

Optimización de las condiciones de almacenamiento sobre el contenido de ácido ascórbico en brócoli

Effect of the storage conditions on ascorbic acid content in broccoli florets

J. Zambrano, M. Maffei, A. Valera, W. Materano, I. Quintero

Universidad de Los Andes, Núcleo Universitario Rafael Rangel, Grupo de Fisiología Poscosecha, Trujillo, Venezuela.

Resumen

Se evaluó la influencia de la temperatura de refrigeración (T), el tiempo de almacenamiento (A) y el área de intercambio gaseoso del empaque (P), sobre el contenido de ácido ascórbico (AA) en brócoli híbrido 'Marathon'. Inflorescencias sanas y uniformes fueron empacadas y arregladas en un diseño compuesto central rotatable con precisión uniforme, de tres factores a cinco niveles cada uno: T (0,636; 2; 4; 6 y 7,364°C), A (1,272; 4; 8; 12; 14,728días) y P (0,318; 1; 2; 3; 3,682%). La determinación de ácido ascórbico se realizó mediante el método titrimétrico. Condiciones de 3,02°C, con 9,43 días y un 3,77% obtuvieron un máximo de contenido de AA de 78,45 mg.100g⁻¹.

Palabras clave: *Brassica oleracea* var. *Italica*, híbrido 'Marathon', intercambio gaseoso, empaque.

Abstract

The broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) is a vegetable of significant economic value and excellent vitamin C source. The objective of this study was to evaluate the effect of refrigerated temperature (T), time of storage (S) and percentage of perforated area of the packaging (P), on the ascorbic acid (AA) in broccoli, hybrid 'Marathon'. Florets with absence of damages were selected and were packed and fixed in a rotatable central composite design accurately uniforms, with three factors at five levels each, T (0.636, 2, 4, 6 and 7.364°C), S (1.272; 4; 8; 12; 14.728days) and P (0.318; 1; 2; 3; 3.682%). Conditions of 3.02°C, with 9.43days and 3.77% of perforated area reached a maximum AA content of 78.45 mg.100g⁻¹.

Key words: *Brassica oleracea* var. *Italica*, 'Marathon' hybrid, gas exchange, packaging.

Recibido el 30-6-2010 • Aceptado el 5-9-2011

Autor de correspondencia e-mail: zjudithe@ula.ve; migmaffei@ula.ve

Introducción

El brócoli (*Brassica oleracea* var. *Itálica*) es una de las crucíferas más consumida usualmente en la dieta humana por ser un vegetal con valor nutricional debido a la presencia de vitaminas, especialmente las que actúan como antioxidantes (ácido ascórbico y β -caroteno) y fibra dietética (Vallejo *et al.*, 2003). Además es un potente inductor de las enzimas que ejercen un efecto protector frente a los agentes químicos carcinogénicos (Gómez y Rosa, 2000). El brócoli fresco es altamente perecedero, y tiene una vida útil de 3 a 4 semanas almacenado a 0°C (Jacobsson *et al.*, 2004), y senesce rápidamente después de cosechado cuando permanece a temperatura ambiente (Nishikawa *et al.*, 2005). La vida poscosecha del producto puede extenderse mediante la aplicación de diversos tratamientos durante este período, siendo el más importante de éstos la temperatura que involucra la cadena del frío, mediante la cual la temperatura del producto es reducida inmediatamente después de la cosecha para ayudar a mantener su calidad y frescura y así reducir las pérdidas poscosecha (Tompson, 1995). El uso de películas plásticas puede resultar útil para mantener la calidad del brócoli durante el periodo poscosecha. Jacobsson *et al.* (2003), al estudiar la influencia de cuatro empaques y dos temperaturas de almacenamiento (4 y 10°C) sobre la textura, color y peso de brócoli, señalaron que la utilización de películas plásticas tiene influencia en la calidad, obteniéndose mayor vida poscosecha con el empaque de polipropileno.

Introduction

Broccoli (*Brassica oleracea* var. *Itálica*) is one of the most consumed brassicas in the daily diet of individuals by being a vegetal with a nutritional value due to the presence of vitamins, especially those that act as antioxidants (ascorbic acid and β -carotene), dietetic fiber (Vallejo *et al.*, 2003). Also, is a potent inductor of enzymes that have a protector effect with cancer chemical agents (Gómez and Rosa, 2000). Fresh broccoli is highly perishable and has an useful life from 3 to 4 weeks stored at 0°C (Jacobson *et al.*, 2004) and senesce rapidly after harvested when remains in environmental temperature (Nishikawa *et al.*, 2005). The post-harvest life of the product might extend applying different treatments during the period, being the most important the temperature which involves the cool chain, in which the temperature of the product is reduced immediately after the harvests to help maintaining its quality and freshness, hence, reducing the post-harvest loss (Tompson 1995). The use of plastic films may result useful to keep the quality of broccoli during the post-harvest period. Jacobson *et al.* (2003) when studying the influence of four packaging and two storing temperatures (4 and 10°C) on texture, color and weight of the broccoli, pointed that the usage of plastic films influence in the quality, obtaining a higher post-harvested life with the polypropylene package.

