

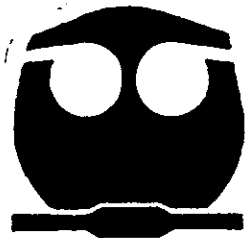


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**ESTUDIO SOBRE LOS EFECTOS DE LAS
ATMOSFERAS MODIFICADAS DURANTE EL
ALMACENAMIENTO DEL NOPAL (*Opuntia sp.*).**

**QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS
PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN: CIENCIAS QUIMICAS
ORIENTACION QUIMICA DE ALIMENTOS
P R E S E N T A :
JUAN CARLOS GUEVARA ARAUZA**



UNAM, 2000

286475



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

00567

Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Química
Maestría en Ciencias Químicas Orientación Química de Alimentos.

Nombre de la Tesis

Estudio sobre los efectos de las atmósferas modificadas durante el almacenamiento del nopal (*Opuntia sp.*).

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de maestro en:
Ciencias Químicas Orientación Química de Alimentos

Presenta:

Juan Carlos Guevara Arauza

Dirigido por:

Dr. Elhadi M. Yahia Kazuz

SINODALES

Eduardo Bárzana García
Presidente

Edmundo Brito de la Fuente
Secretario

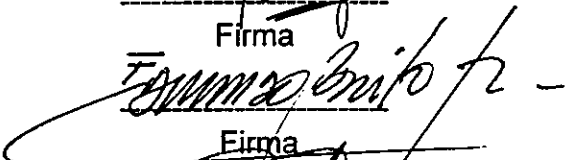
Ernesto Moreno Martínez
Vocal

Teodoro Espinosa Solares
Suplente

Amanda Gálvez Mariscal
Suplente



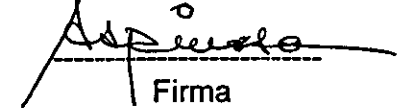
Firma



Firma



Firma



Firma

Firma

Ciudad Universitaria
UNAM, México
Mes del 2000
México

Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Química
Maestría en Ciencias Químicas Orientación Química de
Alimentos.

Nombre de la Tesis

Estudio sobre los efectos de las atmósferas modificadas durante el
almacenamiento del nopal (*Opuntia sp.*).

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de maestro en:
Ciencias Químicas Orientación Química de Alimentos

Presenta:

Juan Carlos Guevara Arauza

Dirigido por:

Dr. Elhadi M. Yahia Kazuz
Edmundo Brito de la Fuente

SINODALES

Eduardo Bárzana García
Presidente

Firma

Edmundo Brito de la Fuente
Secretario

Firma

Ernesto Moreno Martínez
Vocal

Firma

Teodoro Espinosa Solares
Suplente

Firma

Amanda Gálvez Mariscal
Suplente

Firma

Ciudad Universitaria
U. N. A. M., México
Diciembre del 2000
México

RESUMEN

El nopal en México es consumido como hortaliza en estado fresco por más de un 95% de la población. Al igual que otras hortalizas el nopal se enfrenta con varios problemas en la etapa de postcosecha, ya que su vida de anaquel es de 15 días como máximo con espinas y de 3 a 5 días sin espinas presentándose en ambos casos cambios deteriorativos en la clorofila, textura, peso, oscurecimiento enzimático etc. Debido a esto se han reportado pérdidas por más del 50% en las cosechas, ocasionado principalmente por una insuficiente e inadecuada tecnología postcosecha aplicada en los nopales.

Estudios con otras hortalizas han demostrado que las atmósferas modificadas pueden ser una tecnología postcosecha con enormes ventajas, ya que prolonga la vida de anaquel debido a una disminución en la actividad metabólica. Esto trae consigo un control en la actividad enzimática y microbiológica; también se ha logrado eliminar los daños por frío de algunos productos hortofrutícolas.

En la Etapa I los nopales fueron clasificados de acuerdo al tamaño, uniformidad y libres de defectos en tres lotes de 180 nopales cada uno. Un lote (EMAM) fue cuidadosamente empacado en bolsas con coeficientes de permeabilidad específica PD961EZ (dos nopales de aproximadamente 45g/empaque), teniendo dimensiones de 30x20cm y un volumen de 2L. Las características de permeabilidad se muestran en el cuadro 5. El segundo lote (HR) fue colocado en el mismo empaque, y cada empaque tenía 24 perforaciones con un diámetro de 6mm. El uso del empaque con perforaciones fue para mantener una alta humedad relativa (mayor al 80%). La finalidad de este tratamiento fue la de distinguir entre los efectos de las AM y los efectos de una alta humedad relativa. Un tercer lote el cual quedó integrado por nopales sin empacar (T) fue mantenido como control. Nopales empacados y no empacados fueron almacenados a 5°C y 80% de HR por 30 días. Una muestra de 30 nopales fue evaluada para calidad inicial. Una muestra de 30 nopales/tratamiento (15 bolsas en el caso de nopales empacados) fue removida y evaluada cada 5 días. La evaluación consistió en determinar la concentración de O₂ y CO₂ en los empaques EMAM, pérdida de peso, calidad subjetiva, color, textura, contenido de fibra cruda, contenido de clorofila (total, a y b), actividad de clorofilasa y cuenta total microbiana (hongos y levaduras, mesófilos aerobios y mesófilos anaerobios).

En la etapa I se encontró que la atmósfera dentro del empaque presentó condiciones aerobias. La concentración de O₂ disminuyó al 9% y la concentración de CO₂ se incrementó al 7% hacia el final de los 30 días. Esta condición logró generar mayor estabilidad en la textura, contenido de fibra y el color. Se disminuyó la actividad de la enzima clorofilasa y el desarrollo microbiológico. En contraste, los nopales almacenados a 5°C sin empacar en atmósfera modificada y en alta humedad relativa presentaron un gradual deterioro en la textura, contenido de fibra y color.

En la etapa II los nopales fueron tratados en la misma forma que en la etapa I, salvo una pequeña modificación, ya que la zona de corte de los nopales fue sumergida en una solución de ácido ascórbico (100 ppm) con la finalidad de eliminar la oxidación.

Los lotes quedaron establecidos de la siguiente manera: El primer lote (T) nopales sin empacar, fue mantenido como control. El segundo lote (EMAM) comprendió el empaçado de nopales en la película RS425 (las características de permeabilidad se describen en el cuadro 5). El tercer lote (20CO₂) contenía nopales empacados en una atmósfera con 20% de CO₂. El cuarto lote (40CO₂) contenía nopales empacados en una atmósfera con 40% de CO₂. El quinto lote (80CO₂) contenía nopales empacados en una atmósfera con 80% de CO₂. La finalidad de los lotes 3, 4 y 5 fue la de determinar la máxima tolerancia al CO₂ por parte de los nopales. Muestras de 30 nopales fueron evaluadas para calidad inicial y muestras de 30 nopales/tratamiento (15 bolsas en el caso de nopales empacados) fueron removidas y evaluadas cada 7 días. Las evaluaciones fueron las mismas que en la etapa I.

En la etapa II se encontró que la máxima tolerancia al CO₂ por parte del nopal es del 20%, generando mayor estabilidad en los factores evaluados. Se observó un mayor deterioro en los nopales empacados con altas concentraciones de CO₂ (40% y 80%) en función del tiempo de almacenamiento; también se observó que al poner los nopales al contacto con aire el deterioro se incrementaba conforme transcurría el tiempo.

A continuación se resume el efecto de elevadas concentraciones de CO₂ sobre la calidad del nopal: pérdida mínima de peso en los primeros días de almacenamiento, seguido de un incremento considerable hasta alcanzar valores similares a los que presentaron los nopales sin empacar (condiciones de no empaquetamiento). Pérdida de calidad a partir de los 7 días observándose una serie de contracciones (arrugas) en el pericarpio del nopal, pérdida del color (amarillamiento) del nopal, seguido de un oscurecimiento gradual del tejido. El incremento en la actividad de clorofilasa es mayor que en los nopales sin empacar. Se presenta un control en el desarrollo de microorganismos mesófilos aerobios y hongos y levaduras durante los primeros días de almacenamiento, para después presentar las cuentas más altas debido a que el nopal se encuentra completamente deteriorado, ocasionado a posibles trastornos metabólicos.

Mediante el estadístico (ANOVA) no se encontró diferencia significativa entre los distintos tratamientos para la mayoría de los factores evaluados en el experimento de la etapa II. Mediante el estadístico t de Student no se encontró diferencia entre las medias de los siguientes tratamientos T, 40% de CO₂ y 80% de CO₂, mientras que las condiciones de EMAM y 20% de CO₂ presentan diferencia en algunos factores evaluados (dureza, pérdida de peso, calidad subjetiva, contenido de clorofila, clorofilasa) y no presentan diferencia significativa en los siguientes factores (fibra desarrollo microbiológico).

El trabajar con un empaque con baja permeabilidad al vapor de agua (RS425) trae consigo un aumento en la HR al grado de trabajar en condiciones cercanas al 100%HR. Esto propicia un deterioro más rápido debido a inadecuadas condiciones de empaquetamiento en atmósfera modificada (EMAM).

En conclusión, la concentración máxima tolerable de CO₂ para el nopal es de 20%. El nopal puede ser almacenado hasta por 35 días bajo el sistema de atmósferas modificadas propuesto en el estudio, conservando óptimas sus características fisicoquímicas y microbiológicas.

DEDICATORIAS

Este trabajo de investigación esta dedicado con todo cariño y respeto, a mis padres ya que sin el apoyo incondicional que me ofrecieron no hubiera sido posible el buen termino del mismo.

En forma muy especial, quiero dedicar tanto el trabajo como esta etapa de mi vida a mis hermanos: Pablo, Braulio, Antonio, Arturo, Nancy y Alfredo; sin los cuales hubiera sido muy difícil el éxito de ambos.

A mi sobrino Roberto Guevara esperando que sirva de impulso en su futuro académico y profesional.

También quiero dedicarle con todo respeto este trabajo al Dr. Elhadi M. Yahia Kazuz por el apoyo incondicional ofrecido a lo largo de todo el proyecto.

Al Dr. Carlos Lever por todos los conocimientos transmitidos a lo largo de la maestría y por todos sus consejos brindados de manera personal, y lo mas importante por considerarme su amigo.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en forma muy especial al Dr. Elkhadi M. Yahia Kazuz, por todo el apoyo brindado a lo largo de la Maestría y por los conocimientos transmitidos tanto en el ámbito académico como en el ámbito experimental.

Al Dr. Edmundo Brito de la Fuente ya que sin su apoyo no hubiera sido posible el buen termino de este trabajo.

A cada uno de los miembros del H. jurado por sus acertadas observaciones

Eduardo Bárzana García

Edmundo Brito de la Fuente

Ernesto Moreno Martínez

Teodoro Espinosa Solares

Amanda Gálvez Mariscal

ÍNDICE

	Página
Resumen	i
Dedicatorias	iii
Agradecimientos	iv
Índice	v
Índice de cuadros	vii
Índice de figuras	viii
I. Introducción.	1
II. Antecedentes.	2
Generalidades.	2
Taxonomía.	2
Composición Química.	3
Uso como alimento.	4
Producción y comercialización del nopal verdura.	4
El nopal en la medicina.	5
Factores fisiológicos pre y postcosecha del nopal	6
Actividad fisiológica del nopal.	6
Avances recientes en la ecofisiología del nopal (<i>Opuntia</i>) y otras cactáceas.	8
Absorción y pérdida de agua por las raíces.	9
Enfermedad del nopal y de la tuna.	11
Atmósferas Controladas (AC) y Modificadas (AM).	11
Aplicaciones de las AC y EMAM en hortalizas	14
Efectos generales del EMAM sobre los microorganismos	16
Efectos metabólicos de elevadas concentraciones de CO ₂ .	17
Producción de un sistema de empaque	18
Almacenamiento subatmosférico	19
Enzimas que influyen en la calidad de productos hortofrutícolas	20
Actividad Enzimática.	20
Degradación de las Pectinas.	21
Degradación de la clorofila.	23
Actividad de la clorofilasa.	25
HIPOTESIS	26
OBJETIVO GENERAL	26
OBJETIVOS PARTICULARES	26
III. Materiales y métodos.	27
Materiales.	27
Etapa I.	27
Etapa II.	28
Metodologías	30
Determinación de la atmósfera en el empaque	30
Determinación de la pérdida de peso	30
Determinación de la calidad	30
Determinación del color.	30
Determinación de la textura.	30
Determinación de la actividad de clorofilasa.	31

	Determinación del contenido de clorofila	31
	Determinación de fibra cruda por detergente neutro.	31
	Determinación del desarrollo microbiano	31
	Determinación del género de los microorganismos.	33
	Tinción de Gram.	33
	Tinción de esporas verde de malaquita.	34
	Tinción de Hongos.	34
IV	Resultados y discusión.	35
	Etapa I.	35
	Etapa II.	50
	Determinación del género de los microorganismos	65
V	Conclusiones generales.	69
	Literatura Citada.	70

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Titulo	Página
1.	Taxonomía del Nopal.	3
2.	Composición Química del Nopal.	3
3.	Producción y consumo aparente de nopal en México.	5
4.	Permeabilidad al O ₂ y al CO ₂ de 8 tipos de películas comúnmente utilizadas como empaque.	19
5.	Enzimas presentes en vegetales que pueden contribuir a la pérdida de calidad de los mismos durante el almacenamiento.	20
6.	Características del empaque utilizado para generar la atmósfera modificada.	28
7.	Medios selectivos para la determinación de enterobacterias.	33
8.	Medios selectivos para la determinación de Hongos y Levaduras.	34
9.	Determinación de las características macroscópicas de microorganismos mesófilos aerobios aislados en agar cuenta en placa.	65
10.	Determinación de las características microscópicas de microorganismos mesófilos aerobios aislados en agar cuenta en placa.	65
11.	Determinación de las características macroscópicas de microorganismos mesófilos anaerobios aislados en agar Brewer.	67
12.	Determinación de las características microscópicas de microorganismos mesófilos anaerobios aislados en agar Brewer.	67
13.	Determinación de las características macroscópicas de microorganismos hongos y levaduras aislados en agar Sabouraud	67
14.	Determinación de las características microscópicas de microorganismos hongos y levaduras aislados en agar Sabouraud.	68

INDICE DE FIGURAS

Figura	Titulo	Página
1	Sistema de flujo continuo (a), sistema cerrado (b).	13
2	Intercambio de gases dentro del empaque.	19
3	Reacciones de degradación enzimática de las pectinas.	22
4	Etapas del deterioro de la clorofila.	23
5	Diagrama de las condiciones de pretratamiento de las muestras en la etapa I.	28
6	Diagrama de las condiciones de pretratamiento de las muestras en la etapa II.	29
7	Metodología para determinar la actividad microbiana.	32
8	Cambio en la atmósfera del nopal verdura empacado en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.	35
9	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la dureza del nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad relativa >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.	36
10	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el contenido de fibra del nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad relativa >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.	37
11	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la pérdida de peso (A) y calidad subjetiva (B) del nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad relativa >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.	39
12	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la luminosidad del nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad relativa >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.	40
13	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el valor de a* del nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad relativa >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.	41
14	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el valor b* del nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad relativa >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.	42
15	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el valor de croma del nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad relativa >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.	43

16	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el ángulo de hue del nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad relativa >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.	44
17	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el contenido de clorofila total (A), clorofila a (B) y clorofila b (C) en nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad relativa >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.	46
18	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la actividad de clorofilasa en nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad relativa >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.	47
19	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el desarrollo de hongos y levaduras (A) y mesófilos aerobios (B) y mesófilos anaerobios (C) en nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad relativa >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.	48
20	Cambios en la atmósfera del nopal verdura empacado en atmósfera modificada (A), con 20 % de CO ₂ (B), con 40% de CO ₂ (C) y 80% de CO ₂ (D). Las barras verticales representan el error estándar de la media.	51
21	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la dureza (A) y contenido de fibra (B) en nopal verdura. T= control a 5°C, EMAM= empaque en atmósfera modificada y nopales almacenados en 20% de CO ₂ , 40% de CO ₂ y 80% de CO ₂ . Las barras verticales representan el error estándar de la media.	52
22	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la pérdida de peso (A) y calidad subjetiva del nopal verdura (B). T= control a 5°C, EMAM= empaque en atmósfera modificada y nopales almacenados en 20% de CO ₂ , 40% de CO ₂ y 80% de CO ₂ . Las barras verticales representan el error estándar de la media.	54
23	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la luminosidad del nopal verdura. T= control a 5°C, EMAM= empaque en atmósfera modificada y nopales almacenados en 20% de CO ₂ , 40% de CO ₂ y 80% de CO ₂ . Las barras verticales representan el error estándar de la media.	55
24	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el valor de a* del nopal verdura. T= control a 5°C, EMAM= empaque en atmósfera modificada y nopales almacenados en 20% de CO ₂ , 40% de CO ₂ y 80% de CO ₂ . Las barras verticales representan el error estándar de la media.	56
25	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el valor b* del nopal verdura. T= control a 5°C, EMAM= empaque en	57

	atmósfera modificada y nopales almacenados en 20% de CO ₂ , 40% de CO ₂ y 80% de CO ₂ . Las barras verticales representan el error estándar de la media.	
26	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el valor de croma del nopal verdura. T= control a 5°C, EMAM= empaque en atmósfera modificada y nopales almacenados en 20% de CO ₂ , 40% de CO ₂ y 80% de CO ₂ . Las barras verticales representan el error estándar de la media.	58
27	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el ángulo hue del nopal verdura. T= control a 5°C, EMAM= empaque en atmósfera modificada y nopales almacenados en 20% de CO ₂ , 40% de CO ₂ y 80% de CO ₂ . Las barras verticales representan el error estándar de la media.	59
28	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el contenido de clorofila total (A), clorofila a (B) y clorofila b (C) el nopal verdura. T= control a 5°C, EMAM= empaque en atmósfera modificada y nopales almacenados en 20% de CO ₂ , 40% de CO ₂ y 80% de CO ₂ . Las barras verticales representan el error estándar de la media.	60
29	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la actividad de clorofilasa en nopal verdura. T= control a 5°C, EMAM= empaque en atmósfera modificada y nopales almacenados en 20% de CO ₂ , 40% de CO ₂ y 80% de CO ₂ . Las barras verticales representan el error estándar de la media.	61
30	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el desarrollo de mesófilos aerobios (A), mesófilos anaerobios (B) y hongos y levaduras (C) en nopal verdura. T= control a 5°C, EMAM= empaque en atmósfera modificada y nopales almacenados en 20% de CO ₂ , 40% de CO ₂ y 80% de CO ₂ . Las barras verticales representan el error estándar de la media.	63
31	Diagrama de la identificación del género de los microorganismos	65

I. INTRODUCCIÓN.

Existen varios problemas que causan grandes pérdidas en el nopal verdura fresco, debido al rápido deterioro que sufre en postcosecha. Los principales cambios son la degradación del color debido a la actividad enzimática y a la exposición del tejido a los rayos solares. Enzimas como la polifenol oxidasa y catecolasa, las cuales pertenecen al género de las oxido-reductasas, generan pigmentos a partir de la oxidación de compuestos fenólicos produciendo colores indeseables (Fennema, 1985).

Otra característica importante que se pierde durante el almacenamiento del nopal es la textura, lo cual se atribuye de igual manera a la actividad enzimática siendo en este caso del género de las pectinasas que presentan estas verduras entre las cuales se encuentran, la pectinmetilesterasa, poligalacturonasas y pectin-liasas que degradan las pectinas en ácido D-galacturónico produciendo el ablandamiento de los tejidos observándose una disminución en la resistencia de los mismos (Badui, 1985; Kramer, 1973).

Estas propiedades influyen en gran medida en la aceptación del consumidor de aquí que el presente estudio contemple la utilización de la tecnología de atmósferas modificadas (AM) con la cual se pretende mejorar la estabilidad del color y textura del nopal así como el de prolongar su vida de anaquel.

El uso de AM permite reducir los desórdenes fisiológicos (daños por frío) que se presentan en diferentes vegetales durante el almacenamiento a bajas temperaturas (Fennema, 1985). Condiciones inadecuadas de almacenamiento en AM incrementan la concentración de CO₂ y etileno sobre un rango peligroso e incluso puede llegar al límite con el cual se incrementa la susceptibilidad a ciertas enfermedades y la permeabilidad de la membrana celular generando en corto tiempo el deterioro del tejido (Wills et al., 1985).

Hortalizas tratadas con altas pero adecuadas concentraciones de CO₂ antes del almacenamiento han mostrado que reducen los síntomas de daño por frío como es el caso del limón, aguacate y calabaza (Pantastico, 1975). Algunas de las bondades que ofrece AM son las siguientes:

- Disminución de la actividad metabólica del vegetal.
- Inhibición de la síntesis de etileno (hormona responsable de la maduración y senescencia)
- Disminución de los daños por frío que presentan los vegetales.
- Inhibición del desarrollo microbiano.
- Incremento en la vida de anaquel del vegetal.

II. ANTECEDENTES.

GENERALIDADES

En la vida económica, social y religiosa de los Nahuas, las cactáceas desempeñaron un papel relevante, a tal grado que el escudo de Tecnochtitlan ostenta aiosamente un nopal, símbolo que aun se conserva en nuestra bandera nacional. La importancia del nopal data desde los albores de nuestra historia, siendo determinante para la formación de algunos núcleos de población humana como es el caso de la ciudad de Tenochtitlan. Según la profecía del dios Azteca, Huitzilopochtli, el lugar donde se encontrara un águila posada sobre un nopal y devorando una serpiente sería el lugar donde se establecería dicha población (Bravo Hollins, 1987).

Como se sabe actualmente, el nopal antes de la conquista tuvo diversas aplicaciones, tanto en la producción alimenticia, como por sus propiedades curativas que se desarrollaron en la medicina naturista (Torres, 1991).

En otras regiones del país, cuando los padres Franciscanos (siglo XVII y XVIII) establecieron sus misiones en Baja California Norte y áreas adyacentes, establecieron zonas nopaleras, ya que encontraron que estas cactáceas no solo eran útiles por sus frutos sino también como una fuente de material mucilaginoso que servía de ligamento a los adobes utilizados en la construcción de las misiones (Benson y Walkinton, 1968).

El nopal verdura y tunero es un recurso natural importante que ha llamado la atención por sus posibilidades para incrementar la productividad de las regiones semiáridas. Se ha aceptado que es originario de México, región que posee una inmensa cantidad de especies, variedades botánicas y comerciales. Como cultivo comercial, su mayor desarrollo lo ha tenido en México e Italia (Mondragón, 1995).

TAXONOMÍA

Nopal es el nombre que se aplica a todas las cactáceas de los géneros *Playtyopuntia* y *Nopalea*. Su tallo consta de segmentos aplanados, cladiolos (pencas) que solamente cuando están maduros presentan hojas, estas son carnosas y largamente cónicas. La superficie presenta grupos de espinas, las flores aparecen en los bordes y los frutos (tunas) son bayas con muchas semillas y pulpa acuosa en muchos casos dulce y comestible (Torrez, 1991). La clasificación más aceptada para el nopal es la que cita Torrez (1991) la cual se describe en el cuadro 1.

Cuadro 1. Taxonomía del Nopal

REINO	Vegetal
SUBREINO	Embryophita
DIVISIÓN O TIPO	Angiospermoe
CLASE	Dicotiledonia
SUBCLASE O SERIE	Dialipetala
FAMILIA	Cactáceas
GENERO	Opuntia
SUBGÉNERO	Cilindropontea Playtypontea
ESPECIE	Vulgaris.
ORDEN	Cactales.
TRIBU	Opunteoideas.

El género *Opuntia* está formado por dos subgéneros: *Opuntia cylindropuntia* y *Opuntia playtyopuntia*, las cuáles se distinguen por la forma de sus tallos, el primero en forma cilíndrica y el segundo en forma aplanada. Al subgénero *Playtyopuntia* pertenecen los nopales verdaderos cuyos frutos son las tunas de nopal dulce y el Xoconoxtle cuando el sabor es ácido (Callegas, 1994).

Las variedades que normalmente se usan para la producción del nopal verdura son *Opuntia ficus-indica* y *Opuntia ondulara*. Es importante señalar que en los estados de San Luis Potosí, Hidalgo y México las variedades que más se explotan son: *Opuntia streptocantha* (nopal cardón) y *Opuntia robusta* (nopal tapón). En la actualidad existen variedades de nopal mejoradas genéticamente con fines hortícolas mismas que se nombran a continuación (Ramírez, 1981): copena v-1, copena fármaco-1, italiana, atlixco, tlaconopal (*Opuntia inermis*).

COMPOSICIÓN QUÍMICA

La composición química de los principales componentes presentes en el nopal se presenta en el cuadro 2 (Estrada, 1990).

Cuadro 2. Composición Química del Nopal

PARÁMETRO	% BASE HÚMEDA
Humedad	90.5
Proteínas	1.7
Grasa	0.248
Carbohidratos	3.14
Fibra Cruda	2.03
Ácido ascórbico	4.00 mg/100 g mtra.
Caroteno	5.00 mg/100 g mtra.
Tiamina	0.04 mg/100 g mtra.
Riboflavina	0.04 mg/100 g mtra.
Niacina	0.30 mg/100 g mtra.

USO COMO ALIMENTO

El nopal verdura en estado fresco se ofrece al consumidor con espina para prolongar un poco más el buen estado del producto, o bien sin espinas, lo cual implica que el consumo sea casi inmediato (3 a 5 días). Este se vende al público en penca (cladiolo) completa o picada lista para su cocción (Pérez, 1990).

Existe el nopal enlatado cuya principal ventaja es la de ofrecer un producto con larga vida de anaquel, este se exporta a países europeos (España y Alemania). Otro producto que se comercializa en el sur de EU es el nopal pretratado mediante un escaldado empacado al vacío, logrando generar un producto con características de color y textura similares a las de nopal fresco y cuya vida de anaquel es de 4 meses a 4°C (Guevara, 1998). También en EU se empacan nopales picados en bolsa de polietileno de alta y baja densidad a temperatura de 5°C. El inconveniente de estos productos es la corta vida de anaquel que presentan 6 días en polietileno de baja densidad y 9 días en polietileno de alta densidad (Rodríguez, 1992).

En Santiago de Chile harina de nopal del género *O. ficus-indica*, es integrada hasta en un 10% a diferentes procesos de panificación. En galletas se encontró que el volumen es incrementado al incorporar dicha harina. Estos productos son dirigidos al mercado de productos con alto contenido de fibra dietética (Sepulveda, 1995; Saenz, 1995).

Actualmente, se está realizando la caracterización completa del mucilago del nopal con la finalidad de utilizarlo como aditivo alimentario. Ya sea como un agente viscosante o en conjunto con otras gomas esperando obtener un efecto sinérgico con tales polímeros. Lo cual generaría una disminución de costos en formulaciones y el aprovechamiento integral del mucilago de nopal en México (Medina et al. 2000).

PRODUCCION Y COMERCIALIZACION DEL NOPAL VERDURA

En México existen varias zonas nopaleras, de las cuales tres son las más representativas, mismas que se discuten a continuación:

Zona 1: nopalera Potosina-Zacatecana, con extensión a regiones de Aguascalientes, Jalisco, Durango, Hidalgo, Querétaro, Guanajuato y áreas cercanas al valle de México. Esta zona tiene sustratos de origen ígneo, sobre los cuales predominan extensas zonas cultivadas por el género *Opuntia*, las cuales son destinadas para consumo humano.

Zona 2: nopalera del norte de México abarca desde el estado de Texas en Estados Unidos, cubriendo la región norte de Tamaulipas, noroeste de Nuevo León y con prolongación al norte de Coahuila. Esta zona se compone principalmente de nopales forrajeros.

Zona 3: nopalera difusa tiene menor densidad de plantas por hectárea y es la más amplia, se extiende por las regiones calizas de San Luis Potosí, Zacatecas y Nuevo León hasta Coahuila y zonas áridas de Durango. Se compone de nopales forrajeros (Escamilla, 1977).

De acuerdo a la SARH la producción nacional de nopal entre los años de 1991 a 1998 es mostrada en el cuadro 3.

Cuadro 3. Producción y Consumo aparente de Nopal en México.

PERIODO	PRODUCCIÓN EN TONELADAS	CONSUMO APARENTE EN kg/AÑO/HABITANTE
1980/1984	97,097	1.40
1985	93,229	1.30
1991	231,688	2.80
1992	267,385	3.03
1993	297,115	3.59
1994	308,179	3.87
1995	316,142	4.01
1996/1998	388,187	6.96

Fuente: Anuarios Estadísticos de la Producción Agrícola de México SARH

En el mercado de la central de abastos en México D.F. se comercializa mas del 77 % del nopal verdura que se produce durante todo el año. De aquí se abastecen de nopal verdura la mayor parte de los comerciantes de centrales de abasto y mercados del interior del país. El volumen total estimado de nopal vendido en la central de abastos del D.F. es de 438,828 toneladas/ anuales de las cuales 395,250 toneladas (90.1% del volumen total) son aportadas por la región de Milpa Alta, 25,200 ton (5.7% del volumen total) son aportadas por el estado de Morelos y el resto 18,478 toneladas (4.2% del volumen total) por otros estados (Martínez, 1995).

EL NOPAL EN LA MEDICINA

Ibañez (1979) dio evidencia experimental indicando que los cladiolos de nopal *Opuntia* pueden decrecer los niveles de glucosa en sangre de animales diabéticos. Ramos (1980) administró a pacientes diabéticos 200ml de jugo de nopal diariamente durante 2 meses antes de cada comida. Encontrando que este hábito controla la diabetes mellitus. Describiendo este hallazgo mediante un efecto hipoglucemiante por parte del nopal.

En otro estudio realizado por Frati (1983), en el cual cladiolos de *Opuntia* fueron administrados a personas diabéticas, obesas y voluntarios sanos. Se encontró que tal consumo causaba una disminución en el nivel de triglicéridos, colesterol total y colesterol LDL, mientras que el colesterol HDL y el índice aterogénico permanecieron sin cambio. En pacientes obesos hubo pérdida de peso. En ese mismo año el autor administró 100g de nopal *Opuntia sp.* antes de cada comida a 20 pacientes con la finalidad de estudiar el efecto sobre lípidos séricos, encontrando que la composición de fibras en el nopal (lignina, celulosa, pectina y mucilagos) reduce el contenido de algunos lípidos séricos específicos (colesterol y triglicéridos) y la glucemia. Esto fue relacionado con resultados similares que fueron obtenidos por mucilago de *Plantago psyllium* y otras fuentes de fibra dietética (Frati et al., 1989).

Basándose en estos estudios se logro concluir que la celulosa tiene acción sobre los azucares, pero tiene poca acción sobre los lípidos. La lignina por su parte tiene afinidad hacia las sales biliares y el colesterol, pero tiene la desventaja de ser un compuesto poco homogéneo y de efectos menos predecibles. La disminución del colesterol depende aparentemente de la

absorción de las sales biliares, por las fibras vegetales, ya que al administrarlas hay un aumento aparente de la excreción de las sales biliares y el colesterol. (Frati et al., 1989).

En el año de 1990, Frati y colaboradores concluyeron: "el consumo de cladios de nopal *Opuntia*, durante 10 días, ejerce un control de la glucosa en adultos con diabetes mellitus insulina no dependientes". Ya que la glucosa en suero es disminuida previa ingestión de cladios de nopal.

FACTORES FISIOLÓGICOS PRE Y POSTCOSECHA DEL NOPAL

ACTIVIDAD FISIOLÓGICA DEL NOPAL

Después de su cosecha, los frutos y vegetales continúan con su actividad respiratoria, produciéndose intensos cambios durante el almacenamiento; la transpiración se ve aumentada debido a que los estomas se abren, por lo que la pérdida de humedad es mayor, ocasionando una disminución en la vida de anaquel.

El nopal no muere al cosecharlo y por ende sus procesos biológicos, fisicoquímicos y fisiológicos continúan; siendo la intensidad del cociente respiratorio en esta etapa un factor determinante a controlar, dado que en tanto la temperatura aumenta, la velocidad de las reacciones bioquímicas es mayor, encontrando que la variación de la transpiración es directamente proporcional al cambio en la temperatura (Pérez, 1990).

De las condiciones de almacenamiento va a depender la calidad de los nopales, siendo la humedad relativa y el grado de aireación los factores determinantes de la vida de anaquel, ya que si el medio ambiente es muy seco, el nopal perderá mucha humedad, si el grado de aireación es muy alto, la cantidad de oxígeno presente acelera el metabolismo del vegetal, resultando así un producto muy perecedero (Pérez, 1990).

La corta vida de anaquel del nopal es debida, al igual que en otras hortalizas no-climatéricas, al patrón respiratorio que presentan llegando a la senescencia, mediante la acción del etileno. Este último compuesto acelera el envejecimiento de las frutas y hortalizas.

Al igual que las frutas y los vegetales, el nopal está constituido por tejidos biológicamente activos que contienen una gran cantidad de enzimas, entre las cuales destacan la actividad de enzimas pectinolíticas (pectinasa, lípasa, lipoxigenasa). Estas enzimas degradan la pectina que se encuentra en la lamela central uniendo a las células de la pared celular. También importante es la actividad de la enzima clorofila la cual degrada la clorofila generando feofitina y fitol, para posteriormente generar el feofóbido mediante la sustitución del átomo de Mg del anillo porfirínico por una molécula de H; Por su parte la lipoxigenasa, mediante la oxidación de lípidos, genera peróxido de hidrógeno, el cual puede deteriorar la clorofila. La polifenol oxidasa oxida compuestos fenólicos a quinonas que mediante polimerización generan compuestos coloridos llamados melaninas. La ácido ascórbico oxidasa oxida el ácido ascórbico a ácido dehidroascórbico. Las proteasas se encargan de la activación de precursores, que a su vez sirven para la síntesis y/o degradación de compuestos presentes en el vegetal. Conforme avanza el tiempo de almacenamiento, todas estas enzimas deterioran la calidad de los productos vegetales y por ende el nopal (Badui, 1985; Wills, 1985).

