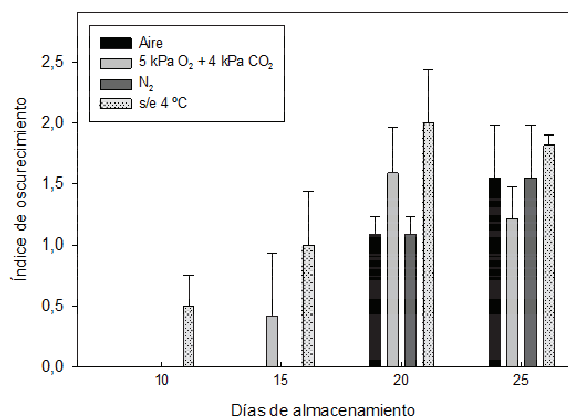


Fig. 3: Índice de oscurecimiento en nopales ‘Milpa Alta’ almacenados a 4 °C en envases tipo clamshell y EAMs. Los valores representan las medias de tres repeticiones y las barras la desviación estándar.

Esta fisiopatía no es considerada daño por frío dado que también se observa en los nopales mantenidos a temperatura ambiente, probablemente se trate de un oscurecimiento enzimático tardío pues no aparece inmediatamente después de que los tejidos se han dañado y expuesto al oxígeno como consecuencia de la eliminación de espinas y rebordeado, sino al cabo de 5 a 10 días, dependiendo de la época de cosecha y de la temperatura de almacenamiento, por la protección debida al ácido ascórbico presente en los tejidos que actúa como antioxidante (Quevedo y col., 2005). Una segunda explicación puede ser la presentada por Aquino-Bolaños y Mercado-Silva (2004), quienes señalan que la aparición de áreas de color rojo ocre en tejidos dañados de jícama se debe a la presencia de ligninas o sus intermediarios derivados de la oxidación de monolignoles (componentes de pared celular) que se sintetizan como parte del proceso normal de reparación de tejidos. Probablemente, esta misma explicación se pueda aplicar al nopal pues por una parte, el daño observado en los cladodios coincide más con este color ocre que con el oscurecimiento típico de oxidación enzimática, y por otra esto justificaría su aparición tardía pues primero han de darse mecanismos de detección y transducción de señales de daño físico a nivel celular con la subsiguiente expresión de genes y respuestas bioquímicas que finalicen con la síntesis y acumulación de los lignanos responsables del color observado (Saltveit, 2000). La aparición de oscurecimiento en un área mayor al 11% de la superficie total del nopal afectó adversamente la apariencia visual de los cladodios, por lo cual se asumió que la vida de anaquel se limita con un índice oscurecimiento mayor a 1.0 ($\geq 11\%$ de la superficie afectada). Estos resultados indican que las atmósferas modificadas retrasan la aparición de la fisiopatía y apoyan los beneficios (reducción en pérdida de peso debido a una menor transpiración y prevención del oscurecimiento propiciado por el oxígeno del aire) reportados por Kader (1992) para esta tecnología de conservación.

3.2 Metabolitos de fermentación

Cuando los nopales ‘Milpa Alta’ sin espinas fueron almacenados en EAMs conteniendo aire, 5 kPa O₂ + 4 kPa CO₂ y nitrógeno se observó la producción tanto de acetaldehído como de etanol (Fig. 4 A y B). La concentración de acetaldehído se elevó

