

## INFLUENCIA DEL TIPO Y TIEMPO DE COCCIÓN EN LA DEGRADACIÓN DE CLOROFILA EN HORTALIZAS

Bautista-Villarreal M., Núñez-González A.<sup>\*</sup>, Amaya-Guerra C., Báez-González Juan, Espinoza-Mata A., Rodríguez-Arzave A., Miranda-Velázquez L., Castañeda-Garza E., Cárdena-Ávila M.

Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas. Av. Universidad s/n Cd. Universitaria, San Nicolás de Los Garza, N. L., C.P. 66451. México.

\*maria.nunezgn@uanl.edu.mx

### RESUMEN

Puesto que el color verde es una de las principales características sensoriales en la determinación de la calidad final del procesado térmico en hortalizas verdes, es importante prevenir o por lo menos minimizar la degradación de la clorofila durante el procesamiento térmico en la industria alimentaria, a dicho compuesto se le atribuyen propiedades anticancerígenas, antimutagénicas y quimiopreventivas contra agentes como hidrocarburos policíclicos y aflatoxinas. El interés por la clorofila en tecnología alimentaria no estriba tanto en su uso como aditivo, sino en evitar que se degrade durante el procesado y almacenamiento, la presente en forma natural en los alimentos de origen vegetal. Por lo cual el propósito del presente trabajo, fue evaluar la posible pérdida de este pigmento presente naturalmente en los vegetales de hoja verde por efecto de diferentes tiempos y procesos de cocción mediante la técnica colorimétrica de Goodwin. Los resultados mostraron que el mayor contenido de clorofila total y sus componentes A y B se presenta en la espinaca. El salteado fue el proceso de cocción que mejor conserva el contenido de clorofila en los vegetales de hoja verde. Combinando tiempos y procesos, los valores de clorofila total más altos se presentaron en espinaca procesada al vapor.

### ABSTRACT

Since color green is a major sensory characteristic in determining the final quality of the thermal processing of green vegetables, in the food industry, it is important to prevent or at least minimize the degradation of the chlorophyll during thermal processing, this molecule is attributed with anticancer, antimutagenic and chemopreventive properties against agents such as polycyclic hydrocarbons and aflatoxins. The real interest in the food industry with chlorophyll is not to use it as an additive but to avoid its degradation during processing and storage; this is a phenomenon that occurs naturally in vegetal food. Therefore the purpose of this study was to evaluate the potential loss of this naturally present in green leafy vegetables pigment by effect of different cooking times and processes using the colorimetric technique Goodwin. The results showed that the vegetable with most content of total chlorophyll and its A and B components is the spinach. The stir was the cooking process that best preserves the chlorophyll content in green leafy vegetables. Combining time and processes, the highest chlorophyll value was present in steamed spinach.

**Palabras clave:** Clorofila, cocción, hortalizas.

**Área:** Frutas y Hortalizas

### INTRODUCCIÓN

La clorofila, es el pigmento responsable del característico color verde de frutas y verduras, es altamente susceptible a la degradación durante el procesamiento, lo que resulta en cambios de color en los alimentos. Uno de los parámetros más importantes en la calidad de un alimento es su color, está relacionado con la presencia de pigmentos en los tejidos, la clorofila es uno de ellos, está presente en plantas y algas y es el elemento básico para la transformación de la energía del sol en el proceso de la fotosíntesis.

Las clorofilas se utilizan poco como aditivos alimentarios, solo ocasionalmente en aceites, chicle, helados y bebidas refrescantes, en sopas preparadas y en productos lácteos. Su empleo está muy limitado, en el queso a 600 mg/kg y en algunas conservas vegetales y yogures 100 mg/kg, por lo que la fuente de ingestión se restringe al consumo de alimentos que lo contengan de manera natural, siempre y cuando no se pierda por el proceso de cocción (Jiménez et al., 2004).

La clorofila en las plantas incluye clorofila A y la clorofila B, que se producen en la relación aproximada de 3:1. La primera tiene un grupo metilo en la C - 3 de carbono, mientras que la B tiene un grupo formilo enlazado al mismo átomo de carbono. Además de las diferencias estructurales entre ambas, sus estabilidades térmicas también son diferentes. La clorofila A es térmicamente menos estable que la clorofila B (Nuray et al., 2006).