Desde el momento de la cosecha, hasta el momento de su descomposición se notan cambios paulatinos en la estructura externa del nopal, siendo estos: el arrugado en las capas exteriores del pericarpio, la raqueta se va haciendo cóncava, las orillas de la raqueta se resecan y pierden volumen hasta que el color se torna verde oscuro y queda completamente seca, la pérdida del color, la pérdida de tamaño, desarrollo microbiológico (hongos principalmente) en la superficie del nopal que aún conserva algo de humedad, generando necrosis que produce oscurecimiento en ocasiones se da el desarrollo de microorganismos pectinolíticos provocando una pérdida en la estructura del tejido de soporte. Al final lo que antes era una estructura rígida del vegetal queda con la consistencia de un gel pardo oscuro y olor desagradable.

Por lo cual, al manejar el nopal debe procurarse no lesionar el tejido, ya que de esta forma las enzimas pueden entrar en contacto con sus sustratos, favoreciendo el desarrollo de la actividad enzimática. Esta actividad se ve favorecida por la exposición del tejido a la luz y al oxígeno. El hecho de que algunas de estas reacciones no se efectúen en células intactas, indica la existencia de un micro-ambiente anaerobio. Tal micro-ambiente que inhibe los mecanismos de oscurecimiento y oxidación.

Por otro lado conforme el nopal va madurando, el pH se va haciendo óptimo (aumento) para que actúe la enzima clorofilasa. Este hecho explica la pérdida gradual del color, debido al deterioro de la clorofila y a la formación de subproductos generando la aparición de un color café, pardo verdoso (Callegas, 1994).

Estos factores son la causa de por que al nopal, que se le han eliminado las espinas, tiene una vida de anaquel tan corta, misma que se ve disminuida hasta una tercera parte del tiempo normal que presentan los nopales con espina.

Es conocido que la velocidad de respiración es afectada por varios factores internos y externos. Los factores internos incluyen el tipo de producto y cultivar, madurez y resistencia a la difusión del gas por parte del tejido. Los factores externos incluyen temperatura, concentración de C_2H_4 , concentraciones de O_2 y CO_2 , estrés debido a daño físico o excesiva pérdida de agua.

Sobre la base de lo anterior se puede definir que el nopal puede conservarse almacenado en atmósferas modificadas, regulando la velocidad de respiración y los procesos metabólicos mediante un control adecuado de la temperatura y humedad relativa, prolongando enormemente la vida de anaquel (Ibarra, 1994).

AVANCES RECIENTES EN ECOFISIOLOGIA DEL NOPAL (*Opuntia*) Y OTRAS CACTACEAS

Nobel (1995) investigó la fijación neta de CO₂ y la pérdida de agua de diversas cactáceas tanto en el campo como en el laboratorio. Reportando que debido a la apertura de los estomas de las plantas con metabolismo ácido de las crasuláceas (MAC), ocurre predominantemente por la noche (cuando la temperatura del aire y la de la planta son mas bajas), la perdida de agua tiende a ser menor para las plantas MAC que para la mayoría de los otros tipos de plantas (C3 y C4), cuyos estomas se abren solo durante la luz del día. La eficiencia en el uso del agua (fijación de CO₂ sobre la perdida del agua) resultante es de 3-7 veces mayor para las cactáceas cultivadas que para las plantas con metabolismo C3 y C4. Ciertas variedades (*O. Sp*, *O. ficus-indica*) son eficientes no solamente con respecto a la utilización de agua, también pueden ser altamente productivas especialmente bajo riego. Las cactáceas que son altamente productivas también tienden a ser sensibles a las temperaturas muy bajas, pero lamentablemente los mecanismos de daño por la baja en la temperatura y su control genético han recibido poca atención, de aquí que el crecimiento y la productividad dependan de las condiciones ambientales.

La fijación diaria de CO₂ por los tallos es generalmente mas alta cuando el agua en el suelo es disponible, la respuesta a la fijación neta de CO₂ por *O. ficus-indica* y por *Ountia Sp.* a la precipitación, temperatura y luz en el laboratorio pueden evaluarse con respecto a las condiciones climáticas locales, lo que ayudaría a indicar donde éstas especies se podrían cultivar. Para lo cual se propone el índice ambiental de productividad (IAP) el cual indica la fijación neta de CO₂ diaria relativa con base en la fracción de la máxima fijación neta de CO₂ ocasionada por limitaciones de factores ambientales específicos: (IAP= Índice de Agua X Índice de Temperatura X Índice de Luz).

El nitrógeno es el elemento más importante del suelo para las cactáceas como lo es para casi todas las especies cultivadas; el fósforo y el potasio son también importantes. De otros 25 elementos considerados, dos muy importantes son: el sodio, cuya presencia en el suelo afecta adversamente la fijación neta de CO₂ y el crecimiento de las cactáceas; y el boro, que puede limitar la productividad de cactáceas bajo condiciones naturales en el desierto de Chihuahua, pero esta presente comúnmente en cantidades suficientes. Cuando se eleva la concentración atmosférica de CO₂ desde el valor actual al doble, la fijación neta de CO₂ se incrementa sobre periodos de 24h para *O. Sp* y *O. ficus-indica*.

Cuando el volumen de suelo es limitante, los aumentos en la fijación neta de CO₂ son mucho menores, tales aumentos se traducen en un incremento en la productividad, ya que el peso de las cactáceas es el doble cuando la concentración de CO₂ es de 55% mas alta después de 5 meses. Una concentración atmosférica mayor de CO₂ significara una mayor fijación neta de CO₂ y una mayor productividad para (*Opuntia. Sp* y *O. ficus-indica*). Algún progreso se ha hecho en comprender los sucesos celulares que subyacen bajo la influencia de las temperaturas de congelación sobre las cactáceas. Por ejemplo cuando la temperatura del tejido se reduce progresivamente bajo cero, la formación inicial de hielo ocurre en forma extra celular. El agua se destila entonces desde adentro de las células, ocasionando que los cristales extra celulares de hielo crezcan. Eventualmente, la perdida

intracelular de agua conduce a la muerte de una célula, parecido a la muerte celular ocasionada por el desecamiento prolongado durante una sequía. Las cactáceas no son tan susceptibles a la congelación si su contenido de agua es reducido por la sequía. La exposición a temperaturas bajas no siempre es letal esto debido a que diferentes solutos (glucosa, fructuosa y sacarosa) presentes en las células incrementen su presión osmótica y ayudando así a la retención de agua intracelular.

El agua transpirada por los tallos de las cactáceas entra desde el suelo y se mueve a través de las plantas en el xilema. El folema mueve solutos orgánicos producidos por la fotosíntesis en los tallos a órganos en crecimiento o almacenamiento. Cuando se compara con plantas C3 y C4. Relativamente poco se conoce sobre estos sistemas circulatorios de plantas MAC en general y de cactáceas en particular.

ABSORCIÓN Y PERDIDA DE AGUA POR LAS RAÍCES

Aunque las raíces absorban el agua desde el suelo húmedo, el agua tiene una tendencia termodinámica para salir de las raíces al suelo seco cuyo potencial de agua es menor que el del tallo. En el suelo húmedo la conductividad hidráulica de la raíz es el principal obstáculo en la captación de agua. Cuando el suelo se seca, el potencial de agua del suelo constantemente disminuye y el agua se pierde desde la raíz, una vez que el potencial del agua en el suelo es menor que el potencial de agua en la superficie. La tasa de pérdida de agua podría llegar a ser excesiva durante tal sequía si no fuera por cuatro cambios posibles:

1° Las raíces de las cactáceas pueden morir y ser removidas durante la sequía, especialmente las raíces laterales más finas, lo cual reduce el área de superficie por el cual el agua puede perderse.

2° La conductividad hidráulica de la raíz puede disminuir durante la sequía en *Opuntia. sp* y *O ficus-indica*, siendo acompañada por una deshidratación de las capas del peridermo suberizado de la raíz. La disminución en la conductividad hidráulica de la raíz en ambos casos es ocasionada por la introducción de aire en el xilema. Después de rehidratar las raíces, el metabolismo se revierte y las nuevas raíces pueden desarrollarse, restaurando la capacidad de captación de agua del sistema radical.

3° Existe el desarrollo de un espacio lleno de aire que es relativamente no buen conductor. Este espacio de aire se da entre la raíz y el suelo.

4° Un encogimiento de la raíz el cual oscila entre un 43% y un 6% en raíces de 3 semanas y doce meses respectivamente para *O. ficus-indica*.

Como conclusiones de esta investigación fue que la posible influencia en el cambio global del clima inducido primeramente por un aumento en la concentración atmosférica del CO₂ los cuales deberían beneficiar los cultivos de *Opuntia* y otras cactáceas (Nobel, 1995).

Ramírez 1995 evaluó el efecto del grado de aridez en la anatomía de cladíolos de morfoespecies de nopal, para lo cual midió variables anatómicas en 2 poblaciones de 8 morfoespecies de nopal (*Opuntia sp.*). Tales morfoespecies diferían en el grado de aridez de la localidad en que se desarrollaron. Las variedades anatómicas estudiadas fueron grosor de la cutícula, profundidad de la cavidad ó cripta estomática, grosor o número de

capas celulares que forman la clorénquima, longitud y frecuencia de estomas y frecuencia de cristales de oxalato de calcio.

En cuanto al grosor de la cutícula en la flora xerófitas se presentan cutículas gruesas que reducen la pérdida del agua en ambientes donde esta es escasa. La evaluación estadística del grosor de la cutícula mostró diferencia significativa controlada tanto por el genotipo de cada una de las morfoespecies como por su respuesta al grado de aridez presentando cutícula más gruesa en la región más árida, siendo la variedad cultivada en esta zona *Opuntia sp.* El incremento en el grosor cuticular en condiciones de mayor aridez que mostró *Opuntia sp.* en el estudio, tiene implicaciones importantes sobre la economía hidráulica de esta planta ya que un mayor grosor cuticular incrementa la capacidad de la cutícula de reducir la transpiración, por lo que en ambientes con déficits hídricos pronunciados propiciarán una cutícula más gruesa en el nopal lo que representa una resistencia más eficaz frente a la difusión de vapor de agua.

Mientras que la disposición hundida de las estomas en criptas estomáticas es una característica frecuente en plantas xeromórficas ya que presenta una resistencia al movimiento del agua de la planta hacia la atmósfera. De todas las morfoespecies evaluadas el valor más alto fue para aquellas que están presentes en condiciones más áridas, siendo esto indicativo de que la profundidad de la cavidad o cripta estomática está asociada a la presencia de factores estresantes por lo que no se debe descartar su papel como resistencia a la pérdida de agua ya que su posición anatómica la coloca como una de las últimas etapas en la ruta que sigue el vapor de agua desde el clorénquima hasta la atmósfera.

El grosor de la epidermis y número de capas celulares, y el grosor del clorénquima y el número de capas celulares que lo forman mostraron solo diferencia entre las morfoespecies sin verse influenciadas por el grado de aridez.

Por otro lado la longitud y frecuencia de los estomas mostró diferencias atribuibles al grado de aridez, demostrando que es una característica estable entre los miembros de una especie, pero la frecuencia de los estomas mostró un número menor en la localidad más árida.

En una localidad con pocos déficits hídricos una mayor frecuencia de estomas no perjudica el balance de este líquido pero sí se logra una mayor entrada de CO₂ útil en la fotosíntesis; en una localidad con mayor grado de aridez se debe maximizar la actividad fotosintética minimizando la pérdida de agua por transpiración lo que *Opuntia* logra en parte a través de menor frecuencia estomática.

Los cristales de oxalato de calcio son componentes frecuentes en los cladiolos del nopal, encontrándose distribuidos de manera uniforme y abundante en las células dorsales del clorénquima, exactamente debajo de la epidermis formando una capa. Los cristales afectan el paso de la luz a través de la epidermis hacia el clorénquima, ya que la luz y otras formas de radiación electromagnética (calor) pueden ser completamente reflejadas por superficies lisas, pero los cristales de oxalato de calcio por presentar puntas y rugosidad provocan reflexión difusa. Una consecuencia de la presencia de cristales en *Opuntia* es que puede sobrevivir a altas temperaturas y radiaciones de luz ya que los cristales protegen de los daños que causaría a su aparato fotosintético si penetran hasta el clorénquima en su totalidad. Una consecuencia negativa es

que esta obstrucción al paso de la radiación no es selectiva y obstruye también la entrada de radiación fotosintéticamente activa (Ramírez, 1995).

ENFERMEDADES DEL NOPAL Y LA TUNA

Los cladíolos de *Opuntia* pueden ser infectados por varios hongos como *Glomrella cingulata* (Omada et al., 1991). Este hongo bajo condiciones de alta humedad produce una necrosis en el cladíolo y ha sido observado en EU y en diferentes estados de México. La necrosis produce una perforación en dicho cladíolo causando considerable daño. Otro problema de hongos en los cladíolos es el ocasionado por las especies *Phytophthora* que ha sido observado en muchas áreas del estado de México, California y Florida. *Phytophthora* causa pudrición suave y la completa destrucción del cladíolo atacado al nivel de suelo.

Caciopo (1991) menciona que *Phytophthora cactorum* y *P. Omnivora* han causado marchitamiento y posible pudrición de los cladíolos, *Phyllosticta opuntiae* ha causado cierto tipo de costras (necrosis) en el cladíolo. En México una mancha amarillo-roja encontrada en el cladíolo y en la fruta es nombrada el "Mal de oro" la cual es causada por algunos hongos del género *Alternaria* y especies de *Hansfordia*, sin embargo se ha visto que se requiere mas trabajo para confirmar esto (Pimienta, 1990).

Enfermedades causadas por bacterias también han sido estudiadas en México, se ha encontrado que bacterias del grupo de los coliformes con aislados similares a los de *Erwinia chrysanthemi*, subespecies de *E. carotovora* y *Atrosepica* fueron identificadas como agentes de pudrición suave en el estado de México. Por otro lado manchas en los cladíolos de nopal también son ocasionadas por bacterias como *E. carotovora* (subespecies) (Fucikovsky, 1990).

ATMÓSFERAS CONTROLADAS (AC) Y MODIFICADAS (AM)

Atmósferas controladas (AC), modificadas (AM) y empaquetamiento en atmósferas modificadas (EMAM) junto con la refrigeración son tecnologías usadas para extender la vida de anaquel de productos alimenticios frescos. Estas tecnologías se basan en el almacenamiento del fruto o vegetal en una atmósfera modificada usualmente consistente de reducir el O₂ y elevar la concentración de CO₂ en comparación con el aire compuesto por 78% N₂, 21% O₂ y 1% otros gases (principalmente CO₂).

La modificación de la atmósfera mediante la aplicación de AC, AM y EMAM reduce la velocidad de respiración y la producción de etileno en vegetales empacados. Tal reducción en la velocidad de respiración está relacionada directamente con un retraso en los procesos deteriorativos tanto fisiológicos, como patológicos y físicos presentes en el vegetal. Estos cambios deben controlarse cuidadosamente con el objeto de evitar alteraciones fisiológicas en los tejidos vivos, o alteraciones microbianas debidas a la proliferación de microorganismos anaerobios.

El almacenamiento en AC ha sido comúnmente usado para controlar la maduración de frutas, retardar la propagación de enfermedades, disminuir y evitar la incidencia de algunos desordenes fisiológicos durante el almacenamiento y prevenir el deterioro cuando el vegetal es maltratado,

además de inhibir la pérdida de textura y color. Un ejemplo de aplicación de las AC es que pueden prevenir la maduración indeseable en aguacate, plátanos y manzanas (Mattheis, 1991).

En AC es preciso el control sobre la concentración de los gases presentes en la cámara, a diferencia de AM, en las cuales, el almacén se cierra herméticamente y como consecuencia de la actividad respiratoria de los alimentos, la composición de la atmósfera en el almacén cambia. La concentración de oxígeno en el mismo puede caer hasta alcanzar el 0% y la de anhídrido carbónico se aumenta hasta llegar al 20% o incluso una concentración superior. Huxsoll (1986) concreta que la aplicación de AC es justificable si la hortaliza o fruto será más costoso después de ser almacenado en AC que después de almacenarlo el mismo periodo en aire.

AM es similar en principio a las AC excepto que el control en las concentraciones de gases es menos preciso. Es muy común que el CO₂ derivado de hielo seco o respiratorio se acumule disminuyendo la concentración de O₂. Industrialmente se utilizan diferentes tipos de atmósferas, lo cual va a estar determinado por las características del vegetal que se pretende almacenar. Los límites de tolerancia varían de acuerdo a la temperatura, la duración del almacenamiento, concentraciones de los gases suplentes, tipo, edad fisiológica, anatomía y morfología del vegetal relacionado con la producción (Sulunkhe y Desai, 1984; Shaw, 1992).

En AC la atmósfera puede ser creada mediante un generador de gas. Un sistema de monitoreo de gases controla con precisión la atmósfera dentro de la cámara. Por ejemplo, utilizando un sistema de flujo continuo (Figura 1a), se inyecta la mezcla de gases consistente en una baja concentración de O₂ y una elevada concentración de CO₂, de acuerdo al producto que se almacena dentro de la cámara. La cámara esta provista de una entrada y una salida de aire a través de las cuales se transporta y regula la concentración de los gases en la mezcla y en la cámara.

En AM, la atmósfera puede ser creada en forma activa o pasiva. La modificación activa es creada rápidamente por la inyección de la mezcla de gases deseada en la cabeza del empaque. En la modificación pasiva (EMMA) el vegetal es conservado en un empaque cuidadosamente seleccionado, la atmósfera modificada es generada y mantenida a través de una interpelación entre la respiración del producto y la permeabilidad del empaque a los gases. Debido a que EMAM no necesita un costoso generador de gas, esta tecnología es más económica que AC y AM activa, sin embargo es también una tecnología más difícil de implementar por el hecho de tomar en cuenta las interrelaciones entre el producto y empaque.

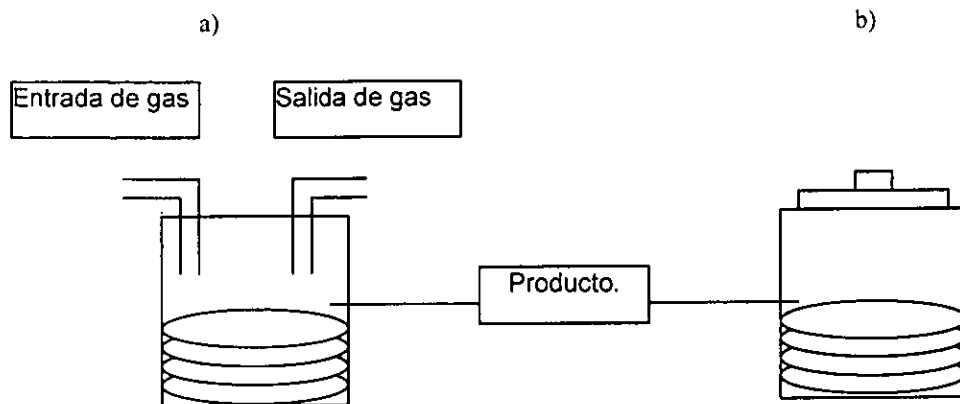
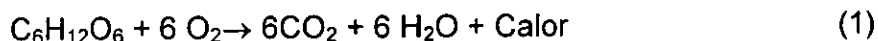


Figura 1. Sistema de flujo continuo (a), sistema cerrado (b).

La respiración aeróbica es un proceso que relaciona una serie de reacciones enzimáticas que toman lugar a través de las rutas metabólicas del ciclo de la glicólisis, ciclo de los ácidos tricarboxílicos y la asociación del sistema de transporte de electrones. Sin embargo la reacción que describe el proceso de respiración puede ser simplemente expresada como sigue:



La reacción relaciona la oxidación de sustratos orgánicos (almidón, azúcar y ácidos orgánicos) a CO_2 y H_2O con la generación del calor. La teoría cinética y la ley de acción de masas sugieren que la rapidez de respiración puede ser reducida si se decrece la concentración de O_2 o se incrementa la concentración de CO_2 .

Para determinar la velocidad de respiración es necesario determinar las concentraciones de CO_2 y O_2 con respecto al tiempo dentro de la cámara que contiene el producto. Las concentraciones iniciales de gas dentro de la jarra (experimentalmente) son similares a las del aire, pero otras concentraciones también pueden ser usadas. Como el producto respira la concentración de los gases dentro de la jara cambia con el tiempo de concentraciones altas de O_2 /bajo CO_2 a bajo O_2 /alto CO_2 hacia el final del almacenamiento. El método del sistema cerrado (Figura 1b) es más eficiente para medir la velocidad de respiración de un vegetal en función de la concentración de los gases. La velocidad de respiración con estas concentraciones de O_2 y CO_2 puede ser calculada usando las ecuaciones:

$$R_{O_2} = \frac{d[X]}{dt} \frac{M_x P V}{100 RTW}$$

Donde:

X= concentración de O_2 o CO_2 en la jarra.

M_x = Peso molecular del O_2 o CO_2 .

P= Presión en la jarra.

V= Volumen libre en el contenedor.

R= Constante de los gases.

T= Temperatura absoluta.

W= Peso del producto.

En el almacenamiento a vacío la concentración de oxígeno en la atmósfera se reduce la misma proporción en la que se ha reducido la presión ambiental, si la presión se ha reducido por un factor de 10 la concentración de oxígeno se ha reducido por el mismo factor. Las principales ventajas de este

sistema residen en a) la eliminación continua del etileno y de otras sustancias volátiles que contiene la atmósfera y b) el control preciso que se ejerce sobre la presión del aire ($\pm 0.1\%$), sin embargo, este método se emplea poco ya que resulta caro (Fellows, 1994).

APLICACIONES DE LAS AC y EMAM EN HORTALIZAS.

Tomate:

Se ha demostrado que atmósferas compuestas de bajas concentraciones de oxígeno (10%, 3% y 1%) el resto N_2 aportaban una vida de anaquel de 62, 76 y 87 días respectivamente a $12.8^\circ C$ (Sulunkhe, 1973). El desarrollo del color fue retardado en mayor proporción al emplear una atmósfera con 10% de CO_2 en comparación con una que contenía 20% de CO_2 . La evolución del etileno fue retardada cuando la concentración de CO_2 fue entre el 10 y 20%, mientras que a concentraciones de 40% de CO_2 y 60% de CO_2 . El etileno evolucionó después de 4 días, debido probablemente a algún trastorno metabólico (Buchster, 1979).

Dennis et al. (1979) almacenó tomates maduros en atmósferas compuestas por: a) 3% O_2 , 5% CO_2 y 92% N_2 b) 5% O_2 , 5% CO_2 y 90% N_2 a $13^\circ C$ en dos condiciones de humedad relativas (93% y 95%) por un periodo de 6 y 10 semanas. Encontrando una mejor maduración al transferirlo a aire a $20^\circ C$ que al madurarlo continuamente en aire.

Ben-Yeshoshua et al. (1980) investigó los efectos del empaquetamiento individual de cítricos y tomates en bolsas de polietileno de alta densidad (PEAD) de $10\mu m$ de espesor sobre el desarrollo de trastornos en estos frutos. Varios trastornos entre ellos el daño por frío fueron inhibidos mediante este empaquetado. Películas con coeficientes permeabilidad específica al O_2 y al CO_2 permiten almacenar tomates por 25 días teniendo una concentración de 8% de O_2 y 3% de CO_2 sin que se presente deterioro alguno (Yang, 1988).

Chicharos:

Anandaswamy y Iyengar (1961) observaron que una atmósfera con 2-3% O_2 y 5-10% retardan el deterioro de la clorofila en chicharos a $7.2^\circ C$. El exceso de CO_2 iniciaba el metabolismo fermentativo. Henderson (1977) encontró que concentraciones entre 20% y 30% de CO_2 no provocan trastornos metabólicos en chicharos, si la concentración de O_2 es mantenida mayor o igual al 10%.

Col:

Al almacenar col en una AC (1-2.5% de O_2 y del 5.5% CO_2 se presenta un retardo en el proceso de senescencia en general (reducción en la pérdida de peso y pérdida del color, textura y olor), además de reducir la incidencia de virus (Isenberg, 1969). La col blanca se puede almacenar en una AC conteniendo 5% de CO_2 y 3% de O_2 (Ryall, 1972). Suhonen (1979) demostró que las hojas externas de la col permanecen sin cambio si la concentración de CO_2 no excede el 10%, a humedad relativa cercana al 100% y temperatura de $0^\circ C$. Si la concentración de O_2 es cercana al 0% o la concentración del CO_2 es mayor o igual al 15% las hojas internas de la col se decoloran Suhonen (1979).

Coles almacenadas en AC (3% O_2 -6% CO_2 -91% N_2) mostraron menor incidencia y severidad a la podredumbre causada por *B. Cinerea*, además de que la pérdida de peso fue menor, el sabor, la textura y la apariencia fueron mejores en estas coles en comparación con aquellas almacenadas en aire

(Geeson, 1979). La col puede ser empacada en bolsas de polietileno perforadas, almacenada a 1.7°C y baja humedad relativa (75-80%) después de ser cosechada. Con esto se eliminan enfermedades y daños ocasionados por patógenos (Eckert J. et al. 1975)

Coliflores:

Ryall y Lipton (1972) almacenaron coliflores en AC y encontraron que a 0°C el máximo nivel de CO₂ que se puede utilizar es del 10%, mientras que entre 4.4°C y 10°C una concentración de 5% CO₂ causa severos daños (evidentes después de cocido). Bajos niveles de O₂ menores al 2% pueden producir malos olores. Lipton y Harris (1976) almacenaron coles por 3 semanas a temperaturas de 2.5°C, 5°C y 7.5°C en atmósferas con 2%, 4% y 6% de O₂ no encontrando diferencia con respecto a coles almacenadas en aire a la misma temperatura.

Coliflores almacenadas en bolsas de PEAD con 10µm de espesor mantienen mejor a lo largo del almacenamiento (10 días) en comparación con coliflores empacadas en polietileno de mayor espesor (20-30µm) en los cuales el fruto desarrollaba mal olor. La concentración de gases dentro del empaque fue de 18% de O₂, 1% de CO₂ y 0.1ppm de etileno (Ben-Yeshoshua et al. 1980).

Brócoli:

Liberman y Hardenberg (1954) demostraron que atmósferas con 10%, 5%, 2.5%, y 1% de O₂ a 24°C disminuían la velocidad de respiración, mientras que el deterioro de la clorofila era completamente inhibido. La reducción o eliminación del crecimiento de hongos en brócoli se observa al almacenarlos en AC con una concentración del 5% al 20% CO₂ (Leberman et al. 1968).

Lechuga:

La lechuga es sensible a elevadas concentraciones de CO₂ y bajas concentraciones de O₂. La lechuga además es sensible a daños por frío ocasionado por almacenamiento a temperaturas menores a la óptima de almacenamiento. Una combinación de bajo contenido de O₂ y elevado contenido de CO₂ reduce los efectos adversos del etileno, en forma no completamente efectiva, siendo la concentración de CO₂ la de mayor daño.

Singh et al. (1972a; 1972b) investigaron los efectos de las AC (5% de O₂- 5% de CO₂, 2.5% de O₂- 2.5% de CO₂ y 1% de O₂- 1% de CO₂), a 1.6°C, sobre la velocidad de respiración y la composición bioquímica de la lechuga. Los autores concluyeron que las lechugas almacenadas [en 2.5% de O₂- 2.5% de CO₂] presentaban las mejores características de calidad, evitando la degradación de la clorofila, el oscurecimiento de las hojas y la pérdida de la humedad después de 40 días. El empacado previo de las lechugas en bolsas de polietileno no presentó un efecto sinérgico al almacenar lechugas en AC.

El empacado de lechuga romana en bolsas de polietileno de 0.04µm de espesor causa un decremento en la velocidad de descomposición del producto durante el almacenamiento, debido a un alto contenido de CO₂, bajo contenido de O₂ y una alta humedad relativa dentro del empaque. Con esto se ha logrado prevenir el desarrollo de *S. sclerotiorum*, *Stemphylium botryosum* y *Bremia lactucae*. (Aharoni et al. 1978).

Pepino:

Al empacar pepino en AM hay que tomar en cuenta que tanto el mismo pepino como la lechuga sufren daños por frío, los cuales se intensifican si la concentración de CO₂ ≥ 10% y la concentración de O₂ < 2%. Sobre la base de

lo anterior el pepino puede almacenarse en AC (5% de O₂- 5% de CO₂) retardando el deterioro del color (Ryall y Lipton 1972). Feller's y Pflug (1981) encontraron que el tiempo de vida en almacenamiento de pepinos puede ser extendido de 2 a 3 semanas si se utiliza una AC con 5% de O₂ y 5% de CO₂.

Espárragos:

Una atmósfera de 7% o 20% de CO₂ por 24 horas retarda el deterioro bacteriano en espárragos, mientras que atmósferas ausentes de O₂ (0%) o con elevada concentración de CO₂ (20%-30%) intensifican los daños por frío a 3°C y 6°C (Andre et al. 1980). AC conteniendo 1% de O₂ y 7% de CO₂ a 3°C disminuyen la velocidad de degradación de la clorofila (Wang et al. 1971), evita el desarrollo de *Phytophthora*, la pérdida de la textura y de la fibra (Hatton et al. 1975).

Andre et al. (1980) definió que la prerefrigeración al vacío de los espárragos dentro de 6 a 8 horas después de cosechados y posterior empacado en bolsas de polietileno con ventanas de elastomero de silicón a temperatura de 1°C permiten almacenar la hortaliza de 20 a 35 días. Carolous et al. (1953) reportó que el empacado de los espárragos con una película con características de permeabilidad específica mantenía las características del vegetal por mas tiempo, sin embargo el uso de bolsas plásticas impermeables pueden desarrollar malos sabores y olores debido a una descomposición anaerobia.

Berenjena

Ben-Yehoshua et al. (1980) empaco berenjena en bolsas de polietileno de alta densidad (PEAD) con un espesor de 20-30µm encontrando una menor pérdida de peso, mientras que la firmeza y la calidad fueron mayores al compararla con berenjena almacenada en aire durante 45 días. Frutos almacenados en PEAD mantienen un sabor fresco por mayor de tiempo, en comparación con frutos almacenados en polietileno de baja densidad (PEBD) las cuales desarrollan mal olor.

EFFECTOS GENERALES DEL EMAM SOBRE LOS MICRORGANISMOS.

Aunque AM cambia el perfil microbiano general de los alimentos (Brackett, 1987), debido a que el CO₂ tiene un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de microorganismos deteriorativos. Coyne (1993) realizó varios experimentos con este tipo de microorganismos y demostró que el CO₂ incrementa la fase "lag" en la curva de crecimiento y mostrando que las bacterias G(-) son generalmente mas sensitivas al CO₂ que las bacterias G(+).

En otro estudio se demostró que el EMAM inhibía el desarrollo de bacterias G(-) como *Pseudomonas*, lo cual coincidía con un mayor desarrollo de bacterias G(+) ácido lácticas como *Lactobacilos*. Hintlian, (1986) y Kallander (1991) examinaron el hecho de inocular calabazas rebanadas con *L. monocytogenes* almacenadas a 5 y 25°C en aire (referencia) y en AM (70% de CO₂). Encontrando que el uso de la AM solo presenta una disminución en la carga microbiana, siendo insuficiente para eliminar el desarrollo del patógeno a temperatura de 5°C. Por su parte a 25°C la ventaja que presentaba el utilizar una AM fue que el desarrollo de microorganismos es mucho menor. Omary et al. (1993) reportó un incremento en las cuentas de *L. monocytogenes* en

calabazas picadas inoculadas con este microorganismo después de 21 días a 11°C.

El comportamiento de otros microorganismos patógenos inoculados en vegetales EMAM fue estudiado por Abdul-Raouf et al. (1993). Los autores investigaron el crecimiento de *E. coli* O157:H7 inoculado en lechuga picada, pepinos rebanados y zanahoria rebanada. Los autores reportaron que el empaque que contenía un AM con 3% de O₂ y 97% de CO₂ no tenían efecto sobre las colonias de *E. coli*. Por su parte, Solomon (1990) estudio la habilidad de las esporas de *Cl. Botulinum* tipo A y B ha desarrollarse en calabazas picadas EMAM a temperatura ambiente y a 5°C, encontrando que solos las esporas tipo A crecían a 25°C.

Halouat (1997) investigó el efecto del EMAM sobre el desarrollo microbiológico en ciruelas, utilizando una película cuyas características de permeabilidad fueron 6cc O₂/m²/24h, 15cc CO₂/m²/24h y 2cc N₂/m²/24h a 25°C y 100% de HR. El autor evaluó la germinación de las conidias y el desarrollo de hongos de las especies *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum* y *Fusarium oxisporium*. Encontrando que a una actividad acuosa entre 0.88-0.92, no se presentó germinación de las conidias al aplicar atmósferas con 100% de CO₂, 80% de CO₂-20% de N₂ y 60% de CO₂-40% de N₂. Por otro lado, en condiciones aeróbicas (AM conteniendo 5% de O₂) tanto la germinación de la conidia como el crecimiento de los hongos ocurren a altos valores de aw ≥ 0.95.

