

**INACTIVACION TERMICA DE LAS ENZIMAS
POLIFENOLOXIDASA Y PEROXIDASA
EN ACELGA (*Beta vulgaris*, cicla).**

*Raúl L. Garrote,¹ Ricardo A. Bertone,² Enrique R. Silva³
y Oscar A. Sbodio⁴*

**Instituto de Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional
del Litoral, Santa Fe, República Argentina**

RESUMEN

La acelga (*Beta vulgaris*, cicla), es una verdura de hoja cuyo procesamiento por congelación se inició recientemente en Argentina. La etapa de escaldado es de especial importancia para evitar el deterioro de sus atributos sensoriales durante el almacenamiento. Si dicha operación no se realiza adecuadamente, puede producirse un oscurecimiento que devalora significativamente el producto.

Este trabajo tuvo por objeto estudiar la inactivación térmica en agua a 80°C, 90°C, y 96°C, de las enzimas polifenoloxidasas y peroxidasas, así como

Manuscrito modificado recibido: 7-7-83.

- 1 Ingeniero Químico y Profesor Adjunto en el Instituto de Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional del Litoral, C.C. 428, 3000 Santa Fe, República Argentina.
- 2 Licenciado en Química y Profesor Adjunto en el mismo Instituto.
- 3 Ingeniero Químico y Jefe de Trabajos Prácticos del citado Instituto.
- 4 Bioquímico y Profesor Adjunto del Instituto de Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional del Litoral.

las isoenzimas de la polifenoloxidasas en penca o tallo y hoja. Se investigó también la capacidad de retención de agua, después del tratamiento térmico y del enfriamiento correspondiente.

Se determinó que es necesario llevar a cabo el escaldado a una temperatura mayor de 90°C, a efecto de inactivar rápidamente la enzima polifenoloxidasas, y evitar así que los compuestos químicos formados en la reacción catalizada por dicha enzima, reaccionen a su vez y formen las sustancias coloreadas características.

INTRODUCCION

La acelga (*Beta vulgaris*, cicla), es una verdura de hoja rica en vitaminas y minerales, cuyo consumo en Argentina es importante, en un nivel similar al de la espinaca. Con relación a esta última, su contenido de agua, grasa, carbohidratos, y hierro es prácticamente igual, pero tiene una mayor concentración de sodio y potasio y de 60 a 95% de proteínas, calcio, fósforo, vitamina A, tiamina, riboflavina, niacina y ácido ascórbico (1). A diferencia de la espinaca —que se procesa empleando diferentes sistemas de preservación, tales como la deshidratación, el enlatado y la congelación— la acelga no había sido objeto, sino hasta recientemente, de interés industrial. En la actualidad, se le procesa por el sistema de congelación rápida, en bloque, en el estilo de hoja entera.

En general, la congelación de vegetales requiere inactivar el sistema enzimático con el objeto de lograr la estabilidad química del producto durante la fase de almacenamiento a baja temperatura.

Una de las enzimas más resistentes al tratamiento térmico es la peroxidasa y, por ello, normalmente se le utiliza como control de una etapa satisfactoria de escaldado.

Obviamente, la acelga requiere un tratamiento de inactivación enzimática, por cierto muy ajustado, ya que de lo contrario se produce un ennegrecimiento muy desagradable a nivel de la hoja y de la penca o tallo, respectivamente, haciéndola así inapta para el consumo, por rechazo sensorial.

En vista de que si el escaldado se lleva a cabo en forma correcta, se logra un producto irreprochable —con exaltación del color verde— es lógico pensar que el ennegrecimiento a que se hizo referencia tenga un origen enzimático. Por lo tanto, se acordó estudiar la inactivación térmica en agua caliente, tanto de la enzima polifenoloxidasas como de la peroxidasa, evaluar las relaciones exis-

tentes entre ambas en hoja, simulando condiciones industriales, y en el extracto en tubo de dimensiones fijas, así como las isoenzimas de la polifenoloxidasa, y determinar a la vez la capacidad de retención de agua en los diferentes tratamientos térmicos.

MATERIALES Y METODOS

Materia Prima

En todos los casos se empleó la variedad nacional de acelga (*Beta vulgaris*, cicla) provista por productores de la zona de Santa Rosa de Calchines (Provincia de Santa Fe), en cajones de 10 kg de hoja suelta recién cosechada. Luego de las etapas de cortado y retoque, según el estilo hoja entera, con sólo dos o tres cm de penca o tallo, las hojas se lavaron y seleccionaron de acuerdo al tamaño, a modo de integrar lotes homogéneos.

Inactivación Enzimática

a) *Por escaldado de las hojas de acelga* — Los ensayos de inactivación de las enzimas peroxidasa y polifenoloxidasa se llevaron a cabo en agua agitada a 80°C, 90°C y 96°C, mientras que el enfriamiento se hizo en agua helada agitada a 2°C. Se trabajó discontinuamente a escala de laboratorio, siendo la relación de agua a producto de 50 a 1 (2). Aprovechando la rigidez de los dos a tres cm de penca, las hojas eran acomodadas de tal forma en la cesta que las mismas tuviesen contacto homogéneo e individual con el medio de transferencia de calor; en el lecho de 10 cm de agua, la densidad de carga de producto obtenida fue de 3 kg/m². Los tiempos empleados a cada temperatura constante ($\pm 0.5^\circ\text{C}$), fueron de 0.25 min, 0.5 min, 1 min, 2 min y 4 min, respectivamente, medidos con cronómetro de precisión. Una vez enfriadas las hojas a 3°C durante dos a tres minutos se realizó la congelación de las muestras envasadas en bolsas de polietileno de alta densidad, en equipo de placas de doble contacto a -30°C , manteniéndolas almacenadas a -20°C . Parte de la muestra descongelada (90 g) de acuerdo a cada tratamiento térmico, se mezclaba entonces con 180 g de buffer (0°C) de concentración 0.067 M de K_2HPO_4 , pH 7 y se homogeneizaba durante tres minutos en un homogeneizador de alta velocidad, cuyo vaso había sido enfriado previamente a 0°C. El macerado se filtraba de inmediato a través de papel de

filtro para precipitados gelatinosos (marca Macherey, Nagel y Co., No. 640 W, de origen alemán), y el extracto se recogía en un Erlenmeyer colocado en hielo, utilizándose de inmediato para análisis de la actividad de la polifenoloxidasas.

