

(S5-P178)

**EFFECTO PROTECTOR DEL PROCESADO MÍNIMO SOBRE LOS  
COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL  
BRÓCOLI (*Brassica oleracea* L. var *italica*) DURANTE LA  
CONSERVACIÓN FRIGORÍFICA Y RUPTURA DE LA CADENA DE  
FRÍO**

**JUAN ANTONIO MARTÍNEZ, BEGOÑA DE ANCOS\*, CONCEPCIÓN SÁNCHEZ-  
MORENO y M. PILAR CANO**

Departamento de Ciencia y Tecnología de Productos Vegetales, CSIC, José Antonio Novais nº 10,  
28040-Madrid, España, e-mail: [ancos@if.csic.es](mailto:ancos@if.csic.es). Tef. 915492300. Fax: 915493627

**Palabras clave:** brócoli – envasado atmósfera modificada - EAM – refrigeración – vitamina C – glucosinolatos – fenoles totales – actividad antioxidante - DPPH

**RESUMEN**

Numerosos estudios epidemiológicos han demostrado que el consumo de una dieta rica en brócoli reduce de forma significativa el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer, efecto protector relacionado con una serie de compuestos bioactivos conocidos como glucosinolatos, vitamina C y compuestos fenólicos. El procesado mínimo de productos vegetales se ha revelado como una tecnología efectiva para obtener productos vegetales seguros y con la apariencia de frescura inicial durante más de dos semanas en refrigeración, manteniendo o modificando mínimamente sus propiedades nutricionales o características beneficiosas para la salud.

El objetivo de este trabajo ha sido estudiar el efecto de un procesado mínimo [corte, lavado-higienizado, envasado bajo atmósfera modificada-EAM (4%CO<sub>2</sub>-16%O<sub>2</sub>)], sobre los compuestos bioactivos más importantes de brócoli, vitamina C (105,06 mg ácido ascórbico /100g pf), compuestos fenólicos (36,50 mg ácido clorogénico/100 g pf), glucosinolatos totales (16,41 μmoles/g ps) y actividad antioxidante (EC50 45,3 g ps/g de DPPH), durante 23 días a 4 °C. También se estudió el efecto de la posible ruptura de la cadena del frío durante la distribución y comercialización mediante la transferencia del producto de 4 °C a 20°C.

El tratamiento de higienización, con o sin solución de hipoclorito sódico (150 ppm), no influyó significativamente sobre el contenido de los compuestos bioactivos estudiados. Sin embargo, el corte dio lugar a un aumento estadísticamente significativo de aproximadamente un 40% y 21% en la concentración de glucosinolatos y fenoles totales, respectivamente. El incremento en compuestos fenólicos se correlacionó ( $r=0.7162$ ,  $p<0.05$ ) con el incremento de la actividad antioxidante (40%). Sin embargo, la fase de corte dio lugar a un descenso del 27% en la concentración de vitamina C. Las concentraciones de vitamina C, fenoles totales y actividad antioxidante descendieron significativamente después de 2 días a 4 °C, manteniéndose constante desde este día hasta el final del estudio. Sin embargo, los glucosinolatos no se modificaron durante la conservación a 4 °C. La ruptura durante 24h de la cadena del frío después de 8 y 14 días de conservación a 4 °C, no afectó significativamente a los compuestos bioactivos estudiados. Estos datos confirman que la EAM conserva los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante de brócoli incluso tras una posible ruptura de la cadena del frío durante las etapas de transporte, distribución y venta.

## PROTECTIVE EFFECT OF MINIMALLY PROCESSING ON BIOACTIVE COMPOUNDS OF BROCCOLI (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) DURING REFRIGERATED STORAGE AND AFTER COLD CHAIN RUPTURE

**Keywords:** Broccoli – modified atmosphere packaging – MAP – cold storage – vitamin C – glucosinolates – total phenols – antioxidant capacity – DPPH

### ABSTRACT

Different epidemiologic studies have shown the relationship between the consumption of broccoli and the risk reduction of suffering cardiovascular diseases and certain types of cancer, being this protective effect related with some bioactive compounds as glucosinolates, vitamin C and total phenolic compounds. Minimally processing is an effective technology to obtain fresh appearance vegetable products with their nutritional and health-promoting properties unchanged more than two weeks in refrigerated storage.

The objective of this work was to study the effect of minimally processing [cutting, washing, modified atmosphere packaging-MAP (4%CO<sub>2</sub>-16%O<sub>2</sub>)] on the main bioactive compounds of raw broccoli, vitamin C (105,06±4,21 ascorbic acid mg/100g fw) total phenolic compounds (36.50 chlorogenic acid mg/100 g fw), total glucosinolates (16,41 µmoles/g dw), and antioxidant capacity (EC50 45.3 g dw/g of DPPH), during 23 days at 4 °C. The effect of the rupture of cold chain on bioactive compounds and antioxidant capacity was studied by transferring the products to 20 °C.

Sodium hypochlorite solution washing (150 ppm) did no significant modify the bioactive content in broccoli sprouts. Although, cutting the stem of broccoli produced a significant increase of 40% and 21% in the total glucosinolates and phenol content, respectively. Total phenol increase has been correlated ( $r=0.7162$ ,  $p<0.05$ ) with the antioxidant capacity increase (40%). In other way, the cutting step produced a significant decrease of 27% on the vitamin C content in fresh cut broccoli. The vitamin C and total phenol content and antioxidant capacity significant decrease after 2 days at 4°C under MAP, remained unchanged since this day until the end of refrigerated storage. Total glucosinolates content remained unchanged during all the storage period at 4 °C. Transferred the products at 20 °C during 24 hours after 8 and 14 days at 4 °C, did not significant modified the bioactive compounds and antioxidant capacity of broccoli sprouts. The combination of MAP is a suitable tool to maintain bioactive compounds and antioxidant capacity of broccoli, indeed after the rupture of cold chain during the transport and commercialization of the fresh cut product.