Otro estudio realizado sobre ciruelas utilizando la misma película permitió observar que el preenfriado de los frutos aplicando una solución diluida de sorbato de potasio o benzoato de sodio previo al empaçado en AM conteniendo 40% de CO₂-60% de N₂ u 80% de CO₂-20% de N₂ inhiben por completo el crecimiento de *Zygosaccharomyces rouxi* y *Aspergillus niger* extendiendo la vida de anaquel de las ciruelas hasta por seis meses (Halouat et al., 1998). Aunado a esto, se ha encontrado que concentraciones de CO₂ mayores al 20% pueden inhibir el crecimiento de muchos hongos contaminantes.

EFFECTOS METABÓLICOS DE ELEVADAS CONCENTRACIONES DE CO₂

Trabajos realizados por Ranson (1953) con hojas de kalacha, zanahorias y coleoptiles almacenados en atmósferas con elevada concentración de CO₂ (20-90%) mostró que el ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA) sufría un incremento en estas plantas. La concentración de succinato incrementó, mientras que la concentración de malato y alanina decrecían en el tejido de la planta en relación con el incremento en la concentración de CO₂.

Hulme en (1956) mostró que manzanas almacenadas en aire tienen cantidades de succinato del orden de trazas, pero cuando son almacenadas en concentraciones elevadas de CO₂ (20%) el succinato se acumula. Los autores concluyeron que el CO₂ inhibe el sistema succinato oxidasa en mitocondria.

El resultado de la acumulación de succinato, genera toxicidad en endospermo de chícharo. Conclusiones similares fueron encontradas por Ranson et al., (1953, 1957), cuando reportaron que el sistema succinato oxidasa aislado de chícharo era inhibido a niveles superiores del 10% de CO₂.

En contraste McGlasson y Wills (1972) no encontraron acumulación de succinato en bananas expuestas a 5% CO₂ por largo periodo de tiempo.

La hipótesis de que el succinato es el agente tóxico que causa el deterioro del tejido ha sido relacionada con altas concentraciones de CO₂, pero esto no ha sido mantenido, especialmente en lechugas, ya que el oscurecimiento empieza a generarse en ambientes atmosféricos a temperatura de 5°C. Brecht, (1973b) demostró que la acumulación de succinato en tejido de lechugas fue mayor a 15°C en comparación con 2.5°C. Suponiendo que el succinato fuera el agente tóxico que mata el tejido, debido al daño producido por CO₂. El desarrollo de este metabolito se esperaría que fuese mayor a bajas temperaturas, esto debido a que la lechuga es más susceptible al oscurecimiento a bajas temperaturas.

Bajo condiciones anaerobias la ruta glicolítica es remplazada por el ciclo de Krebs manteniendo la fuente de energía necesaria por la planta. El ácido piruvico no es oxidado, es descarboxilado a acetaldehido, CO₂ y finalmente a etanol esto desarrolla mal olor, sabor y deterioro del tejido (Brecht, 1986).

El efecto de altos niveles de CO₂ sobre intermediarios y enzimas del ciclo de Krebs han mostrado acumulación de ácido succinico debido a la inhibición de la enzima succinato deshidrogenasa en manzanas (Hulme, 1956; Knee, 1980; Monning, 1983), en peras (Frenkel,1973) y lechuga (Brecht, 1973b), estudios anteriores han mostrado que los cambios producidos en la ultraestructura debidos a elevadas concentraciones de CO₂ fueron similares a los observados en la senescencia de lechuga.

Por otro lado la presencia de 10% CO₂ inhibe la actividad biológica de etileno en concentraciones de 1ppm. (Burg y Burg, 1967). Por otro lado la efectividad del CO₂ es reducida a altas concentraciones de etileno. Una posible explicación a esto fue dada por Burg y Burg (1967), quien definió que el CO₂ compite con el etileno por el sitio activo en los receptores de este compuesto. Mientras que Beyer (1985) reportó que CO₂ puede afectar el metabolismo del etileno inhibiendo la oxidación del mismo a CO₂ por un mecanismo de autocontrol.

PRODUCCION DE UN SISTEMA DE EMPACADO

Un empaque de vegetales puede ser un sistema dinámico en donde la respiración como la fermentación ocurren simultáneamente (Kwang, 1996).

El O₂ es metabolizado por los vegetales generando CO₂, C₂H₄, H₂O y otros compuestos volátiles y al mismo tiempo restringiendo el intercambio de gases a través de la película del empaque. Las variables que afectan la respiración son el peso del vegetal, estado de madurez, permeabilidad de la membrana, presiones parciales tanto de O₂ como de CO₂, temperatura, concentración de luz, etc. (Renault, 1994a).

Variables que afectan el intercambio de gases dentro y fuera del empaque incluyen la estructura de la película de empaque que son: espesor, área, temperatura, concentraciones de O₂ como de CO₂ (Renault, 1994b; Lill, 1996).

Este proceso se puede ver representado en la figura 2, donde se explica que de acuerdo a las características de permeabilidad del empaque (generalmente mayor para el CO₂ que para el O₂ permite que este entre y se desplace el CO₂ del interior del empaque no propiciando condiciones de anaerobiosis y si la disminución en la velocidad de respiración.

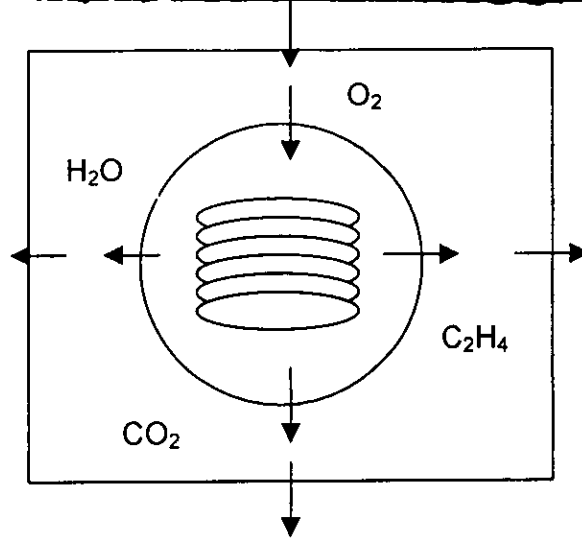


Figura 2. Intercambio de gases dentro de un empaque.

Cuadro 4. Permeabilidad al O₂ y al CO₂ de 8 tipos de películas comúnmente utilizadas como empaque.

Permeabilidad (cm³/m²/24h a 1atm, a 20°C, 0%HR

Película	O ₂	CO ₂
Seran	8-26	52-150
Celofan laquerado	15-77	15-95
Poliéster	52-130	180-390
Cloruro de polivinilo (PVC)	77-750	770-55000
Pliofilm	130-1300	520-5200
Polipropileno (no orientado)	1300-6400	7700-21000
Polipropileno (orientado)	2600-7700	10000-26000
Polipropileno de baja densidad	3900-13000	7700-77000

Fuente: Fellows (1994).

Se ha demostrado que condiciones de estado permanente son establecidas dentro de un sistema de empaque intacto, en el cual prevalece un equilibrio de concentraciones entre del O₂ y CO₂ y la rapidez de respiración se iguala con la rapidez de intercambio de gases. Cualquier cambio en las variables del sistema alteran el equilibrio o el tiempo de permanencia en estado constante (Barth et al., 1993).

El empaquetamiento de fruta fresca en películas poliméricas es cada vez mas usado para incrementar la vida de anaquel de los productos. El empaque esta diseñado para controlar la maduración y así mejorar la vida de anaquel de la hortaliza (Barth et al., 1993).

ALMACENAMIENTO SUBATMOSFERICO

La vida de anaquel de frutas y hortalizas puede ser incrementada reduciendo la presión de O₂ durante la refrigeración, subsecuentemente decreciendo la respiración y evacuando la concentración de etileno producido por la hortaliza.

Un alimento es mantenido a temperatura constante, almacenado en un contenedor aislante a presión subatmosferica constante, ventilado con aire saturado con vapor de agua, evacuando el contenedor con una bomba de

vacío. De este tratamiento se reportan dos mejoras consecuentes: a) El aporte de oxígeno es suprimido y así es reducida la actividad respiratoria y b) El etileno y otros volátiles producidos por la hortaliza son evacuados, consecuentemente la maduración y los procesos alternos son inhibidos (Fennema, 1985).

ENZIMAS QUE INFLUYEN EN LA CALIDAD DE PRODUCTOS HORTOFRUTICOLAS.

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Las frutas y hortalizas están constituidas por tejidos biológicamente activos por lo cual contienen una gran cantidad de enzimas. La actividad más común en los frutos deriva principalmente de enzimas como son la pectinasa, lípasa, lipoxigenasa, clorofilasa, proteasa, peroxidasa, polifenol oxidasa y ácido ascórbico oxidasa, cuya acción se da en el cuadro 4. Estas enzimas deterioran la calidad de los productos frescos y por eso la industria alimentaria utiliza métodos de conservación como son el esterilizado comercial, la deshidratación, el escaldado, el enfriamiento y la congelación de manera que se destruyan o inactivan los sistemas enzimáticos, no presentando cambios en las características de estos productos, conservándolos por tiempo mas prolongado (Fennema, 1985).

De aquí que al manejar el nopal se deba procurar no lastimar el tejido, ya que de otra forma las enzimas pueden entrar en contacto con sus sustratos provocando el deterioro del vegetal.

Cuadro 5. Enzimas Presentes en Vegetales que Pueden Contribuir a la Pérdida de Calidad Durante el Almacenamiento.

ENZIMA	DETERIORO	REACCIÓN CATALIZADA
Ácido ascórbico oxidasa	Nutritional	Oxidación de ácido ascórbico a ácido dehidro-ascórbico en presencia de oxígeno
Celulasa	Textura	Hidrólisis de celulosa.
Clorofilasa	Color	Deterioro de la clorofila
Hidroperoxidasa liasa	Sabor	Formación de aldehídos y otros compuestos a partir de productos generados por la lipoxigenasa
Lipoxigenasa	Sabor, Color, Textura, Nutritional.	Oxidación de ácidos grasos insaturados a hidroperóxidos y radicales hidroperóxidos en presencia de oxígeno.
Pectinasas, Poligalacturonasas	Textura	Hidrólisis de la pectina a ácido glucónico y galacturónico.
Peroxidasa	Nutritional, Color	Oxidación de compuestos fenólicos a quinonas y otros productos en presencia de H ₂ O ₂
Polifenol Oxidasa Catecolasa	Color	Oxidación de compuestos fenólicos a quinonas en presencia de oxígeno.

Fuente: Rodríguez, (1994)

DEGRADACION DE LAS PECTINAS

El término de sustancias pécticas se refiere al grupo de polisacáridos vegetales cuyo principal componente es el ácido D-galacturónico. La estructura básica esta formada por moléculas de ácido D-galacturónico unido por enlaces glucosídicos α -D-1-4), algunos de los carboxilos pueden estar esterificados con un grupo metilo o en forma de sal. Dentro de este grupo de carbohidratos se pueden distinguir varias clases: a) los ácidos pectínicos definidos como polisacáridos que tienen esterificado parte del ácido galacturónico como éster metílico, mientras que aquellos que no están esterificados se les conoce como b) ácidos pécticos. Las pectinas, por definición, son los ácidos pécticos con diferente grado de esterificación; son solubles en agua y tienen la capacidad de formar geles en presencia de ácidos, sales y azúcares (Badui, 1985).

Las sustancias pécticas se encuentran principalmente asociadas con la hemicelulosa en las paredes celulares de las plantas terrestres y son más abundantes en los tejidos suaves. Debido a sus propiedades gelificantes el uso más importante es en la industria alimentaria en la fabricación de mermeladas y similares pero también se emplean en otras industrias como la farmacéutica (Fennema, 1985). Durante el proceso de los alimentos que contienen péctinas pueden suceder muchos cambios causados por varias enzimas que actúan sobre estos polisacáridos figura 3.

Las enzimas pécticas pueden clasificarse en:

- a) Pectinmetilesterasas, las cuales hidrolizan los enlaces éster metílicos produciendo ácidos pécticos y metanol.
- b) Poligalacturonasas que rompen el enlace glucosídico entre las moléculas de ácido D-galacturónico dando como producto ácido D-galacturónico.
- c) Pectintranselimininasas o pectinliasas que tienen propiedad de formar dobles ligaduras entre los carbonos cuatro y cinco de la molécula de ácido D-galacturónico lo que trae como consecuencia el rompimiento del enlace glucosídico (Badui, 1985).

La textura de los frutos y vegetales se ve afectada cuando se sujetan a tratamientos térmicos en presencia de agua, debido a un cambio en la permeabilidad de las células, ya que se rompe la estructura organizada y se vuelven muy flexibles. Los calentamientos ligeros y los tratamientos de escaldado pueden activar la pectinmetilestearasa, lo que trae como consecuencia la hidrólisis de los grupos metilo de las pectinas (Fennema, 1985; Badui, 1985).

La acción de la pectinmetilestearasa sobre las pectinas produce un mayor número de grupos carboxilos libres que pueden interaccionar a través de iones divalentes como el calcio, formando estructuras tridimensionales rígidas aumentando la dureza de los frutos que la contienen (Fennema, 1985).

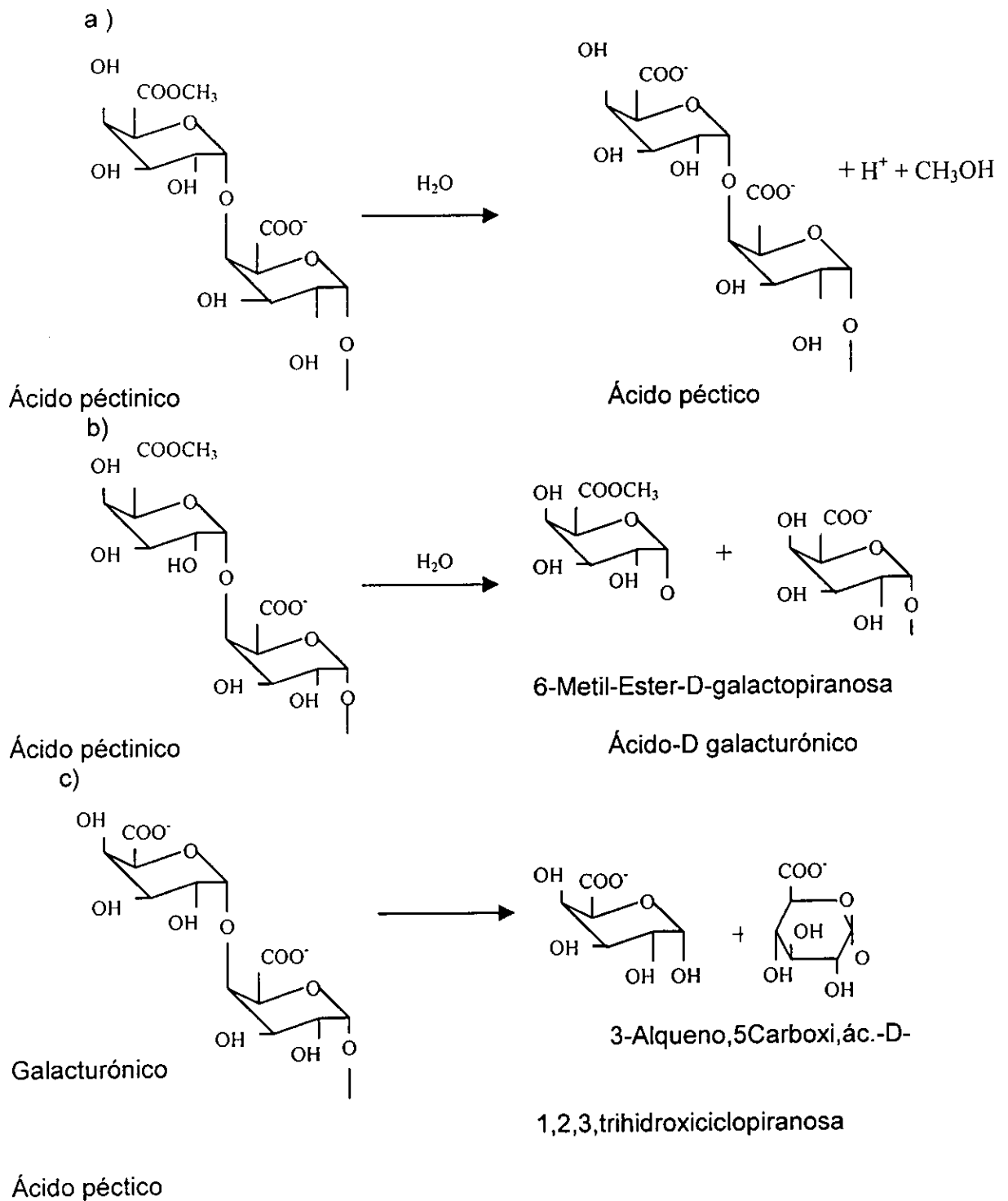


Figura 3. Reacciones de degradación enzimática de las pectinas.

DEGRADACIÓN DE LA CLOROFILA

Otro cambio que se produce durante el almacenamiento de las hortalizas es la degradación de la clorofila (pigmento verde que se localiza en los cloroplastos de las plantas y a través de la cual se efectúan las reacciones de fotosíntesis). Los tipos de clorofila más importantes son la a y la b. Se conoce la estructura de ambas y se diferencia una de la otra en que la clorofila a tiene un grupo metilo (CH_3) y la b presenta un grupo formilo ($-\text{CHO}$). Este pigmento tiene una estructura porfirínica con un átomo de magnesio y una molécula de fitol esterificada con una molécula de ácido propiónico. Los anillos pirrólicos están unidos a través de grupos meteno ($-\text{CH}=\text{}$) formando una estructura plana (Jackson, 1976).

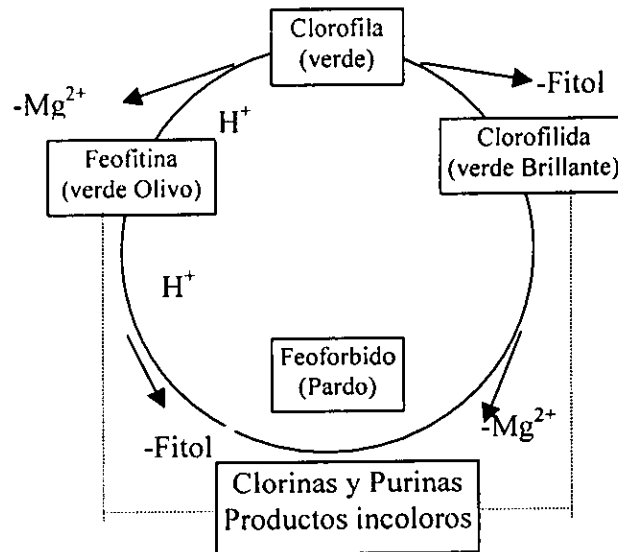


Figura 4. Etapas del deterioro de la clorofila.

Como se sabe, el color verde de los vegetales es debido principalmente al contenido de clorofila a (azul-verde) y clorofila b (amarillo-verde). La acidificación de las clorofilas causa la eliminación del átomo de magnesio generando las respectivas feofitinas a y b, las cuales son de color café olivo. Las clorofilas y feofitinas son hidrofóbicas debido a la presencia del grupo fitol, mientras que los clorofilidios y los feoforbidos, sin la molécula de fitol, son hidrofílicos (Fennema, 1985).

La estructura química de la molécula de clorofila es compleja y fácilmente alterable por diferentes agentes físicos y químicos, tales reacciones pueden inducir:

- La sustitución del grupo Mg por otro ion principalmente hidrógeno.
- Eliminación de la cadena de fitol.
- La ruptura del anillo tetrapirrólico con la consecuente pérdida total del color.

La primera reacción se denomina feofitización y es el mecanismo más común por el que desaparece el color verde de muchas frutas y verduras, la feofitina formada por estas reacciones puede transformarse en el correspondiente feoforbido al perder la cadena de fitol lo que sucede a temperaturas elevadas, los feoforbidos tienen el mismo color y propiedades

espectroscópicas que las feofitinas. Por otra parte la clorofilida se forma cuando se produce la eliminación del grupo fitol, (debido a la actividad de la enzima clorofilasa) produciendo los correspondientes fitol y clorofilida, esta última tiene prácticamente el mismo color y propiedades espectroscópicas de la clorofila figura 4 (Joachim, 1989; Fennema, 1985).

Por otro lado, la clorofila también se ve afectada por los cambios de pH en su medio; la clorofila es estable en soluciones débilmente alcalinas, pero es atacada fácilmente por ácidos débiles, provocando la separación del magnesio que contiene la molécula, formándose la feofitina (Jackson, 1976; Heaton, 1996).

Algunos vegetales verdes enlatados y congelados presentan reacciones de decoloración al transformarse la clorofila (verde brillante) en su respectiva molécula de feofitina (café olivo) (Fennema, 1985). Los cambios de color se utilizan como índice de calidad y por tanto la reacción de degradación de clorofila a feofitina puede emplearse como medida de deterioro de algunos productos.

La clorofila también puede ser degradada por los hidropéroxidos formados durante la oxidación de grasas insaturadas, por lo que la oxidación de lípidos, tanto por oxígeno como por lipoxigenasas trae consigo pérdidas del color verde de los alimentos. Las irradiaciones también son capaces de producir estos cambios (Huxsoll, 1986).

El cambio de color en vegetales verdes durante el almacenamiento en congelación es atribuido a la conversión de clorofila en feofitina ocasionado por un incremento en la acidez ya sea debido a 1. La actividad de lipasas, 2. La acidez natural del vegetal. Mas tarde el cambio de color se relaciona a la actividad de la lipoxigenasa sobre los ácidos grasos libres formados en primer instancia por la actividad de la lipasa. Siendo responsable del deterioro de la clorofila el peróxido formado, ya que este promueve la sustitución del átomo de magnesio por el átomo de H dentro del anillo porfirínico (Fox, 1991).

En adición a la clorofilasa, el etileno también tiene efecto sobre otros sistemas enzimáticos muchos de los cuales podrían alterar la integridad estructural de los cloroplastos, contribuyendo indirectamente a la degradación de la clorofila. Una disrupción de membranas lamelares sobre los cloroplastos es el primer proceso durante la degradación, lo cual es inducido también por el etileno. Cuando esto ocurre naturalmente en un árbol no hay cambios apreciables ni pérdidas de clorofila son observadas hasta que los cambios ultraestructurales son aparentes. El etileno participa directamente interaccionando con membranas tilacoidales que liberan las moléculas de clorofila y hacen estas más accesibles a la clorofilasa, de acuerdo con lo observado in vitro o quizá induciendo la actividad de otras enzimas precedentes a la actividad de la peroxidasa. Cicloheximida, pero no cloranfenicol inhiben la degradación de la clorofila por incremento en el etileno y representa una disminución en la actividad de la clorofilasa. El efecto de estos inhibidores sobre la síntesis de proteínas, sugiere que para la degradación de la clorofila por incremento en el etileno, la síntesis de novo de enzimas citoplasmáticas es esencial y las enzimas dependientes de cloroplastos no juegan un papel importante (Goodwin, 1975).

Fox (1991) trató de relacionar la actividad de la lipasa en hortalizas, a la par con la degradación de color, encontrando que los ácidos linoleico y linolénico eran liberados simultáneamente con la pérdida de color. En un estudio hecho

con chícharos, se encontró que al disminuir la temperatura de -9.4 a -23.3°C y almacenando bajo una atmósfera de nitrógeno en lugar de oxígeno, la rapidez de degradación de la clorofila era reducida considerablemente. La lipoxigenasa fue activada en las primeras etapas del almacenamiento, pero completamente destruida después de 3 semanas, como resultado de la reacción con productos de oxidación de lípidos. Sin embargo posteriores estudios son necesarios para sugerir un mecanismo convincente de degradación de la clorofila (Rodríguez, 1994).

ACTIVIDAD DE LA CLOROFILASA

La enzima clorofilasa, cataliza la hidrólisis de clorofila a clorofilidios y fitol con la degradación del color verde.

La actividad de la clorofilasa en cítricos como la naranja y en hortalizas como chícharos aumenta seguido de un aumento en la concentración de etileno, generando un decremento en la cantidad de clorofila presente. Esto sugiere que el efecto del etileno sobre la degradación de la clorofila es mediada a través de la actividad de la clorofilasa (Shaw, 1992).

La activación de la clorofilasa tiene un periodo "lag" de 6-12h desde que comienza el tratamiento. Aunque es aceptado que la clorofilasa es necesaria para la degradación de la clorofila, se ha observado que altos niveles de actividad en esta enzima no necesariamente causan degradación. Se encontró que el etileno y la enzima clorofilasa en conjunto son necesarios para degradar la clorofila. Por otro lado, niveles de clorofilasa altos encontrados durante el enverdecimiento en naranjas (variedad valencia) sugiere que la enzima podría participar en la síntesis de clorofila (Badui, 1985). Análisis de cítricos por HPLC demuestra que clorofilidio a y otros derivados defitilados polares son acumulados en frutos tratados con etileno, coincidiendo esto con la disminución en la clorofila (Shaw, 1992). Esto provee de evidencia adicional sobre la función en vivo de la clorofilasa en estos sistemas vivos.

Degradación de la clorofila por la clorofilasa en varios tejidos ha sido asociada con la presencia de formas degradadas tales como clorofilidio y feoforbido, seguido por posteriores reacciones de degradación, particularmente la de eliminación de magnesio.

La enzima Clorofil peroxidasa cataliza la destrucción de la clorofila por H_2O_2 en una reacción aparentemente acoplada con la peroxidación de ciertos fenoles, sin embargo estudios recientes indican que la peroxidasa no participa en esta reacción (Fox, 1991).

Relacionando los antecedentes es claro que de las condiciones de almacenamiento depende la calidad de los nopales, siendo la humedad relativa y el grado de aireación los factores determinantes de la vida de anaquel, ya que si el medio ambiente es muy seco, el nopal perderá mucha humedad generando un estrés, el cual puede activar los sistemas enzimáticos deteriorativos. Por otro lado si el grado de aireación es muy alto, la cantidad de oxígeno presente acelera el metabolismo del vegetal almacenado, dando como resultando la obtención de un producto muy percedero

Este tipo de alimento puede conservarse por mayor tiempo si se utiliza el EMAM utilizando películas con características de permeabilidad selectiva generando un microambiente modificado con lo cual se regula la velocidad de respiración. Esta modificación aunada a un control adecuado de la temperatura

y humedad relativa puede proveer de múltiples beneficios los cuales exceden a los generados por la refrigeración. De esta manera se descartan las AC ya que es una tecnología costosa para aplicar al nopal cuyo precio fluctúa entre 20-100 pesos el ciento.

Sobre la base de lo discutido anteriormente se propone la siguiente hipótesis y objetivos de trabajo.

HIPÓTESIS:

El uso del EMAM como tecnología postcosecha, aplicada al nopal, incrementará la vida de anaquel del mismo.

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar el efecto del empaquetamiento en atmósferas modificadas (EMAM) sobre las características fisicoquímicas y microbiológicas del nopal (*Opuntia ficus indica*), para incrementar su vida de anaquel.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- Analizar el efecto de diferentes condiciones de almacenamiento [temperatura, concentración de gases y humedad relativa.] en EMAM, en la estabilidad del color y la textura de nopal, para determinar condiciones adecuadas de almacenamiento.
- Evaluar la disminución en la actividad de clorofilasa, mediante la aplicación de EMAM, para establecer condiciones adecuadas de almacenamiento.
- Analizar el efecto del EMAM sobre la actividad microbiana en el nopal, identificando el género de los microorganismos responsables del deterioro, para establecer condiciones adecuadas de almacenamiento.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES

Esta sección se dividió en varias etapas con la finalidad de observar en primera instancia el efecto del EMAM del nopal (Etapa I). En segunda instancia se EMAM nopales con diferentes concentraciones de CO₂ con la finalidad de determinar la concentración máxima tolerada y los efectos de elevadas concentraciones de CO₂ sobre las características fisicoquímicas del nopal (Etapa II).

ETAPA I

Para este estudio, cladios de nopal (*Opuntia ficus indica*) fueron obtenidos de una plantación comercial en Milpa Alta, México D.F. Los nopalitos (alrededor de 15 cm de longitud) fueron cosechados manualmente, cortando la articulación que los une al "cladiolo madre" durante el amanecer. Los nopales fueron preenfriados con una solución de cloro (100 ppm) a 4 °C, durante 15 min, para después ser secados. Los nopalitos fueron colocados en contenedores cubiertos con cajas de cartón y transportados al laboratorio (en la ciudad de Querétaro)

En la Etapa I, los nopales fueron clasificados de acuerdo al tamaño, uniformidad y libres de defectos, en tres lotes de 180 nopales cada uno. Un lote (EMAM) fue cuidadosamente empacado en bolsas con coeficientes de permeabilidad específica PD961EZ (Cryovac, Division, Grace Co., Duncan, SC). Las características de permeabilidad se muestran en el Cuadro 6. Dos nopales por bolsa fueron empacados (aproximadamente 45g/empaque), teniendo dimensiones de 30x20cm y un volumen máximo de 2L. El segundo lote (HR) fue colocado en el mismo empaque, cada empaque tenía 24 perforaciones con un diámetro de 6mm. El uso del empaque con perforaciones fue para mantener una alta humedad relativa >80% (intermedia entre la generada por el EMAM y la presente en la atmósfera de almacenamiento, y así distinguir entre los efectos del EMAM y la alta humedad relativa >80%. Un tercer lote (T) corresponde a nopales sin empacar, el cual fue mantenido como control. Nopales empacados y no empacados fueron almacenados a 5°C y 80% de HR por 30 días. Una muestra de 30 nopales fue evaluada para calidad inicial. Una muestra de 30 nopales/tratamiento (15 bolsas en el caso de nopales empacados) fue removida y evaluada cada 5 días. La evaluación consistió en determinar la concentración de O₂ y CO₂ en los empaques EMAM, pérdida de peso, calidad subjetiva, color, textura, contenido de fibra cruda, contenido de clorofila (total, a y b), actividad de clorofilasa y cuenta total microbiana (hongos y levaduras, mesófilos aerobios y mesófilos anaerobios).

Cuadro 6. Características del Empaque Utilizado para Generar la Atmósfera Modificada.

Descripción	Etapa	Permeabilidad al O ₂ cm ³ /m ² /24h	Permeabilidad al CO ₂ cm ³ /m ² /24h	Permeabilidad al vapor de H ₂ O cm ³ /m ² /24h	Calibre (cm) E-3
PD961EZ	I	4000-6000	18000-20000	0.09-0.11	3.175
RS 425	II	4000-6000	18000-20000	0.05-0.08	4.95

La información presente en el cuadro 6 fue proporcionada por la compañía fabricante de la película (Cryovac, Division, Grace Co., Duncan, SC). La permeabilidad a los gases (O₂ y CO₂) fue determinada a 23°C y 1 atm. La permeabilidad al vapor de agua se determinó a 23°C y 100%HR

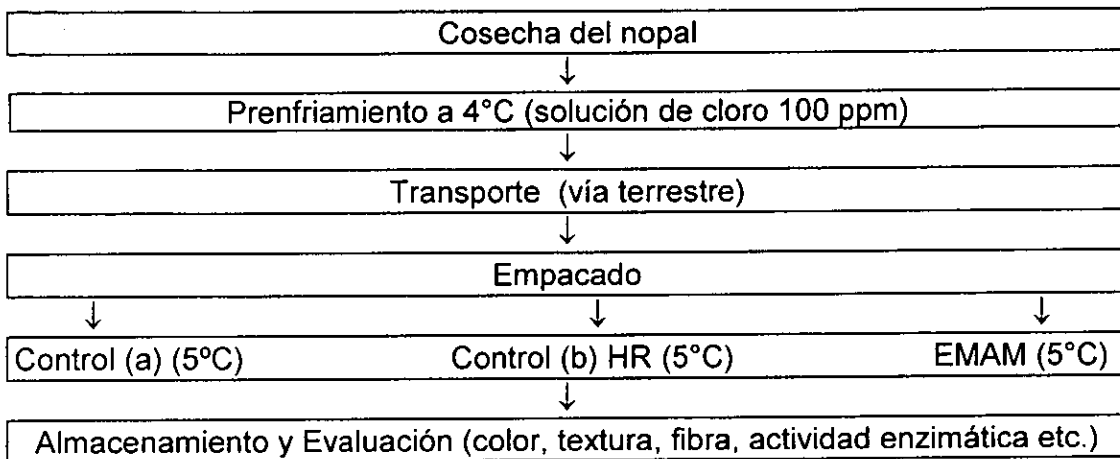


Figura 5. Diagrama de las condiciones de pretratamiento de las muestras en la etapa I.

ETAPA II.

En la etapa II, los nopales fueron tratados en la misma forma, realizando una pequeña modificación. La zona de corte de los nopales fue sumergida en una solución de ácido ascórbico (100ppm) con la finalidad de eliminar la oxidación.

Los lotes quedaron establecidos de la siguiente manera: un lote de nopales sin empacar (T) el cual fue mantenido como control. El segundo lote (EMAM) comprendió el empacado de nopales en la película RS425 (Cryovac, Division, Grace Co., Duncan, SC) (las características de permeabilidad se muestran en el cuadro 6). El tercer lote (20CO₂) contenía nopales empacados en una atmósfera con 20% de CO₂. El cuarto lote (40CO₂) contenía nopales empacados en una atmósfera con 40% de CO₂. El quinto lote (80CO₂) contenía nopales empacados en una atmósfera con 80% de CO₂. La finalidad de los lotes 3, 4 y 5 fue la de determinar la tolerancia máxima al CO₂ por parte de los nopales. Una muestra de 30 nopales fue evaluada para calidad inicial. Una muestra de 30 nopales / tratamiento (15 bolsas en el caso de nopales empacados) fue removida y evaluada cada 7 días. Las evaluaciones fueron las mismas que en la etapa I.