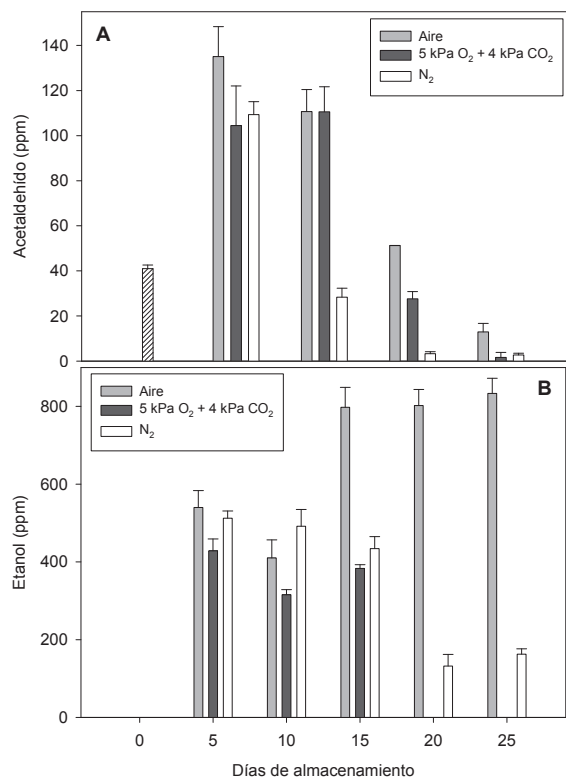


Fig. 4: Niveles de acetaldehído (A) y etanol (B) en nopales 'Milpa Alta' sin espinas almacenados a 4 °C en EAMs. La barra con líneas cruzadas en A indica la concentración inicial. Los valores representan las medias de tres repeticiones y las barras la desviación estándar.

notablemente a los 5 días y disminuyó gradualmente durante el almacenamiento hasta alcanzar niveles inferiores a 20 ppm a los 25 días (Fig. 4 A); simultáneamente con el descenso en los niveles de acetaldehído, las concentraciones de etanol aumentaron particularmente en los nopales mantenidos en aire (Fig. 4 B); en los nopales almacenados en 5 kPa O₂ + 4 kPa CO₂ y nitrógeno las concentraciones de etanol se mantuvieron estables hasta los 15 días para después disminuir al final del almacenamiento (Fig. 4 B). La disminución en los niveles de acetaldehído con la elevación simultánea en la concentración de etanol observada en las tres atmósferas modificadas, indica que en estas condiciones está operando la ruta normal de la fermentación etanólica, en donde el acetaldehído es convertido a etanol por la acción de la ADH. Aún cuando podría pensarse que esta respuesta es la consecuencia lógica de una inducción

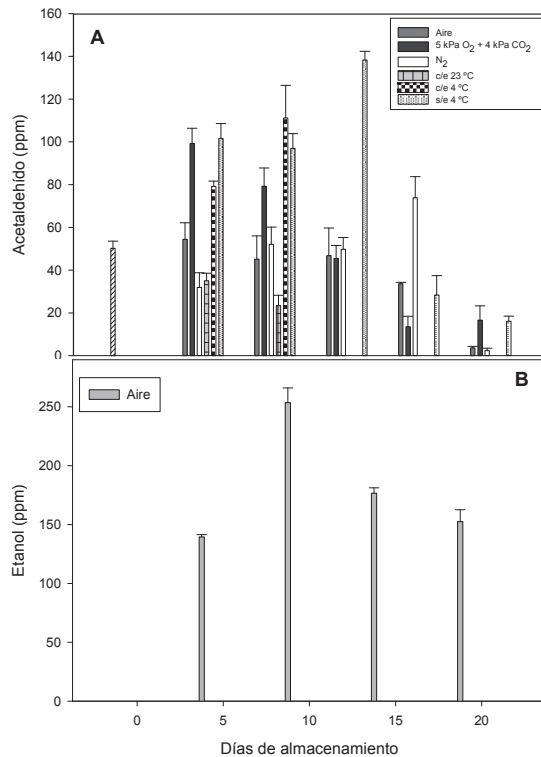


Fig. 5: Niveles de acetaldehído (A) y etanol (B) en nopales 'Milpa Alta' con y sin espinas almacenados a 4 °C en envases tipo clamshell y EAMs. La barra con líneas cruzadas en A indica la concentración inicial. Los valores representan las medias de tres repeticiones y las barras la desviación estándar.

de la ruta de fermentación por limitaciones en la concentración de oxígeno, no se podría aseverar de manera contundente ya que existen reportes de que no todos los tejidos vegetales responden de esta manera. La inducción de esta ruta de fermentación no solo ocurre por limitaciones en la disponibilidad de oxígeno sino por otros factores de estrés como las heridas, las altas concentraciones de CO₂ y la senescencia (Kato-Noguchi, 2001; Kürsteiner y col., 2003), además se conoce que el frío también puede ocasionar un estrés fisiológico capaz de inducir el metabolismo de fermentación (Purvis, 1997; Kato-Nagushi y Yasuda, 2007). De igual manera en ocasiones ni el frío ni las elevadas concentraciones de CO₂ provocan incrementos de acetaldehído y etanol en los tejidos (Watkins y col., 2001; Pelayo y col., 2003; Ponce y Watkins, 2008) probablemente debido a que

entran en operación rutas metabólicas alternas para disipar las altas cantidades de piruvato que se producen bajo condiciones de estrés, como su conversión en alanina por la acción de la alanina aminotransferasa (Purvis, 1997) o a acetil CoA por la acción de la piruvato deshidrogenasa (Tadege y col., 1999).