b) *Por calentamiento en tubo de extractos de hoja de acelga* — En otro conjunto de experiencias se preparó un extracto a partir de las hojas de acelga. Se cortaron uniformemente las hojas frescas en pequeños trozos; 90 g fueron enfriados de inmediato en 180 g de buffer a 0°C de concentración 0.067 M de K_2HPO_4 de pH 7, homogeneizándose la muestra durante 3 min a alta velocidad en vaso pre-enfriado a 0°C. El macerado se filtró inmediatamente a través de papel de filtro, de acuerdo con a), y el extracto se recogió en un Erlenmeyer colocado en hielo, procediéndose seguidamente a su congelación y almacenamiento a -20°C. Para determinar la polifenoloxidasas, el extracto se descongeló y ultracentrifugó a 25,000 g a 0°C, durante 15 minutos. De dos a tres ml de este extracto se vertían en un tubo de vidrio de medidas iguales a un diámetro interno de 9.25 mm, diámetro externo de 11.40 mm y altura 95 mm. Se colocaba luego un set de seis tubos en el baño de agua caliente agitada; las temperaturas empleadas eran 80°C, 90°C y 99°C, y los tiempos de calentamiento, 0.25 min, 0.5 min, 1 min y 3 min. Una vez concluido el calentamiento, los tubitos se enfriaron rápidamente a 30°C en agua helada a 20°C durante dos minutos.

La evolución de la temperatura del extracto se seguía colocando una termocupla Cu-constantan en el centro del tubo, conectada a un potenciómetro (marca Leeds and Northrop, modelo portátil, de origen norteamericano).

En todos los casos, de inmediato se realizó la medición de la actividad de la enzima polifenoloxidasas.

Determinación de la Actividad de la Enzima Polifenoloxidasas

Se empleó, para el caso, el método colorimétrico, basado en el incremento de la absorción a 420 milimicras, de acuerdo a Ponting y Joslyn (3).

Las reacciones se llevaron a cabo en un Erlenmeyer de 50 ml, agregando 20 ml de solución buffer 0.01 M de K_2HPO_4 de pH 7; 2 ml de solución de catecol 0.5 M, y el volumen de 1 ml o menos de extracto enzimático. En el caso en que se utilizaba menos de 1 ml de extracto, dicho volumen se completaba con buffer 0.01 M de K_2HPO_4 , pH 7. Los componentes de la reacción se mezcla-

ban y transferían a una alcuota en 10 seg a una cubeta de 1 cm de paso, midiéndose la densidad óptica durante cinco minutos. La reacción se llevó a cabo a 23°C, y cada muestra se analizó por duplicado. Para la lectura colorimétrica se utilizó un espectrofotómetro Shimadzu (modelo QV50, de origen japonés); el instrumento fue estandarizado usando la misma solución sin el extracto enzimático.

La unidad de actividad de polifenoloxidasas se define como la cantidad de extracto enzimático (ml), que causa un cambio en la absorbancia de 0.001/minuto, en 20 ml de solución buffer con 2 ml de solución de sustrato agregada.

Electroforesis en Gel de Poliacrilamida

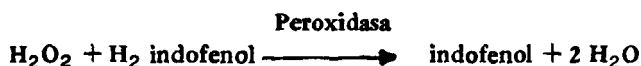
Para la extracción de la polifenoloxidasas de hoja y de penca fresca, se utilizó polivinilpirrolidona, de acuerdo a la técnica de Montgomery y Sgarbieri (4), adaptada a acelga. Se cortaban 60 g de acelga (hoja fresca) en pequeños pedazos y éstos eran homogeneizados con 120 ml de buffer acetato de 0.05 M (pH 5.6), que contenía 6 g de PVP, durante 1 min. Luego de la extracción, la mezcla se centrifugaba a 20,000 g durante 10 min a 4°C. El sobrenadante fue filtrado cuidadosamente a través de lana de vidrio y almacenado a -25°C hasta el momento de ser utilizado. Se empleó una técnica similar para los ensayos de penca escaldados a 80°C, durante 15 seg, 30 seg y 120 seg; a 90°C durante 30 seg y a 96°C durante 30 seg, habiéndose realizado el enfriamiento en agua helada a 2°C durante 2 min.

La electroforesis en gel de poliacrilamida se realizó de acuerdo a Davis (5) y Montgomery y Sgarbieri (4). Todas las corridas se efectuaron a 4°C, y al terminar las mismas, se extraían los geles de los tubos, enjuagándose en agua destilada, y sumergiéndolos en una solución de 10 mM de catecol que contenía 0.05% de fenilendiamina durante 30 min. Las bandas de las diferentes isoenzimas se mantuvieron estables en agua destilada por el término de una hora.