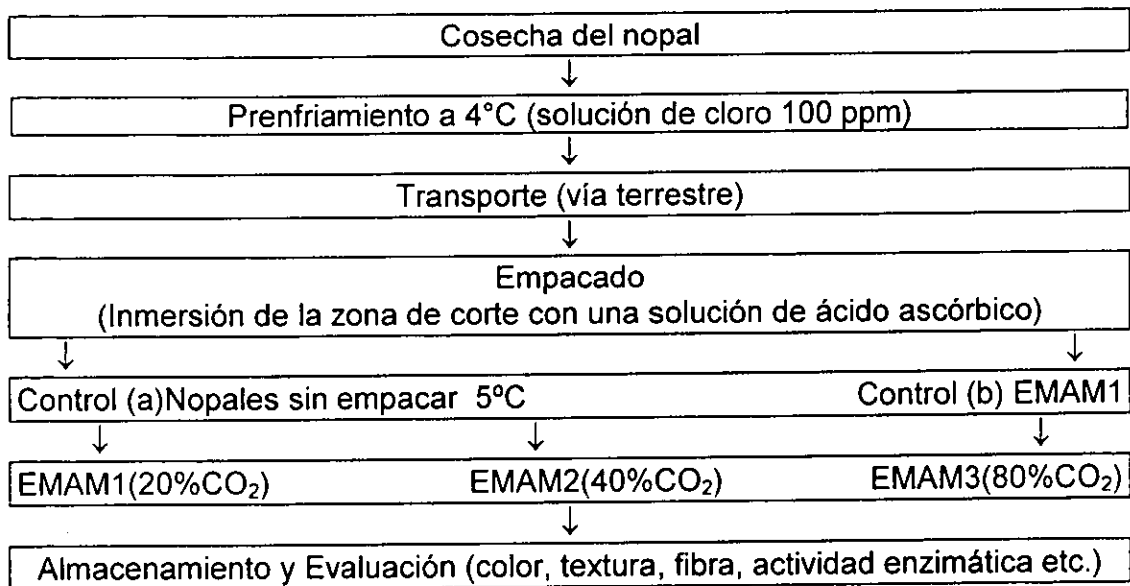


Figura 6. Diagrama de las condiciones de pretratamiento de las muestras en la etapa II.

METODOLOGÍAS

DETERMINACION DE LA ATMOSFERA EN EL EMPAQUE

La atmósfera dentro del empaque (O_2/CO_2) fue medida usando un analizador de gases portátil O_2/CO_2 Marca Nitec, Modelo GA-20 portátil (Nitec Inc., Cincinnati, OH). El sensor de oxígeno es una célula de gas electroquímica con un rango de 0-100 kPa y una precisión de ± 0.5 kPa. El sensor del CO_2 es un sensor de infrarrojo no dispersante con un rango de 0-100 kPa y una precisión de ± 0.2 kPa. Muestras de gases fueron tomadas con una jeringa del interior del empaque a través de un septum de hule colocado en la superficie del empaque. Un estándar conteniendo 9.95kPa O_2 y 9.98 kPa CO_2 (resto N_2) fue utilizado para calibración del analizador.

DETERMINACION DE LA PERDIDA DE PESO

La pérdida de peso fue determinada por diferencia entre el peso inicial de las muestras y el peso obtenido durante cada evaluación.

DETERMINACION DE LA CALIDAD

La calidad de los nopales fue evaluada sobre las bases de la siguiente escala hedónica: 9= Muy bien, 7= Bien, 5=Regular, 3= Mal y 1= Muy mal

DETERMINACION DEL COLOR

La superficie del color de los cladios fue medida con un calorímetro portátil (Minolta Corp, Osaka Japón) (Modelo CM-2002) con iluminante A y un ángulo de visión de 10° , calibrado sobre un blanco. Los parámetros L^* , a^* , b^* fueron determinados en el sistema CIELAB. Las mediciones fueron hechas siempre en la misma zona (parte media del nopal).

L^* indica la luminosidad del producto, esto es, que tan claro o tan oscuro es el producto. L^* toma valores entre 0 negro y 100 blanco. a^* define un color rojo (valores positivos) o un color verde (valores negativos) sobre el eje de las abscisas. b^* define un color amarillo (valores positivos) o un color azul (valores negativos) sobre el eje de la ordenada al origen. Croma proporciona la intensidad del color, el cual es definido por la hipotenusa que comprende los valores de a^* y b^* . El Angulo hue aporta el color (tono) de una muestra y es definido como el arco tangente de b^*/a^* . El ángulo hue corresponde al ángulo formado con respecto al eje de las abscisas por los valores a^* y b^* , lo cual define el color de la muestra.

DETERMINACIÓN DE LA TEXTURA

La fuerza máxima (N), expresada en Newtons, para provocar la ruptura del tejido de un cladiolo (al 75% de compresión) fue determinado con un analizador de textura TA-HD, (Tecnologías de la textura Corp, NY), equipado con una celda cilíndrica de penetración de 5mm de diámetro. La velocidad de penetración fue de 1mm/s. La penetración final de 5mm (Kramer, 1973).

DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD DE LA CLOROFILASA

La actividad de la enzima clorofilasa (Clorofil clorofilhidrolasa EC 3.1.1.14) fue determinada mediante la determinación de la cantidad de clorofilidas formadas. El extracto enzimático fue obtenido al homogenizar 10g de tejido fresco en 10ml de buffer de fosfatos (0.2M) a pH de 6.5, el cual contenía tritón X-100 5%, PVP 1% y cisteína (1M). El homogenizado fue centrifugado a 15700g por 30min a 4°C y filtrado a través de papel filtro no. 2. El contenido de clorofila fue determinado de acuerdo a Martínez (1994), con algunas modificaciones. 10 g de tejido fresco fueron homogenizados con 3 alícuotas de 15ml de acetona fría (80%). El contenido de clorofila fue expresado como mg 100g⁻¹. El medio de reacción para medir la actividad de clorofilasa contenía 1ml de extracto enzimático y 2ml de sustrato (clorofila), la actividad fue determinada a 640nm. El contenido de proteína fue medido de acuerdo al método de Bradford (1976) usando albúmina de suero para la curva estándar. Una unidad de actividad enzimática fue definida como la formación de un nmol de clorofilida/min/mg proteína.

El cálculo de la concentración de clorofilidas fue como sigue:

$$\text{Clorofilidas (mg 100g}^{-1}\text{)} = 12.65 A_{645}$$

DETERMINACION DEL CONTENIDO DE CLOROFILA

El contenido de clorofila (total, a y b) fue determinado mediante el método de la AOAC (1990). El método consiste en realizar extracciones de pigmentos con acetona y determinación en éter, previo lavado con 3 alícuotas de 10ml de agua.

El cálculo de la concentración de clorofila fue como sigue:

$$\text{Clorofila total (mg. 100g}^{-1}\text{)} = 7.12 A_{660} - 16.8 A_{642.5}$$

$$\text{Clorofila a (mg. 100g}^{-1}\text{)} = 9.93 A_{660} - 0.777 A_{642.5}$$

$$\text{Clorofila b (mg. 100g}^{-1}\text{)} = 17.6 A_{642.5} - 2.81 A_{660}$$

DETERMINACION DE FIBRA CRUDA POR DETERGENTE NEUTRO

Este método fue desarrollado para obtener celulosa, hemicelulosa y lignina como componentes principales. La fibra cruda fue determinada mediante el método de VanSoest (1967). Un gramo de muestra seca fue mezclado con 100ml de solución fría de lauril sulfato de sodio, ajustada a pH de 6.9-7.1 y mezclada con 2ml de decahidronaftaleno y 0.5 g de sulfito de sodio. La mezcla fue calentada y mantenida a reflujo por 60 min. Posteriormente, la mezcla es filtrada y lavada dos veces, primero con agua caliente seguido por acetona y secado sobre papel filtro por 80 min. a 100°C.

DETERMINACIÓN DEL DESARROLLO MICROBIANO

Cuentas microbianas de hongos y levaduras (HL), mesófilos aerobios (MAe) y mesófilos anaerobios (MAN) fueron realizadas usando métodos establecidos por la U.S. FDA (1984), sobre 10 g de muestra homogenizada que fue macerada en 90ml de agua peptona estéril (pH 7.4). Diluciones 10⁻¹, 10⁻³, 10⁻⁵ fueron realizadas. A 1ml de cada una de las diluciones fueron adicionados 15ml de los siguientes medios de cultivo: 1. Agar cuenta en placa

(PCA, Oxoid CM463) a pH de 7.0 ± 0.2 para MAe, 2. Agar Sabouraud (Laboratorios Difco, Detroit, MI) para HL y 3. Agar Brewer's tioglicolato (Laboratorios Difco, Detroit, MI) para MAn. Duplicados de cada dilución fueron enumerados. Muestras para MAe y HL fueron incubadas a 34°C por 24 h, mientras que las muestras para MAn fueron incubadas a 34°C por 36 h. El método se esquematiza en la Figura 7.

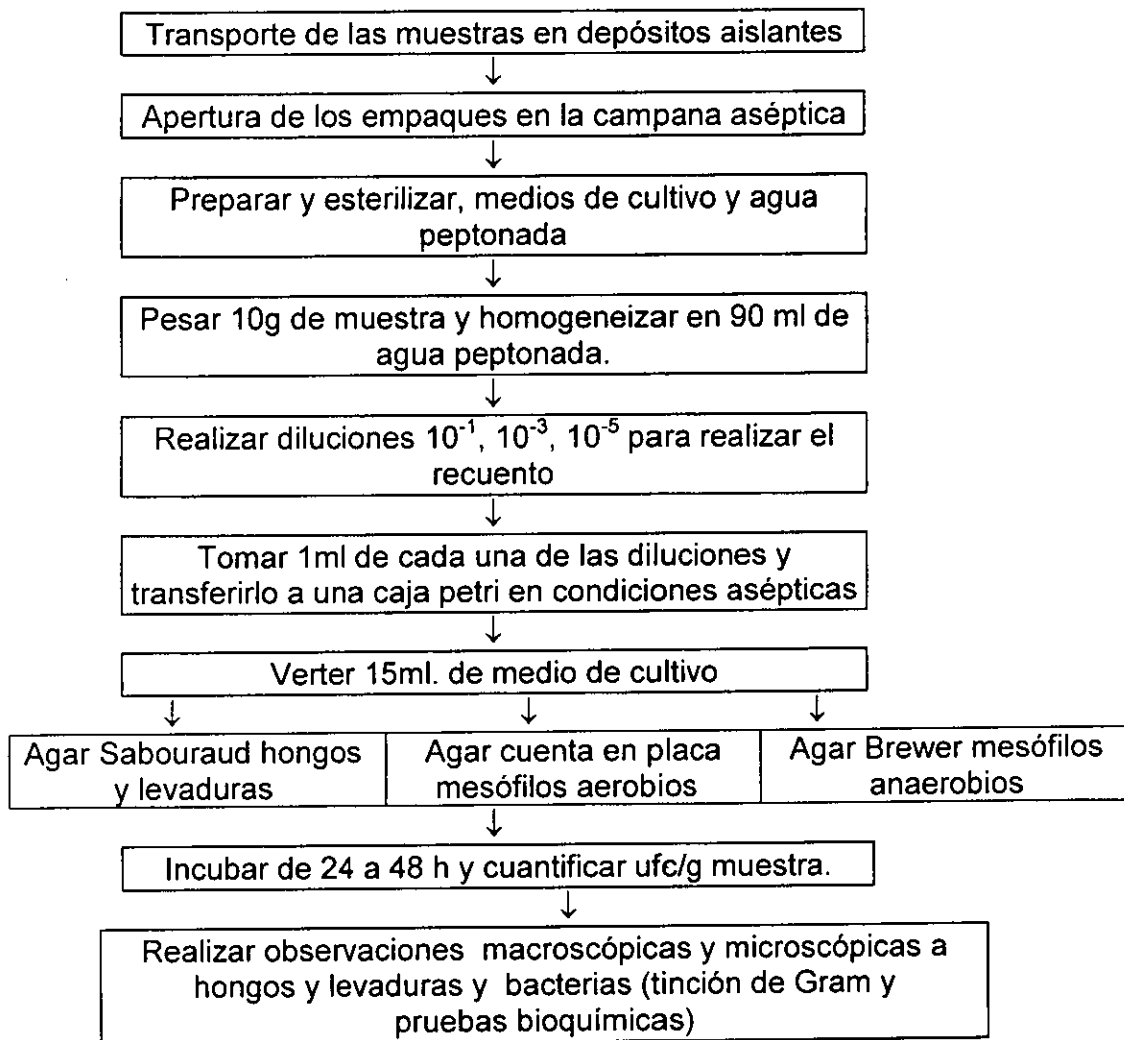


Figura 7. Metodología para determinar la actividad microbiana.

DETERMINACIÓN DEL GÉNERO DE LOS MICROORGANISMOS.

Para determinar el género de los microorganismos un examen visual fue realizado en todos los cultivos en los cuáles se determinó el desarrollo a lo largo del monitoreo para las dos etapas, con la finalidad de determinar colonias típicas, las cuales fueron aisladas. A estos aislados observaciones 1) Macroscópicas (tipo de desarrollo, color de la colonia, forma, borde, superficie, elevación y aspecto) y 2) Microscópicas (Gram, presencia de cápsula, tipo de esporas y movilidad). Finalmente mediante pruebas bioquímicas y de crecimiento en medios selectivos (cuadro 7) se definió el género de los microorganismos (Krieg, 1984).

En el caso de hongos y levaduras primero se definió el tipo de crecimiento en el medio, aspecto, consistencia, desarrollo y color. Observaciones de las características del micelio profundo (desarrollo, color y cambios en el medio) fueron realizadas. Determinación de las características microscópicas como es: el tipo de hifa, tipo de cuerpo fructífero, tipo de esporas y características de las esporas (color, morfología, aspecto externo y tamaño) se determinaron. A continuación se describen los diferentes medios que se utilizaron para definir el género (U.S. FDA, 1984). Crecimiento en medios selectivos fue utilizado para corroborar el género de los hongos cuadro 8.

Cuadro 7. Medios Selectivos para la Determinación de Enterobacterias.

Microorganismo	Medio Selectivo
<i>Vibrio parahemoliticus</i>	Agar vibrio
<i>Pseudomonas</i>	Agar Pseudomonas
<i>Erwinia</i>	Agar selectivo de Erwinia
<i>Bacillus</i>	Agar selectivo para Bacillus
<i>Clostridium</i>	Agar selectivo para Clostridium
<i>E. Coli</i>	Davis & Minguioli Glucosa minimum medium

Fuente U.S. FDA, 1984.

TINCIÓN DE GRAM

Se preparó una extensión dejando secar a temperatura ambiente, fijándola suavemente con calor. Cristal violeta fue aplicado durante 30 segundos, sustitución del cristal violeta por lugol dejándolo actuar durante 30-60 segundos es realizada. Posterior a esto una decoloración con acetona seguidos de un lavado con agua fue realizada dejando secar un poco, aplicación safranina durante 2 minutos, al final de esto se aclaró con agua, se seca con papel y luego suavemente con calor. Microorganismos que presentan una coloración violeta son Gram (+), mientras que los microorganismos que presenten una coloración roja quedan definidos como Gram (-) (Baker, 1990).

TINCION DE ESPORAS VERDE DE MALAQUITA

Se preparó una extensión la cual se dejó secar fijándola por calor a temperatura baja (40°C). La extensión es cubierta con solución de verde de malaquita (caliente) dejándola reposar 5 minutos. Lavado con agua y tinción de contraste con solución de safranina fue realizado. Se lavó con agua y se secó con papel. Interpretación: Zonas teñidas de verde representan esporas, mientras que la forma vegetativa (resto de la célula) se tiñe de rojo (Baker, 1990).

Cuadro 8. Medios Selectivos para la Determinación de Hongos y Levaduras

Hongo	Medio Selectivo
<i>Rhizopus</i>	Medio selectivo para <i>Rhizopus</i>
<i>Botritis</i>	Agar separación botritis
<i>Geotricum</i>	Gotrichum medium
<i>Phytophthora</i>	Corn meal phytophthora
<i>Anthracnose</i>	Agar selectivo para Anthracnose
<i>Cladosporium</i>	Agar selectivo para cladosporium
<i>Fusarium</i>	Medio Armstrong <i>Fusarium</i>
<i>Aspergillus</i>	Medio diferencial de <i>Aspergillus</i>
<i>Penicillium</i>	Agar solución de Czapek
<i>Campylobacter</i>	Medio de Butzler's

TINCION DE HONGOS.

Se colocó una porción del cultivo micelar, en una gota de lactofenol azul de algodón que se dispuso sobre un portaobjetos. Se colocó encima un cubre objetos, se secó con papel el exceso de líquido y se selló con esmalte de uñas (Baker, 1990). Para las levaduras la preparación de la muestra se basó en realizar una tinción con azul de metileno, una vez que se había fijado la preparación aun porta objetos, para posteriormente realizar una segunda fijación y realizar una tinción de Gram.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

La ETAPA I, consistió en almacenar nopal a 5°C EMAM, alta humedad relativa (HR) y nopales sin empacar (T) durante 30 días. A continuación se presenta el cambio en la concentración de gases dentro del empaque (Figura 8) en nopales empacados utilizando la película PD961EZ.

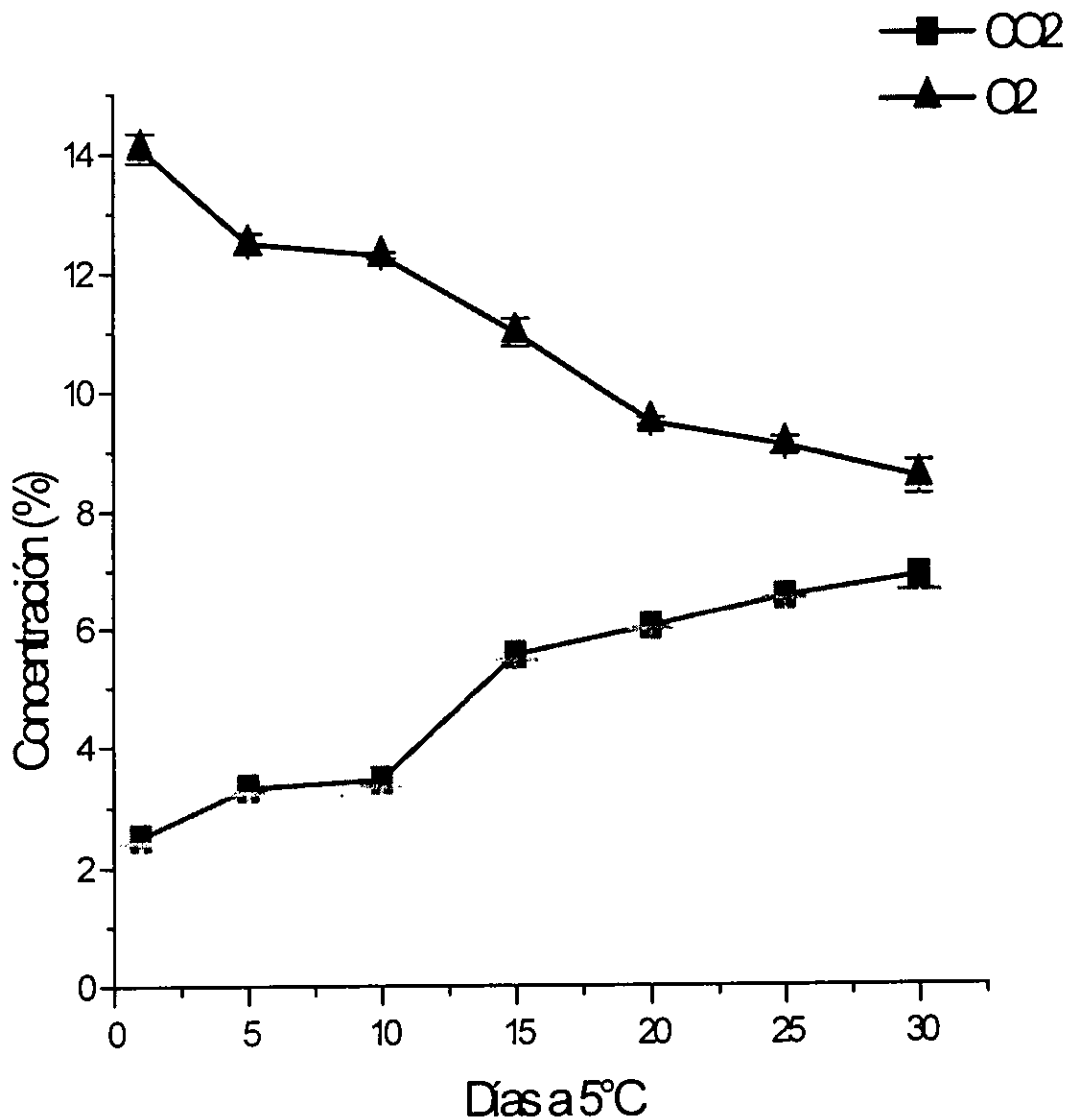


Figura 8. Cambio en la atmósfera del nopal verdura empacado en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

Como se puede observar en la Figura 8, se presenta una disminución en la concentración de O₂ y una aumento en la concentración de CO₂ presentando las siguientes concentraciones al final del almacenamiento 8.5% de O₂ y 6.5% de CO₂. Estas concentraciones permiten mantener un metabolismo aeróbico a lo largo del monitoreo ya que la suma de las concentraciones de los gases (Q) permanece constante. Un aumento en el valor de Q es indicativo del inicio del metabolismo anaerobio por parte del nopal ya que Q se incrementaría a costas de una mayor producción de CO₂ en condiciones anaerobias (Fishman et al. 1995). Este perfil de gases es muy parecido al generado por brócoli EMAM a 5°C (Zhuang et. al., 1995) y ensalada de verduras (Kwang, 1996). Este perfil de gases implica una disminución en la tasa de respiración y como consecuencia se espera un incremento en la vida de anaquel del nopal. El mantener condiciones aerobias con concentraciones de O₂ menores a la del aire, trae consigo ventajas sobre el almacenamiento de la hortaliza como se ha observado en brócoli (Barth et al., 1993), pepino (Wang y Qi, 1997), olivos (Castellanos et al., 1993), Apio (Reitz et al., 1997) y en ensalada de verduras (Kwang, 1996). Donde se observó una disminución en la tasa de respiración y por ende un incremento en la vida de anaquel de estas hortalizas.

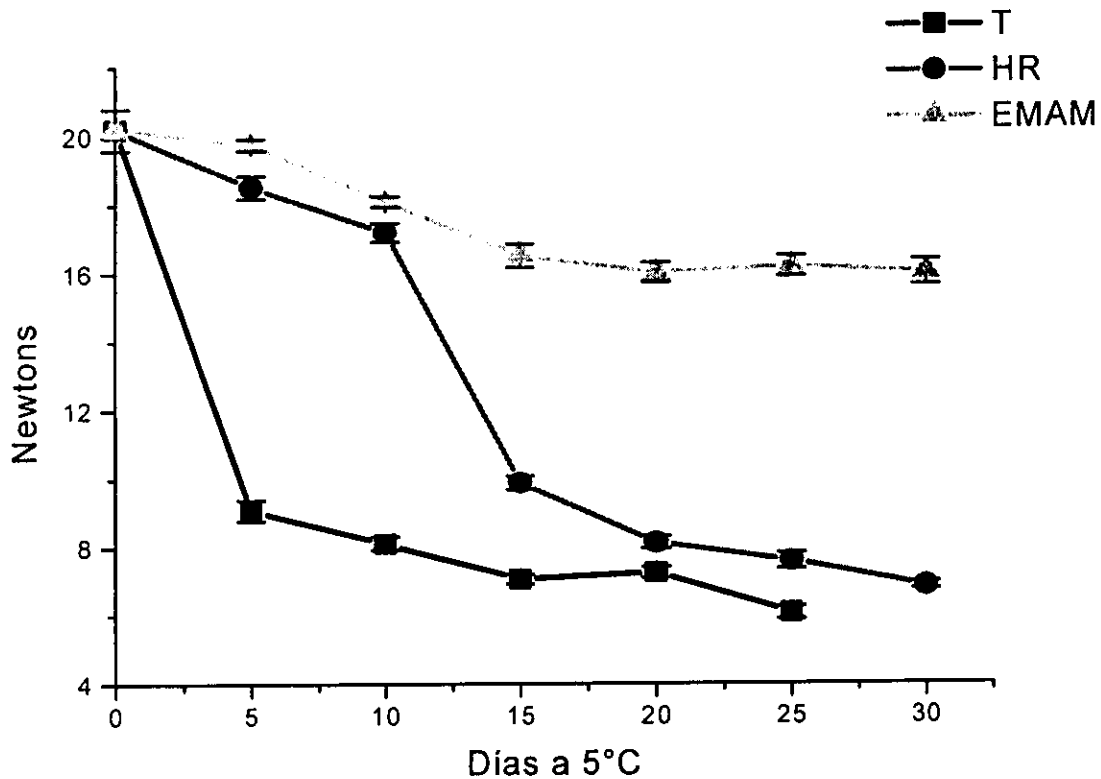


Figura 9. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la dureza del nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad relativa >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

La textura de los nopales EMAM presenta mayor estabilidad (figura 9), lo cual puede ser debido a que se retrasa el proceso de senescencia, frenando la síntesis de proteínas *de novo*, lo cual a su vez frena la síntesis de enzimas pécticas que provocan el deterioro de la pectina provocando la pérdida en la textura. Otro mecanismo por el cual la textura de los nopales es conservada durante el EMAM es propiciado por una disminución en la velocidad de respiración, con lo cual se disminuye la velocidad de transpiración manteniendo la turgencia de las células aportando una presión constante sobre la pared celular; aportando con esto una textura constante a lo largo del monitoreo. Estos resultados concuerdan con lo que se ha observado en otros frutos como es el aguacate (Gerdes, 1995), espárragos (Everson et al., 1992), tomate (Park et al., 1994) y brócoli (Wang y Qi, 1979). Mediante un ANOVA se determinó la diferencia significativa entre los tratamientos, mientras que con el uso del estadístico t de Student no existe diferencia significativa entre las medias a partir de los 15 días de almacenamiento entre las condiciones de temperatura y humedad relativa. Lo cual es indicativo de las ventajas que aporta el uso de las atmósferas modificadas como tecnología postcosecha aplicada al nopal.

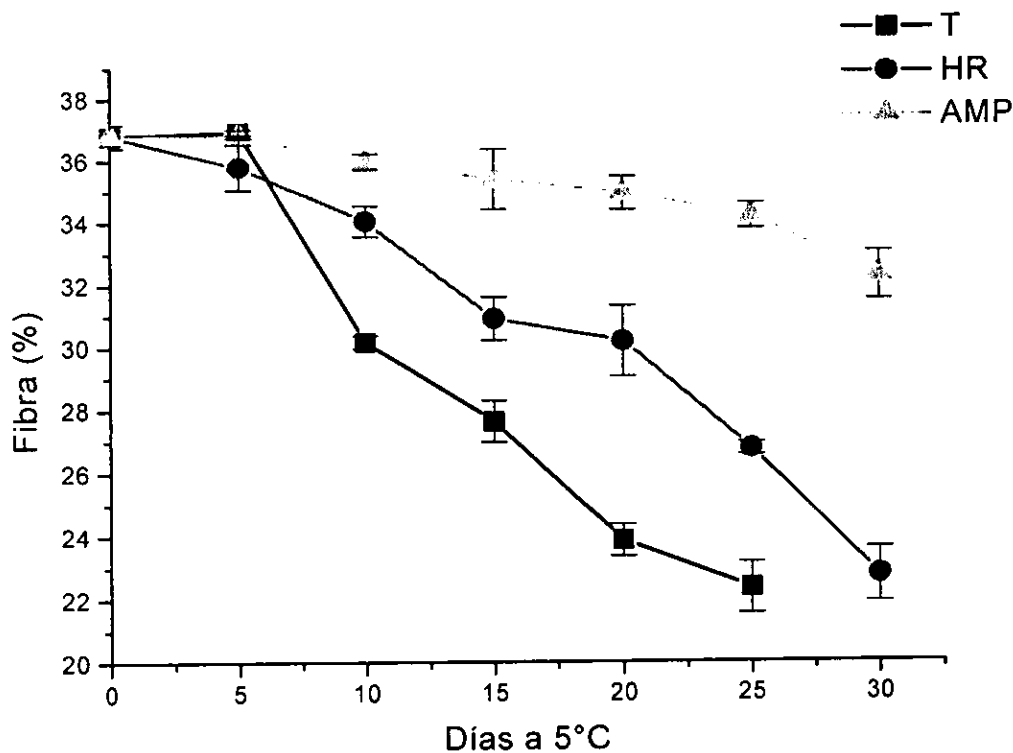
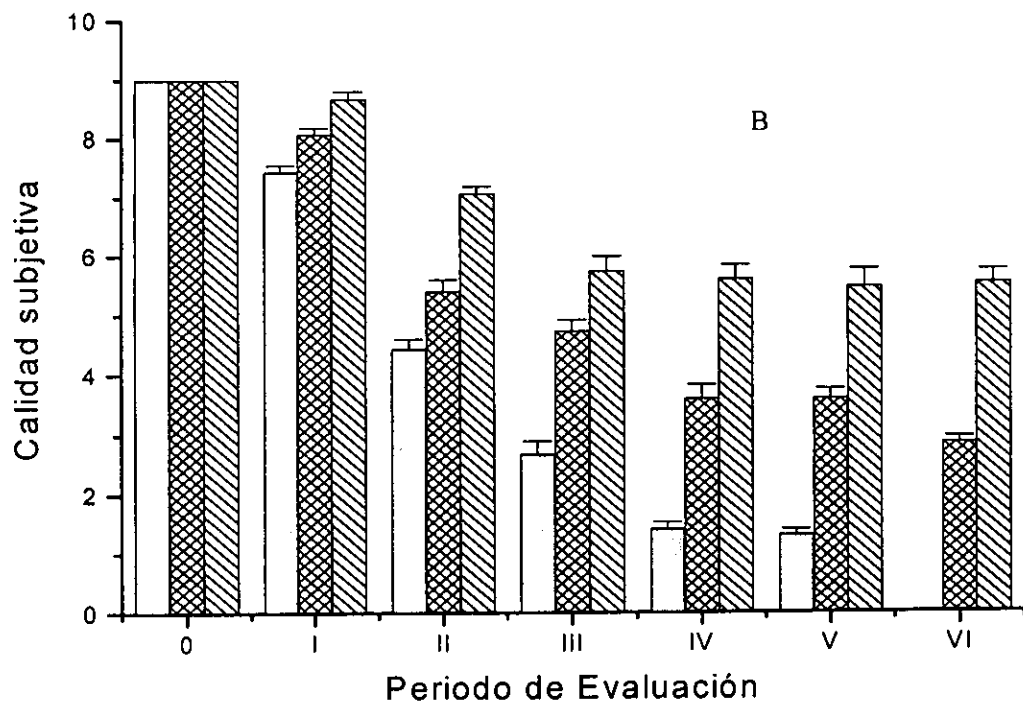
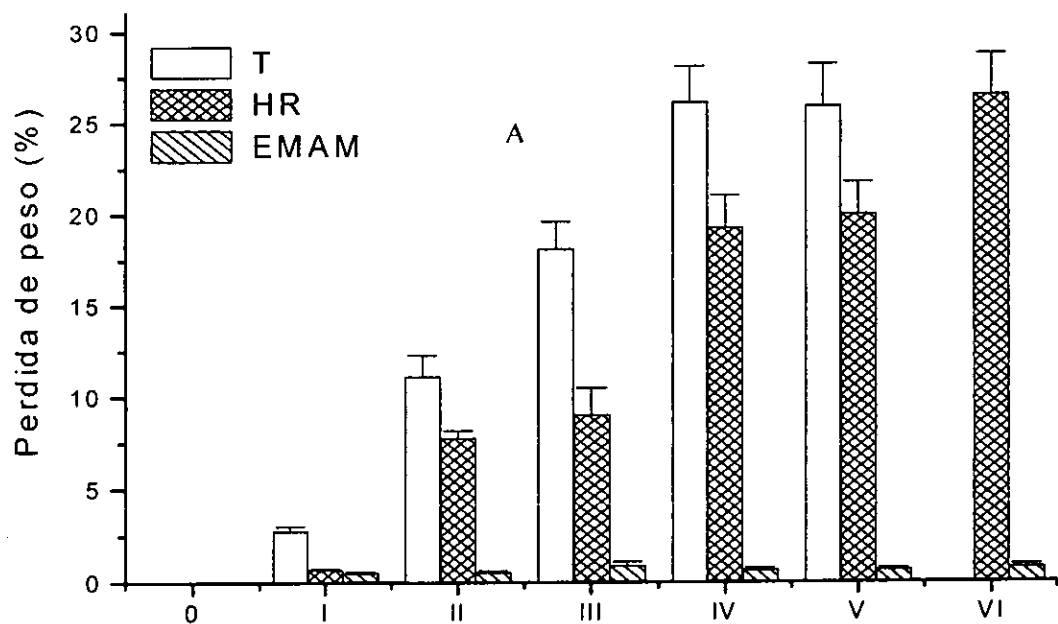


Figura 10. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el contenido de fibra del nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad relativa >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

Con relación al contenido de fibra (figura 10) se encontró que en nopales EMAM no existe cambio significativo a lo largo del monitoreo, lo cual es indicativo de que esta condición aporta mayor estabilidad a la pared celular. Una posible explicación puede ser al presentarse un retaso en el proceso de senescencia, existe un retraso en la síntesis de enzimas como la celulasa y la hemicelulasa, con lo cual las fracciones de celulosa y hemicelulosa permanecen sin cambio en esta condición. La menor pérdida en el contenido de fibra también se observó en espárragos almacenados en EMAM (Everson et al., 1992). Mediante el uso de un ANOVA se detectó diferencia significativa entre los tratamientos, mientras que el estadístico t de Student no encontró diferencia entre los tratamientos sin empacar y HR, existiendo diferencia significativa entre el tratamiento en EMAM y los otros dos (HR y T). Sobre la base de esto se puede afirmar que la estabilidad generada tanto en la textura es debida al efecto del EMAM y no a una elevada humedad relativa >80%. Nuevamente se observan las ventajas del EMAM al generar una mayor estabilidad en el contenido de fibra. Además se encontró que el contenido inicial de fibra determinado en este trabajo, es mayor al reportado por el Instituto Nacional de Nutrición, pero concuerda con los datos reportado por Rodríguez (1986). Al relacionar los resultados obtenidos de dureza (figura 9) y fibra cruda (figura 10) para nopales almacenados a 5°C sin empacar (T); se presentó una disminución del 65% en la dureza a los 5 días de almacenamiento, mientras que el contenido de fibra permanece sin cambio. Lo cual es indicativo que durante el periodo de senescencia la síntesis de proteínas *de novo* va dirigida en primera instancia a la síntesis de enzimas pécticas y posteriormente de celulasas y hemicelulasas.