### INTRODUCCIÓN

*El brócoli* (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck), es un vegetal que pertenece a la familia *Brassicaceae* cuyo origen más probable se centra en Asia Occidental y las costas de la zona noreste del Mediterráneo (desde Grecia hasta Siria). El brócoli es una buena fuente de vitaminas del grupo B, como riboflavina, niacina y tiamina así como de compuestos con actividad de provitamina A ( $\beta$ -Caroteno). Además presenta un alto contenido en vitaminas antioxidantes (C, A), potasio, fibra y bajo aporte calórico. Numerosos estudios epidemiológicos han demostrado que el consumo de una dieta rica en crucíferas, especialmente brócoli, reduce de forma significativa el riesgo de padecer ciertos tipos de cáncer (próstata, pulmón, tracto gastrointestinal, etc) (Verhoeven et al, 1997; Cohen y et al, 2000; Chiao et al, 2002; Kristal y Lampe, 2002; Giovannucci et al, 2003).

El potencial saludable del brócoli se ha relacionado con su alta concentración en constituyentes bioactivos de distinta naturaleza, como vitamina C, compuestos flavonoides, carotenos y glucosinolatos, siendo esta concentración variable en función de la variedad, estado de madurez y tratamientos post-cosecha (Vallejo et al, 2003; Jeffery et al, 2003; Jones et al, 2006).

Los glucosinolatos más significativos del brócoli son la glucorafanina, la glucobrasicina, la progoitrina, y la gluconasturtina. Cuando el tejido del vegetal se lesiona, bien durante el procesado o mediante la masticación del alimento, se rompen las membranas celulares, poniéndose en contacto la enzima mirosinasa (tioglucósido glucohidrolasa, EC 3.2.3.1) con los glucosinolatos que se hidrolizan dando lugar a distintos compuestos como los isotiocianatos, nitrilos, y tiocianatos, que son compuestos bioactivos con actividad anticancerígena. Entre los compuestos de hidrólisis que presentan actividades biológicas, y particularmente anticancerígenas se encuentran: el sulforafano (derivado de la glucorafanina), el fenilisotiocianato y el indol-3-carbinol (Zhang y Talalay, 1994; Wu et al, 2005)

La vitamina C (ácido ascórbico, ascorbato), es uno de los antioxidantes más efectivos y el menos tóxico, siendo de destacar su efecto protector frente a los radicales libres. Numerosos estudios epidemiológicos muestran una fuerte relación entre los efectos saludables de la ingesta de frutas y hortalizas con su contenido en vitamina C (Ness et al, 1996; Block et al, 2002).

El brócoli presenta una importante concentración en compuestos fenólicos, principalmente derivados de ácidos fenólicos (sinápico, ferúlico, cafeico y p-cumárico) siendo mayoritario el ácido clorogénico y los flavonoides, entre los que destaca los glicósidos de kaempferol y de quercetina (Vallejo et al, 2003).

Los vegetales mínimamente procesados en fresco constituyen una gama de alimentos de creciente interés científico y económico y han aumentado su cuota de mercado en España de forma significativa. Según datos de la Asociación Española de Frutas y Hortalizas Lavadas y Listas para su Empleo (AFHORLA) formada por el 90% de las empresas productoras, la comercialización de hortalizas y frutas frescas cortadas en 2006 fue de 53.465 toneladas, lo que supone un aumento del 20% frente al ejercicio del año anterior con un volumen de negocio de 200 millones de Euros. La mayoría del producto comercializado corresponde a hortalizas y tan sólo 19 toneladas fueron frutas cortadas. Estos productos presentan grandes ventajas al consumidor actual por su facilidad y comodidad de preparación y porque mantienen sus propiedades de frescura iniciales relativas al color, textura y sabor, sin reducir las propiedades nutricionales y beneficiosas para la salud.

Los vegetales frescos cortados son acondicionados para su consumo directo mediante procesos sencillos (pelado, corte, lavado, higienizado), se envasan bajo un film plástico y se conservan en refrigeración bajo atmósfera modificada-EAM (modified atmosphere packaging, MAP). Las frutas y hortalizas frescas cortadas, al no haber sido sometidas a procesos severos como los tratamientos térmicos, mantienen las características de frescura del vegetal inicial y también retienen los constituyentes nutricionales y los compuestos responsables de sus propiedades saludables. Sin embargo, teniendo en cuenta el incremento del consumo presente y futuro de los vegetales frescos cortados, es necesario un mayor conocimiento de los cambios químicos y bioquímicos que tienen lugar durante el procesado y conservación de estos productos y que puedan afectar la estabilidad de los compuestos bioactivos y por tanto al potencial saludable de este tipo de productos.

El objetivo de este trabajo ha sido el estudio el efecto de las distintas etapas de un procesado mínimo sobre el contenido en vitamina C, fenoles totales y glucosinolatos, algunos de los compuestos bioactivos responsables del potencial saludable de brócoli. Asimismo, y teniendo en cuenta que son productos que se conservan en refrigeración y que la temperatura es un de los factores determinantes de su calidad, se ha estudiado el efecto sobre los

compuestos bioactivos de la ruptura cadena del frío que puede tener lugar durante su transporte, distribución, exposición en los lineales de venta y tras ser adquirido por el consumidor.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material de partida

El brócoli (*Brassica oleracea* L. var italica, cv. Marathon), categoría I, procedentes de Tudela, Navarra (España) fueron adquiridos en Mercamadrid en Enero de 2004. Las características físico-químicas iniciales del producto fresco fueron: pH,  $5,93 \pm 0,05$ ; acidez titulable,  $0,188$  g de acid. cítrico/100 g pf; sólidos solubles ( $^{\circ}$ Brix),  $9,25 \pm 0,29$ ; contenido en agua (%),  $89,38$ ; color,  $L^* = 42,75 \pm 0,75$ ,  $a^* = 4,96 \pm 0,28$  y  $b^* = 24,42 \pm 0,25$ .