El interés por la clorofila en tecnología alimentaria no estriba tanto en su uso como aditivo, sino en evitar que se degrade durante el procesado y almacenamiento, la que esta presente en forma natural en los alimentos de origen vegetal. El calentamiento hace que las clorofilas pierdan magnesio, transformándose en otras sustancias llamadas feofitinas y cambiando su color verde característico por un color pardo oliváceo mucho menos atractivo. Este efecto puede producirse en el escaldado de las verduras previo a su congelación, en el enlatado, etc. También le afecta el oxígeno, la luz y la acidez, resistiendo mal además los periodos de almacenamiento prolongados (Ahmed et al., 2002).

Hace 2400 años Hipócrates estableció el aforismo “Que tu alimento sea tu medicina y que tu medicina sea tu alimento”, el tema vuelve a estar de actualidad. En estudios recientes, se le han atribuido a la clorofila propiedades anticancerígenas, antimutagénicas y quimiopreventivas contra agentes químicos como hidrocarburos policíclicos e incluso aflatoxinas (Breinholt, et al., 1995, Chermonosky et al., 1999, Dashwood, et al., 1991, Harttig, et al., 1998).

Por lo cual el propósito del presente trabajo, es evaluar la posible pérdida de este pigmento presente naturalmente en los vegetales de hoja verde por efecto de diferentes tiempos y procesos de cocción mediante la técnica colorimétrica de Goodwin.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se adquirieron muestras de acelga, espinaca, verdolaga y berro directamente del súper mercado, se separó la lámina foliar libre de nervaduras de cada vegetal y se sometieron a los diferentes procesos y tiempo de cocción.

1.- Cuantificación de clorofila A, B y total acelgas, espinacas, verdolagas y berros, cocinados a vapor a 1,3 y 5 minutos.

- 1.1 Se tomó una muestra de material vegetal fresco.
- 1.2 Se cocinó a vapor a 100 °C durante 1, 3 y 5 minutos para cada tratamiento respectivamente, utilizando una estufa con control de temperatura.
- 1.3 Al finalizar el tiempo establecido se pasaron inmediatamente a un baño con agua helada por 30 segundos para cortar la cocción.
- 1.4 Se colocaron sobre papel secante para eliminar el exceso de líquido.
- 1.5 Se determinaron clorofila A, B y total.
- 2.- Análisis del contenido de clorofila A, B y total acelgas, espinacas, verdolagas y berros, cocinados mediante salteado a 1,3 y 5 minutos.
  - 2.1 Se tomó una muestra de material vegetal fresco.
  - 2.2 Se cocinó mediante salteado en una plancha eléctrica con control de temperatura, durante 1, 3 y 5 minutos a 200 °C para cada tratamiento respectivamente.
  - 2.3 Al finalizar el tiempo establecido se pasaron inmediatamente a un baño en agua helada por 30 segundos para cortar la cocción.
  - 2.4 Se colocaron sobre papel secante para eliminar el exceso de agua.
  - 2.5 Se determinó clorofila A, B y total.
- 3.- Determinación de la cantidad de clorofila A, B y total en acelgas, espinacas, verdolagas y berros, cocidos mediante el hervido a 1,3 y 5 minutos.
  - 3.1 Se tomó una muestra de material vegetal fresco.
  - 3.2 Se cocinó en agua hirviendo durante 1, 3 y 5 minutos para cada tratamiento.
  - 3.3 Al finalizar el tiempo establecido se pasaron inmediatamente a un baño con agua helada por 30 segundos para cortar la cocción.
  - 3.4 Se colocaron sobre papel secante para eliminar el exceso de líquido.
  - 3.5 Se determinaron clorofila A, B y total.
- 4.- Determinación del contenido de clorofila A, B y total en acelgas, espinacas, berros, y verdolagas mediante la técnica de Goodwin.
  - 4.1 Se pesó por triplicado 0.5 g de cada una de las muestras sometidas a los diferentes procesos de cocción y se maceraron en una solución de acetona-agua al 80% v/v.
  - 4.2 El extracto obtenido se pasó a través de un embudo buchner en papel filtro Whatman 1.
  - 4.3 El filtrado se aforó a 10 mL con la misma solución.
  - 4.4 Se leyó absorbancia en un espectrofotómetro SEQUOIA-TURNER 690 a una longitud de onda de 648 y 663 nm.
  - 4.5 La cuantificación de clorofila A, B y total se realizó de acuerdo a las siguientes ecuaciones.  
mg/g peso fresco de CLOROFILA TOTAL= (20.2) (A 648) + (8.02) (A 663)  
mg/g peso fresco de CLOROFILA A = (12.7) (A 663) + (2.69) (A 648)

mg/g peso fresco de CLOROFILA B = (22.9) (A 648) - (4.68) (A 663)

A= Absorbancia a 648 y 663 nm según corresponda.