Existe también una relación directa de los dos parámetros anteriores (Dureza y Fibra cruda) con la pérdida en peso y la calidad de los nopales (figura 11 a y b respectivamente), encontrando que los nopales sin empacar (T) presentan la mayor pérdida en peso (25.95%) y menor calidad (1.3) a los 25 días de almacenamiento, seguidos por los nopales en HR con un 26.56% como pérdida de peso y una calificación de calidad igual a 1, mientras que el tratamiento en EMAM presenta la mayor calidad evaluada con 6.5 y la menor pérdida en peso (0.8%). Resultados similares se han encontrado al empacar chicharos en EMAM logrando controlar la pérdida de peso (Watada et al., 1987), pepinos almacenados en EMAM (Wang, 1997), tomates (Park, 1994), brócoli (Wang, 1979) y brócoli y lechuga (Cliff et al., 1969).

Con esto podemos concluir que el EMAM genera una mayor estabilidad en la dureza y el contenido de fibra (pared celular) del nopal verdura lo cual va a proporcionar una menor pérdida de peso y una mayor calidad en los nopales aportando con esto beneficios económicos para los industriales que exploten este cultivo extensamente.



Figuras 11. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la pérdida de peso (A) y calidad subjetiva (B) del nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad relativa >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media. 0, I, II, III... etc. representa la evaluación cada 5 días.

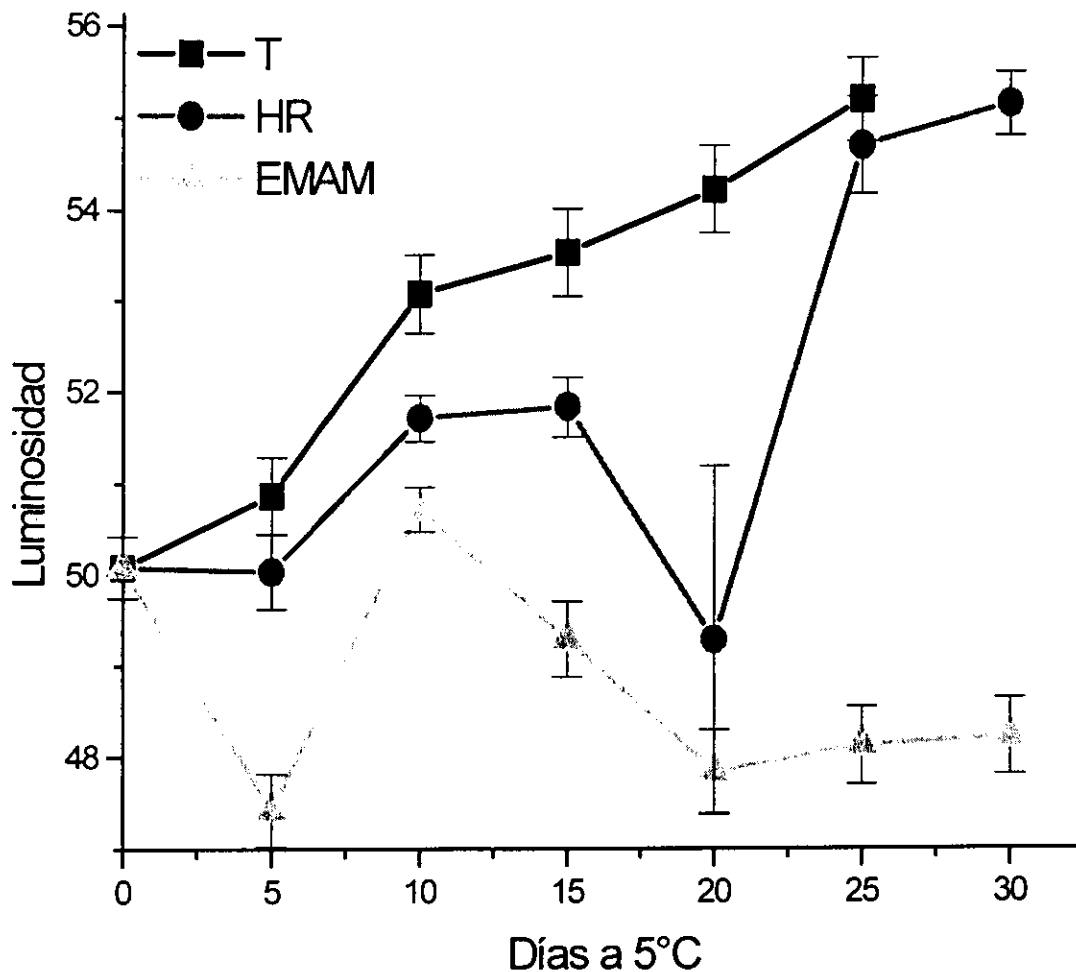


Figura 12. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la luminosidad del nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad relativa >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

El valor de luminosidad (figura 12) el cual nos indica que tan oscuro (0) o blanco (100) es un objeto. Para nopales EMAM el valor de L^* permanece constante a lo largo del monitoreo. El estadístico t de Student mostró que no existe diferencia significativa entre las medias durante el periodo de almacenamiento lo cual indica que los nopales en estas condiciones conservan la intensidad de su color original, esta afirmación se puede corroborar con el valor de croma (figura 15). Los nopales almacenados en HR y T presentan un incremento en el valor de L^* , esto debido al posible deterioro de la clorofila y a la expresión de pigmentos como los carotenos y/o flavonoides; procesos guiados por el inicio de la senescencia del nopal. Resultados similares fueron encontrados en calabaza almacenada en EMAM (Izumi et al., 1996). Mediante la prueba estadística ANOVA no existe diferencia significativa entre los tratamientos de HR y T mientras que el tratamiento de EMAM resultó ser diferente.

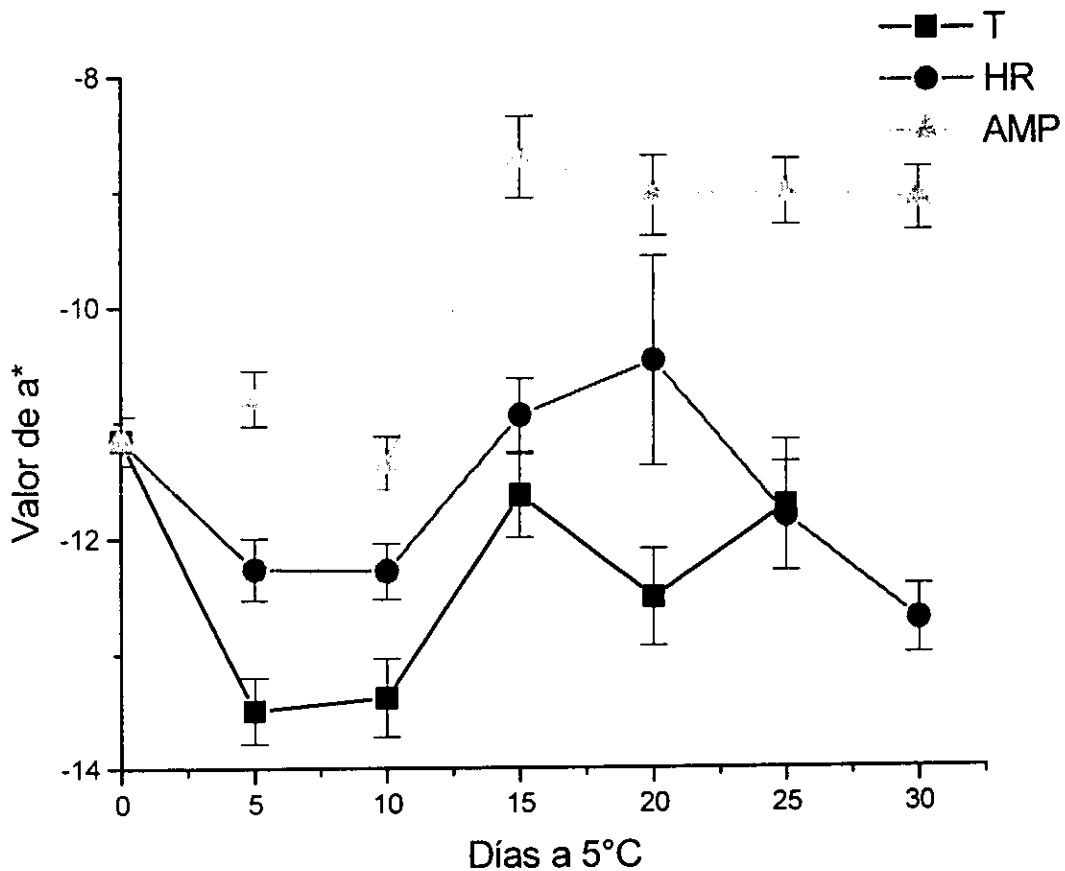


Figura 13. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el valor de a^* del nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad relativa >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

Analizando el valor a^* figura (13) mediante el cual se evaluó el cambio del color en la tonalidad de verde (-) a rojo (+). Muestra que los nopales EMAM presentaron un incremento en el valor de a^* (una disminución en el color verde), lo cual puede ser propiciado por un deterioro de la clorofila generado por cambios en el pH, actividad de clorofilasa u otras enzimas. Por otro lado se observa una disminución en el valor de a^* para las condiciones de HR y T indicando la presencia de una coloración verde mayor lo cual se puede explicar mediante un efecto de concentración del color en estos nopales, ocasionado por la pérdida de agua ya que en estas condiciones se presenta la mayor pérdida de peso, lo cual trae consigo una coloración más verde que los nopales EMAM. Resultados similares se encontraron en brócoli (Wang 1979). Diferencias estadísticas existen entre los tratamientos, mientras que el estadístico t de Student indica que no existe diferencia entre las medias a partir de los 15 días de almacenamiento entre los tratamientos de T y HR.

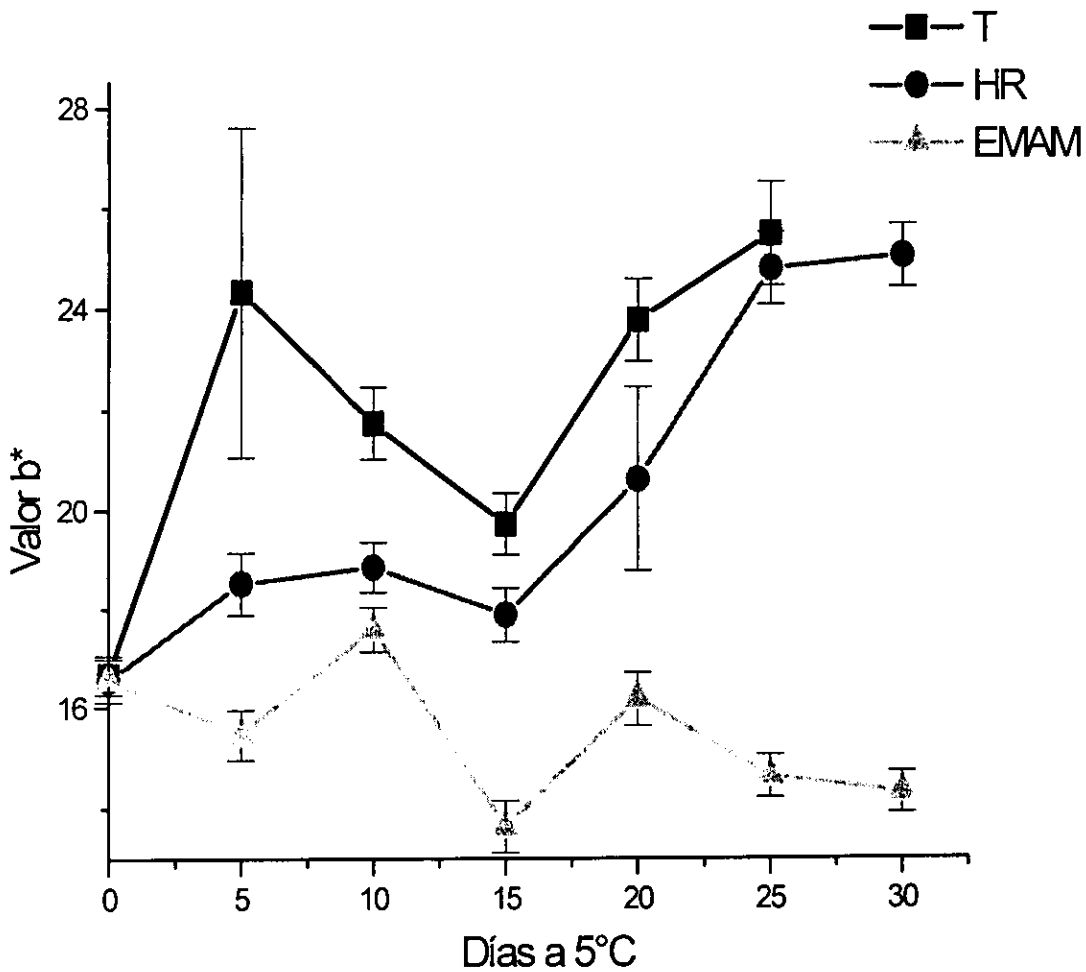


Figura 14. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el valor b^* del nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad relativa >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

El valor de b^* define el cambio en la coloración de amarillo (+) a azul (-). Nopales EMAM no presentan cambios a lo largo del monitoreo; mientras que un gradual incremento es mostrado por las condiciones de T y HR, lo cual puede ser debido al deterioro de la clorofila, permitiendo la expresión en mayor intensidad de otros pigmentos como los carotenos y/o los flavonoides en estos nopales. En brócoli resultados similares fueron obtenidos por Wang en 1979.

Diferencias estadísticas existen entre los tratamientos, mientras que el estadístico t de Student indicó que no existe diferencia entre las medias a partir de los 15 días de almacenamiento entre los tratamientos de T y HR.

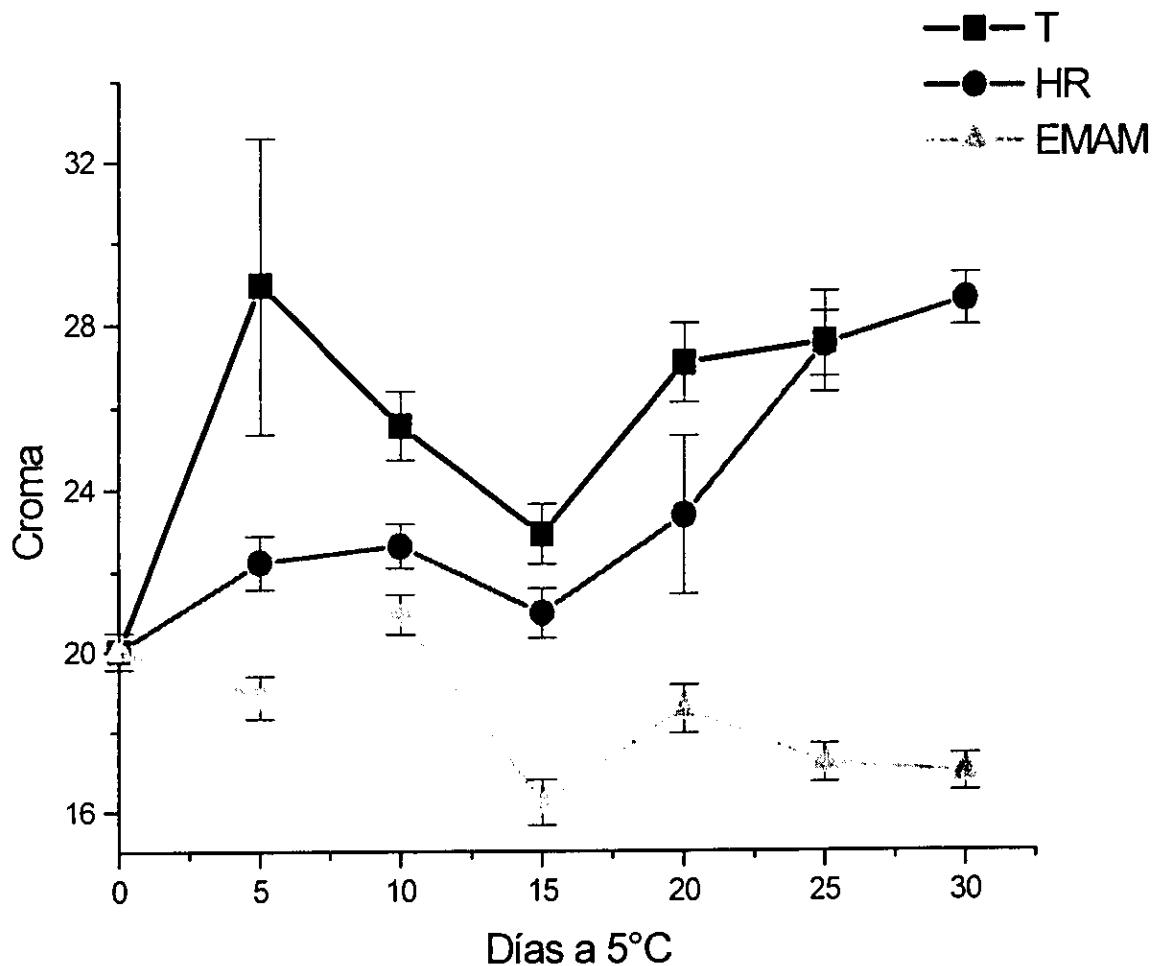


Figura 15. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el valor de croma del nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad relativa >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

Analizando la intensidad del color (valor de croma) se observa un incremento en la intensidad para las condiciones de T y HR, probablemente por el efecto de concentración antes mencionado, mientras que para el tratamiento en EMAM la intensidad en el color no cambia a lo largo del monitoreo. Nuevamente se encontró diferencia entre los tratamientos (ANOVA); mientras que las condiciones de T y HR a partir de los 15 días no presentaron diferencia en las medias (t de Student).

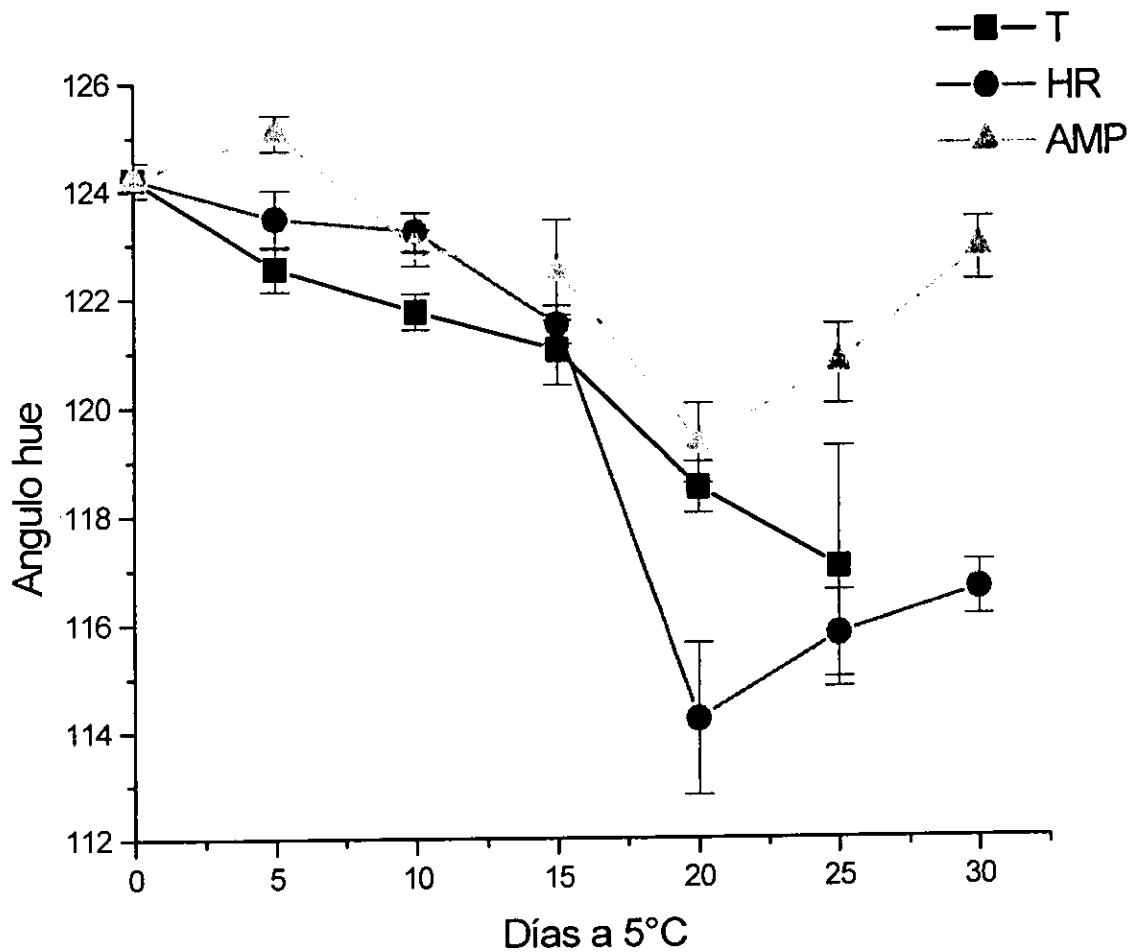


Figura 16. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el ángulo de hue del nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad relativa >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

El cambio en el ángulo hue (figura 16) indica el cambio en el color de las muestras, abarcando valores en el rango de amarillo-verde. La disminución del 8.5% y 8.6% en el valor para las condiciones de T y HR respectivamente, indica que los nopales almacenados bajo estas condiciones presentan un color más amarillo hacia el final del monitoreo, probablemente ocasionado por la degradación de la clorofila, lo cual favorece una mayor expresión de otros pigmentos como los carotenos y/o flavonoides. Los nopales EMAM presentaron una disminución del 2.4% al final del monitoreo, por lo cual se puede decir que conservaron el mismo color a lo largo del monitoreo. Nuevamente mediante el estadístico ANOVA se encontró diferencia entre los tratamientos, mientras que por medio del estadístico t de Student no existe diferencia entre los tratamientos HR y EMAM a partir del día 15.

De manera global podemos afirmar que el EMAM aporta mayor estabilidad al color en nopales, debido probablemente a una disminución en la actividad metabólica, lo cual disminuye la intensidad con la que se presentan cambios como el deterioro de la clorofila, pH del tejido, pérdida de agua etc. Para las condiciones de T y HR los nopales van tomando una coloración más amarilla a lo largo del monitoreo debido a la degradación de la clorofila, permitiendo la expresión de otros pigmentos como son los carotenos y/o flavonoides. Esto puede confirmarse con los valores de luminosidad (figura 12), valor de b^* (figura 14), croma (figura 15) y hue (figura 16). Estadísticamente (ANOVA) hay diferencia entre los tratamientos, mientras que el estadístico t de Student indicó que no hay diferencia entre las medias de los tratamientos sin empacar y en HR para la luminosidad, a^* , b^* y croma a partir de los 15 días de almacenamiento.

En contraste para el valor de hue no hay diferencia entre los tratamientos y las medias de cada tratamiento (ANOVA y t de Student) por lo cual el nopal presenta el mismo color amarillo en los tres tratamientos cambiando solo la tonalidad y la intensidad de este color.

La disminución en el contenido de clorofila (total, a y b) (figura 17) fue menor en nopales EMAM, seguidos por aquellos mantenidos en alta HR. El contenido de clorofila total disminuyó alrededor de un 30% en nopales sin empacar y solo un 12% en nopales EMAM, estos datos concuerdan con lo encontrado en espárragos (Wang, 1979), brócoli (Barth et al., 1993) y espinacas (Yamahuchi y Watada, 1993), en donde el etileno acelera la degradación de la clorofila y las AC la inhiben. El cambio en el contenido de clorofila a presentó el mismo comportamiento que la clorofila total lo cual es razonable ya que en la literatura se ha reportado una relación de clorofilas a y b de 3:1. A lo largo del monitoreo la clorofila b presenta una disminución en mayor proporción siendo del 41% para nopales sin empacar, 50% para nopales en HR y 24% para nopales EMAM. Lo cual puede sugerir que la clorofila a es transformada en clorofila b para posteriormente ser degradada. Se ha reportado que la degradación de la clorofila durante la senescencia ocurre en tres pasos: Inicialmente la formación de la clorofilida por la enzima clorofilasa, el cual es convertido a feoforbido (Phb) por la enzima Mg-dequelatasa. Finalmente el rompimiento del anillo porfirínico del Phb para generar compuestos coloridos de bajo peso molecular.

Mediante el análisis estadístico se observó que existe diferencia en los tratamientos además de que no existe diferencia entre las medias para la clorofila total y clorofila a en las condiciones sin empacar y de HR. Por otro lado no existe diferencia entre los tratamientos ni entre las medias de los mismos en lo que se refiere a los análisis correspondientes a la clorofila b.

El cambio en el color (figura 16), fue menor para la condición de EMAM, definiendo que esta condición aportaba mayor estabilidad al color. Tal estabilidad puede ser aportada principalmente al contenido de clorofilas como se observó en la figura 17.

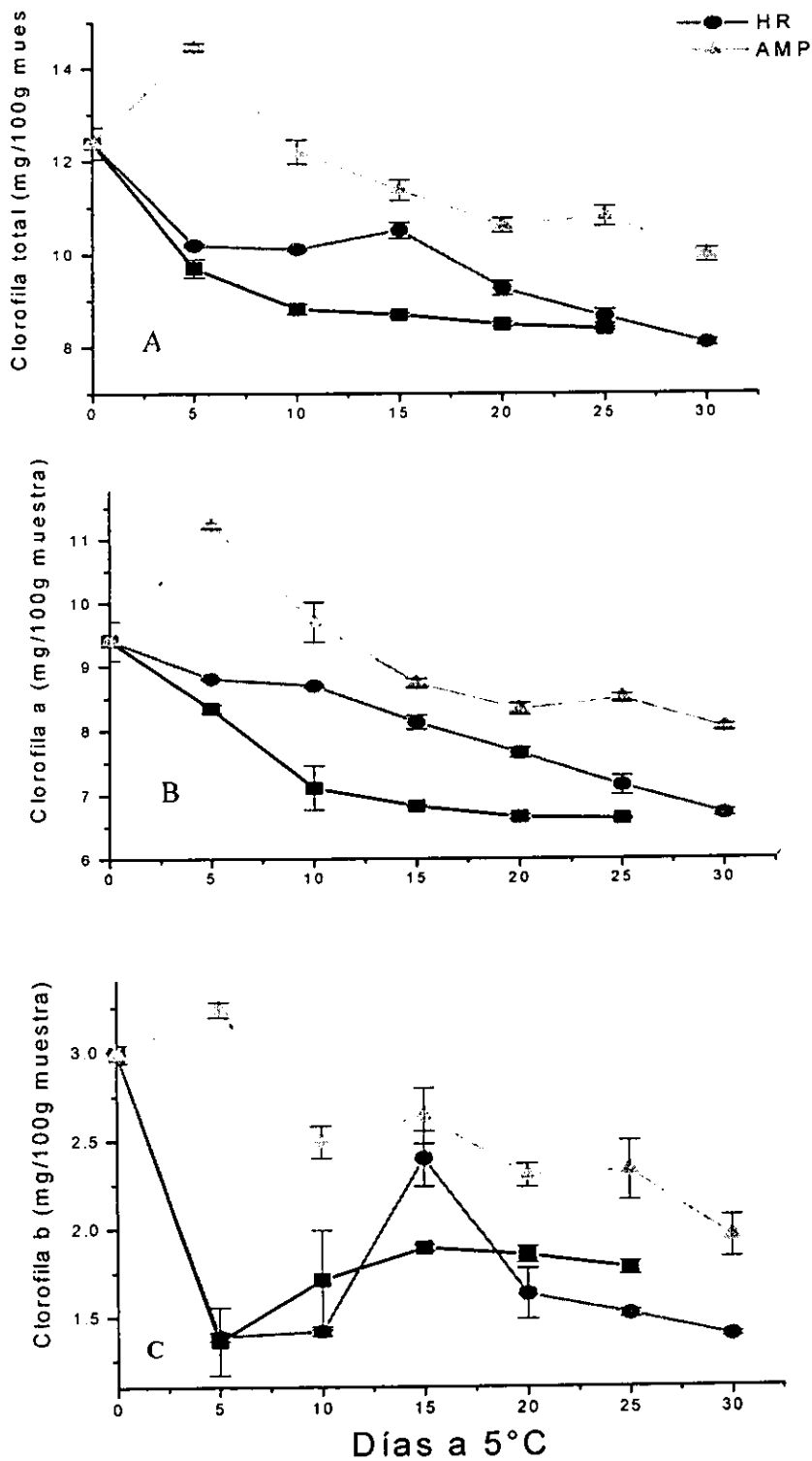


Figura 17. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el contenido de clorofila total (A), clorofila a (B) y clorofila b (C) en nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad relativa >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

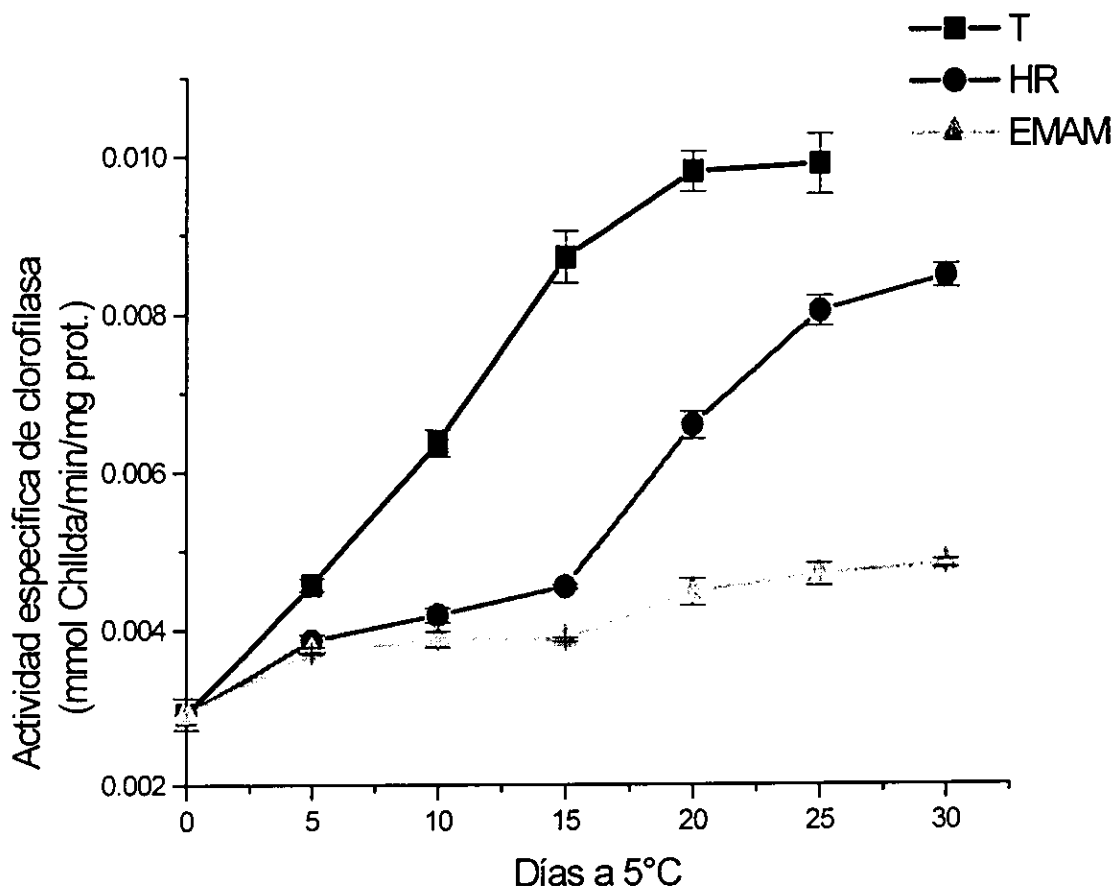
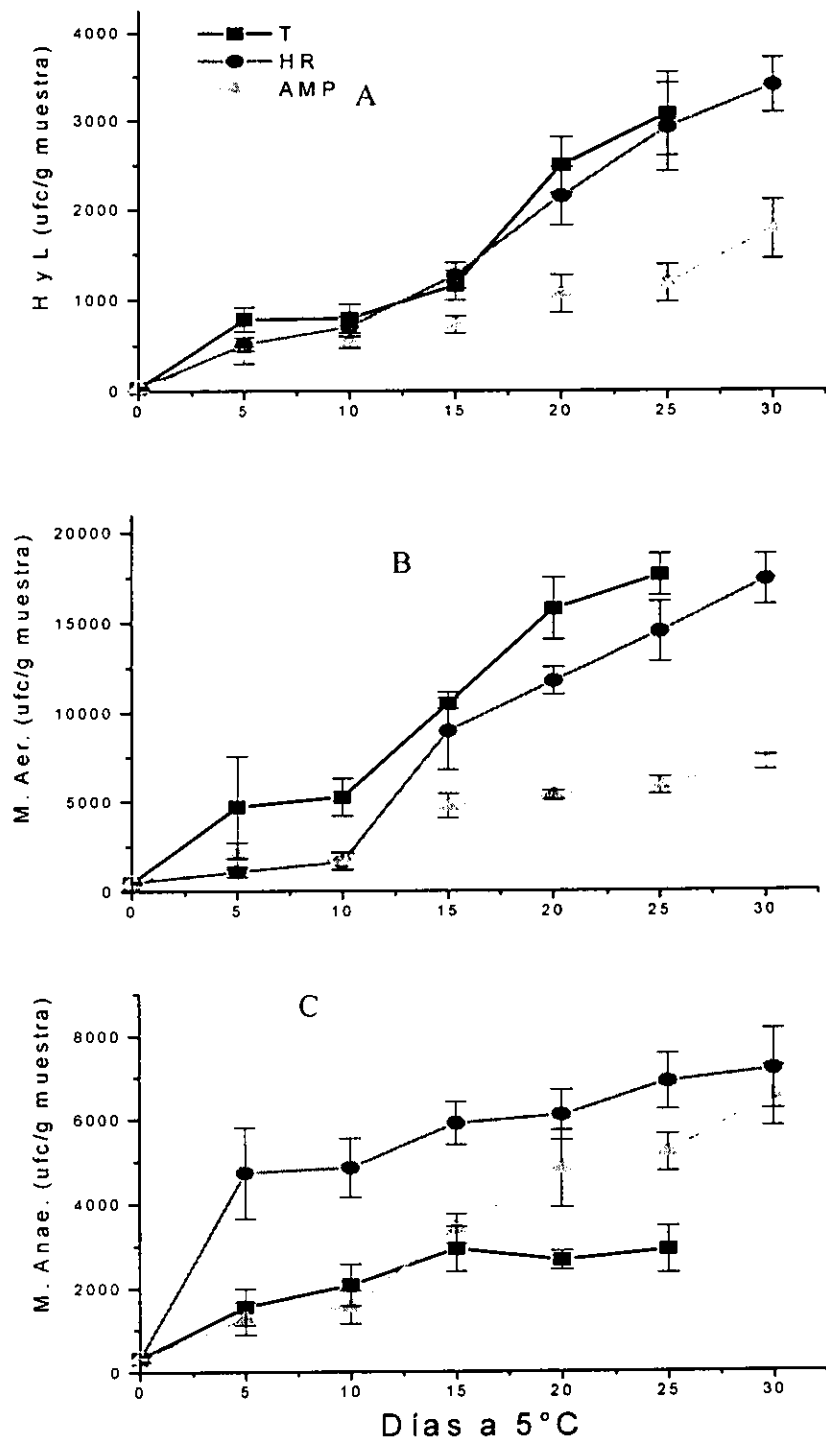


Figura 18. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la actividad de clorofilasa en nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

La actividad específica de la enzima clorofilasa incremento en todas las condiciones conforme incrementaba el periodo de almacenamiento (182% T, 129.5% HR) (figura 18) siendo menor para los nopales EMAM 33.9%. De aquí que la estabilidad en el contenido de clorofila sea propiciada por una disminución en la actividad de clorofilasa, lo cual concuerda con datos reportados por otros autores (Amir-Shapira, 1987; Rodriguez, 1987; Sacher, 1973 y Yamahuchi, 1993).