### Procesado

Se eliminaron partes no comestibles como hojas y parte inferior del tallo. La mitad del producto a procesar se cortó en inflorescencias de aproximadamente 5 cm de diámetro, mientras que la otra mitad se mantuvo como florete entero sin cortar (20-25 cm  $\varnothing$ ). A continuación se lavaron los dos tipos de producto, entero y cortado, con agua (4  $^{\circ}$ C) y burbujeo para eliminar restos de tierra.

La fase de higienización se realizó por inmersión de la mitad de cada lote de productos (entero y cortado) en solución de agua fría (2-4  $^{\circ}$ C) o solución de hipoclorito sódico (150 ppm) durante 1'5 min. La fase de escurrido se realizó en centrifuga de uso doméstico. La Tabla 1 muestra las muestras analizadas en función del procesado.

A continuación se introdujeron 300 g de producto (entero y cortado) en bolsas de permeabilidad alta ( $O_2$ :  $22500 \text{ cc m}^{-1} \text{ day}^{-1} \text{ atm}^{-1}$ ), preformadas de polipropileno (20 x 33,9 cm) orientado de 35  $\mu\text{m}$  de espesor (Pplus, AMCOR flexibles, Ledbury, UK).

La conservación se realizó a 4  $^{\circ}$ C durante 23 días, con toma de muestras a los 0, 2, 6, 9, 15 y 23 días. A los 8 y 14 días de conservación a 4  $^{\circ}$ C se toman dos bolsas de cada tratamiento y se pasan a 20  $^{\circ}$ C durante 24 horas.

Las muestras se estabilizaron por congelación y se guardaron a  $-80$   $^{\circ}$ C hasta el momento del análisis.

**Tabla 1.** Muestras en función del tipo de procesado

Nomenclatura	Condiciones de Procesado
CA	<b>Corte:</b> Producto cortado en floretes 5 cm <b>Lavado:</b> Agua 4 $^{\circ}$ C <b>Envasado:</b> Atmósfera modificada
CCI	<b>Corte:</b> Producto cortado en floretes 5 cm <b>Lavado:</b> Solución 150 ppm de hipoclorito 4 $^{\circ}$ C <b>Envasado:</b> Atmósfera modificada
EA	<b>Corte:</b> Sin corte. Pella entera de 25 cm diámetro y tallo de 8cm <b>Lavado:</b> Agua 4 $^{\circ}$ C <b>Envasado:</b> Atmósfera modificada
ECI	<b>Corte:</b> Sin corte. Pella entera de 25 cm diámetro y tallo de 8cm <b>Lavado:</b> Solución 150 ppm de hipoclorito 4 $^{\circ}$ C <b>Envasado:</b> Atmósfera modificada

### **Análisis de gases en las bolsas**

Se analizaron CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> mediante el analizador PBI-Dansensor AS, CheckMate 9900 (Dinamarca). La atmósfera de equilibrio en el interior de las bolsas se alcanzó al segundo día de conservación y fue de 16-18% O<sub>2</sub> y de 3-5% CO<sub>2</sub>.

### **Vitamina C total**

El análisis de Vitamina C total se realizó a partir de 16 g de muestra mediante HPLC con detector de UV-vis de diodos mediante la reducción del ácido dehidroascórbico a ácido ascórbico, utilizando ditiotreitól (DTT) como agente reductor según metodología descrita previamente (Plaza et al, 2003).

### **Fenoles totales**

La determinación del contenido de fenoles totales se realizó mediante un ensayo colorimétrico empleando el reactivo Folin-Ciocalteu según el método descrito por Vinson et al (1998).

### **Glucosinolatos**

El análisis se realizó mediante HPLC (Martínez et al, 2007). La extracción se realizó según el método oficial descrito por la UE (1999), con ligeras modificaciones. Una muestra de 0.2 g de brócoli liofilizado se extrae con 3 ml de metanol al 70% en caliente (70 °C) durante 10 min en presencia de sinigrina como patrón interno (1 ml de solución 1 mM). Los extractos se centrifuga y los sobrenadantes se recogen y se colocan en un matraz aforado y se enrasan a 5 ml. A continuación se lleva a cabo la desulfonación de un 1 ml de extracto de glucosinolatos con 200µl de extracto diluido de la enzima arilsulfatasa en columna de Sephadex A25 activada con ácido acético 2M y con solución de imidazol 6M en solución de ácido fórmico acuoso.

### **Actividad Antioxidante**

Se determinó midiendo la capacidad del extracto acuoso de la muestra para atrapar el radical libre comercial DPPH, expresada como CE<sub>50</sub> o concentración de extracto necesario para reducir la concentración del radical al 50%, según la metodología descrita en Sánchez-Moreno et al. (2006).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Vitamina C**

El brócoli seleccionado como materia prima presentó una concentración alta de vitamina C total (107,34 mg ácido ascórbico /100 g peso fresco) siendo mayoritaria la forma reducida (Ácido Ascórbico, AA) comparada con la concentración de la forma oxidada (Ácido Dehidroascórbico: ADHA). El contenido en vitamina C total inicial del brócoli y su evolución durante el procesado y conservación así como durante los pases a 20 °C, se muestran en la Figura 1 y en la Figura 2. Al analizar los diferentes tratamientos realizados, se comprueba que la etapa de lavado con una solución de 150 ppm de hipoclorito sódico no tiene influencia en el contenido de vitamina C, no observándose diferencias significativas entre muestras que han sido higienizadas con esta solución de hipoclorito sódico y aquellas que han sido lavadas con agua a 4°C.

Por el contrario, la etapa de corte dio lugar a diferencias significativas ente las muestras cortadas y aquellas que permanecen enteras, siendo estas últimas las que presentan un contenido en vitamina C un 39,8% superior al de las mismas muestras cortadas.