Determinación de la Actividad de la Enzima Peroxidasa

La actividad de la enzima peroxidasa se determinó en acelga fresca y escaldada a las diferentes temperaturas y tiempos, según metodología establecida en la parte a) de Inactivación Enzimática siguiendo el método establecido por la AOAC (6). La reacción

que opera y cuya constante específica de velocidad de reacción da una medida de la actividad enzimática es la siguiente:



La constante se expresa en unidades de min^{-1}/g de vegetal. La relación de la constante a un cierto tiempo-temperatura dividido por la constante del producto fresco, da la retención de actividad enzimática de la peroxidasa (7).

Determinación de la Capacidad de Retención de Agua en la Etapa de Escaldado

Las muestras de acelga se pesaron en una balanza de precisión (marca Mettler, modelo PI 1, procedente de Alemania Occidental), previo a someterse a tratamiento térmico a 90°C y 100°C durante 0.5 min, 1 min, 2 min y 4 min, respectivamente. Luego de escaldadas y enfriadas en agua helada a 2°C durante 2 min, y una vez realizado el escurrido estandarizado (10 seg de drenado con pesa de 2 kg), simulando condiciones industriales, se pesaban nuevamente, obteniendo así una medida del rendimiento de la operación y de la capacidad de retención de agua del tejido de acelga a cada condición de tiempo-temperatura.

RESULTADOS Y DISCUSION

La Figura 1 muestra una hoja de acelga fresca, congelada y descongelada, sin escaldado previo. Se nota especialmente a nivel del tallo o penca, en la hoja descongelada, un oscurecimiento cuya intensidad aumenta con el tiempo. En otras palabras, al no efectuarse la inactivación del sistema enzimático, y por efecto de la destrucción del tejido producido por la congelación, cuando los sustratos entran en contacto con el oxígeno, se producen reacciones de pardeamiento que devalorizan el producto. Dicho efecto no se aprecia en la muestra fresca y en la congelada, al menos en cortos períodos de almacenamiento.

Los valores de actividad de la enzima polifenoloxidasas determinados en penca y hoja fueron de 172 unidades de absorbancia/min ml y 490 unidades/min ml, respectivamente; sobre todo en la hoja, el valor es apreciablemente alto, ya que en un estudio realiza-

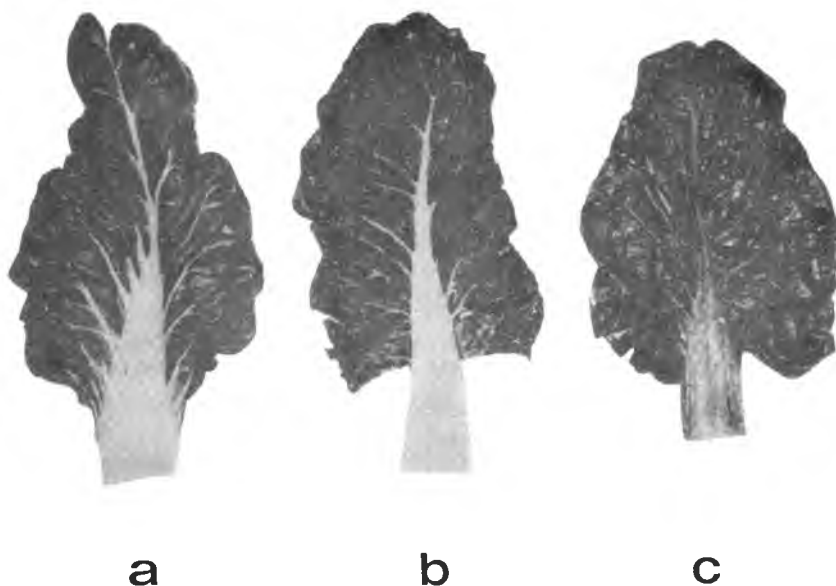


FIGURA 1

Hojas de acelga: a) fresca; b) congelada no escaldada; c) congelada-descongelada no escaldada

do en 40 variedades de remolacha, los valores extremos obtenidos fueron de 166 y 458 unidades/min ml, con un promedio de 340 unidades/min ml. En peras d'Anjou (9), el valor obtenido —siempre trabajando con catecol como sustrato— fue de 605 unidades/min ml. Por lo tanto, se nota que la actividad de polifenoloxidasa de la variedad nacional de acelga es significativa, lo que obliga a realizar la etapa de escaldado con especial cuidado. La actividad de la enzima peroxidasa en acelga fresca fue de $1.879 \text{ min}^{-1}/\text{g}$, habiéndose encontrado, en espinaca, por ejemplo, en investigaciones anteriores de nuestro grupo de trabajo, el valor de $2.554 \text{ min}^{-1}/\text{g}$.

Inactivación de la Enzima Polifenoloxidasa

La Figura 2 muestra los valores residuales de actividad enzimática de polifenoloxidasa en hoja a cada tiempo y temperatura. Según se aprecia, rápidamente se produce la inactivación de la enzima a las tres temperaturas. Así, después de 15 seg la actividad retenida fue de: 8.20% a 80°C , 3.73% a 90°C y 2.08% a