Mediante el análisis estadístico es posible afirmar que existen diferencias entre los tratamientos, y que no existe una diferencia de medias en las condiciones sin empacar y HR al final del monitoreo. Es claro que la actividad enzimática tiene una relación directa con la pérdida de clorofila anteriormente analizadas y los cambios en el color, quedando establecidas las ventajas de almacenar nopales en EMAM.



Figuras 19. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el desarrollo de hongos y levaduras (A) y mesófilos aerobios (B) y mesófilos anaerobios (C) en nopal verdura. T= control a 5°C, HR= alta humedad relativa >80% y EMAM= empaque en atmósfera modificada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

Las cuentas microbianas incrementaron en todos los cladíolos (figura 19). El desarrollo de hongos y levaduras (HL) fue menor en nopales EMAM, mientras que cuentas significativamente altas de HL se generaron en condiciones de T y alta HR. Una relación similar se presentó en el desarrollo de mesófilos aerobios (MAe) en las diferentes condiciones. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en zanahoria (Kakiomerou et al., 1996) y escarola (Bennik, 1996a, 1996b).

El desarrollo de mesófilos anaerobios (MAn) fue mayor en nopales almacenados en alta humedad relativa, seguidos por los nopales en EMAM incrementando hasta alcanzar el mismo nivel que en los cladíolos en la condición de HR después de los 30 días de almacenamiento.

El mayor desarrollo para este tipo de bacterias en la condición de HR puede explicarse:

1. Durante la cosecha y el preenfriado esporas ingresan dentro de los estomas
2. El cierre de los estomas genera un microambiente anaerobio, facilitando el desarrollo de este tipo de microorganismos.
3. No se presenta el desarrollo de barreras físicas o químicas contra patógenos, debido a que no se presenta un estrés metabólico.

Para la condición de EMAM

4. La disminución en la concentración de oxígeno permite la activación del metabolismo fermentativo en microorganismos facultativos.
5. Condiciones favorables de crecimiento para los microorganismos anaerobios son dadas debido a) una baja concentración de oxígeno y b) Una disminución en el desarrollo de microorganismos MAe disminuyendo el desarrollo competitivo.

El efecto bacteriostático del CO₂ no es bien conocido, pero probablemente puede ser debido a:

Una disminución en el pH del medio (por efecto de acidificación del CO₂)

La exclusión del O₂ por remplazo con CO₂

Una disminución en la cantidad de O₂ disponible

Estadísticamente se observa diferencia entre los tratamientos, mientras que para las medias de las condiciones de T y HR no existe diferencia a partir de los cinco días de almacenamiento.

En relación con otros estudios realizados anteriormente se puede observar que la tecnología postcosecha aplicada en este estudio aporta ventajas sobre tecnologías desarrolladas anteriormente.

Cantwell (1991) evaluó la calidad visual de nopales almacenados a 5°C en alta humedad relativa similar a la generada por una bolsa de polietileno encontrando una vida de anaquel de 2 a 3 semanas obteniendo nopales calificados con 7 (buena calidad) basándose en una escala hedónica desarrollada por la investigadora, lo cual concuerda aparentemente con la condición de HR en este estudio para los 20 días. Es claro que el EMAM genera mayor vida de anaquel de 4 semanas en condiciones de buena calidad, lo cual aporta ventajas para la comercialización de esta hortaliza a escala nacional e internacional.

CONCLUSIONES DE LA ETAPA I:

1. Las condiciones de EMAM generadas durante este estudio (8.6% O₂ y 6.3% de CO₂ a T=5°C) prolongan la vida de anaquel manteniendo la calidad de los nopales por 30 días.
2. El EMAM controla la pérdida de agua, textura, contenido de fibra, contenido de clorofila y color, en nopales empacados.
3. El EMAM también controla la actividad de la enzima clorofilasa, de hongos y levaduras y de microorganismos mesófilos aerobios en nopales empacados.
4. No existe diferencia ($\alpha=5\%$) entre los tratamientos de T y HR.
5. Se logró eliminar el problema de la pérdida de peso al empacar nopales en EMAM. Se controló la actividad de clorofilasa mediante el uso de EMAM.
6. Es posible incrementar la vida de anaquel del nopal verdura aún mas mejorando las condiciones de EMAM (limites de tolerancia a los gases por parte del nopal).

ETAPA II

Con la finalidad de evaluar el efecto de elevadas concentraciones de CO₂ se empacaron nopales con una concentración de 20, 40 y 80% de CO₂, manteniendo como controles nopales sin empacar (T) y nopales EMAM todos almacenados a 5°C. En la figura 20 se muestra el cambio en la concentración de los gases para cada una de las condiciones.

Para la condición de EMAM la concentración de O₂ disminuyó hasta el 8%, mientras que el CO₂ alcanzó una concentración de 7.5% al final del monitoreo (figura 20a). Para la condición con 20% CO₂ (figura 20b) hay una disminución gradual del CO₂ hasta alcanzar una concentración del 13%, la concentración de O₂ permanece constante los primeros 20 días (15%), llegando al 12% a los 30 días. El obtener condiciones aerobias con elevada concentración de CO₂ propició una disminución en el metabolismo del vegetal, lo cual concuerda con lo reportado por Kader (1986) y Brech (1986), presentándose una disminución en la actividad respiratoria del vegetal, y en la actividad metabólica. De esta forma el tiempo en el que transcurren los procesos deteriorativos en la hortaliza es aumentado. De esta manera se aporta un incremento en la vida de anaquel.

En las condiciones con una elevada concentración de CO₂: 40% de CO₂ (figura 20c) y 80% de CO₂ (figura 20d) hay una disminución en la concentración de CO₂ hasta alcanzar una concentración del 15% y 25% respectivamente. La concentración de O₂ presentó un ligero incremento a lo largo del monitoreo en ambas condiciones, esta concentración se mantuvo por encima de la mínima tolerada por otras hortalizas (Kader, 1977), descartando con esto los daños fisiológicos provocados por bajas concentraciones de O₂. De esta forma es posibles evaluar los trastornos ocasionados por altas concentraciones de CO₂, superiores a las máximas toleradas por otros vegetales. Los cambios presentados en la atmósfera de los gases es característica de películas con elevada permeabilidad al CO₂ y baja permeabilidad al O₂.

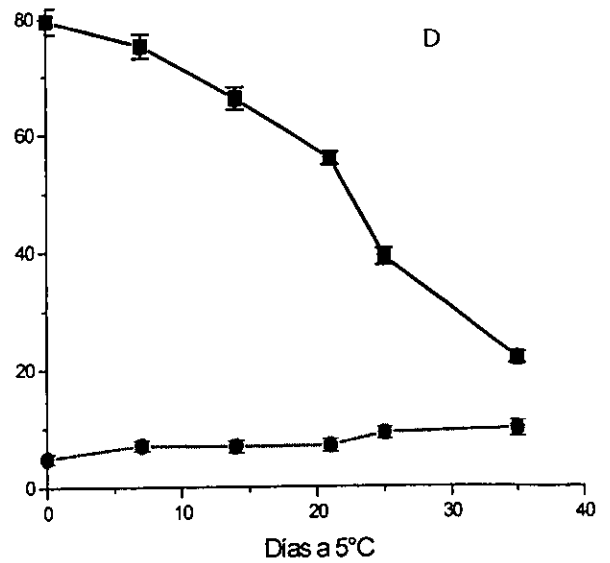
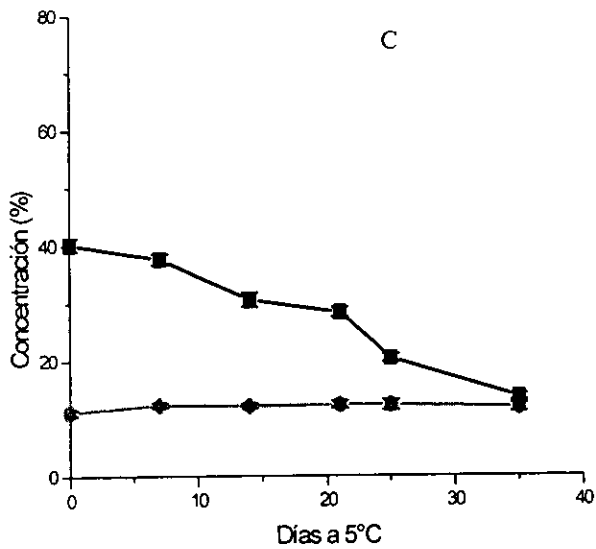
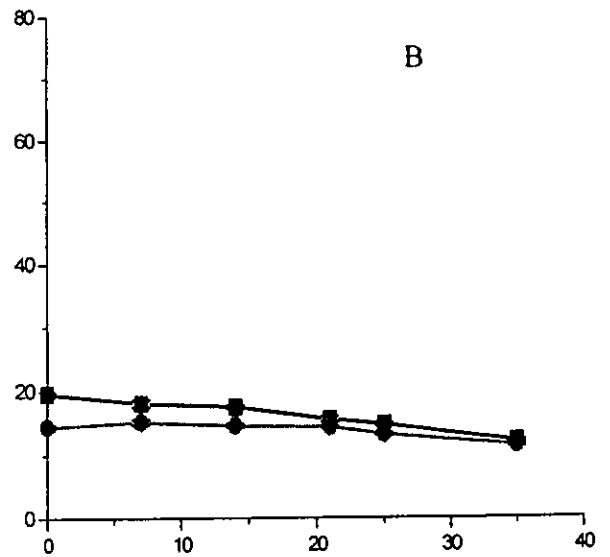
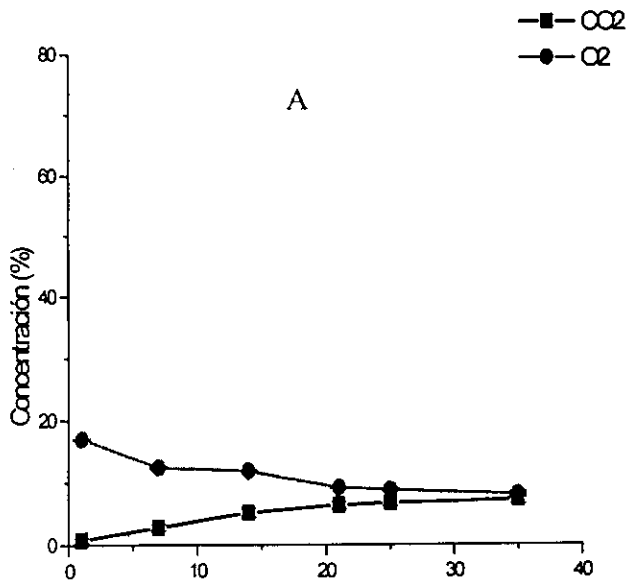


Figura 20. Cambios en la atmósfera del nopal verdura empacado en atmósfera modificada (A), con 20 % de CO₂ (B), con 40% de CO₂ (C) y 80% de CO₂ (D). Las barras verticales representan el error estándar de la media.

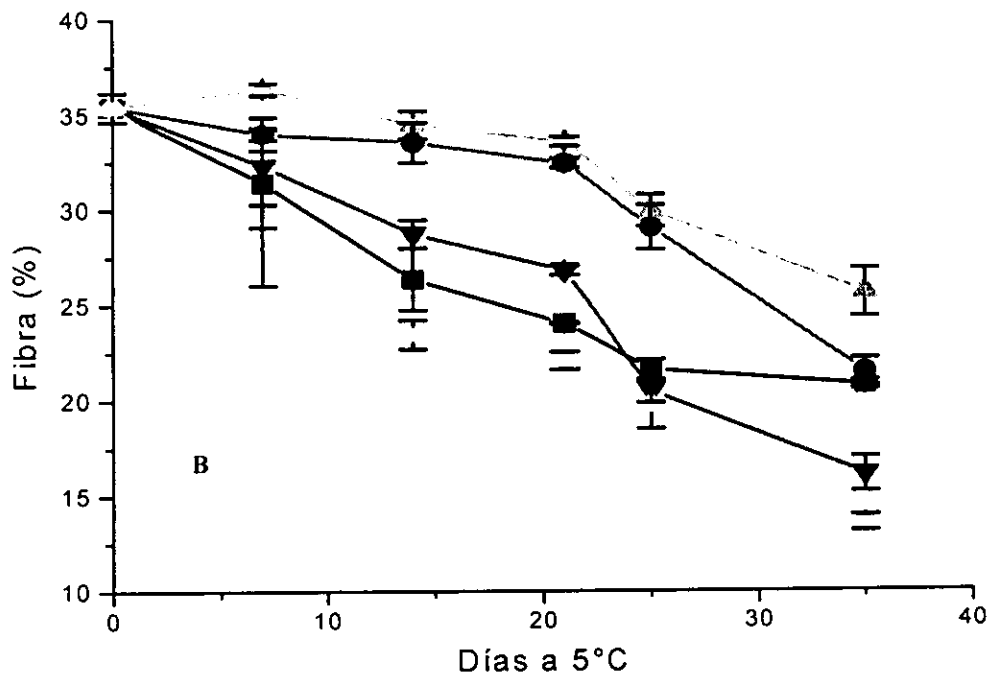
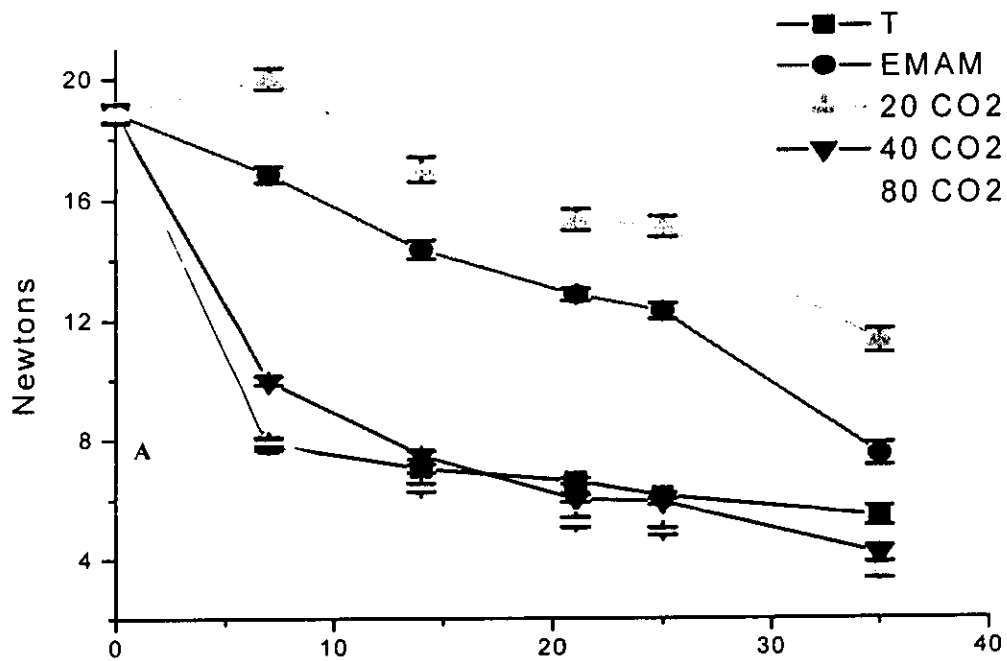


Figura 21. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la dureza (A) y contenido de fibra (B) en nopal verdura. T= control a 5°C, EMAM= empaque en atmósfera modificada y nopales almacenados en 20% de CO₂, 40% de CO₂ y 80% de CO₂. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

La dureza de una hortaliza esta dada principalmente por la integridad de su pared celular la cual se compone de celulosa, hemicelulosa (fibra) y pectina en la parte lamelar. Analizando la dureza del nopal (figura 21a) y el contenido de fibra (figura 21b) se encontró que la condición de 20% CO₂ seguido de EMAM presenta la menor disminución en la dureza y el contenido de fibra en los nopales. Debido probablemente a una disminución en la actividad enzimática de pectinasas, hemicelulasas y celulasas, propiciada por una disminución en la velocidad de respiración. En contraste, la condición de 80% CO₂ presenta la mayor perdida tanto en la dureza como en el contenido de fibra, seguido de las condiciones de 40% de CO₂ y nopales sin empacar (T). Se puede observar que el efecto de altas concentraciones de CO₂ sobre la textura y dureza del nopal esta relacionado con un aumento en la permeabilidad celular. Lo cual puede atribuirse a una desintegración de la estructura correspondiente a la pared celular, incrementando la actividad enzimática (pectinasas, hemicelulasas y celulasas) generado por un posible estrés metabólico debido a elevadas concentraciones de CO₂.

Un incremento en la pérdida de la dureza influenciado por el tiempo de exposición fue encontrado en peras almacenadas en elevadas concentraciones de CO₂ (Brecht et al., 1986). Por otro lado Kader (1986) reportó que elevadas concentraciones de CO₂ pueden agravar los daños sobre la textura de diversas hortalizas.

Con respecto a la pérdida de peso (figura 22a) y calidad subjetiva (figura 22b) se encontró que las condiciones de 20% CO₂ seguida de la condición de EMAM son las que presentan la menor pérdida de peso y mayor calidad, mientras que los nopales sin empacar presentaron la mayor perdida hasta el día 15 de ahí en adelante la condición de 80% de CO₂ seguido de la condición con 40% de CO₂ son las que presentaron la mayor pérdida en peso y menor calidad.

Estos resultados indican que el EMAM generando concentraciones menores al 20% probablemente disminuyan la velocidad de respiración del nopal, disminuyendo a su vez el grado de transpiración. Por otro lado EMAM con concentraciones superiores al 20% de CO₂ provocan trastornos metabólicos que son reflejados en un cambio en la permeabilidad celular, aumentando la transpiración y la pérdida de agua.

Elevadas concentraciones de CO₂ provocaron un deterioro del tejido en lechuga lo cual fue atribuido a que existe una acumulación de acetaldehido en el tejido de la hortaliza (Brecht et al., 1973a). Por otra parte Lipton (1977) encontró que diferentes cultivares de lechuga presentan diferencias respecto a su calidad y oscurecimiento del tejido.

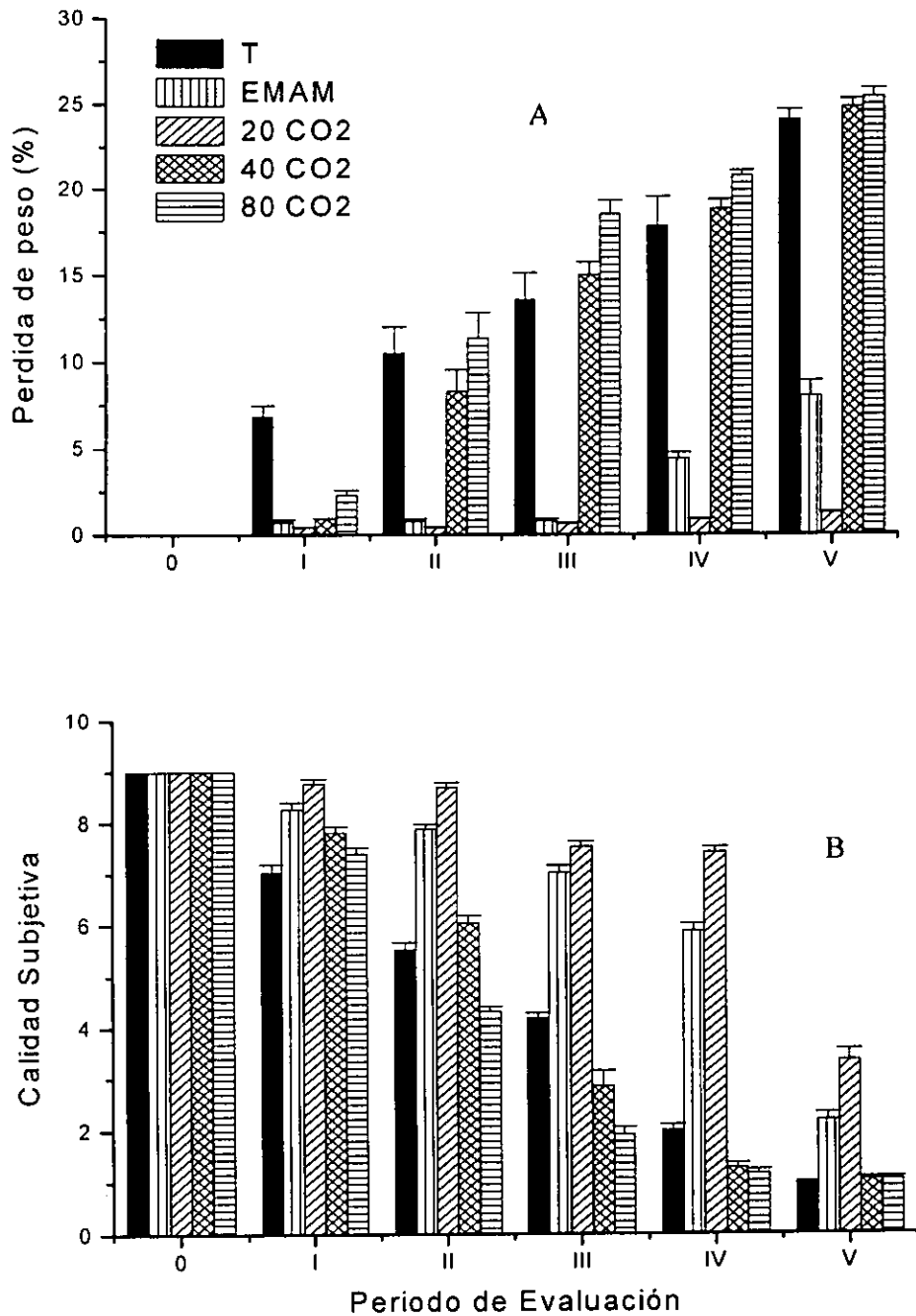


Figura 22. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la pérdida de peso (A) y calidad subjetiva del nopal verdura (B). T= control a 5°C, EMAM= empaque en atmósfera modificada y nopales almacenados en 20% de CO₂, 40% de CO₂ y 80% de CO₂. Las barras verticales representan el error estándar de la media. 0, I, II, III... etc. representa la semana de evaluación.

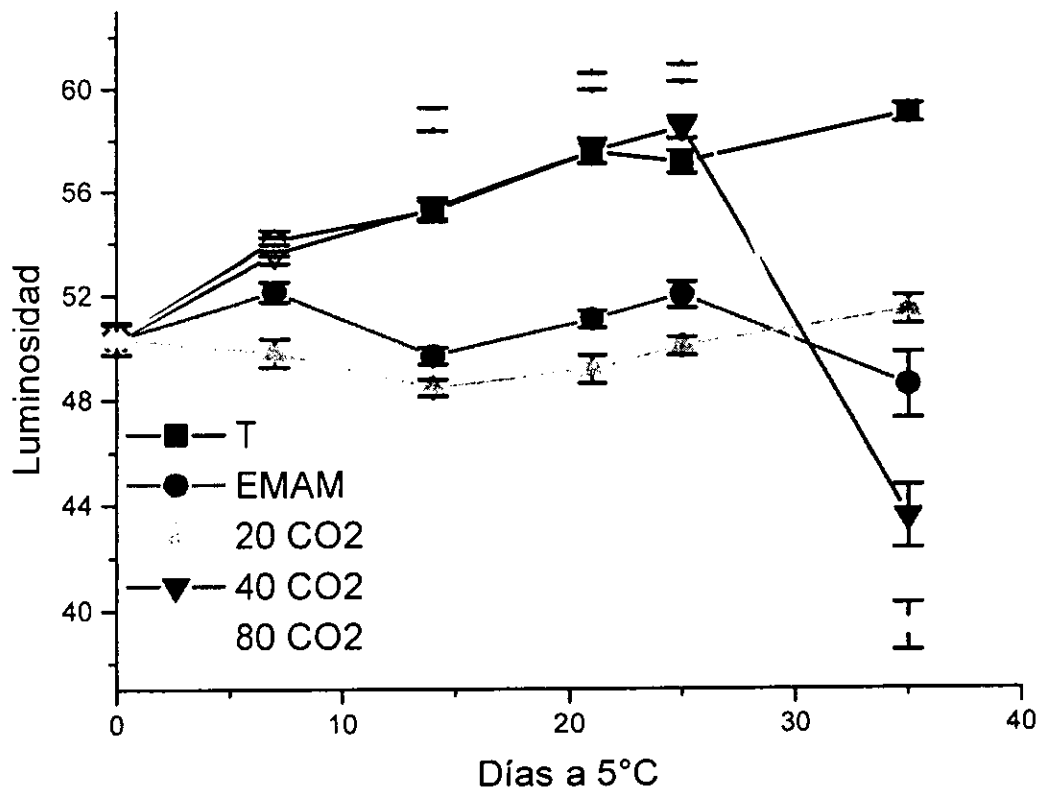


Figura 23. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la luminosidad del nopal verdura. T= control a 5°C, EMAM= empaque en atmósfera modificada y nopales almacenados en 20% de CO₂, 40% de CO₂ y 80% de CO₂. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

La luminosidad de los nopales (figura 23) almacenados en EMAM y 20% de CO₂ permanece constante a lo largo del monitoreo. Por otra parte la condición de 40% de CO₂ y 80% de CO₂ presentan un constante incremento en la luminosidad hasta el día 25, para posteriormente caer drásticamente al final del monitoreo. Lo anterior representa un cambio en el color del nopal de verde a amarillo (incremento de L) debido al deterioro de la clorofila y a una mayor expresión de otros pigmentos como son los carotenos y/o flavonoides, seguido del cambio del color amarillo a negro. Debido al deterioro total de los pigmentos, generando necrosis del tejido mediante oscurecimiento enzimático, el cual es activado por concentraciones de CO₂ superiores a la máxima tolerada por esta hortaliza generando condiciones estresantes. La severidad del oscurecimiento en lechuga se da conforme el incremento en la concentración de CO₂ (1-5%) y la disminución en la concentración de O₂ (del 21 al 1%). Elevadas concentraciones de CO₂ (20%) produce daños en apio (Morris y Kader, 1977), en tomates verdes a una concentración alrededor del 2%, chiles a 10%, pepinos a 10%, Maíz dulce a 20% champiñón a 50% y Melón al 40%.

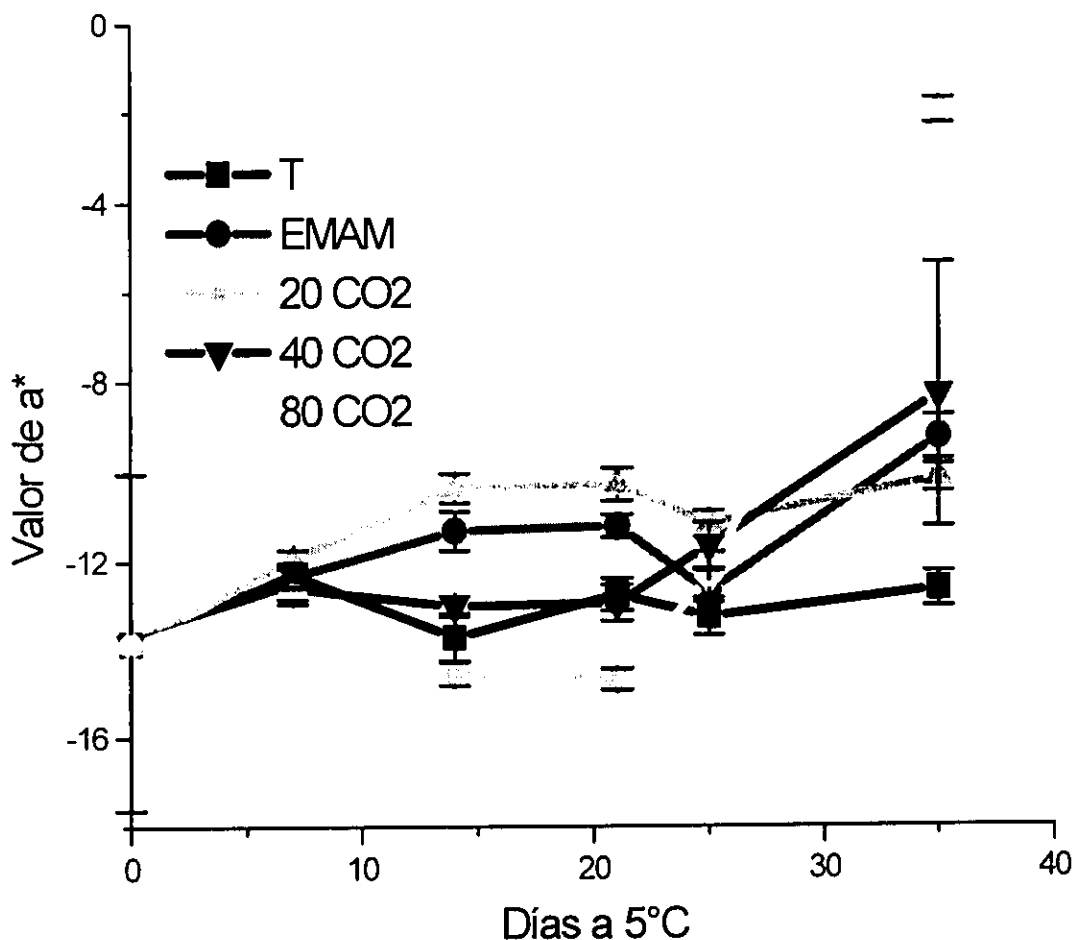


Figura 24. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el valor de a^* del nopal verdura. T= control a 5°C, EMAM= empaque en atmósfera modificada y nopales almacenados en 20% de CO₂, 40% de CO₂ y 80% de CO₂. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

En los nopales sin empacar Existe una mínima disminución en el valor de a^* a lo largo del monitoreo. Para las condiciones de 20% de CO₂ seguido de la condición de EMAM se presentó una ligera disminución en el color verde. Este ligero cambio indica una disminución en el metabolismo normal de los nopales en los cuales se presenta un mínimo deterioro de las clorofilas y una mayor expresión de pigmentos como carotenos y/o flavonoides. Por otro lado las condiciones de 40% de CO₂ y 80% de CO₂ presentaron el mayor deterioro en el color verde, lo cual es reflejado en un aumento en el valor a^* . Probablemente debido a un estrés generado por concentraciones de CO₂ superiores a la máxima tolerada por este vegetal. Ocasionando una mayor permeabilidad celular, facilitando la reacción entre la enzima y el sustrato.