5.- Análisis estadístico de resultados. Se analizaron tres tipos de clorofila (A, B y total) en cuatro vegetales de hoja verde (acelgas, espinacas, berros, y verdolagas) cocinados mediante tres métodos (vapor, hervido y salteado) a cuatro diferentes tiempos (0, 1, 3 y 5 minutos) por triplicado, respectivamente con lo cual se establece un diseño 4x4x3x3 para un total de 144 unidades muestrales. El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante la aplicación del paquete Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) para un ANOVA y en los casos en que se encuentren diferencias, se realizó una comparación múltiple de medias de Tukey (Zar, 2009), en un arreglo factorial A x B x C con diseño completamente al azar.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La comparación múltiple de medias entre las muestras y los diferentes procesos aplicados nos demuestra que los valores de clorofila total más altos se presentan en espinaca procesada al vapor registrando 67.58 mg/g cifra que es estadísticamente diferente a la obtenida con los otros procesos. Por el contrario en berro y verdolaga el valor más alto se presentó con el proceso de salteado obteniéndose 62.62 mg/g y 28.89 mg/g respectivamente, siendo estos contenidos diferentes estadísticamente a los valores obtenidos en vapor y hervido, un estudio de las pérdidas de clorofila durante el escaldado y el secado de okra realizado por Shivhare et al., (2000), reportó que el método de escaldado influye más que la temperatura de secado en la misma. Asimismo, Schmalko y Alzamora (2001) estudiaron la pérdida de color y clorofilas en el procesamiento industrial de hojas de yerba mate encontrando que el 80% de la pérdida de las clorofilas tenía lugar en el hervido, mientras que con cocción seca se tenía una pérdida menor (10%). El calor húmedo hace que la clorofila se pierda mayormente que el calor seco (Figura 1).

La comparación de medias para cada una de las muestras en relación al tiempo de aplicación de los diferentes procesos nos demuestra que en acelga y verdolaga el mayor contenido de clorofila se presenta en el control con 67.60 mg/g y 23.88 mg/g cifras estadísticamente diferentes a las obtenidas en el resto de los tiempos. Por el contrario en espinaca y berro la mayor cantidad de clorofila se presenta a los 5 minutos con 67.19 mg/g en espinaca y 60.26 en berro; lo cual concuerda con el estudio realizado por Ahmed *et al.*, (2002), en el cual concluye que el color de las espinacas, hoja de mostaza y el puré de ambas hojas, definitivamente se fue degradando durante el proceso térmico. El comportamiento general de estos resultados se presenta en la (Figura 2).

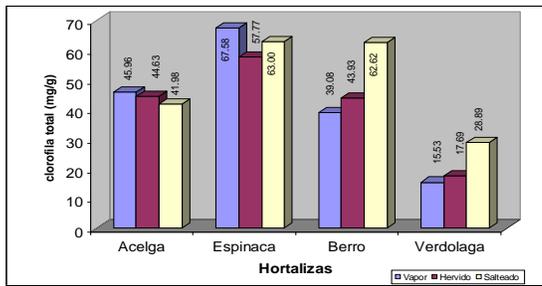


Figura 1. Contenido promedio de clorofila en cada diferentes hortalizas por proceso de cocción.

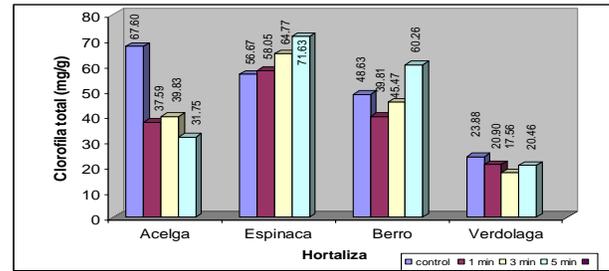


Figura 2. Contenido de clorofila total de hortaliza en los diferentes tiempos.

Tabla 1. Resultados de la interacción de procesos y tiempos para cada una de las muestras.