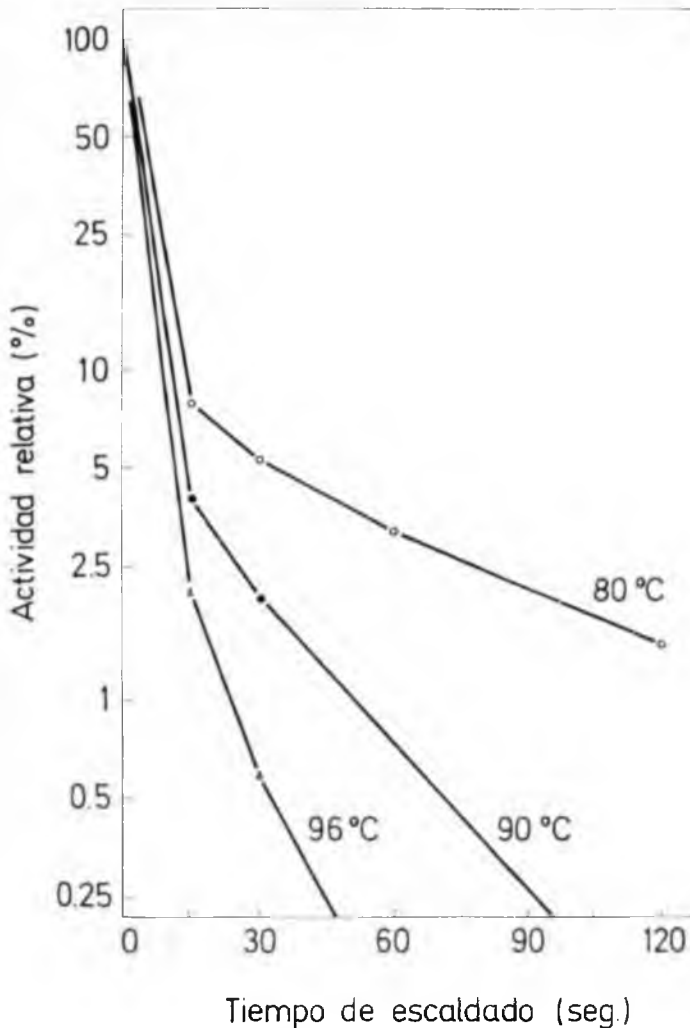


FIGURA 2

Inactivación térmica de la enzima polifenoloxidasasa en acelga (estilo hoja entera)

96°C. Es interesante subrayar el hecho de que a 80°C especialmente, y luego de 2 min de tratamiento térmico, la actividad residual fue de 1.17%, en tanto que a 90°C y 96°C y después de 90 seg y 45 seg, respectivamente, la actividad de la enzima fue prácticamente nula, lo que revelaría posiblemente la presencia de fracciones resistentes por debajo de 90°C.

Los valores D a 80°C, 90°C y 96°C, determinados una vez que la hoja alcanzaba la temperatura del baño termostático, luego de 15 seg, fueron 142 seg, 54 seg y 28 seg, respectivamente. El valor z fue de 22.50°C y la energía de activación $E_a = 26.45 \frac{\text{Kcal}}{\text{mol}}$ Ramaswamy y Rege (10) determinaron para la polifenoloxidasa de la fruta *Solanum melongana* una $E_a = 26.66 \frac{\text{Kcal}}{\text{mol}}$ en el rango 50-70°C. Para la peroxidasa del rábano picante ("horseradish"), Ling y Lund (11) determinaron en la fracción resistente, una $E_a = 21.10 \frac{\text{Kcal}}{\text{mol}}$, en tanto que Adams (12) obtuvo un valor de $E_a = 20.02 \frac{\text{Kcal}}{\text{mol}}$ para la peroxidasa de rábano picante en puré de arveja. Como era de esperar, la fracción resistente de polifenoloxidasa es más sensible a los cambios de temperatura que las fracciones resistentes de la peroxidasa, lo que indica que una forma apropiada de realizar una rápida inactivación de la misma es escaldar a temperaturas altas.

A efectos de analizar la inactivación de la polifenoloxidasa a cortos períodos de tiempo, evitando la falta de homogeneidad entre la hoja y la penca, también se determinó en tubo, la inactivación enzimática en extracto de acelga a tres temperaturas (Figura 3). En forma similar a lo acontecido en hoja de acelga, se produjo una rápida inactivación en el rango de temperatura desde la ambiental hasta la temperatura del medio de transferencia de calor, notándose que después de 1 min, tiempo en que se alcanza la temperatura del baño de agua caliente, ya se había producido la inactivación del 85% de la actividad enzimática a 80°C, el 90% a 90°C y el 95% a 99°C. En otros términos prácticamente hasta que se alcanza la temperatura de trabajo se produce la inactivación de gran proporción de la enzima, lo que hace impreciso el cálculo de parámetros cinéticos en ese rango. Parece deseable, por lo tanto, la estimación de dichos parámetros en las fracciones enzimáticas más resistentes, tal como se evaluaron en el caso de hoja de acelga.

Estas Figuras muestran que se puede lograr una adecuada inactivación de la enzima polifenoloxidasa en el estilo de hoja de acelga, a las diferentes temperaturas sometidas a ensayo, pero que sólo a altas temperaturas (mayores de 90°C) se consigue una rápida inactivación, lo que eventualmente evitaría las reacciones de decoloración; se ha constatado un efecto similar en jugos y pulpas de frutas (13, 14).