In this study was evaluated the effect influence of three factors: temperature, storing time and

En este estudio se evaluó la influencia del efecto de tres factores a saber: la temperatura, el tiempo de almacenamiento y porcentaje de área perforada del empaque, sobre el contenido de ácido ascórbico en brócoli, híbrido Marathon y así mismo, se propone mejorar el buen manejo poscosecha del brócoli en los centros de acopio.

Materiales y métodos

Las muestras de brócoli, híbrido Marathon (Seminis) fueron cosechadas de una finca ubicada en el sector Mesa Cerrada de Timotes, en el municipio Miranda, del estado Mérida, Venezuela. La finca se encuentra a 2.100 msnm, con una temperatura media anual de 20°C. Las inflorescencias fueron seleccionadas de acuerdo al tamaño, ausencia de daños mecánicos y por insectos para obtener la mayor uniformidad posible. Fueron lavadas con hipoclorito de sodio al 5%, secadas y empacadas en bolsas de polietileno de 5¼m de espesor, conteniendo aproximadamente 600g de brócoli por empaque.

Se utilizó un diseño compuesto central rotatable con precisión uniforme, con tres factores: temperatura (T), tiempo de almacenamiento (A) y porcentaje de área perforada (P), cada uno de estos factores a 5 niveles, 2 empaques con 2 inflorescencias cada uno por cada tratamiento, de los cuales se tomaron 3 réplicas, para un total de 60 unidades experimentales. Las inflorescencias fueron almacenadas a temperaturas de 0,636; 2; 4; 6; y 7,364°C durante un tiempo de almacenamiento de 1,272; 4; 8; 12 y

percentage of the perforated area of the package, on the ascorbic acid content of broccoli, Marathon hybrid, it is proposed to improve the good post-harvest handle in the storage centers.

Materials and methods

Samples of broccoli, Marathon (Seminis) hybrid were cropped in a farm located at Timotes, Miranda parish, Mérida state, Venezuela. The farm is located at 2.100 masl, with a mean annual temperature of 20°C. Florets were selected according to the size, absence of mechanical damages by insects, to obtain the higher uniformity possible. Samples were washed with sodium hypochlorite at 5%, dried and packed in polyethylene bags of 5¼m of thickness, containing 600 g approximately per package.

A Rotatable central composed design was used, with an uniform accuracy with three factors: temperature (T), storing time (A) and percentage of perforated area (P), each of these factors at 5 levels, 2 packages with 2 florets each per treatment, out of which were taken 3 replications, for a total of 60 experimental units. Florets were stored at temperatures of 0.636, 2, 4, 6, and 7.364°C during a storing time of 1.272, 4, 8, 12 and 14.728 days with a percentage of perforated area of the package of 0.318, 1, 2, 3 and 3.682%. During the storing, the determination of ascorbic acid was done three times using the titrimetric method described by Pelletier (1985). Ground broccoli was extracted with 100mL of metaphosphoric acid for 3 min, using

14,728 días y con un porcentaje de área perforada del empaque de 0,318; 1; 2; 3 y 3,682%. Durante el almacenamiento se realizó la determinación de ácido ascórbico por triplicado mediante el método titrimétrico descrito por Pelletier (1985). El brócoli molido fue extraído con 100 mL de ácido metafosfórico durante 3 min usando un homogeneizador de tejido Tekmar (Tekmar Corp., Cincinnati, OH) se completó a 250 mL con ácido metafosfórico al 6% y se filtró en papel Whatman # 42. Posteriormente, se tomaron alícuotas de 5 mL del filtrado y se titularon con 2,6-diclorofenolindofenol. El contenido de ácido ascórbico fue calculado en $\text{mg.gbiomasafresca}^{-1}$.