Estas diferencias pueden ser debidas a que el brócoli presenta un contenido en vitamina C distinto en función de la parte del mismo analizada, observándose diferencias significativas entre tallo y florete (Donglin et al, 2004). Por tanto las muestras enteras, al tener el tallo completo, poseen un contenido de vitamina C entre un 30 y un 40% superior al de las cortadas. Por otro lado, distintos mecanismos de degradación activados por el corte pueden estar relacionados con el menor contenido de vitamina C en las muestras cortadas. Así, por ejemplo, la acción de cortar puede disminuir el contenido de vitamina C debido a que la zona de corte entra en contacto con agentes oxidantes como el oxígeno del aire, o por inducción del enzima ascorbato oxidasa, principal enzima encargada de la degradación de la vitamina C. La lixiviación de vitamina C a través de la zona de corte hacia el agua de lavado (etapa posterior al corte) también puede contribuir a las diferencias de contenido de vitamina C entre muestras cortadas y enteras

Durante la conservación refrigerada se observa un reducción significativa en el contenido de vitamina C en el día 2 de conservación a 4 °C en todas las muestras estudiadas de 17,9%, 25,1%, 29,2% y 26,9% para las muestras CA, CCI, EA y ECI, respectivamente. A partir de ese día y una vez alcanzada la atmósfera de equilibrio en el interior de las bolsas, la degradación de la vitamina C se reduce significativamente respecto a las no embolsadas, lo que muestra el efecto protector de la atmósfera modificada sobre la vitamina C del brócoli fresco cortado.

Paralelamente a la reducción en el contenido inicial de vitamina C total durante la conservación, se produce una conversión de AA en ADHA. El ADHA pasa de estar prácticamente ausente en el producto a tiempo 0 a representar el 17% del contenido de vitamina C total en el día 2 de conservación a 4 °C debido a la atmósfera modificada. Este efecto sobre la vitamina C del envasado en atmósferas modificadas ha sido observado por varios autores en diferentes productos (Schreiner et al, 2003; Agar et al, 1999). Entre el día 2 y el 23 de conservación a 4 °C, si bien también se observa una tendencia a la degradación de la vitamina C, ésta se produce más lentamente siendo la concentración de vitamina C al final del periodo de conservación entre un 38-53% más baja que el contenido inicial. El envasado en atmósfera modificada se ha revelado como un importante protector de la vitamina C del brócoli, especialmente combinado con la refrigeración (Leja et al, 2001).

En los ensayos de simulación de rotura de la cadena del frío (pases a 20°C), comprobamos que los niveles del 10% al 14% de CO<sub>2</sub> alcanzados en el interior de las bolsas, no producen degradaciones significativas de vitamina C, siendo ligeramente inferiores que en las muestras similares pero que permanecieron el mismo tiempo en refrigeración Aunque se ha descrito que en algunos productos hortofrutícolas la conservación en atmósferas con niveles de CO<sub>2</sub> >10% pueden producir degradación de vitamina C (Agar et al, 1999), podemos concluir que el film utilizado proporciona una composición de gases adecuada para la conservación de la vitamina C del brócoli fresco cortado, sin llegar a concentraciones de CO<sub>2</sub> que puedan producir degradación de esta vitamina incluso si se produce una inesperada ruptura de la cadena del frío.

### **Fenoles totales**

El contenido en fenoles totales del brócoli sin procesar, procesado mínimamente y su evolución a lo largo de la conservación se recoge en la Tabla 1. El brócoli de partida presentó un contenido en fenoles totales de 40,5 mg de equivalentes de ácido clorogénico por 100g peso fresco.

Respecto al efecto del proceso de higienización, no se han observado diferencias significativas entre muestras que han sido higienizadas con la solución de hipoclorito sódico (150 ppm) y aquellas que han sido higienizadas con agua corriente a 4°C.

Sin embargo las muestras cortadas mostraron un contenido en de fenoles totales un 11% mayor que las muestras enteras, independientemente del tratamiento de higienización recibido, siendo estas diferencias estadísticamente significativas. En general, los daños mecánicos producidos en el tejido vegetal como consecuencia del proceso de pelado y corte, induce un incremento de la síntesis de compuestos fenólicos asociada a un aumento de actividad de la enzima fenilalanina amonioliasa (PAL; EC 4.3.1.5) como respuesta fisiológica del tejido vegetal a los daños mecánicos producidos con el fin de reducir la pérdida de agua y el ataque de microorganismos patógenos (Reyes et al, 2007).

Durante la conservación frigorífica, se observó una disminución estadísticamente significativa media de 23,4 % en el contenido en fenoles totales en el segundo día de conservación, manteniéndose relativamente constante durante el resto del tiempo de almacenamiento. Por tanto la atmósfera de equilibrio alcanzado en el segundo día de conservación en refrigeración (16-18% O<sub>2</sub> y de 3-5% CO<sub>2</sub>) estabilizó el contenido de fenoles totales en todas las muestras, independientemente del corte o tipo de lavado al que hayan sido sometidas.

El efecto de la ruptura de la cadena de frío durante la comercialización sobre el contenido en fenoles totales de los productos de brócoli, se llevó a cabo mediante dos pases a 20°C de los productos refrigerados. Después de 8 días a 4 °C y 1 día a 20 °C, la concentración en compuestos fenólicos fue similar al encontrado en las mismas muestras que permanecieron en refrigeración (9 días a 4 °C). El análisis después del segundo pase (14 días a 4 °C y 24h a 20 °C) mostró un aumento estadísticamente significativo en el contenido en fenoles totales medio del 31,6% en productos enteros comparando con las mismas muestras que se mantuvieron en refrigeración hasta el día 15 de conservación a 4°C. Sin embargo, el contenido en fenoles totales en el producto cortado no se modifica por el incrementote temperatura que experimenta las muestras en el pase a 20 °C. La distinta evolución del contenido en fenoles totales observado entre muestras enteras y cortadas en los pases a 20 °C se puede explicar teniendo en cuenta que los niveles de CO<sub>2</sub> iguales o superiores al 10% pueden inhibir la actividad de la PAL. Así, tras el primer pase a 20 °C, el nivel de CO<sub>2</sub> en los productos cortado y entero se incrementó hasta el 13% y 11,5%, respectivamente. Por el contrario, en el segundo pase efectuado a los 14 días (14 días a 4°C + 1 día a 20 °C) el incremento en CO<sub>2</sub> fue significativamente menor: 9,8% para el producto cortado y 8,1% para el producto entero.