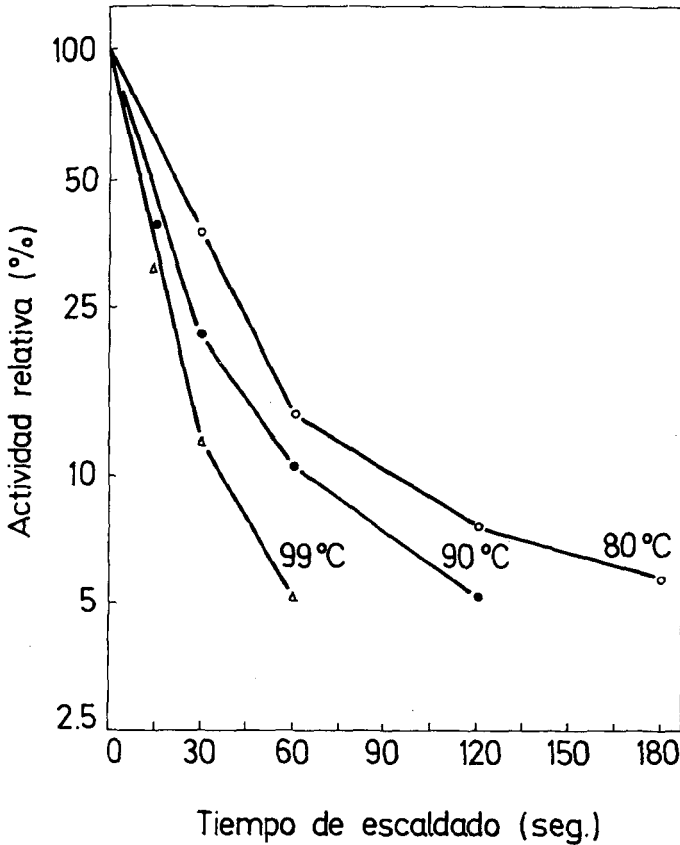


FIGURA 3

Inactivación térmica de la enzima polifenoloxidasasa en extracto de acelga

Inactivación de la Enzima Peroxidasasa

Las curvas de inactivación a tres temperaturas de la enzima peroxidasasa están trazadas en la Figura 4. Se aprecia también que ocurre una rápida inactivación a cortos tiempos; por ejemplo, después de 15 seg la actividad remanente a 80°C, 90°C y 96°C fue de 11.66/o, 4.54/o y 3.20/o, respectivamente, notándose mayor resistencia de la fracción lábil de peroxidasasa comparada con la de polifenoloxidasasa. No obstante, a diferencia de la polifenoloxidasasa, se ve que a las tres temperaturas experimentadas, la fracción resistente sigue una evolución similar, o sea que se necesitan tiempos

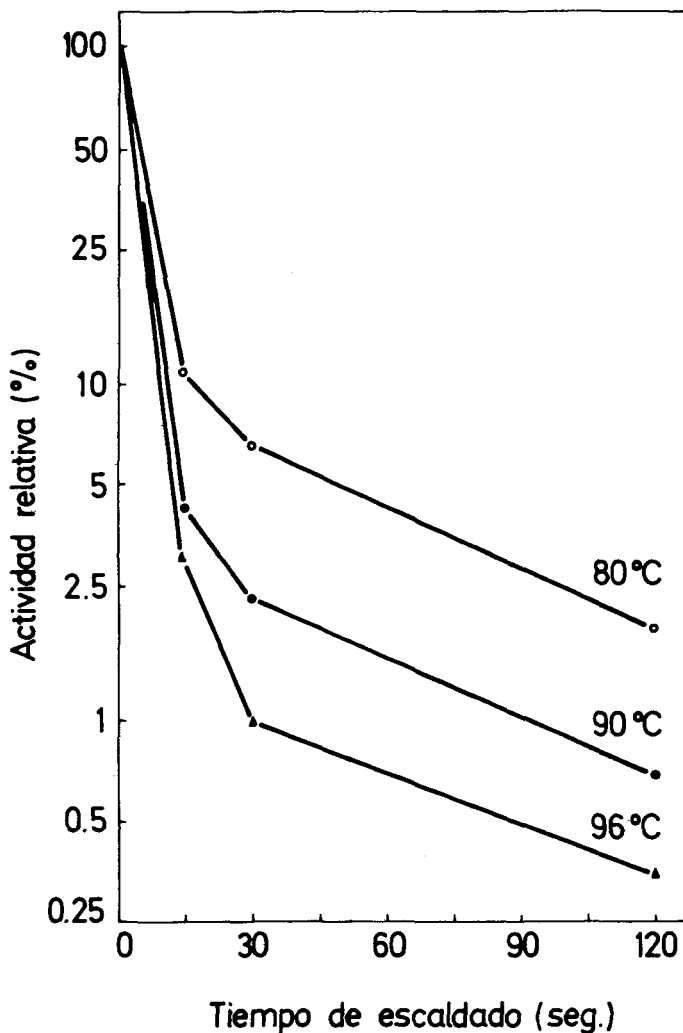


FIGURA 4

Inactivación térmica de la enzima peroxidasa en acelga (estilo hoja entera)

más largos para lograr una inactivación casi completa; es así que después de 2 min de tratamiento térmico, la actividad remanente de peroxidasa observada fue de 0.69% a 90°C y 0.35% a 96°C. El cambio de la pendiente en estas curvas de inactivación —que revelaría la existencia de fracciones enzimáticas de diferentes resistencias térmicas— fue descrito por otros autores en diferentes productos (7, 11, 12, 15, 16).