Los resultados anteriores fueron corroborados con los obtenidos en el segundo experimento (Fig. 5 A y B). Las concentraciones de acetaldehído se elevaron a los 5 días, excepto en los nopales con espina almacenados a temperatura ambiente (sin estrés por herida, ni estrés por baja temperatura) para después disminuir paulatinamente hasta el final del almacenamiento (Fig. 5 A). Los cladodios con espinas a 4 °C presentaron mayor concentración de acetaldehído que los almacenados a temperatura ambiente; entre los nopales con espina y sin espina a 4 °C, los segundos mantuvieron niveles altos de este metabolito por más tiempo; y las concentraciones de este compuesto también fueron altas en los nopales almacenados en 5 kPa O₂ + 4 kPa. Estos resultados sugieren que los nopales perciben el estrés por baja temperatura, el ocasionado por las heridas de la operación de desespinado y el impuesto por las atmósferas modificadas conteniendo aire y 5 kPa O₂ + 4 kPa, y responden a ellos activando la ruta de fermentación etanólica.

Sin embargo, las concentraciones de etanol fueron más bajas (Fig. 5, 150-250 ppm) que las observadas en el primer experimento (Fig. 4, 100-800 ppm) y probablemente por esta razón el etanol sólo se detectó en los cladodios conservados en la EAM conteniendo aire pues fue la atmósfera modificada que lo indujo en mayor concentración. Las prácticas agrícolas y la fecha de corte son factores adicionales que pudieron estar influyendo en la producción de metabolitos de fermentación por los nopales utilizados en la presente investigación (Pelayo-Zaldívar, 2010) pues los nopales se cosecharon en otoño para el primer experimento y en verano para el segundo, lo que podría explicar estas diferencias en los niveles de etanol.

Resultaría de interés en un trabajo futuro verificar la operación de la fermentación etanólica y de las rutas alternas de disipación del piruvato, empleando técnicas bioquímicas y de biología molecular, así como efectuar un estudio sensorial del efecto que los niveles encontrados de metabolitos de fermentación tienen en el sabor y

el aroma del nopal.

Conclusiones

La calidad de los nopales ‘Milpa Alta’ desespinaados conservados sólo en refrigeración a 4 °C se redujo en el almacenamiento debido a que la acidez titulable disminuyó (50% a los 20 días), la pérdida de peso incrementó por la transpiración que normalmente ocurre en los productos vegetales, alcanzando valores del 6% a los 20 días y por el oscurecimiento de las zonas desespinaadas que empezó a observarse a los 10 días de almacenamiento. Cuando los nopales desespinaados se envasaron con atmósferas modificadas conteniendo aire, nitrógeno y una mezcla de 5 kPa O₂ + 4 kPa CO₂ la calidad logró conservarse por un período de 20 días a la misma temperatura, debido a que la pérdida de peso fue sólo del 1%, la aparición del oscurecimiento se retrasó en cinco días y su intensidad se redujo, particularmente en las atmósferas conteniendo aire y nitrógeno (de un índice de oscurecimiento de 2.0 a 1.0). No se observaron síntomas de daño por frío a 4 °C, lo cual indica que los nopales de esta variedad son tolerantes a la baja temperatura. El envasado en atmósfera modificada, las heridas ocasionadas por el desespinado y la baja temperatura del almacenamiento refrigerado indujeron una producción aumentada de metabolitos de fermentación, lo que sugiere que estos tres factores son percibidos como un estrés fisiológico por los tejidos de los nopales ‘Milpa Alta’. La atmósfera modificada conteniendo nitrógeno indujo la menor producción de metabolitos de fermentación y, por lo tanto, es la recomendada para conservar la calidad de esta variedad de nopal verdura por un período de 20 días a 4 °C.

Agradecimientos

La presente investigación fue realizada con el apoyo económico complementario del CONACYT (Proyecto 90610, 2008) y de la UAMI. Agradecemos igualmente al CONACYT la beca otorgada a Juliana Osorio Córdoba para la realización de sus estudios de doctorado.