Estudios realizados anteriormente en brócoli (Wang, 1979) almacenados en elevadas concentraciones de CO₂ presentaron una disminución en el valor de a^* lo cual concuerda con los resultados obtenidos en este estudio.

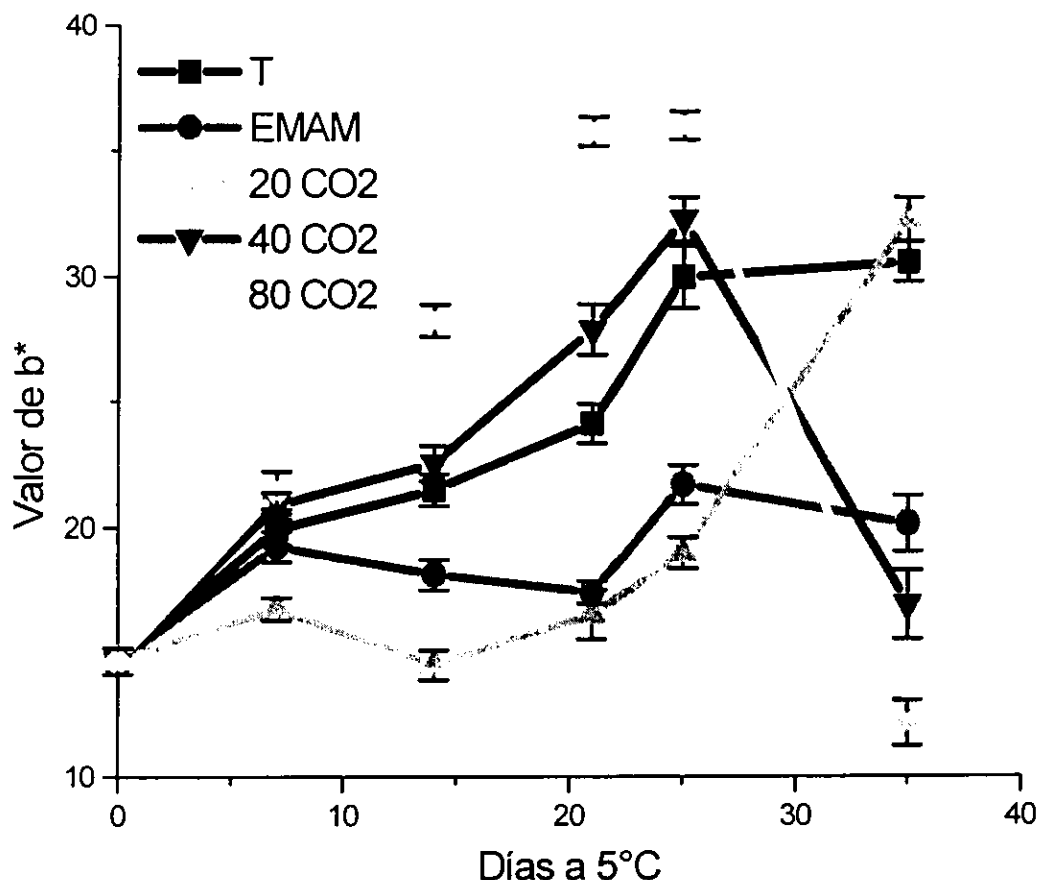


Figura 25. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el valor b^* del nopal verdura. T= control a 5°C, EMAM= empaque en atmósfera modificada y nopales almacenados en 20% de CO_2 , 40% de CO_2 y 80% de CO_2 . Las barras verticales representan el error estándar de la media.

El incremento en el color amarillo del nopal, fue mínimo para las condiciones de EMAM y 20% de CO_2 hasta los 25 días. Por otra parte se encontró que los nopales empacados con 40% de CO_2 y 80% de CO_2 presentaron un incremento mayor en el valor de b hasta los 25 días. Posteriormente se presentó un decremento en dicho valor (incremento en un tono azul) hasta los 35 días, lo cual concuerda con el oscurecimiento encontrado al analizar el valor de L . En brócoli almacenado en elevadas concentraciones de CO_2 también se encontró un aumento en el valor de b (Wang, 1979). El cambio presentado en menor o en mayor grado por las diferentes condiciones indica que existe una mayor expresión de pigmentos como los flavonoides y/o carotenos, generando una mayor coloración amarilla. El oscurecimiento presente en la etapa final del monitoreo para las condiciones de 40 y 80% de CO_2 puede ser ocasionado por un incremento en la actividad de enzimas como la polifenoloxidasas, catecolasa, clorofilasa etc. producido por un estrés metabólico que activa la síntesis y la actividad de estas enzimas.

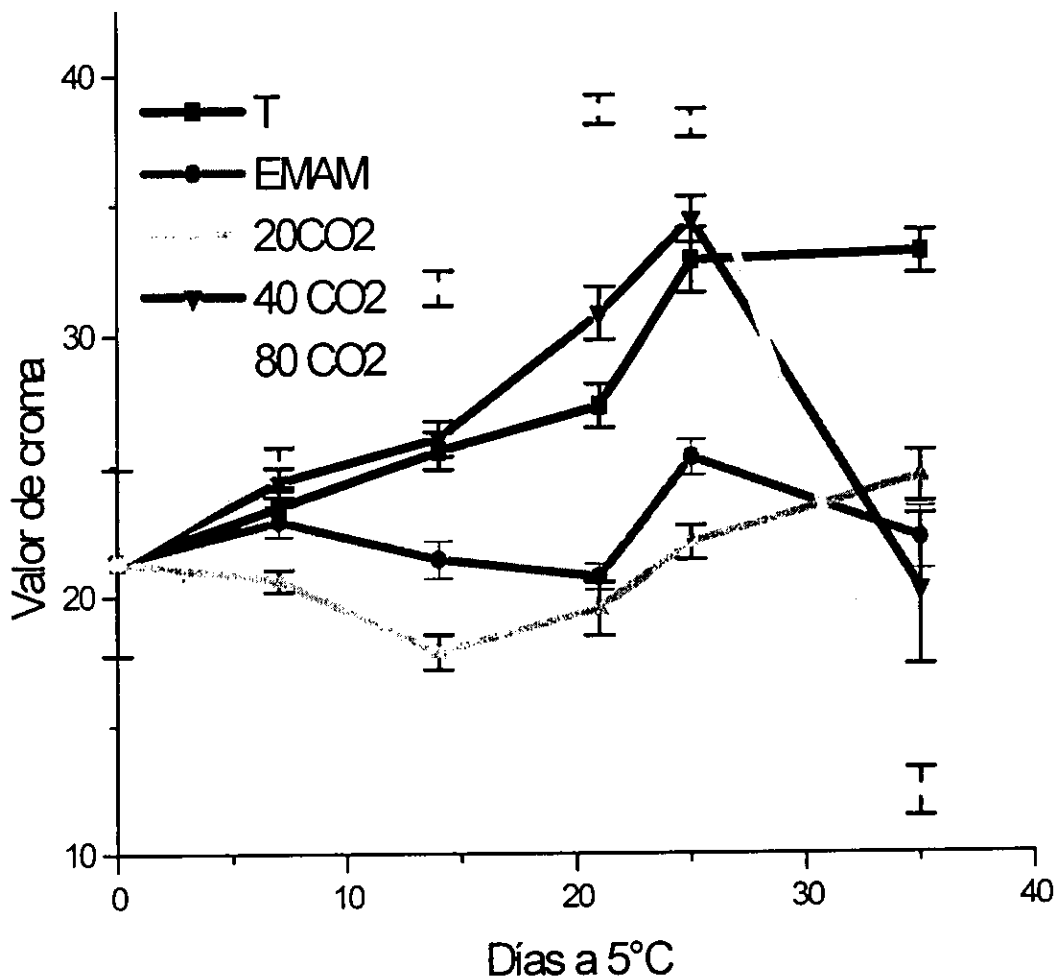


Figura 26. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el valor de croma del nopal verdura. T= control a 5°C, EMAM= empaque en atmósfera modificada y nopales almacenados en 20% de CO₂, 40% de CO₂ y 80% de CO₂. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

La intensidad en el color (figura 26) en nopales EMAM y en 20% de CO₂ permaneció constante a lo largo del monitoreo, indicando una reducción en la actividad metabólica y por ende los procesos deteriorativos. Lo cual da origen a pensar en una posible disminución en la velocidad de respiración. El mayor deterioro de clorofila y la mayor expresión de carotenos y/o flavonoides se presenta en las condiciones de 80% de CO₂ seguido de la condición con 40% de CO₂, para posteriormente presentar necrosis, producto del oscurecimiento enzimático (polifenol oxidasa) generando la caída que se presenta en las condiciones de 40 y 80% de CO₂ al llegar al día 35.

Es posible pensar que los cambios se relacionen a un estrés metabólico con lo cual se incrementa la actividad enzimática debido a elevadas concentraciones de CO₂.

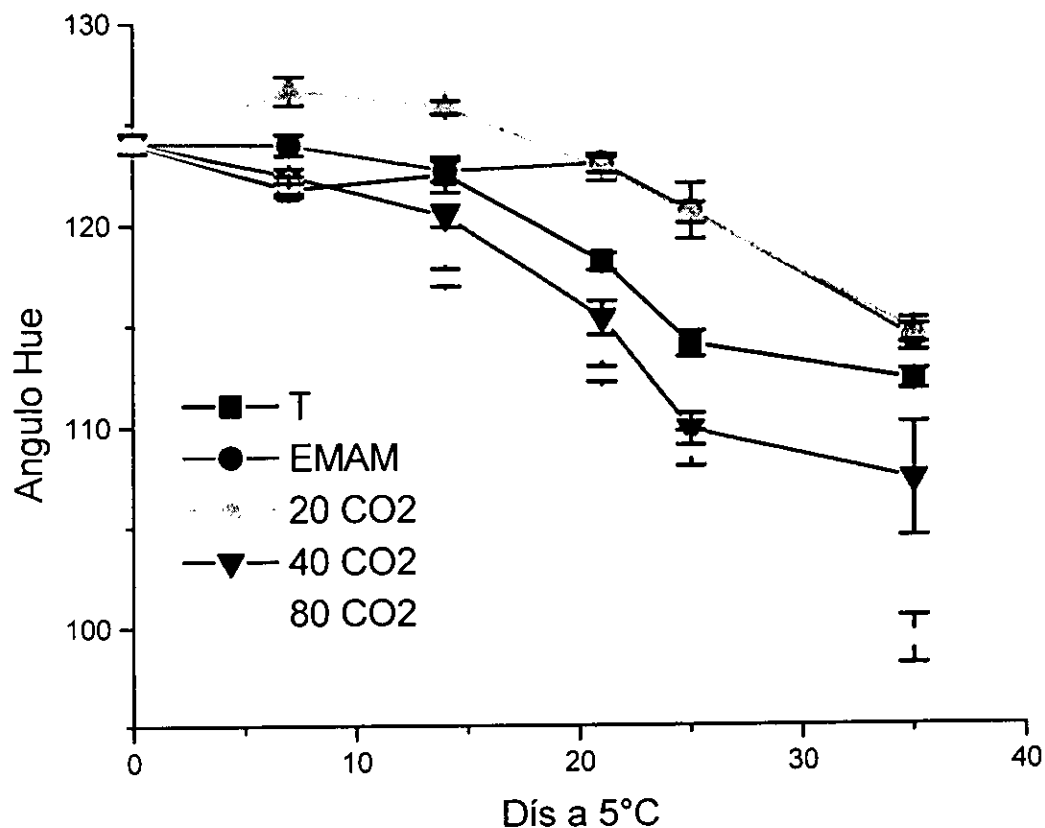


Figura 27. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el ángulo hue del nopal verdura. T= control a 5°C, EMAM= empaque en atmósfera modificada y nopales almacenados en 20% de CO₂, 40% de CO₂ y 80% de CO₂. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

Los nopales en la condición de 20% de CO₂ y EMAM no presentaron cambio en el color a lo largo del monitoreo (figura 27). La mayor disminución se presentó en las condiciones de 80% de CO₂ y 40% de CO₂. Estos cambios muestran claramente como en condiciones con elevada concentración de CO₂ se incrementa el deterioro en los pigmentos (clorofilas) debido a un estrés el cual produce una mayor permeabilidad celular con lo cual los cloroplastos se desorganizan con mayor rapidez permitiendo un deterioro mucho más rápido.

Estos resultados concuerdan con los resultados obtenidos por otros autores en donde decoloración del tejido interno o externo puede ocurrir como resultado de elevadas concentraciones de CO₂ generando un color café característico (Nassar, 1966; Yahia et al., 1983).

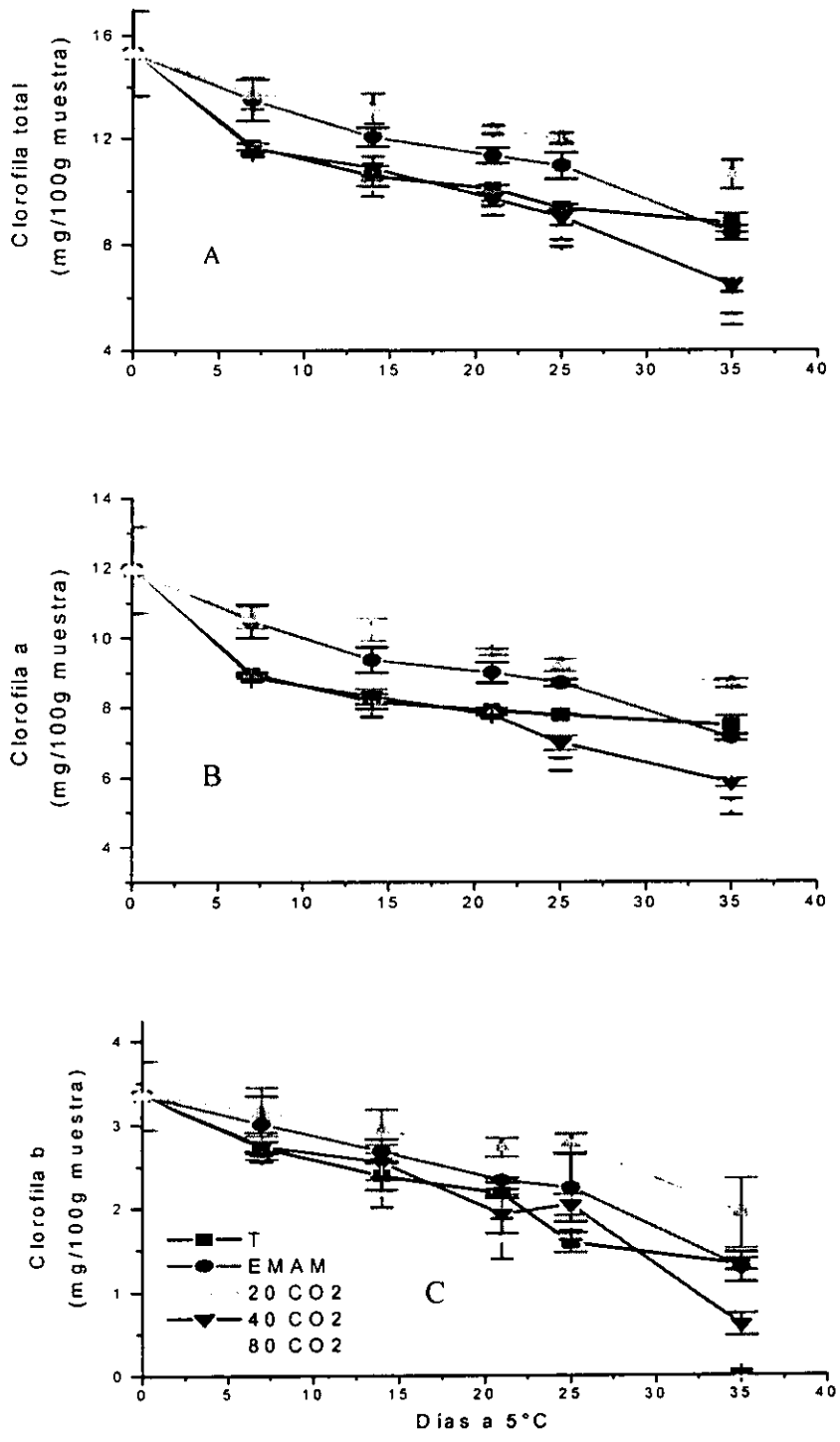


Figura 28. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el contenido de clorofila total (A), clorofila a (B) y clorofila b (C) el nopal verdura. T= control a 5°C, EMAM= empaque en atmósfera modificada y nopales almacenados en 20% de CO₂, 40% de CO₂ y 80% de CO₂. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

La mayor estabilidad en el contenido de clorofila total se presentó en la condición de 20% de CO₂ seguido por la condición de EMAM (figura 28a). Las concentraciones de 80% de CO₂ y 40% de CO₂ causaron el mayor deterioro en la clorofila presente en nopales almacenados bajo estas condiciones.

Los cambios en el contenido de clorofila a (figura 28b) resultaron ser similares a los encontrados en la clorofila total. Nuevamente los cambios en la concentración de la clorofila total se deben a una disminución en la concentración de clorofila a. El cambio en el contenido de clorofila b (figura 28c) fue del 38% para la condición de 20% de CO₂, 58.8% para EMAM, 87.9% para 40% de CO₂ y 100% para 80% de CO₂. Nuevamente el mayor deterioro en el contenido de clorofila se presentó en el contenido de clorofila b. Se puede observar que elevadas concentraciones de CO₂ estimulan el deterioro de la clorofila, probablemente debido a los factores antes mencionados. Los resultados concuerdan con los cambios de color encontrados al medir el valor de L*, a*, croma y hue. Con relación a estudios reportados anteriormente, una mayor pérdida en clorofila fue observada en chícharos almacenados en elevadas concentraciones de CO₂ (Groeschel, 1964).

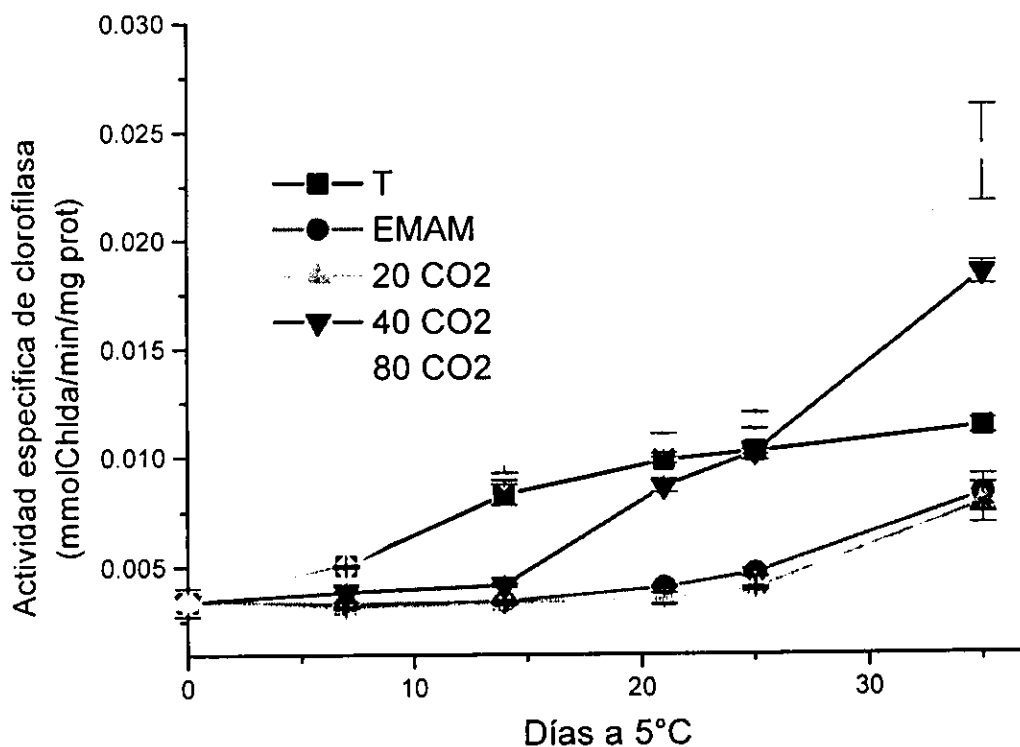


Figura 29. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la actividad de clorofilasa en nopal verdura. T= control a 5°C, EMAM= empaque en atmósfera modificada y nopales almacenados en 20% de CO₂, 40% de CO₂ y 80% de CO₂. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

La mayor actividad de la enzima clorofilasa (figura 29) se presentó en las condiciones de 80% de CO₂ y 40% de O₂ lo cual es indicativo de que estas condiciones causan un estrés a la hortaliza, propiciando alteraciones metabólicas. Este resultado permite hacer una relación en la cual el cambio en el color (figs. 23 a 27) es debida a una pérdida en la cantidad de clorofila (figura 28) presente en las muestras, ocasionada por un incremento en la actividad de la enzima clorofilasa.

En las condiciones de 20% de CO₂ y EMAM, se presentó la menor actividad de la enzima clorofilasa, debido probablemente a una disminución en el metabolismo del vegetal.

El análisis microbiológico mostró que el EMAM de nopal, permite ejercer un control sobre el desarrollo de los microorganismos determinados (mesófilos aerobios, mesófilos anaerobios y hongos y levaduras). La condición de 20% de CO₂ inhibe el desarrollo de estos microorganismos. El empacar nopales en una atmósfera con 40% de CO₂ solo permite el desarrollo de hongos y levaduras, controlando el desarrollo de mesófilos aerobios y anaerobios. En contraste la condición de 80% CO₂ inhibe el desarrollo de hongos y levaduras aportando las cuentas mas altas de mesófilos aerobios y anaerobios, lo cual pudo ser propiciado por un completo deterioro del nopal, facilitando la proliferación de este tipo de microorganismos. Un hecho importante es que los mesófilos presentes en el nopal puede ser facultativos. Babic et al. (1996) reportó que solo un control temporal de microorganismos mesófilos y psicrófilos es ejercido por AM, ya que el desarrollo se mantenía constante. Debido a que el metabolismo del vegetal continuo en marcha, propiciando así el ataque y el daño por parte de los microorganismos.

Se han hecho varios estudios que permiten definir: que el efecto inhibitorio del CO₂ sobre los microorganismos es debido a un cambio en el pH intracelular, el cual puede interferir con actividades enzimáticas asociadas al metabolismo celular. Se ha demostrado que el CO₂ inhibe la actividad de oxaloacetato descarboxilasa, succinato deshidrogenasa y citrocomo oxidasa. También se ha reportado que se inhibe a la deshidrogenasa malica e isocitrica.

El efecto del CO₂ sobre los resultados encontrados va a depender del tipo de microorganismo presente en las muestras, ya que la sensibilidad al CO₂ varía entre las especies. Varios estudios han mostrado que el CO₂ tiene poco o ningún efecto sobre el desarrollo de microorganismos facultativos, algunos son capaces de crecer en concentraciones del 75-100% de CO₂. El efecto inhibitorio del CO₂ también es influenciado por la edad de la población microbiana. Se ha demostrado que en bacterias que se desplazan de la fase LAG a la fase LOG el efecto del CO₂ fue reducido.

Estudios anteriores también han demostrado que un control del deterioro microbiológico (hongos) ha sido observado en lechuga, uvas, naranja, piña y aguacate (Woodruf, 1969). Elevadas concentraciones de CO₂ (10-20%) han mostrado que son efectivas en la supresión de podredumbre en frutas como cerezas, frambuesas y diferentes hortalizas, que toleran dichas concentraciones de CO₂ (Morris et. al., 1981b); (El-Goorani, 1981).

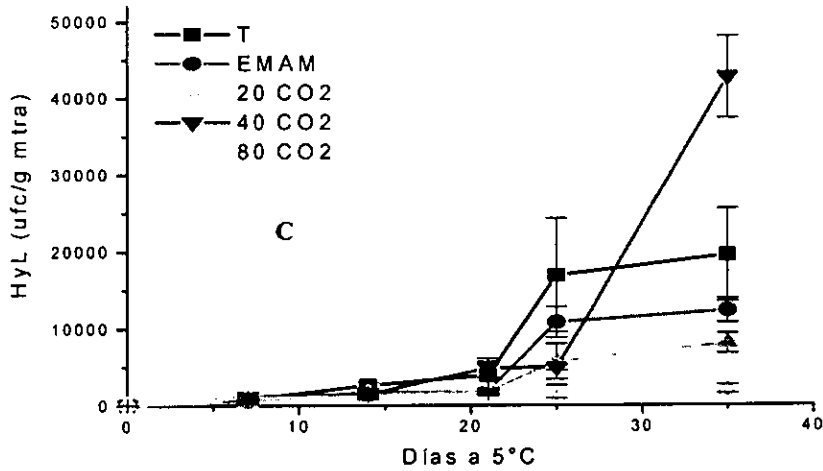
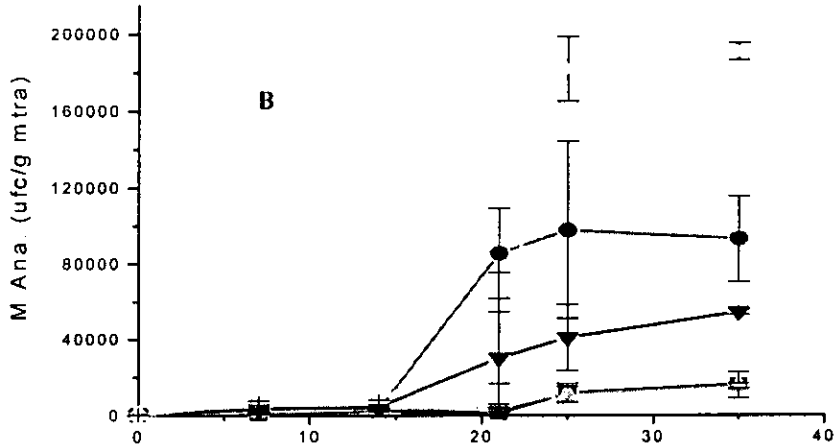
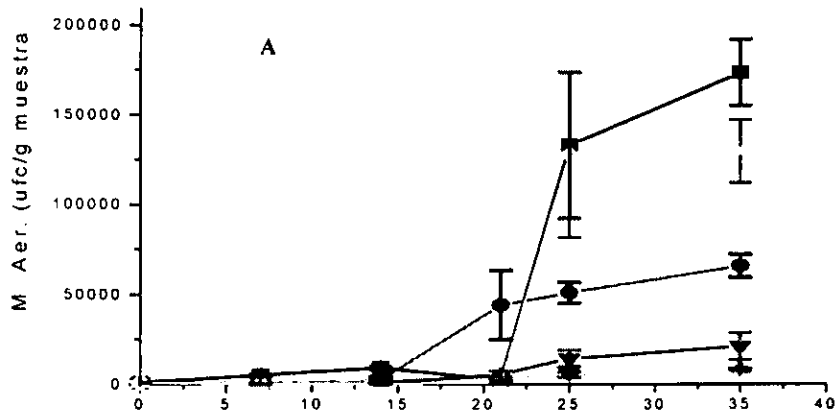


Figura 30. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el desarrollo de mesófilos aerobios (A), mesófilos anaerobios (B) y hongos y levaduras (C) en nopal verde. T= control a 5°C, EMAM= empaque en atmósfera modificada y nopales almacenados en 20% de CO₂, 40% de CO₂ y 80% de CO₂. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

Mediante análisis de varianza (ANOVA) no se encontró diferencia entre los tratamientos para la mayoría de los factores evaluados (fibra, calidad, L, a*, b*, croma, hue, clorofilas (total, a y b), actividad enzimática, desarrollo microbiológico (hongos y levaduras, mesófilos aerobios y mesófilos anaerobios). Debido a que existen tres tratamientos (T, 40% de CO₂ y 80% de CO₂) y en otros casos hasta 4 tratamientos (T, EMAM, 40% de CO₂ y 80% de CO₂) que no presentan diferencia significativa entre ellos. Los factores que presentaron diferencia significativa entre los tratamientos fueron la dureza y la pérdida de peso. El estadístico t de Student no encontró diferencias entre las medias para las condiciones 20% CO₂ y EMAM. Al igual que existe diferencia entre las medias para los tratamientos de T, 40% de CO₂ y 80% de CO₂. Existe un deterioro mayor al empacar nopales con elevada concentración de CO₂ que en nopales sin empacar. Sobre la base de los resultados el EMAM conteniendo una concentración de CO₂ menor o igual al 20% disminuye la velocidad de respiración del nopal, no actuando sobre la supresión del metabolismo basal mediado por citocromo oxidasa. Actuando principalmente al nivel de enzimas oxidasas (polifenol oxidasa, ác. ascórbico oxidasa y ác. glicólico oxidasa). Cuya afinidad hacia el O₂ es de 5 a 6 veces menor que la de citocromo oxidasa. Concentraciones entre 5-20% de CO₂ (dependiendo del vegetal y de la concentración de O₂) generan la acumulación de etanol y acetaldehído dentro del tejido. Concentraciones del 6% de CO₂ estimulan la oxidación del malato y reduce la oxidación de citrato, α acetoglutarato, succinato, fumarato y piruvato en mitocondria. Concentraciones de CO₂ cercanas al 20% reducen la síntesis de etileno ya que se ha encontrado una acumulación de ácido-1carboxílico, 1-aminociclopropano (ACC) indicando un posible control sobre el sistema enzimático responsable de la conversión de ACC a etileno. El CO₂ presenta un efecto inhibitorio sobre la actividad del etileno ya que compite por los sitios de enlace del mismo etileno. Por otro lado puede ser que el CO₂ inhiba la oxidación del etileno a través de un mecanismo de retroinhibición, ya que durante la síntesis de etileno a partir de metionina en el paso final de ácido α -ceto- γ -metiltiobutírico a etileno se genera CO₂ y de esta forma se ejerce el proceso de retroinhibición a elevadas concentraciones de CO₂. Concentraciones mayores al 20% de CO₂ presentan un incremento en la producción de etileno causando daños fisiológicos al tejido, es probable que tal efecto se deba al estrés generado por el cambio de metabolismo (de aerobio a anaerobio). Tales concentraciones de CO₂ inhiben la glicólisis y la actividad de la enzima succinato deshidrogenasa del ciclo de Krebs, provocando una acumulación de ácido succínico el cual es tóxico para el tejido del vegetal, además reduce la formación de citrato/isocitrato y α acetoglutarato, no modificando la actividad de la deshidrogenasa malica. Otros cambios presentes en el tejidos expuestos a elevadas concentraciones de CO₂ son el oscurecimiento del tejido interno o externo debido a un aumento en la producción de compuestos fenólicos y a la actividad de la polifenol oxidasa, aunado a la acumulación de acetaldehído el cual induce la descomposición y eventual oscurecimiento del tejido. Un incremento en el pH del tejido se ha observado al empacar vegetales con elevadas concentraciones de CO₂, lo cual se cree que es solo un consecuencia de los efectos del CO₂ sobre el metabolismo normal o es una reacción directa del tejido de la planta a contrarrestar el efecto de acidificación del CO₂.

DETERMINACION DEL GENERO DE LOS MICRORGANISMOS

Durante la determinación de la carga microbiana a lo largo del monitoreo se fueron aislando diferentes tipos de microorganismos de acuerdo a las diferentes colonias que aparecieron en las dos etapas del monitoreo dentro de los medios de cultivo utilizados.

Al final del monitoreo de la etapa 2 se aisló mediante la técnica de estreado 5 microorganismos mesófilos aerobios con diferentes características en agar cuenta en placa, 4 microorganismos correspondientes a mesófilos anaerobios, aislados en agar para anaerobios de Brewer y 4 microorganismos identificados como hongos y levaduras aislados en agar sabouraud. Para determinar el género de los diferentes microorganismos se procedió con forme la figura 31.

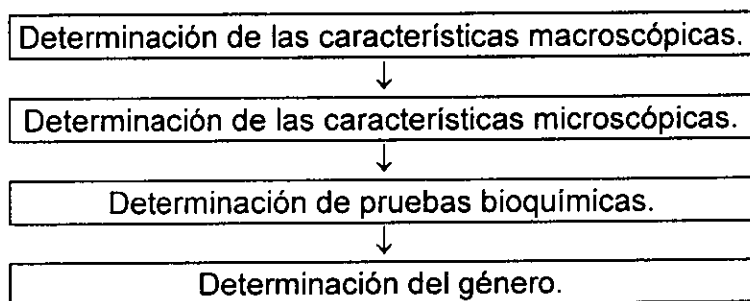


Figura 31. Diagrama de identificación del género de los microorganismos.

Cuadro 9. Determinación de las características macroscópicas de microorganismos mesófilos aerobios aislados en agar cuenta en placa.

Colonia No.	Forma	Borde	Superficie	Elevación	Color
MAe1	Circular	Entero	Rugosa	Plana	Crema
MAe2	Circular	Entero	Lisa	Elevada convexa	Crema
MAe3	Circular	Entero	Lisa	Elevada	Amarillo
MAe4	Circular	Entero	Lisa	Elevada convexa	Naranja
MAe5	Filamentoso	Velloso	Rugosa	Perfilada	Crema

Cuadro 10. Determinación de las características microscópicas de microorganismos mesófilos aerobios aislados en agar cuenta en placa.