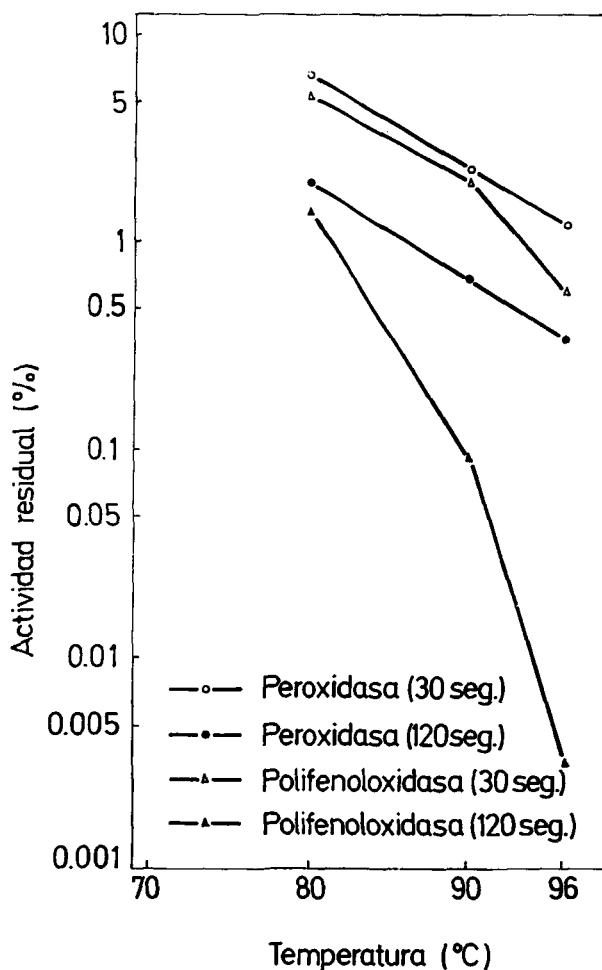


FIGURA 5

Efecto de la temperatura de escaldado a tiempo de calentamiento constante sobre la actividad residual de las enzimas polifenoloxidasasa y peroxidasa en acelga (estilo hoja entera)

En vista que después de los 30 seg de tratamiento se había producido una inactivación significativa de las enzimas polifenoloxidasasa y peroxidasa, se consideró interesante evaluar a tiempo constante (30 seg y 120 seg), la variación de la actividad residual de ambas enzimas en función de la temperatura.

Dicha variación la ilustra la Figura 5. Como era de esperar, no sólo se aprecia que la enzima peroxidasa es más resistente térmicamente, sino que también se ve que a 90°C se produce un cambio de la pendiente en la recta de destrucción o inactivación de la enzima polifenoloxidasa. Dicho en otros términos, a temperaturas superiores a 90°C se consigue un descenso significativo de la actividad de la enzima polifenoloxidasa. En este sentido, se observa que una actividad residual de peroxidasa del 10/o (nivel apto en términos comerciales) a 96°C, valor que se obtendría a los 40 segundos, permite disminuir la actividad residual de la enzima polifenoloxidasa a un valor de 0.250/o, con lo que se podría asegurar que el producto es susceptible de adquirir buena estabilidad, evitando los problemas de decoloración. Esto se aprecia en la Figura 6, que muestra hojas de acelga escaldadas a 80°C, 2 min; a 90°C, 30 seg y a 96°C, 30 seg. Sólo el tratamiento térmico de 96°C, 30 seg, entre los ensayos experimentalmente, permite evitar el oscurecimiento de la penca, mientras que con los otros dos se produce el pardeamiento. Estos resultados pudieron verificarse ampliamente en el procesamiento que una industria local de vegetales congelados realizó en escala comercial.

Isoenzimas de Polifenoloxidasa

Dada la importancia que en el fenómeno de oscurecimiento pueden tener las diferentes isoenzimas de polifenoloxidasa, se llevó a cabo un estudio de las mismas en hoja y penca.

La Figura 7 muestra que, tanto en la hoja como en la penca de acelga fresca, existen cinco isoenzimas que, corriendo en forma similar, no tienen la misma actividad ya que se encontraron diferencias en la intensidad de las bandas. A su vez, se aprecian las modificaciones sufridas por las diferentes isoenzimas de la penca a diferentes condiciones de tiempo-temperatura. Por ejemplo, a 80°C, 15 seg aparecen las cinco bandas; a la misma temperatura pero a 30 seg ya sólo corren dos isoenzimas, apareciendo dos bandas tenues, en tanto que a 120 seg no se determinó la aparición de ninguna banda. Un efecto similar fue constatado a 90°C y 96°C en 30 seg de tratamiento térmico.

Considerando que a 80°C, 120 seg y 90°C, 30 seg, no aparecen bandas correspondientes a isoenzimas de polifenoloxidasa, estos resultados demostrarían la posibilidad de que la enzima actúe muy rápidamente por debajo de 90°C en tiempos muy cortos, catalizando la reacción de oxidación de los compuestos fenólicos a

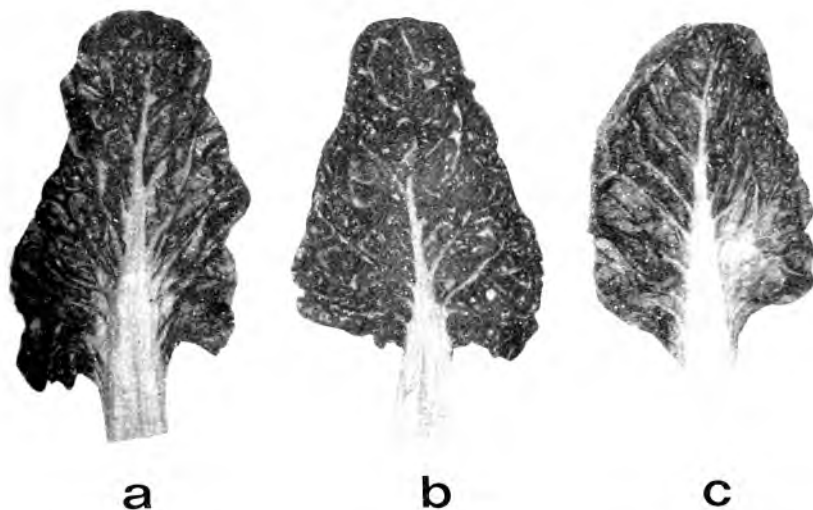


FIGURA 6

Hojas de acetga escaldadas que muestran diferente grado de pardeamiento:

a) 80°C — 2 min; b) 90°C — 30 seg; c) 96°C — 20 seg

o-benzoquinona. A su vez, ésta reacciona subsiguientemente a alta velocidad con otros compuestos fenólicos o aminados, produciendo el característico oscurecimiento de la penca (17).

