



INHIBICIÓN DEL PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO EN NOPALES FRESCOS DESESPINADOS

Damián Aguilar, Nora Gutiérrez, Arturo Navarro

Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química "E" – UNAM, Cd. Universitaria, 04510 México, D.F. Fax 5622-5309, arturono@servidor.unam.mx

Palabras clave: nopal, peroxidasa, inhibición

Introducción. El nopal es una verdura de amplia aceptación en México principalmente para la preparación de diferentes platillos típicos. De igual forma la producción del nopal va en aumento; así que el nopal desespinado ha llegado a ser un problema para los productores de esta verdura debido a que a las pocas horas de haber sido procesado comienza a presentar manchas oscuras que provocan la pérdida del color verde brillante que lo caracteriza. Por tal motivo, no es posible mantener por mucho tiempo el nopal desespinado en exhibición para su venta y mucho menos se puede transportar a lugares lejanos de donde se procesa. La formación de las manchas en el nopal se debe a un oscurecimiento de tipo enzimático.

El objetivo general es determinar el tipo de enzima causante del oscurecimiento del nopal desespinado y probar una serie de inhibidores para este proceso.

Metodología La actividad enzimática (PPO/PO) se determinó usando métodos espectrofotométricos basados en la absorción a 475nm y usando Catecol como sustrato para la polifenoloxidasas y, una absorción a 470nm y Guayacol como sustrato y peróxido de hidrógeno como donador para la peroxidasa (1).

Se hicieron tres extractos crudos obtenidos de las espinas del nopal, de tejido de nopal sin espinas y de una mezcla de tejido y espinas. La extracción se hizo mediante la homogenización de la porción vegetal con buffer (pH=6.8) y posteriormente se precipitaron las proteínas mediante dos métodos, uno con acetona (2) y el otro con sulfato de amonio (3,4). Se determinó la actividad específica y la cantidad de proteína total mediante el método de Lowry.

En los ensayos de inhibición se probó una serie de compuestos análogos al sustrato de la enzima; estos ensayos consistieron en 1.5ml buffer, 0.3ml extracto, 0.2ml de H₂O₂, 0.2ml de guayacol y 0.2ml de inhibidor. Los inhibidores probados fueron hidroxycinamatos, ascorbato y flavonoides en diferentes concentraciones.

Resultados y discusión. La peroxidasa es la enzima que tiene actividad en el nopal, siendo las espinas donde se presenta la mayor actividad. Por un lado, este extracto presentó un aumento en la actividad enzimática de la peroxidasa conforme se fue purificando por precipitación con sulfato de amonio, y por otro lado, la cantidad de proteína fue disminuyendo conforme se purificó el extracto (tabla 1). La precipitación con acetona no presentó actividad enzimática. Se determinó la actividad específica de cada precipitado para comparar los métodos utilizados. Al analizar la actividad específica y la cantidad de proteína en los precipitados, y tomando en cuenta que la actividad

específica del extracto crudo como punto de partida, se encontró que el método de mayor rendimiento fue la precipitación de PO saturando con sulfato de amonio al 35 y 90% sucesivamente (tabla 1).

Tabla 1 Actividad específica de Peroxidasa en los precipitados

Método / Precipitado	Actividad Específica $\mu\text{M/s/mgProteína}$	Rendimiento	Proteína (mg/ml)
Extracto Crudo	4.50×10^{-3}	1	10.68
Sulfato de amonio 85%	4.81×10^{-1}	107	8.9×10^{-2}
Sulfato de amonio 35-90%	4.25	944	7.4×10^{-3}

De los inhibidores evaluados, el que inhibió por más tiempo la reacción de la peroxidasa fue el inhibidor del tipo de los ascorbato con concentraciones de 0.15% y 0.3%. Los otros inhibidores presentaron tiempos de inhibición cortos en las concentraciones probadas.

Conclusiones. Se obtuvo un extracto de las espinas del nopal con actividad enzimática. La enzima responsable del pardeamiento enzimático del nopal es la peroxidasa. El mejor método para purificar la porción proteínica del nopal fue la precipitación con sulfato de amonio mediante dos precipitaciones sucesivas al 35% y 90% de saturación. El compuesto que inhibió por más tiempo a la peroxidasa fue el inhibidor del tipo de los ascorbato en concentraciones de 0.15% y 0.3% evitando el pardeamiento enzimático del nopal.

Bibliografía.

1. Miller, D. (1998). Blanching Effectiveness. En: *Food Chemistry, a Laboratory Manual*. Wiley & Sons, EUA. 44-56.
2. Scopes, R. (1986). Separation by precipitation. En: *Protein purification*. Springerlag, EUA. 39-59.
3. Singh, N.; Singh, J. (2003). A Method for Large Scale Purification of Turnip Peroxidase and Its Characterization. *Biochem. Biotechnol.* Vol 33, No. 2, 125-135.
4. Padiglia, A.; Cruciani, E.; Pazzaglia, G.; Medda, R.; Floris, G. (1995) Purification and Characterization of *Opuntia* Peroxidase. *Phytochem.* Vol 38, No. 2, 295-297.