Colonia No.	Gram	Agrupación	Formación de spora	Flajelo	Género
MAe1	+	Sarcinas	-	-	<i>Leuconostoc</i>
MAe2	+	Sarcinas	-	-	<i>Leuconostoc</i>
MAe3	-	Bacilos	-	Mono	<i>Pseudomonas</i>
MAe4	+	Stafilococos	-	-	<i>Micococo</i>
MAe5	+	Bacilo	+	Tetra	<i>Bacilo</i>

Del manual Bergy's se seleccionaron las pruebas bioquímicas para determinar el género de los microorganismos, empezando con el MAe5 y debido a las características macro y microscópicas cuadros 9 y 10 respectivamente. El bacilo es Gram positivo esporulado aerobio, por lo cual pertenece a la familia *Bacillaceae*, pudiendo pertenecer a los géneros *Bacillus* o *Sporolactobacillus*, por lo cual se aplicó la prueba de la catalasa, dando el resultado de esta prueba positiva, indicando que el microorganismo pertenece al género *Bacillus*, descartando que pertenece al género *Sporolactobacillus* cuyos microorganismos son catalasa (-).

Por otra parte el bacilo correspondiente al MAe3 de acuerdo a las características macro y microscópicas (cuadro 9 y 10) bacilo Gram negativo no esporulado y tomando en cuenta la materia prima analizada, dicha bacteria puede pertenecer a dos familias a) *Pseudomonaceae* o b) *Enterobacteriaceae*, por lo cual se aplicó la prueba de Hugh y Leifson la cual define el metabolismo por el cual la bacteria obtiene su energía, presentando metabolismo oxidativo los miembros de la familia *Pseudomonaceae* y metabolismo fermentativo los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*.

De esta prueba se encontró que el MAe3 pertenece a la familia *Pseudomonaceae*, una vez determinada la familia se procedió a identificar el género para lo cual se aplicaron las siguientes pruebas bioquímicas: hidrólisis de almidón (-), catalasa (+) y oxidasa (+), pertenece al género *Pseudomonas*. Una proteólisis de la leche y oxidasa (-) indican que el microorganismo pertenece al género *Xantomonas*, mientras que una prueba de hidrólisis de la gelatina y caseína (-) indican que el microorganismo pertenece al género *Zoogela*. Después de aplicar las pruebas bioquímicas se encontró que el microorganismo pertenece al género *Pseudomonas*. Reiterando este resultado con la prueba de la oxidasa la cual es (-) para *Xantomonas* y que el microorganismo es pigmentado eliminado a las bacterias del género *Zoogela* que no son pigmentadas.

Del manual Bergy's los cocos G(+) aerobios pueden pertenecer a la familia *Micrococcaceae*, debido a sus características microscópicas y microscópicas (cuadro 9 y 10 respectivamente), conteniendo a los géneros *Micrococcus*, *Staphylococcus* y *Planococcus*, descartando los dos últimos géneros debido a que tales microorganismos solo se han aislado de glándulas y membranas en mucosas, pus, exudado de heridas, quedando como alternativa el género *Micrococcus*, por lo cual se aplicaron las pruebas bioquímicas de hidrólisis de la arginina, catalasa, y producción de indol al resto de los microorganismos aerobios encontrando que el microorganismo MAe4 presentó los siguientes resultados: hidrólisis de la arginina (-), catalasa (+), producción de indol (-). Definiendo con esto que el microorganismo pertenece al género *Micrococcus*.

De acuerdo a los tratamientos aplicados al nopal fue factible propiciar el desarrollo de microorganismos aerobios facultativos, los cuales pertenecen a la familia *Streptococcaceae*, donde se encuentran los géneros *Leuconostoc*, *Pedicoccus*, *Aerococcus*, para lograr la identificación del género se aplicaron las pruebas bioquímicas de la catalasa, reducción de $\text{NO}_3 \rightarrow \text{NO}_2$, hidrólisis de la gelatina, hidrólisis de la arginina. Encontrando que los microorganismos MAe1 y el MAe2 generaron los siguientes resultados hidrólisis de la gelatina (-), reducción de $\text{NO}_3 \rightarrow \text{NO}_2$ (-), hidrólisis de la arginina (-), producción de ácido y gas, definiendo estos microorganismos del género *Leuconostoc*.

Cuadro 11. Determinación de las características macroscópicas de microorganismos mesófilos anaerobios aislados en agar Brewer.

Colonia No.	Forma	Borde	Superficie	Elevación	Color
MAAn1	Circular	Entero	Lisa	Elevada Convexa	Amarillo
MAAn2	Circular	Entero	Lisa	Elevada	Naranja
MAAn3	Circular	Entero	Lisa	Elevada convexa	Crema
MAAn4	Circular	Entero	Lisa	Elevada convexa	Blanco opaco

Cuadro. 12. Determinación de las características microscópicas de microorganismos mesófilos anaerobios aislados en agar Brewer.

Colonia No.	Gram	Agrupación	Formación de espora	Flajelo	Género
MAAn1	+	Sarcinas	-	-	<i>Ruminicoco</i>
MAAn2	- y +	Bacilos y cocos	-	-	<i>Ruminicoco</i>
MAAn3	+	Sarcinas	-	-	<i>Ruminicoco</i>
MAAn4	+	Sarcinas	-	-	<i>Ruminicoco</i>

Como todos los microorganismos mesófilos anaerobios son cocos Gram positivo, estos pertenecen a la familia *Peptococcaceae*, la cual contiene a los microorganismos del género *Peptococcus*, *Peptoestreptococcus* y *Ruminicoccus*. Para definir el género de los diferentes microorganismos se aplicaron las pruebas bioquímicas de producción de Indol, catalasa, celulasa, reducción de $\text{NO}_3 \rightarrow \text{NO}_2$, hidrólisis de almidón, hidrólisis de la gelatina y producción de H_2S . Encontrando que todas las bacterias son del género *Ruminicocos*, ya que los resultados de la prueba fueron celulasa (+), catalasa (-), Indol (-), H_2S (-), hidrólisis de almidón (-) y reducción de $\text{NO}_3 \rightarrow \text{NO}_2$ (-).

Cuadro 13. Determinación de las características macroscópicas de microorganismos hongos y levaduras aislados en agar Sabouraud.

Colonia No.	Crecimiento	Aspecto	Consistencia	Color
Hongo 1	Irregular	Rugosa	Seca	Blanco opaco
Hongo 2	Abundante	Algodonosa	Húmeda	Negro
Hongo 3	Abundante	Filamentosa	Seca	Blanco
Hongo 4	Irregular	Rugosa	Seca	Blanco opaco
Hongo 5	Abundante	Algodonosa	Húmeda	Verde olivo

Cuadro 14. Determinación de las características microscópicas de microorganismos hongos y levaduras aislados en agar Sabouraud.

Colonia No.	Hifa	Cuerpo Fructífero	Stolons y rhizoides	Tipo de espora	Género
Hongo 1	*	Ascus	-	Ascospora	<i>Pichia</i>
Hongo 2	No septada	Conidioforo (racimo)	-	Conidias	<i>Cladosporium</i>
Hongo 3	No septada	Esporangioforo	+	Esporangiospora	<i>Absidia</i>
Hongo 4	*	Ascus	-	Ascospora	<i>Pichia</i>
Hongo 5	Septado	Conidioforo	-	Conidias	<i>Penicillium</i>

En el caso de los hongos y levaduras tomando en cuenta las características microscópicas (cuadro 13) y las características microscópicas (cuadro 14) y además de confirmar el crecimiento de los hongos en agar selectivo para definir el género de cada uno de los microorganismos aislados, se encontró que el hongo 1 es una levadura que pertenece al género *Pichia*, el hongo 2 pertenece al género *Cladosporium*, el hongo 3 pertenece al género *Absidia*, el hongo 5 pertenece al género *Penicillium* y el hongo 4 es la misma levadura que el hongo 2 *Pichia*. Para esta levadura se determino el género tomando en consideración la forma de las ascas (sombbrero o planeta saturno) además de realizar la prueba de reducción de $\text{NO}_3 \rightarrow \text{NO}_2$ la cual resulto ser negativa para esta levadura confirmando con esto el género del organismo, estos datos concuerdan con lo reportado por Stamer et al. (1989) quien encontró a especies del género *Pichia* como responsables del deterioro de caldosos en nopales *Opuntia inermis*.

CONCLUSIONES.

1. El límite relativo de tolerancia del nopal para la concentración de CO_2 es de alrededor de 20% CO_2 .
2. Existe un mayor deterioro fisiológico en nopales empacados con alta concentración de CO_2 ($\geq 40\%$) en comparación con el control (nopales sin empacar).
3. Considerables trastornos metabólicos (pérdida de agua, arrugas en la epidermis y necrosis del tejido) se presentaron durante el EMAM de nopales con altas concentraciones de CO_2 .
4. La condición de 20% CO_2 fue la que logró mantener la estabilidad de los componentes fisicoquímicos del nopal en mejor condición.
5. No existe diferencia significativa en cuanto a la vida de anaquel aportada por las condiciones de T, 40% CO_2 y 80% CO_2 .
6. No se presentó diferencia significativa entre las condiciones de 20% CO_2 y EMAM.
7. En esta etapa de la investigación se logró un incremento de 3 días en la vida de anaquel con respecto al experimento de la etapa I propiciado por una baja permeabilidad al vapor de agua por parte del empaque utilizado.

CONCLUSIONES GENERALES.

1. Es factible la aplicación de la tecnología de empaque en atmósfera modificada (EMAM) para la conservación del nopal.
2. Se incrementó la vida de anaquel al doble al empacar el nopal en EMAM por 30 días.
3. La concentración máxima tolerable de CO₂ es del 20%.
4. Se logró incrementar la vida de anaquel del nopal verdura por mas de 35 días en estas condiciones.
5. Mediante el uso de EMAM se frenó la actividad metabólica del vegetal, aportando estabilidad en la textura y el color.
6. Mediante la aplicación del EMAM se logró controlar el desarrollo microbiológico en el vegetal, a excepción de los hongos.
7. Las bacterias aisladas pertenecen a los géneros *Bacilos*, *Pseudomonas*, *Leuconostoc*, *Micrococcos* y *Ruminicoco*.
8. Los hongos aislados pertenecen a los géneros: *Absidia*, *Cladosporium*, *Penicillium* y la levadura *Pichia*.
9. No se identificó ningún microorganismo de importancia en salud pública.
10. Es factible la comercialización del nopal verdura en estas condiciones de almacenamiento.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

LITERATURA CITADA

- Abdul-Raouf, U. M., Beuchat, L. R. and Ammar, M. S. (1993) Survival and growth of *Escherichia coli* 0157:H7 on salad vegetables. *Applied and Environmental Microbiology*, 59, 1999-2006.
- Aharoni N., Borkai-Golon R. y Avirom H., 1978. Reducing rot in stored lettuce With polyethylene lined packaging in scientific activities. Phamphlet No 184, Institute for Technology and storage of agriculture products. Bet Dogan Israel.
- Amir-Shapira D., Goldsmit, E.E. y Altman, A. 1987. Chlorophyll catabolism insenescencing plant tissue: In vivo breakdown intermediates suggest different degradative pathways for citrus fruit and parsley leaves. *Proceedings of the National Academy of Science*. 84, 1901-1905.
- Anandaswamy B. y Iyeron N., 1961. Pre-packaging of fresh snap beans (*P. Vulgaris*). *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 102 (6).
- Andre P., Blance R., Burret M., Chambory Y., Flanzky C., Foury C., Martin F. y Pelissec C., 1981. Globe artichoke storage trials combined the use of vacuum pre-refrigeration, controlled atmosphere and cold storage. *Rev. Hortic.* 211, 33, 1980; *Hortic. Abstr.* 51, 5452, 1981.
- Andre P., Burret M., Chambory Y., Dauple P. y Pelissec C., 1980. Conservation trials of asparagus spears by mean of vacuum pre-refrigeration associated with controlled atmosphere and cold storage. *Rev. Hortic.* 205, 19; *Hortic. Abstr.* 50, 7797.
- Babic I., Roy S. Watada E. y Wergin P., 1996. Changes in microbial populations on fresh cut spinach. *Int. J. Food Microbiol.* 31, 107-119.
- Baduí D.S., 1985. *Química de los Alimentos*. 2ª Edición, Edit. Alhambra, México.
- Barth M. M., Kerbel E. y Schmidt S., 1993. Modified atmosphere packaging affects ascorbic acid, enzyme activity and market quality of brocoli. *Journal of Food Science*. 61 (1) 176-179.
- Baker F. J., 1990. *Manual de Técnicas de Microbiología Medica*. 1ª Edición. Edit. Acribia, S.A. Zaragoza, España.
- Brackett, R. E. (1987) Microbial consequences of minimally processed fruits and vegetables. *Journal of Food Quality*, 10, 195-206.
- Bennik, M.H.J., Peppelenbos W., Nguyen C., Carlin F., Smid J. y Gorris L., 1996a. Microbiology of minimally processed, modified-atmosphere packaged chicory endive. *Postharvest Biology and Technology*. 9, 209-221.
- Bennik, M.H.J., Smmid E.J. y Gorris L.G., 1996b. Growth of psychotrophic foodborne pathogesina solid surface model system under influency of carbon dioxide en CO₂ and O₂. *Food Microbiol.* 12:509-519.
- Benson E. y Walkinton A, 1968. Tesis: Estudio para el aprovechamiento integral del nopal. Facultad de Contaduría, UNAM México.
- Ben-Yehoshua S., Kobilier I. y Shopiro B., 1980. Effects of individual seal-packaging of fruits in film of high density polyethylene (HDPE) on varios postharvest blemishes of citrus and tomatoes. *HortScience (Abstr.)* 15 (3) 93.
- Beyer, E.M. Jr., 1985. Ethylene metabolism. "Ethylene and Plant Development" En. J. A. Roberts and G. A. Tucker, p 125. Butterwoth, London.

- Bradford M. M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Reproduction Research Laboratories, Department of Biochemistry, University of Georgia Athens, Georgia 30602.*
- Bravo Hollis H., 1987. *Las cactaceas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. 1ª Edición Edit. Riveira. Mexico. 743pp.*
- Brecht, P.E., Kader, A.A. y Morris, L.L., 1973a. Influence of postharvest temperature on brown stain of lettuce. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 8:399.
- Brecht, P.E., Morris, L.L., Cheynev, C. y Janecke, D., 1973b. Brown stain susceptibility of selected lettuce cultivars under controlled atmospheres and temperatures. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 98 (3) 261.
- Brecht P. E., 1986. Use of controlled atmosphere to retard deterioration of produce. *Food Tech.* (1) 45-49.
- Burg, S. P. y Burg, E.A., 1967. Molecular requirements for the biological activity of ethylene. *Plant Physiol.* 42:144.
- Caciopo O., 1991. *Fico D'indicae pitaya. Ed. Linformatore agrario 70pp. Italy.*
- Callegas S.L., 1994. Tesis Maestria: Proyecto para la creación de una empresa enlatadora de nopal. Facultad de Contaduría y Administración, UNAM México. pág. 124.
- Cantwell M., 1991. Quality and Postharvest physiology of nopalitos and tunas. *Proc. First Annual Texas Prickly pear conference Mc. Allen Texas.*
- Castellanos J., Garcia J., Marilla A., Pedrigo S. y Gutierrez F., 1993. Quality of picua olive fruits stored under controlled atmosphere. *J. Agric. Food chem.* 40; 2260-2262.
- Cliff M., Toivonen P. y King M., 1969. Effect of atmosphere on broccoli sensory attributes in commercial modified atmosphere and microperforated packages. *J Food Sci.* 61 (3) 87-90.
- Coyne, F. P., 1993. The effect of carbon dioxide on bacterial growth with special reference to the preservation of fish. Part II. *J. Soc. Chem. Ind. (London)* 52, 19-24.
- Dennis C., Browne K. M. y Admicki F., 1979. Controlled atmosphere in tomatoes. *Proc. Symp. On Quality of vegetables, Acta Hort.* 93, 75.
- Eckert J. W., Rubio P.P. y Thompson A. K. 1975. *Postharvest pathology: diseases of tropical crops and their control. Edit. AVI publishing, westport. Conn. 415.*
- El-Goorani, M.A: y Sommer. N.F., 1981. Effects of modified atmospheres on postharvest pathogens of fruits and vegetables *Hort. Rev.* 3:412.
- Escamilla H.M.L., 1977. Tesis licenciatura: Proyecto para la industrialización del nopal. Facultad de Ciencias. UNAM, pág. 55-57.
- Estrada B. R., 1990. Tesis Licenciatura: Estudio del proceso de envasado de nopal encurtido. FES-Cuautitlán, UNAM, pág. 87.
- Everson, H.P., Waldron K.W., Geeson, J.D. y Brown, M., 1992. Effects of modified atmospheres on textural and cell wall changes of asparagus during shelf life. *International Journal of Food Science and Technology.* 27, 187-199.
- Feller's P. J. y Pflug I. J. 1981. Storage of pickling cucumber. *Food Technol.* 21, 74.

- Fellows P., 1994. Tecnología del procesado de los alimentos principios y prácticas. 1ª Edición, Vol. 1 S.A, Edit. ACRIBIA, Zaragoza, España, pág. 549.
- Fennema R. O., 1985. Food Chemistry, 2ª Edición, Edit. Marcel Dekker Inc, New York. pág. 476.
- Fox F, 1991. Food Enzymology. 1ª edición, Edit. Elsevier Applied Science, New York, pág. 172-176.
- Frati, A. C., Hernandez, de la Riva H., Ariza C. R y Torres M. D., 1983. Effects of nopal (*Opuntia sp.*) on serum lipids, glycemia and body weight. Arch. Invest. Med. Mexico 14: 117-125.
- Frati, A.C., Gordillo, C. R., Ariza y Chavez-Negrete A., 1989. Hypoglycemic effect of different doses of nopal (*Opuntia Streptacanta Lemaire*) in patients with type II diabetes mellitus. Archiv. Invest. Med. Mexico 20: 197-210.
- Frati, A.C., M.D. Valle-Martinez, Altemirano P., Ariza C. R., Cortes-Franco R., y Chavez-Negrete A., 1990. Acute hypoglycemic effect of *Opuntia Streptacantha lemaire* in NIDDM. Diabetes Care 13: 445-456.
- Frenkel, C. y Patterson M.E. 1973. Effect of carbon dioxide on activity of succinic dehydrogenase in Bartlett pears during cold storage. Hort. Science 8:395.
- Fucikovsky, L. y Luna I., 1990. Pajaros, Bacterias e insectos asociados con la pudrición de la tuna. Agrociencia serie Protección Vegetal 1: 137-139.
- Geeson J. D. y Browne K. M., 1979. Controlled atmosphere keeps coleslaw Crop greener. Grower 92, 36.
- Gerdes D. y Parrino V., 1995. Modified atmosphere packaging of Fuerte avocado halves. Food Tech. 42, 12-16.
- Goodwin T.W. 1975. Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. 1ª edición, Edit. Academic Prewss, New York, pág. 215-232.
- Groeschel, E.C. 1964. Quality and chemical changes of green beans stored in refrigerated modified atmosphere. Ph.D. thesis. Univ. of Illinois, Urbana.
- Guevara A., 1998. Tesis Licenciatura: Estudio para el procesamiento y almacenamiento del nopal (*Opuntia sp.*). Facultad de Química, UNAM.
- Halouat J. M y Debevere J.M., 1997. Effects of water activity, modified atmosphere and storage temperature on spore germination of moulds isolated from prunes. Int. J. Food Microbiol. 35, 41-48.
- Halouat M., Gourama H., Uyttendaele M. y Debevere J.M., 1998. Effects of modified atmosphere packaging and preservatives on the shelf-life of high moisture prunes and raisins. Int. J. Food Microbiol. 41, 177-184.
- Hatton T., Pantastico Er. B. y Akamine E. K., 1975. Harvesting and Handling; harvesting in postharvest physiology; Handling and Utilization of tropical and subtropical fruits and vegetables, Pantastico Er. B., edit. AVI Publishing. Westport, Conn.
- Heaton W. J., 1996. Discoloration of coleslaw is caused by chlorophyll degradation. J. Agric. Food Chem. 44: 395-398.
- Henderson J. R. y Buscher's R. W., 1977. Effects of sulphur dioxide and controlled atmosphere on broken and discoloration and processed quality attributes in snap bean. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 102, 6.
- Hintlian, C. B. and Hotchkiss, J. H. (1986) The safety of modified atmosphere packaging- A review. Food Technology, 40, 70-76.

- Hulme, A.C., 1956. Carbon dioxide injury and the presence of succinic acid in Apples. *Nature*. 178:218.
- Huxsoll C.C., 1986. Physicochemical changes and treatments for lightly processed fruit and vegetables. ACS Symposium series 405 food department Washington D. C.
- Ibañez C., 1979. Efecto Hipoglucemiante del nopal. *Archivos de Investigación Medica*, vol. 10, num. 4. México.
- Ibarra Z., 1994. Tesis de Licenciatura: La explotación comercial del nopal Tunero (*Opuntia amyclaea*) como fuente de desarrollo en zonas de temporal deficiente. ENEP- Aragón, UNAM México. pág. 74.
- Isenberg F. M. y Sayles R. M., 1969. Modified atmosphere storage of danish cabbage. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 94, 447.
- Izumi H., Watada A. y Douglas W., 1996. Low O₂ atmosphere affected storage quality of zucchini squash sliced treated with calcium *J. Food Sci.* 61 (2) 317-321
- Jackson A.M., 1976. *Chemistry and Biochemistry of plant pigments*. 2ª Edición, Edit. Academic Press, New York, vol. 1 pág. 1
- Joachim J. y Von H. Elve, 1989. *Chemistry of color improvement in termally processed green vegetables*. 1ª Edición, Wisconsin U.S.A. pág. 128-211.
- Kader A., 1986. Prevention of ripening of fruits and use of controlled atmospheres. *Food Tech.* (3) 51-54
- Kader A. y Morris L., 1977. Relative tolerance of fruits and vegetables to elevated CO₂ and reduced O₂ levels. *Michigan State Univ. Hort. Rept.* 28: 260.
- Kallander, K. D., Hitchins, A. D., Lancette, G. A., Schmieg, J. A., Garcia, G. R., Solomon, H. M. and Sofos, J. N. (1991) Fate of *Listeria monocytogenes* in shredded cabbage stored at 5 and 250C under a modified atmosphere. *Journal of Food Protection*, 54, 302-304.
- Kakiomerou K., Tassou C. y Nychas G., 1996. Microbiological, physicochemical and organoleptic changes of shredded carrots stored under modified storage. *Int. J. Food Sci. Tech.* 31, 359-366.
- Knee, M., 1980. Physiological responses of apple fruits to oxygen concentrations. *Ann. Appl. Biol.* 96:243.
- Kramer Amihud, 1973. *Texture Measurements of Foods*. 1ª. Edición. Edit. Reidel Publishing Company, Maryland U.S.A. pág. 71-104.
- Krieg N.R. y Holton J. G., 1984. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Tercera edición Edit. Williams y Wilkins. Baltimore.
- Kwang Soo Lee, 1996. Modified Atmosphere packaging of Mixed prepared vegetable salad dish. *Int. J. Food Sci. Tech.* 31:7-21.
- Leberman K. W., Nelson A. I. y Steinberg M. P., 1968. Postharvest change of brocoli stored in modified atmosphere. I. Respiration of shoots and colour of flowers heads. *Food Technol.* 22, 143.
- Lieberman M. y Hardenberg R. E., 1954. Effects of modified atmospheres on respiration and yellowing of brocoli to 75°F. *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.* 6, 409.
- Lill E. Ross, 1996. Asparagus response to controlled atmosphere in warm conditions. *Int. J. Food Sci. Tech.* 31: 117-121.
- Lipton, W. J. y Harris C. M., 1976. Response of stored cauliflower (*B. Oleracea* L. type, botrytis) to low O₂ atmospheres. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 91, 182.

- Lipton, W.J., 1977. Toward an explanation of disorders of vegetables induced by high CO₂. Michigan State Univ. Hort. Rept. 28:137.
- Martínez, A.G., Serrano N., Pretel T., Riquelme F. y Ramayo F., 1994. Modified atmosphere packaging minimizes increase in putrescine y abscisic acid levels caused by chilling injury in pepper fruits. J. Agric. Food Chem. 45, 1668-1672.
- Martínez, B.E., 1995. Agrupamiento jerárquico de veintinueve genotipos de *Opuntia spp.* mediante características del cladolo. Conocimiento y aprovechamiento del nopal, 6to. Congreso Nacional y 4to. Congreso Internacional, Universidad de Guadalajara, México.
- Mattheis P.J., 1991. Changes in Apple fruit volatile after storage in atmospheres induce anaerobic metabolism. J. Agric. Food Chem. 39, 1602-1605.
- McGlasson, W.B. y Wills, R.B., 1972 Effects of oxygen and carbon dioxide on respiration, storage life and organic acid of green beans. Aust. J. Biol. Sci. 23:35.
- Mondragón J.C., 1995. Ampliación de la época de la cosecha del nopal y tuna. Conocimiento y aprovechamiento del nopal 6to. Congreso Nacional y 4to. Congreso Internacional, Universidad de Guadalajara, México.
- Monning, A., 1983. Studies on the reaction of Krebs cycle enzymes from apple tissue (cv. Orange) to increased levels of CO₂. Acta Hort. 138:113.
- Morris, L.L y Kader A.A. 1977. Commodity requirements and recommendations for transport and storage selected vegetables Michigan State Univ. Hort. Rept. 28:266.
- Morris, J.R., Spayd, S.E., Brooks J.G. y Cawthon, D.L. 1981. Influence of postharvest holding on raw and processed quality of machine-harvest blackberries. J. Am. Soc. Hort. Sci. 1106:769.
- Nassar, A.R., 1966. Biochemical studies particularly involving organic and Amino acids in Thompson Seedlings and Emperor grapes during controlled atmosphere storage. Ph.D. thesis, Univ. of California, Davis
- Nobel Park S. 1995. Características de las zonas nopales de México. Conocimiento y aprovechamiento del nopal 6to, Congreso nacional y 4to. Congreso internacional. Universidad de Guadalajara, México.
- Omada, K.S., Reyes R.A. y Carcamo C.M., 1991. Etiología de la mancha negra del nopal. Memorias del V Congreso Nac. Soc. Méx. México. Fitopatología. p 11
- Pantastico E.B., 1975. Postharvest physiology, handling and utilization of tropical and subtropical fruits and vegetables. 1ª Edición, Edit. The Avi Publishing Company, Westport, Connecticut. pág. 234-239.
- Park H., Majett S.C. y Shewfelt R., 1994. Modified atmosphere and edible effects on storage life and quality of tomatoes. J Food Sci. V59 No 3.
- Parson C. S., 1980. Effects of temperature, packaging and sprinkling on the quality of stored celery. Proc. Am. Hort. Sci. 75, 446.
- Pimienta, B.E., 1990. Tesis licenciatura: El nopal tunero Universidad de Guadalajara. México. 246 pp
- Poma T. C. y Anoni A. 1969. Controlled atmosphere packaging in polyethylene and defoliation of stalks in the cold storage of artichoke. Riv. Ortofloro Fruttic Ital. 53, 203.

- Ramírez A.J.P. 1995. Conocimiento y aprovechamiento del nopal, 6to. Congreso Nacional y 4to. Congreso Internacional. Universidad de Guadalajara, México.
- Ramírez M. G. 1981. Tesis Licenciatura: Perspectivas para la utilización del nopal y la tuna. Facultad de Química. UNAM, Mexico. pág 86.
- Ramos R., 1980. Una observación clínica sobre el efecto hipoglucemiante del nopal (*Opuntia* sp.). Medicina Tradicional. vol. 3, num. 10 .
- Ranson, S.L., 1953. Zymasis and acid metabolism in highr plants. Nature 172:252.
- Ranson, S.L., Walker, D.A. y Clarke, I.D., 1957. Effects of carbon dioxide in michocondrial enzymes from ricinus. Biochem. J. 76:221.
- Reitz S., Karome D., Diamara M. M. y Trumble J. T., 1997. Effects of elevated atmospheric carbon dioxide on growth and linear furanocoumarin content of celery. J. Agic. Food Chem. 3642-3646.
- Renault P., 1994a. Gas exchange in modified atmosphere packaging 1: A new theoretical approach for a micro perforated packs. Int. J. Food Sci. Tech. 29, 365-378.
- Renault P., 1994b. Gas exchange in modified atmosphere packaging 2: Experimental result with strawberries. Int. J. Food Sci. Tech. 29, 379-394.
- Rodríguez Aguilar L.E., 1994. Tesis Licenciatura: Utilización de la energía de microondas en el escaldado de chicharo. Facultad de Química. UNAM, México. pág. 70.
- Rodríguez Armida, 1992. Quality changes of diced nopal during storage in polyethylene bags. 3^{er}. Annual Texas Prickly Pear Council Kingsville, Texas.
- Rodríguez F. A., 1986. Tesis maestria. Cambios fisicoquímicos y fisiológicos durante el desarrollo de cladios (nopalitos) de 3 especies de *Opuntia*. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Hermosillo, México.
- Rodríguez, M. T., Gonzales M. P. y Linares J. M., 1987. Degradation of chlorophyll and chlorophyllase activity in senescing barley leaves. J. of Plant Physiology. 129, 369-374.
- Ryall A. L. y Lipton W. J., 1972. Handling, Transportation and Storage of Fruits and Vegetables vol. I. Avi publishing. West port Conn.
- Sacher, J. A., 1973. Senescence and postharvest physiology. Annual Review of Plant Physiology. 129, 369-374.
- Saenz C., 1995. Características funcionales de la harina de nopal (*Opuntia ficus indica*) y su utilización en galletas. Conocimiento y aprovechamiento del nopal, 6to. Congreso Nacional y 4to. Congreso Internacional, Universidad de Guadalajara, México.
- Sepulveda E. 1995. Obtención y caracterización de harina de nopal (*Opuntia ficus indica*). Conocimiento y aprovechamiento del nopal. 6to. Congreso Nacional y 4to. Congreso Internacional. Universidad de Guadalajara, México.
- Shaw, Phillips E., 1992 Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. J. Agric. Food Chem., 40: 1041-1045.

- Singh B., Wang D. J., Saunkhe D. K. y Rahaman A. R. 1972a. Controlled atmosphere storage of lettuce I. Effects on quality and rate of respiration of lettuce heads. *J. Food. Sci.* 37, 48.
- Singh B., Wang D. J., Saunkhe D. K. y Rahaman A. R. 1972b. Controlled atmosphere storage of lettuce II. Effects on quality and rate of respiration of lettuce heads. *J. Food. Sci.* 37 (1), 52.
- Suhonen I., 1979. On the storage life of white cabbage in refrigerated store. *Acta Agric. Scand.* 19, 18.
- Sulunkhe D. y Desai B., 1984. *Postharvest Biotechnology of Vegetables*. Edit. CRC Press, Inc. Florida, EU.
- Sulunkhe D. y Wu M., 1973. Effects of low oxygen atmosphere storage on ripening and associated biochemical changes of tomato fruits *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 98, 12.
- Torrez L.J. 1991. Tesis Licenciatura: El cultivo del nopal tunero. Universidad de Chapingo, México. pág. 77.
- Torres S.M.L., 1991. Tesis Licenciatura: Importancia socioeconómica del cultivo de nopal en la Delegación Milpa Alta. Facultad de Economía, UNAM, México. pág. 66
- U.S. Food and Frug Administarsion, 1984. *Bacteriological Analytical Manual*. Washington, D.C.: APHA.
- Van Soest, P. J. y Wine, R. H., 1967. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. Determination of plant cell-wall constituents. *Journal of AOAC.* 50, 50-57.
- Wang S. S., Hard N. F. y Dimarco G. R., 1971. Chloropyll degradation during Controlled atmosphere storage of asparagus. *J. Food. Sci.* 36, 657.
- Wang C.Y., 1979 Effect of short-term high CO₂ treatment on the marquet quality of stored broccoli. *J. Food Sci.* 44; 1478-1482.
- Wang C. Y. y Qi L., 1997 Modified atmosphere packaging alleviates chilling injury in cucumbers. *Postharvest Biology and technology* 10, 195-200.
- Watada A., Kim S., Kim K. And Harrist T., 1987. Quality of green beans, bell paper and spinach stored in polyethylene bags. *J. Food Sci.* 52 (6) 137-1641
- Wills R.H 1985. *Fisiología y manipulación de frutas y hortalizas Post-Recolección*. 1ª Edición, Edit. ACRIBA. Zaragoza, España. pág. 214-240.
- Woodruf, RE., 1969. Overseas transport of fruits and vegetables. *Michigan State Univ. Hort. Rept.* 9:54.
- Yabuta Osorio L. y E Yoshiko, 1988, Tesis Maestria: Selección del método mas viable para la conservación del nopal Facultad de Química, UNAM, pág 89.
- Yahia, E.M., Nelson, K.E. and Kader, A.A. 1983. Postharvest quality and storage life of grapes as influenced by adding carbon monoxide to air or controlled atmospheres *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 108:1067.
- Yamahuchi N. y Watada E., 1993. Regulated chlorophyll degradation in spinach leaves during storage. *J. Food Sci.* 58, 616-618.
- Yang C., Chinan M., 1988. Modeling the effect of oxygen and carbon dioxide on respiration and quality of stored tomatoes. *Trans ASAE* 31 (3) 920.
- Zhuang H., Barth M. & Hildebrand P., 1995. Packaging influenced total chlorophyll, soluble protein, fatty acid and lipoxigenasa activity in broccoli florest. *J. Food. Sci.* 59 (6) 1171-1176.