La observación visual confirmaría esta posibilidad, ya que por ejemplo, las muestras escaldadas a 80°C durante 15 seg, salían del escaldador con menos pardeamiento que aquéllas que se escaldaron a 80°C, 120 seg. Esto significa que en el corto lapso en que la enzima no había sido inactivada todavía, se habrían producido los compuestos que más tarde, con el tiempo, y favorecidos por la temperatura desarrollarían las reacciones de formación del color. Por consiguiente, la clave está en inactivar rápidamente la enzima polifenoloxidasas, lo que se logra si la temperatura excede de 90°C.

Cambios en el Peso Drenado. Capacidad de Retención de Agua

Si bien el objetivo del escaldado es inactivar las enzimas capaces de producir deterioro a nivel organoléptico y nutricional du-

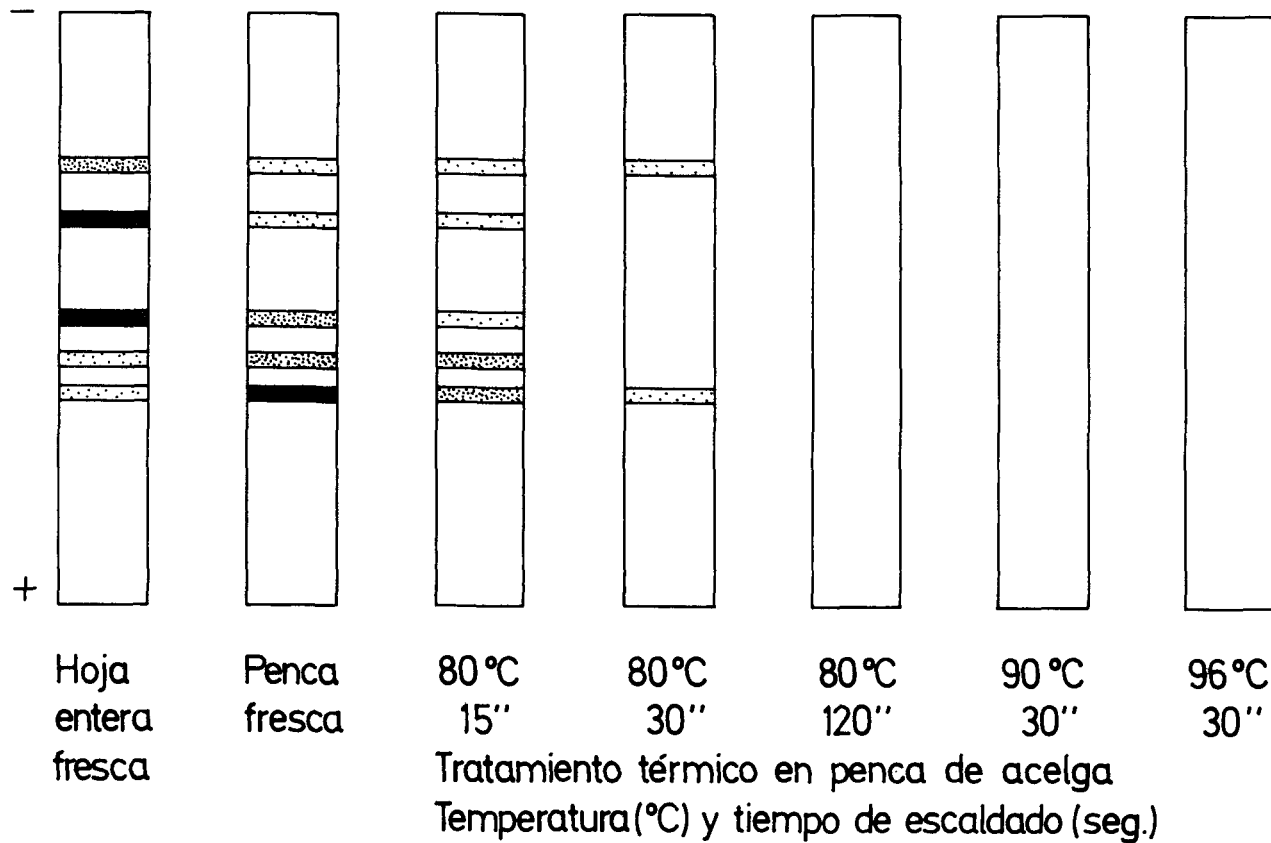


FIGURA 7

Isoenzimas de polifenoloxidasa en acelga

rante el almacenamiento, es necesario que la operación cumpla dicho requisito, afectando lo menos posible la pérdida de sólidos y de agua, a modo de maximizar los rendimientos. En general, el tratamiento térmico impone modificaciones en el tejido de las verduras de hoja, que, especialmente sufre cambios importantes en su capacidad de retención de agua. En este sentido, la Tabla 1 indica cómo las pérdidas de peso del tejido de acelga varían con la temperatura y los tiempos de escaldado. Según se nota, dichas pérdidas son importantes en ambos casos, y aumentan al incrementarse la temperatura y los tiempos de tratamiento térmico (18).