Por tanto, hemos observado que una atmósfera con niveles de CO<sub>2</sub> ≥10% es capaz de controlar la síntesis de compuestos fenólicos en situaciones de estrés como es el incremento de temperatura de 4°C a 20°C.

### **Glucosinolatos**

La concentración de glucosinolatos totales del brócoli fue de 17 µmoles/g peso seco (ps). El tratamiento de higienización, con o sin hipoclorito sódico, no influyó significativamente sobre los glucosinolatos. Sin embargo, se ha observado que la acción de eliminar parte del tallo en la elaboración de un producto fresco cortado de brócoli da lugar a un aumento estadísticamente significativo del 30-40% en la concentración de glucosinolatos (Martínez et al, 2007) (Rangkadilok et al, 2002a).

Este incremento de glucosinolatos extraídos se puede deber a la inducción de la síntesis de éstos en respuesta al corte (Verkerk et al, 2001), o también al mayor porcentaje de inflorescencias en el producto cortado, donde los glucosinolatos, aunque distribuidos por toda la planta, se concentran de forma significativa (Rangkadilok et al, 2002b).

Durante la conservación en atmósfera modificada se observa una tendencia no significativa a disminuir el contenido en glucosinolatos totales (15%) (Martínez et al, 2007). La ruptura durante 24h de la cadena del frío no afecta significativamente a estos compuestos,

aunque sí aumentan las variaciones en su contenido. Estos datos confirman que el envasado en atmósfera modificada combinado con refrigeración preserva los glucosinolatos de brócoli, incluso tras una posible ruptura de la cadena del frío durante las etapas de transporte, distribución y venta.

### **Actividad Antioxidante**

La actividad antioxidante de los extractos acuosos de brócoli, producto inicial y después de un procesado mínimo, determinada mediante el método del secuestro del radical comercial estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH<sup>•</sup>), se muestran en la Tabla 2. En el brócoli de partida, el valor del parámetro CE<sub>50</sub>, cantidad de antioxidante necesaria para disminuir al 50 % la concentración inicial de DPPH, fue de 46,52 mg de producto/ g DPPH.

La etapa de corte influyó significativa sobre la actividad antioxidante (AAO) del brócoli observándose diferencias estadísticamente significativas en los valores de CE<sub>50</sub> entre muestras cortadas y aquellas que permanecieron enteras. Las muestras cortadas mostraron una CE<sub>50</sub> un 39,95% inferior a las muestras enteras, lo que indica un aumento significativo de la capacidad antioxidante de las muestras cortadas comparadas con las muestras enteras.

La etapa de higienización no modificó significativamente la actividad antioxidante ni en las muestras lavadas con agua fría ni en las lavadas con solución de hipoclorito sódico de 150 ppm. A partir del segundo día de conservación que coincide con la atmósfera de equilibrio en el interior de las bolsas (4%CO<sub>2</sub>-16%O<sub>2</sub>), se observa un incremento significativo de 26,5% en las muestras cortadas y de 10,2 % en las enteras, comparando con el valor inicial de CE<sub>50</sub>, lo que equivale a un descenso de la actividad antioxidante. Desde ese día y durante la conservación en refrigeración, el valor CE<sub>50</sub> se mantuvo prácticamente constante, si bien en el día 23 de conservación a 4 °C, en el producto entero se observa un descenso no significativo del 12,7% del valor de CE<sub>50</sub>.

Se ha observado una correlación directa entre el contenido en fenoles totales y la actividad antioxidante ( $r=0.7162$ ,  $p=0,05$ ), en los extractos hidrófilos de los productos de brócoli estudiados, comportamiento también observado por otros autores (Kurilich et al, 2002; Guo et al, 2001).

La simulación de la ruptura de la cadena de frío en el primer pase a 20 °C (8 días a 4°C + 1 día a 20°C) no dio lugar a cambios significativos de la actividad antioxidante, mientras que después del segundo pase (14 días a 4 °C + 1 días a 20 °C) se observó un incremento significativo (31 %) de la actividad antioxidante, que correlacionó positivamente con el incremento del 27 % de los fenoles totales en las muestras enteras, mientras que en las muestras cortadas no se modificó la actividad antioxidante.

## **CONCLUSIONES**

El proceso de higienización (agua a 4 °C e hipoclorito sódico 150 ppm) no modificó significativamente el contenido en compuestos bioactivos (vitamina C, fenoles totales y glucosinolatos) y actividad antioxidante del brócoli fresco cortado.

La etapa de corte redujo un 27% el contenido en vitamina C e incrementó un 21% el contenido en fenoles totales y un 30-40% el contenido en glucosinolatos del brócoli fresco cortado.

El envasado en atmósfera modificada conserva eficazmente la concentración de vitamina C, fenoles totales, glucosinolatos y actividad antioxidante del brócoli fresco cortado durante 23 días a 4 °C. Estos niveles se mantienen prácticamente inalterados incluso después de 24 horas a 20°C, siempre que la concentración de CO<sub>2</sub> no se incremente por encima del 10%.

## AGRADECIMENTOS

Estos estudios han sido llevados a cabo a través de la financiación de los proyectos de investigación AGL2002-04059-C02-02 y AGL2005-03849.