Muestras	Factor A (procesos)	Niveles del Factor B			
		Control	1 min.	3 min.	5 min.
Acelga	Vapor	76.5264 A	40.1666 B	32.0243 B	35.1035 AB
	Hervido	77.8580 A	12.0081 C	50.0357 A	38.6371 A
	Salteado	48.4007 B	60.5892 A	37.4179 AB	21.4962 B
Espinaca	Vapor	42.5827 B	61.7885 A	81.3118 A	84.6317 A
	Hervido	50.9569 B	61.8410 A	43.5824 B	74.6816 A
	Salteado	76.4816 A	50.5157 A	69.4168 A	42.2463 B
Berro	Vapor	41.5073 B	42.6553 A	42.9154 A	29.2563 B
	Hervido	39.7370 B	26.1702 B	40.0071 A	69.8084 A
	Salteado	64.6445 A	50.6035 A	53.4974 A	81.7291 A
Verdolaga	Vapor	19.9529 B	23.0179 A	8.1417 B	11.0068 B
	Hervido	29.5581 A	16.6054 A	9.9846 B	14.5963 B
	Salteado	22.1384 AB	23.0873 A	34.5480 A	35.7711 A

\* Letras diferentes denotan diferencia estadísticamente significativa.

En la Tabla 1, se muestran los resultados obtenidos al analizar la interacción de procesos y tiempos para cada una de las muestras. De acuerdo a estos se observa que existen diferencias estadísticamente significativas con la formación de al menos dos grupos para cada conjunto de datos. En acelga con el proceso de vapor se forman dos grupos estadísticamente diferentes siendo con el control el valor más alto (76.53 mg/g) y es el que marca estas diferencias; con el proceso de hervido se presentan tres grupos estadísticamente por un lado el control con 77.86 mg/g y por otra parte los tratamientos de 3 y 5 minutos con 50.04 mg/g y 38.64 mg/g respectivamente.

En conclusión, el mayor contenido de clorofila total así como el de sus componentes  $\alpha$  y  $\beta$  se presenta en la espinaca al registrarse valores de 62.78, 49.68 y 20.83 mg/g respectivamente. El salteado fue el proceso de cocción que mejor conserva el contenido de clorofila en los vegetales de hoja verde. El tratamiento de 5 minutos de cocción, mantuvo la máxima concentración de clorofila, siendo ligeramente

menor a la cantidad obtenida en el control. Combinando tiempos y procesos, los valores de clorofila total más altos se presentaron en espinaca procesada al vapor.

## BIBLIOGRAFÍA

- AHMED, J., KAUR, A., SHIVHARE, U., 2002. Color degradation kinetics of spinach, mustard leaves, and mixed puree. *Journal of Food Science*. 67(3).
- BREINHOLT, SCHIMERLIK, DASHWOOD, BAILEY. 1995. Mechanisms of Chlorophyllin Anticarcinogenesis against Aflatoxin B1: Complex Formation with the Carcinogen. *Chem. Res. Toxicol.* 506–514.
- CHERMONOSKY, S., SEGELMAN, A., PORETS, R., 1999. Effect of dietary chlorophyll derivatives on mutagenesis and tumor cell growth. *Teratogen Carcinogen Mutagen.* 19:313-322.
- DASHWOOD, RH., BREINHEIT, V., BAILEY, GS., 1991. Chemopreventive properties of chlorophyll in inhibition of aflatoxin B1 (AFB1)-DNA binding in vivo and antimutagenic activity against AFB1 and two heterocyclic amines in the Salmonella mutagenicity assay. *Carcinogenesis.* 12:939-942.
- GOODWIN, T.W., 1976. *Chemistry and biochemistry of plant pigments*. Vol. 1 & 2. Ac. Press Inc. N. Y.
- HARTTIG, U., BAILEY, G.S., 1998. Chemoprotection by natural chlorophylls in vivo: inhibition of dibenzo (a,1) pyrene-DNA adducts in rainbow trout liver. *Carcinogenesis.* 19(7):1323–1326.
- JIMÉNEZ, M.E., ZAMBRANO, M. L. Y AGUILAR, M.R., 2004. Estabilidad de Pigmentos en Frutas Sometidas a Tratamiento con Energía de Microondas. *Información Tecnológica.* 15(3): 61-66.
- NURAY KOCA, FERYAL KARADENIZ, HANDE SELEN BURDURLU. 2006. Effect of pH on chlorophyll degradation and colour loss in blanched green peas. *Food Chemistry.* 100:609–615
- SCHMALKO ME.; SCIPIONI, P. G.; FERREYRA, D. J. Y ALZAMORA, S. M., 2001. Efecto de la actividad del agua y la temperatura en la degradación de la clorofila y el color en hojas de yerba mate. *Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones.*
- SHIVHARE, U., GUPTA, A., BAWA, A., GUPTA, P. 2000. Drying Characteristics and Product Quality of Okra. *Drying Technology.* 18(1&2): 409-419.
- ZAR, J. H., 2009. *Biostatistical Analysis*. Tercera edición. Prentice Hall Inc. N.Y. 718.