TABLA 1
PERDIDA DE PESO PORCENTUAL PROMEDIO DE ACELGA
ESCALDADA

Temperatura de escaldado (°C)	Tiempo de escaldado (min)			
	0.5	1	2	4
90	15.89	17.35	19.93	25.32
100	17.03	23.38	31.37	33.94

Salta a la vista que las pérdidas a 100°C son importantes, duplicándose prácticamente al pasar de 0.5 a 4 min. Este incremento, que representa un costo a tener en cuenta porque significa una merma en el rendimiento del proceso, subraya la importancia de realizar una inactivación enzimática estricta y ajustada, a fin de evitar el desagradable oscurecimiento pero, a la vez, es necesaria si se ha de lograr una optimización en el rendimiento final de la operación de escaldado.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo permiten concluir que el tratamiento de inactivación enzimática por medios térmicos, como etapa previa a la congelación de acelga y a efectos de lograr un control adecuado de la reacción de oscurecimiento, debe llevar-

se a cabo a una temperatura mayor de 90°C. En esas condiciones se impide la acción de la enzima polifenoloxidasa, y el producto retiene totalmente el color original a nivel de la hoja y penca.

Con miras a lograr un rendimiento óptimo, el tratamiento térmico debe ajustarse estrictamente al logro del objetivo de inactivación enzimática, para lo cual se sugiere el uso de escaldadores de baja densidad de carga que permitan cortos tiempos de residencia. De este modo, y de acuerdo a los parámetros experimentales evaluados, la relación temperatura-tiempo de 96°C, 40 seg, sería satisfactoria.

SUMMARY

THERMAL INACTIVATION OF POLYPHENOLOXIDASE AND PEROXIDASE IN SWISS CHARD (*Beta vulgaris*, cicla)

The freezing of Swiss chard has just started in Argentina. The blanching stage is fundamentally important to avoid damage of sensorial and nutritional properties during storage. If the process is not properly carried out, darkening can seriously affect the product. In this research work the thermal inactivation of polyphenoloxidase and peroxidase enzymes has been studied, in water at 80, 90 and 96°C, as well as the polyphenoloxidase isoenzymes in the spear and leaf of the plant and the water-holding capacity after thermal treatment.

Blanching has to be performed at a temperature higher than 90°C in order to inactivate the enzyme polyphenoloxidase at a suitable rate which will avoid the formation of the characteristic colored substances.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento al Programa Nacional de Investigaciones en Tecnología de Alimentos de la Subsecretaría de Ciencia y Tecnología de la República Argentina, por su aporte financiero para el desarrollo de esta investigación.

BIBLIOGRAFIA

1. United States Department of Agriculture. **Composition of Foods.** Agriculture Handbook No. 8, 1963, p. 22.

2. Garrote, R., R. Bertone & O. Rista. Efecto de las condiciones de blanqueo y congelación sobre las características estructurales y físico-químicas del tejido de zanahoria. *Revista del I.T.A.*, 2: 89-101, 1977.
3. Ponting, J. D. & M. A. Joslyn. Ascorbic acid oxidation and browning in apple tissue extracts. *Arch. Biochem.*, 19: 47-63, 1948.
4. Montgomery, M. W. & V. C. Sgarbieri. Isozymes of banana polyphenoloxidase. *Phytochemistry*, 14: 1245-1249, 1975.
5. Davis, B. J. Disc electrophoresis. 2. Method and application to human serum proteins. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 121: 404-427, 1964.
6. Association of Official Agricultural Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 11th. ed. Washington, D. C., The Association, 1970, p. 564.
7. Garrote, R., R. Bertone & E. Silva. **Estudio del Procesamiento por Congelación de Papas en Bastones**. Informe final convenio Dirección General de Industrias (Pvcia. de Santa Fe, Argentina), Instituto de Tecnología de Alimentos (U.N.L.), Congelar S. A., 1980, p. 28.
8. Lee, C. Y. & N. L. Smith. Blanching effect on polyphenoloxidase activity in table beets. *J. Food Sci.*, 44: 82-86, 1979.
9. Halim, D. H. & M. W. Montgomery. Polyphenoloxidase of d'Anjou pears (*Pyrus communis* L.). *J. Food Sci.*, 43: 603-608, 1978.
10. Ramaswamy, S. & D. V. Rege. Polyphenoloxidase of *Solanum melongena* and its natural substrate. *Acta Alimentaria*, 4: 355-365, 1975.
11. Ling, A. C. & D. B. Lund. Determining kinetic parameters for thermal inactivation of heat resistant and heat labile isozymes from thermal destruction curves. *J. Food Sci.*, 43: 1307-1310, 1978.
12. Adams, J. B. The inactivation and regeneration of peroxidase in relation to the high temperature short time processing of vegetables. *J. Food Technol.*, 13: 281-297, 1978.
13. Ponting, J. D. The control of enzymatic browning of fruits. En: **Food Enzymes**. H. W. Schultz (Ed.). Westport, Conn., The Avi Publishing Co., 1960, p. 105-124.
14. Aylward, F. & D. R. Haisman. Oxidation system in fruits and vegetables. Their relation to the quality of preserved products. *Advances in Food Research*, 17: 2-76, 1969.
15. Yamamoto, A. Y., M. P. Steinberg & A. I. Nelson. Kinetic studies on the heat inactivation of peroxidase in sweet corn. *J. Food Sci.*, 27: 113-119, 1962.
16. Duden, R., A. Fricker, K. Heintze, K. Paulus & H. Zohm. Influence of heat treatments of spinach at temperatures up to 100°C on important constituents. IV. Peroxidase. *Lebensmittel-Wissen. Techn.*, 8: 147-180, 1975.

17. Whitaker, J. R. **Principles of Enzymology for the Food Sciences.** New York, N. Y., Ed. Marcel Dekker, 1972, p. 572.
18. Paulus, K., A. Fricker, R. Duden, K. Heintze / H. Zohm. Influence of heat treatments of spinach at temperatures up to 100°C on important constituents. II. Changes of drained weight and contents of dry matter, vitamin C, vitamin B, and oxalic acid. **Lebensmittel-Wissen. Techn.**, 8: 11-16, 1975.