Referencias

- Aquino-Bolaños, E.N. y Mercado-Silva, E. (2004). Effects of polyphenol oxidase and peroxidase activity, phenolics and lignin content on the browning of cut jicama. *Postharvest Biology and Technology* 33, 275-283.
- A.O.A.C. (2000). *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, Maryland, EUA.
- Burton, W.G. (1982). *Post-harvest physiology of food crops*. Editorial Longman, New York, E.U.A. Pp.340.
- Cantwell, M., Rodriguez-Felix, A. y Robles-Contreras, F. (1992). Postharvest physiology of prickly pear cactus. *Scientia Horticulturae* 50, 1-9.
- Cantwell, M. (1995). Post-Harvest management of fruits and vegetable stems. En: *Agroecology, cultivation and uses of cactus pear*, Paper 132 (Barbera, G., Inglese, P., Pimienta-Barrios, E.), Pp. 120-141. Editorial FAO Plant Production and Protection, Roma.
- CODEX STAN 185 (1993). *Norma del CODEX para el nopal*. Disponible en: http://www.codexalimentarius.net/web/standard_list.do?lang=es. Accesado: 20 septiembre 2010.
- Corrales-García, J. y Flores-Valdez, C.A. (2003). *Nopalitos y tunas: producción, comercialización, poscosecha e industrialización*. CIESTAAM- Programa Nopal, Universidad Autónoma de Chapingo México. 225 p.
- Dangyang, K., Yahia, E., Mateos, M. y Kader, A.A. (1994). Ethanolic fermentation of 'Bartlett' pears as influenced by ripening stage and atmospheric composition. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 119 (5), 976-982.
- Guevara, J.C., Yahia, E.M. y Brito de la Fuente, E. (2001). Modified Atmosphere Packaging of Prickly Pear Cactus Stems (*Opuntia* spp.). *Lebensmittel -Wissenschaft und Technologie* 34, 445-451.
- Guevara, J.C., Yahia, E.M., Brito de la Fuente, E. y Biserka, S.P. (2003). Effects of elevated concentrations of CO₂ in modified atmosphere packaging on the quality of prickly pear cactus stems (*Opuntia* spp.). *Postharvest Biology and Technology* 29 (2), 167-176.
- Harmon, A.D. (1997). *Solid-Phase Microextraction for the analysis of flavors. En: Techniques For Analyzing Food Aroma*, (Marsili, R., eds), Pp. 81-112. Marcel Dekker, Inc, Nueva York.
- HunterLab (2010). Color Theory. Disponible en: <http://www.hunterlab.com/ColorEducation/ColorTheory>. Accesado: 24 noviembre 2010.
- Hernandez-Zaragoza, J.B., Caballero-Badillo, C.E., Rosas-Juarez, A., López-Lara, T., Hinojosa-Torres, J. y Castano, V.M. (2007). Modification of Portland cement mortars with cactus gum. *Chemistry and Chemical Technology* 1(3), 175-177.
- Kader, A.A. (1992). *Postharvest Biology and Technology: An Overview. En: Postharvest Technology of Horticultural Crops*, (Kader, A. A.), Pp. 15-20. Editorial University of California, California.
- Kato-Naguchi, H. (2001). Wounding stress induces alcohol dehydrogenase in maize and lettuce seedlings. *Plant Growth Regulation* 35 (3), 285-288.
- Kato-Nagushi, H. y Yasuda, Y. (2007). Effect of low temperature on ethanolic fermentation in rice seedlings. *Plant Physiology* 164 (8), 1013-1018.
- Kimmerer, T.W. y MacDonald, R.C. (1987). Acetaldehyde and Ethanol Biosynthesis in Leaves of Plants. *Plant Physiology* 84 (4), 1204-1209.
- Kozłowski, T.T. y Pallardy, S.G. (1997). *Physiology of Woody Plants*. 2nd edition. Academic Press, New York. 411 p.
- Kürsteiner, O., Dupuis, I. y Kuhlemeier, C. (2003). The pyruvate decarboxylase1 gene of Arabidopsis is required during anoxia but not other environmental stresses. *Plant Physiology* 132 (2), 968-978.