## BIBLIOGRAFÍA

- Agar I.T.; Massantini R.; Hess-Pierce B. ; Kader, AA. 1999. Postharvest CO<sub>2</sub> and ethylene production and quality maintenance of fresh-cut kiwifruit slices. *Journal of Food Science*. 64:433-440
- Block, G.; Dietrich, M.; Norkus, E.P.; Morrow, J.D.; Hudes, M.; Caan, B; Packer, L. 2002. Factors associated with oxidative stress in human populations. *American Journal of Epidemiology*. 156: 274-285.
- Chiao, J.W.; Chung, F.L.; Kancherla, R.; Ahmed, T.; Mittelman, A.; Conaway, C.C. 2002. Sulforaphane and its metabolite mediate growth arrest and apoptosis in human prostate cancer cells. *International Journal of Oncology*. 20: 631-636.
- Cohen, J.H.; Kristal, A.R; Stanford, J.L. 2000. Fruit and vegetable intakes and prostate cancer. *Journal of the National Cancer Institute*.92: 61-68.
- Donglin Z.; Yasunori H. 2004. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chemistry*. 88:503-509.
- Giovannucci, E.; Rimm, E.B.; Liu, Y.; Stampfer, M.J.; Willett, W.C. 2003. A prospective study of cruciferous vegetables and prostate cancer. *Cancer Epidemiological Biomarkers and Prevention*. 12: 1403-1409.
- Guo, J.T.; Lee, H.L.; Chiang, S.H.; Lin, F.I. y Chang, C.Y. 2001. Antioxidant properties of the extracts from different parts of broccoli in Taiwan. *Journal of Food and Drug Analysis*. 9:96-101
- Jeffery, E.H.; Brown, A.F.; Kurilich, A.C.; Keck, A.S.; Matusheski, N.; Klein, B.P.; Juvic, J.A. 2003. Variation in content of bioactive components in broccoli. *Journal of Food Composition and Analysis*.16: 323-330.
- Jones, R.B.; Faragher, J.D.; Winkler, S. 2006. A review of the influence of postharvest treatment on quality and glucosinolate content in broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) heads. *Postharvest Biology and Technology*. 41:1-8.
- Kristal, A.R.; Lampe, J.W. 2002. Brassica vegetables and prostate cancer risk: a review of the epidemiological evidence. *Nutrition and Cancer*. 42: 1-9.
- Kurilich A.C.; Jeffery E.H.; Juvik J.A.; Wallig M.A; Klein BP. 2002. Antioxidant capacity of different broccoli (*Brassica oleracea*) genotypes using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay. *Journal of the Agricultural and Food Chemistry*. 28:5053-5057.
- Leja M.; Mareczek A.; Starzynska A.; Roz S. 2001. Antioxidant ability of broccoli flower buds during short-term storage. *Food Chemistry*. 72:219-222.
- Martínez, J.A.; De Ancos, B.; Sánchez-Moreno, C.; Cano, M.P. 2007. Vitamin C, total phenolic content, glucosinolates and antioxidant capacity of pre-cut broccoli *versus* entire product. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Enviado.
- Ness, A.R.; Khaw, K.T.; Bingham, S.; Day, N.E. 1996. Vitamin C status and serum lipids. *European Journal of Clinical Nutrition*. 50: 724-729.
- Plaza, L.; Muñoz, M.; De Ancos, B. y Cano, M.P. 2003. Effect of combined treatments of high pressure, citric acid and sodium chloride on quality parameters of tomato puree. *European Food Research and Technology*. 216, 514-519.

- Rangkadilok, N.; Nicolas, M.E.; Bennett, R.N.; Premier, R.R.; Eagling, D.R.; Taylor, P.W.J. 2002a. Developmental changes of sinigrin and glucoraphanin in three *Brassica* species (*Brassica nigra*, *Brassica juncea* and *Brassica oleracea* var. *italica*). *Scientia Horticulturae*. 96:11–26.
- Rangkadilok, N.; Tomkins, B.; Nicolas, M.E.; Premier, R.R.; Bennett, R.N.; Eagling, R.D.; Taylor, P.W.J. 2002. The effect of post-harvest and packaging treatments on glucoraphanin concentration in Broccoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*). *Journal of the Agricultural and Food Chemistry*. 50:7386–7391.
- Reglamento de la UE. No 1864/90, DO n° L 170 de 03/07/1990. pp. 0027–0034
- Reyes, L.F.; Villareal, J.E.; Cisneros-Zevallos, L. 2007. The increase in antioxidant capacity after wounding depends on the type of fruit or vegetable tissue. *Food Chem*.101: 1254-1262.
- Sánchez-Moreno, C.; Plaza, L.; De Ancos, B.; Cano, M.P. 2006b. Impact of high-pressure and traditional thermal processing of tomato purée on carotenoids, vitamin C and antioxidant activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86: 171-179.
- Schreiner M.; Huyskens-Keil S.; Krumbein A.; H. Prono-Widayat; Lüdders P. 2003. Effect of film packaging and surface coating on primary and secondary plant compounds in fruit and vegetable products. *Journal of Food Engineering*. 56:237-240
- Vallejo, F.; García-Viguera, C.; Tomás-Barberán, F.A. 2003. Changes in broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) health-promoting compounds with inflorescence development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 3776-3782.
- Verhoeven, D.T.; Verhagen, H.; Goldbohm, R.A.; van den Brandt, P.A.; van Poppel, G. 1997. A review of mechanisms underlying anticarcinogenicity by brassica vegetables. *Chemical and Biological Interactions*. 103: 79-129.
- Verkerk, R.; Dekker, M.; Jongen, W.M.F. 2001. Post-harvest increase of glucosinolates in response to chopping and storage of *Brassica*. *Journal of Science Food and Agriculture* 81:953–958.
- Vinson, J.A.; Hao, Y.; Su, X.; Zubik, L. 1998. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46: 3630-3634.
- Wu, X; Kassie, F.; Mersch-Sundermann, V. 2005. Induction of apoptosis in tumor cells by naturally occurring sulfur-containing compounds. *Mutation Research Reviews in Mutation Research*. 589: 81-102.
- Zhang, Y; Talalay, P. 1994. Anticarcinogenic activities of organic isothiocyanates: chemistry and mechanisms. *Cancer Research*. 54: S1976-S1981.