- Nerd, A., Dumoutier, M. y Mizrahi, Y. (1997). Properties and postharvest behavior of the vegetable cactus *Nopalea cochenillifera*. *Postharvest Biology and Technology* 10 (2), 135-143.
- Pelayo, C., Ebeler, S.E. y Kader, A.A. (2003). Postharvest life and flavor quality of three strawberry cultivars kept at 5 °C in air or air + 20 kPa CO₂. *Postharvest Biology and Technology* 27, 171-183.
- Pelayo-Zaldívar, C. (2010). Environmental effects on flavor changes. En: *Handbook of fruit and vegetable flavors*, (Hui Y.H., Chen Feng and Nollet L.M.L.), Pp. 73-91. Editorial John Wiley and Sons, Inc., E.U.A.
- Ponce-Valadez y M., Watkins, C.B. (2008). Fermentation and malate metabolism in response to elevated CO₂ concentrations in two strawberry cultivars. *Physiologia Plantarum* 134 (1), 121-133.
- Purvis, A.C. (1997). The role of adaptive enzymes in carbohydrate oxidation by stressed and senescing plant tissues. *HortScience* 32 (7), 1165-1168.
- Quevedo-Preciado, K.L., Villegas-Ochoa, M.A., González-Ríos, H. y Rodríguez-Félix, A. (2005). Calidad de nopal verdura mínimamente procesado. Efecto de temperatura e inhibidores del oscurecimiento. *Revista Fitotecnia Mexicana* 28(3), 261-270.
- Ramayo-Ramírez, L., Saucedo-Veloz, C. y Lakshminarayana, S. (1978). Prolongación de la vida de almacenamiento del nopal hortaliza (*Opuntia inermis* Coulter) por refrigeración. *Chapingo, Nueva Época* 10, (30-32).
- Reid, M.S. (2007). Maduración e Índices de Madurez. En: *Tecnología Postcosecha de Cultivos Hortofrutícolas* (A. A. Kader y C. Pelayo-Zaldívar), Pp. 63-71. Editorial University of California, California.
- Robles- Rodríguez, M.B., Rodríguez- Huezo, E., Colina- Irezabal, M.L., Pelayo- Zaldívar, C. y Bósquez- Molina, E. (2008). Efecto del envasado al vacío y en atmósfera de N₂ del nopal desespinado (*Opuntia ficus indica*) var. Milpa Alta. 12-14 Marzo. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México: *V Congreso Internacional y XVI Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica*.
- Rodríguez-Félix, A. (2002). Postharvest physiology and technology of cactus pear fruits and cactus leaves. *Acta Horticulturae* 581, 191-199.
- Rodríguez-Félix, A. y Cantwell, M. (1988). Developmental changes in composition and quality of prickly pear cactus cladodes (nopalitos). *Plant Foods for Human Nutrition* 38 (1), 83 - 93.
- Rodríguez-Félix, A. y Villegas-Ochoa, M.A. (1998). Postharvest handling of cactus (*Opuntia* spp.) stems. CACTUSNET-FAO Newsletter. Universita degli Studi di Reggio Calabria. Universidad de Chile 4, 10-13.
- Rodríguez Fuentes, H. (2009). *Cultivo orgánico del nopal*. Editorial Trillas, México. 76 p.
- Sáenz, C. (2004). Compuestos funcionales y alimentos derivados de *Opuntia* spp. En: *El Nopal, Tópicos de actualidad*, (Esparza, G., Valdez, R. y Méndez, S.), Pp. 211-222. Editorial Universidad Autónoma de Chapingo, Texcoco. México.
- Saltveit, M.E. (1998). Fresh cut product biology. In: *Fresh cut product: Maintaining Quality and Safety*, (Cantwell, M. eds), Pp. 1-8. California.
- Saltveit, M.E. (2000). Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. *Postharvest Biology and Technology* 21, 61-69.
- Saltveit, M.E. (2001). Chilling injury is reduced in cucumber and rice seedlings and in tomato pericarp discs by heat-shocks applied after chilling. *Postharvest Biology and Technology* 21, 169-177.
- SIAP, 2009. Estacionalidad de nopalitos. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. SAGARPA. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/>. Accesado: 24 noviembre 2010.

- Stintzing, F.C. y Carle, R. (2005). Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular Nutrition & Food Research* 49 (2), 175 - 194.
- Tadege, M., Dupuis, I. y Kuhlemeier, C. (1999). Ethanolic fermentation: new functions for an old pathway. *Trends in Plant Science* 4 (8), 320-325.
- Taiz, L. y Zeiger, E. (2006). *Plant Physiology*. Sinauer Associates Inc, Massachuset. 623 p.
- Watkins, C.B., Manzano-Mendez, J.E., Nock, J., Zhang, J. y Maloney, K.E. (1999). Cultivar variation in response of strawberry fruit to high carbon dioxide treatments. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79, 886-890.
- Wills, R., McGlasson, B., Graham, D. y Joyce, D. (1998). *Introducción a la fisiología poscosecha de frutas, hortalizas y plantas ornamentales*. Editorial Acribia S.A., Mexico. 240 p.