## TABLAS Y FIGURAS

**Tabla 1.** Fenoles totales y Actividad Antioxidante (CE<sub>50</sub>) de brócoli sometido a un procesamiento mínimo: corte, higienización, envasado en atmósfera modificada y conservación en refrigeración a 4 °C así como los pases a 20°C.

Tratamiento			
Temperatura	Días	Fenoles Totales	CE <sub>50</sub>
Cortadas / agua		mg acid clorogénico /100 g pf	g ps/g DPPH
4°C	0	43,08± 1,72 a A	23,80±5,69bA
	2	35,54± 3,33 bc A	31,33±7,26aB
	6	34,33± 3,54 bc A	29,26±5,45aA
	9	37,37± 3,34 b A	24,53±3,55abA
→20°C	24h	33,34± 4,65 bc A	23,84±4,81abA
	15	34,72± 5,83 bc A	24,48±4,41abA
→20°C	24h	32,54± 2,72 c C	21,85±2,41bA
	23	35,14± 1,59 bc A	23,62±2,51abA
Cortadas / NaClO			
4°C	0	42,14± 1,89 a A	23,80±5,65bA
	2	32,57± 2,60 b A	34,06±7,84aAB
	6	34,63± 1,89 b A	35,21±6,76aA
	9	34,89± 2,05 b A	22,82±1,99bcA
→20°C	24h	33,34± 4,65 b A	21,06±3,52bcA
	15	34,10± 2,49 b A	26,74±6,84abA
→20°C	24h	32,54± 2,72 b C	21,09±1,75cA
	23	34,44± 3,91 b A	25,39±3,19abcA
Enteras / agua			
4°C	0	36,50± 0,75 b B	45,62±8,81abB
	2	31,11± 1,69 cdAB	51,41±1,48aB
	6	27,75± 1,90 d B	53,54±2,06aB
	9	31,67± 1,60 cd B	45,36±6,82cdB
→20°C	24h	33,23± 2,74 c A	35,75±7,44cdB
	15	31,25± 3,93 cd A	49,17±7,64abB
→20°C	24h	43,65± 3,93 a A	28,88±3,30cA
	23	29,11± 3,49 cd B	39,33±2,73abc
Enteras / NaClO			
4°C	0	39,95± 1,42 b AB	43,62±4,81bB
	2	29,20± 1,80 d B	52,09±5,56aB
	6	30,13± 2,04 cd B	43,56±6,44bcAB
	9	33,08± 1,89 b B	35,93±8,18cdB
→20°C	24h	29,51± 2,47 cd A	38,10±2,14cdB
	15	31,92± 2,47 bc A	41,40±1,76bcB
→20°C	24h	39,19± 2,48 a B	32,73±3,94dA
	23	28,20± 3,21 d B	38,47±6,09cdB

Letras (A, B, C,...) diferentes dentro de un mismo día y parámetro de medida implican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) debidas al tratamiento

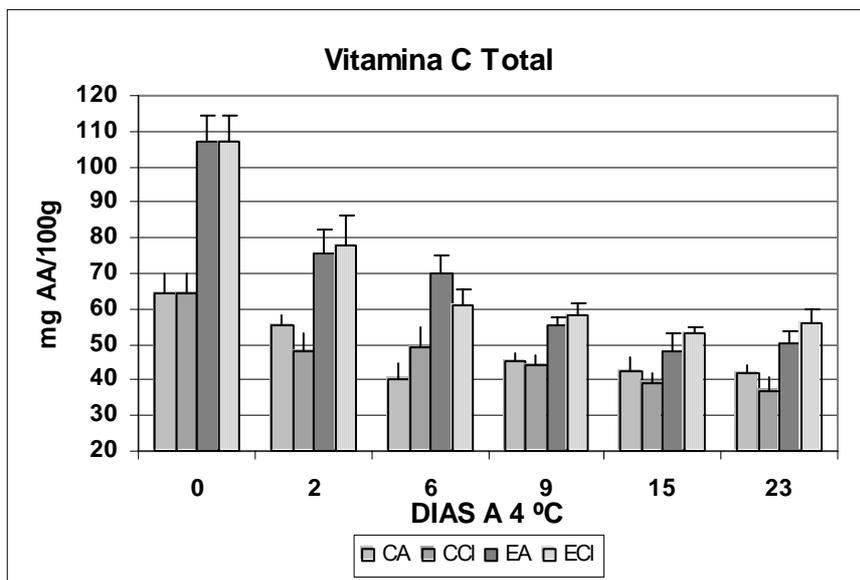
Letras (a, b, c,...) diferentes dentro del mismo tratamiento y parámetro medido implican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) debidas al tiempo de conservación

**Tabla 2.** Glucosinolatos de brócoli sometido a un procesado mínimo: corte, higienización, envasado en atmósfera modificada durante, conservación en refrigeración a 4 °C y pases a 20°C.

Temperatura		Días	Glucorrafanina	Glucobrassicina	Neoglucobrassicina	Total
Tratamiento						
Cortadas Agua			µmoles/g ps	µmoles/g ps	µmoles/g ps	µmoles/g ps
4°C	0		9,62 ± 1,89aA	9,92±1,01aA	3,39±2,79aA	22,93±5,69aA
	2		9,07± 0,96aA	8,29±1,54a	4,08±0,76a	21,43±3,26a
	6		8,98 ± 1,24aA	8,19±0,97abA	4,37±0,57a	21,54±2,78aA
	9		10,49±1,41aA	5,84±0,09cB	5,66±0,90aAB	21,99±2,40aA
→20°C	24h		10,06±2,08aA	8,93±2,38aA	4,53±2,11aA	23,52±6,58aA
	15		9,84±0,99aA	5,88±0,64bcAB	3,97±0,57aA	19,68±2,20aA
→20°C	24h		9,87±2,04aA	6,16±0,87bcA	3,47±0,88aA	19,49±3,79aAB
	23		10,13±1,51aA	4,93±0,10cAB	3,57±0,90aA	18,64±2,51aA
Cortadas HCIO						
4°C	0		9,94±1,02aA	8,82±2,01aA	3,47±1,70aA	22,22±4,73abA
	2		10,11±0,92aA	8,54±0,72a	4,69±0,57a	23,33±2,22ab
	6		9,67±0,57aA	7,10±1,85bAB	3,98±0,88aA	20,75±3,30abAB
	9		9,79±0,83aA	8,81±0,81aA	4,77±0,40aB	23,37±2,04AbA
→20°C	24h		9,46±2,00aA	8,54±3,33aA	4,58±2,11aA	22,58±7,45abA
	15		9,31±1,53aA	7,25±0,98abA	4,63±0,55aA	21,19±3,06abA
→20°C	24h		8,95±1,57aA	8,02±2,75abAB	3,88±0,69aA	20,85±5,02abA
	23		9,62±1,55aA	5,16±0,41bA	3,29±0,24aA	18,07±2,21bA
Enteras Agua						
4°C	0		5,57±1,68aB	7,74±1,10aA	3,10±0,18cA	16,42±2,97aA
	2		5,88±0,83aB	6,76±0,73ab	3,77±0,83bc	16,40±2,39a
	6		5,37±1,28aB	4,60±1,54cdC	5,26±1,28abA	15,22±4,09aB
	9		4,70±0,85aB	3,23±0,76dC	6,57±0,88 <sup>a</sup> A	14,51±2,49aB
→20°C	24h		4,97±1,87aB	5,36±0,57bcA	4,57±0,50bcA	14,89±2,95aA
	15		4,99±0,98aB	5,60±0,88bcB	4,13±0,96bcA	14,71±2,81aB
→20°C	24h		5,30±2,09aB	5,26±0,50bcAB	4,33±1,37bcA	14,89±3,96aAB
	23		5,55±1,71aB	4,64±1,09cdAB	3,81±1,09bcA	13,99±3,88aAB
Enteras HCIO						
4°C	0		6,11±1,43aB	7,62±1,30aA	3,47±0,81aA	17,20±3,54aA
	2		5,49±1,09aB	6,15±0,74a	3,49±0,88a	15,13±2,71a
	6		5,63±0,74aB	4,86±0,35abBC	5,21±0,50aA	15,71±1,59aB
	9		4,96±0,35aB	3,57±0,61C	6,79±0,42aA	15,32±1,37aB
→20°C	24h		5,04±1,04aB	5,16±0,52Aa	4,09±0,39aA	14,29±1,95aA
	15		5,91±0,24aB	4,63±0,74cB	3,66±0,27aA	14,19±1,24aB
→20°C	24h		4,88±1,95aB	4,33±1,23bcB	3,43±0,99aA	12,63±4,16aB
	23		5,05±1,51aB	4,01±0,30cB	3,07±0,11aA	12,13±1,92abB

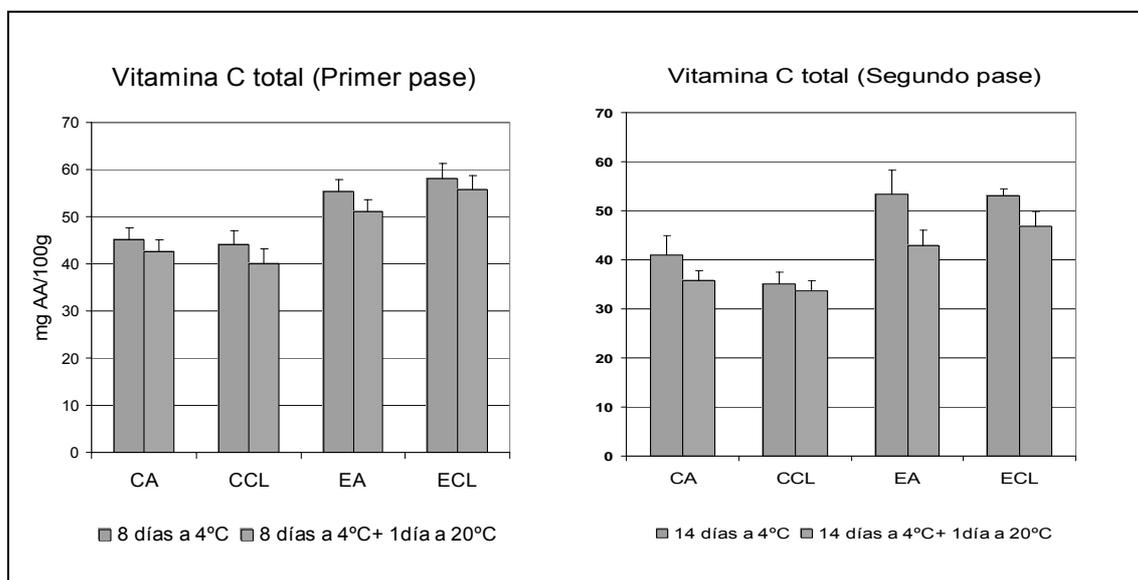
Letras (A, B, C,...) diferentes dentro de un mismo día y parámetro medido implican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) debidas al tratamiento

Letras (a, b, c,...) diferentes dentro del mismo tratamiento y parámetro medido implican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) debidas al tiempo de conservación



**Figura 1.** Efecto del procesado mínimo sobre la vitamina C total de floretes de brócoli en MAP (16-18% O<sub>2</sub>+ 3,5-4% CO<sub>2</sub>) a 4 °C.

Clave: EA (entero/lavado agua a 4 °C); ECL (entero/lavado hipoclorito 150 ppm a 4 °C); CA (cortado/agua a 4 °C); CCL (cortado/hipoclorito 150 ppm a 4 °C) (Martínez y col, 2007)



**Figura 2.** Evolución de la vitamina C total en brócoli mínimamente procesado transferido a 20°C después de 8 y 14 días a 4°C.