Resultados y discusión

Se encontró significancia en los factores temperatura ($P<0,01$), área perforada del empaque ($P<0,05$) y tiempo de almacenamiento ($P<0,01$) demostrándose notablemente su influencia en el contenido de ácido ascórbico en las muestras analizadas. El ANAVAR indica que los efectos lineal, cuadrático y productos cruzados son significativos (cuadro 1). Para observar el comportamiento del contenido de ácido ascórbico con respecto a las variables estudiadas, se fijó el valor del área perforada del empaque y se graficó en función de la temperatura y los días de almacenamiento (figura 1); en función de la temperatura y el porcentaje de área perforada manteniendo fijo el tiempo de almacenamiento (figura 2), y por último dejando invariable la temperatura, la gráfica se construyó en fun-

a tissue homogenizer Tekmar (Tekmar Corp., Cincinnati, OH) and was completed at 250 mL with metaphosphoric acid at 6% and leaked in Whatman #42 paper. Consequently, aliquots of 5 mL of the leaked were taken and titled with 2.6 dichlorophenolindophenol. The content of ascorbic acid was measured in $\text{mg.freshbiomass}^{-1}$.

Results and discussion

Significance was found in the temperature factors ($P<0.01$), perforated area of the package ($P<0.05$) and storing time ($P<0.01$) showing its influence in the content of ascorbic acid in the analyzed samples. ANAVAR indicates that the lineal, quadratic effects and crossed products are significant (table 1). To observe the content behavior of ascorbic acid in respect to the studied variables, was fixed the value of the perforated area of the package and graphed in function of the temperature and storing date (figure 1); in function of the temperature and the percentage of the perforated area keeping fixed the storing time (Figure 2), finally leaving invariable the temperature, the graphic was created in function of the storing time and the perforated area of the package corresponds to figure 3.

Also, the result of the RSREG procedure of the SAS® program for surfaces experiment of response, found the maximum point predicted of $78.45 \text{ mg.100g}^{-1}$, under temperature conditions of 3.02°C , storing time of 9.43 days and a percentage of perforated area of the package of 3.77;

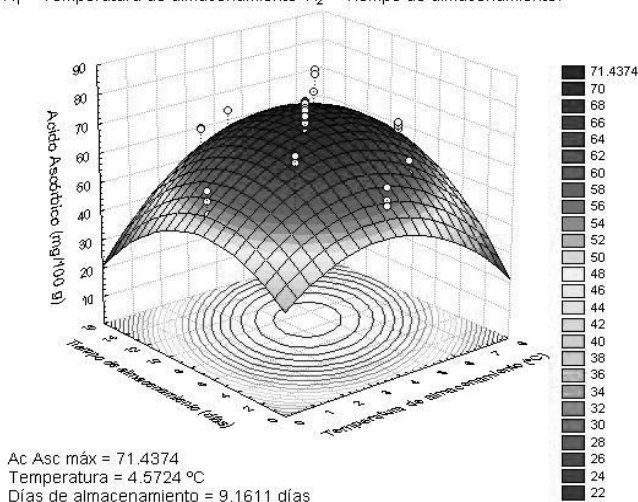
Cuadro 1. Análisis de varianza de ácido ascórbico en el almacenamiento durante 14,7 días.**Table 1. Variance analysis of ascorbic acid in storing for 14.7 days.**

Factor	GL	Acido AscórbicoMg.100 gr ⁻¹		
		SE	t	Sg
Temperatura (T)	4	2,6664	1,92	**
Tiempo de almacenamiento (A)	4	1,3333	1,57	**
% de área perforada (P)	4	5,3331	1,85	**
T*T	1	0,2377	-4,21	**
A*T	1	0,1595	3,29	**
A*A	1	0,0594	-3,95	**
P*T	1	0,6381	-1,67	NS
P*A	1	0,3190	0,62	NS
P*P	1	0,9506	-1,18	NS
Media general		69,02 mg.100g ⁻¹		

GL: Grados de Libertad; SE: Error Estándar; t: valor de "t";

Sg: Significancia (** altamente significativo P<0,01, NS no significativo)

$$Ac\ Asc = 34.6753 + 8.304 * X_1 + 3.8822 * X_2 - 1.2509 * X_1 * X_1 + 0.3422 * X_1 * X_2 - 0.2973 * X_2 * X_2$$

 X_1 = Temperatura de almacenamiento X_2 = Tiempo de almacenamiento.**Figura 1. Superficie de respuesta para ácido ascórbico en función de temperatura de almacenamiento y tiempo en brócoli.****Figure 1. Response surface for ascorbic acid in function of the storing function and time of broccoli.**

X_1 = Temperatura de almacenamiento X_2 = % de área perforada del empaque

$$Ac\ Asc = 54.458 + 6.8191 * X_1 + 6.1555 * X_2 - 1.2562 * X_1 * X_1 + 2.1328 * X_1 * X_2 - 4.993 * X_2 * X_2$$

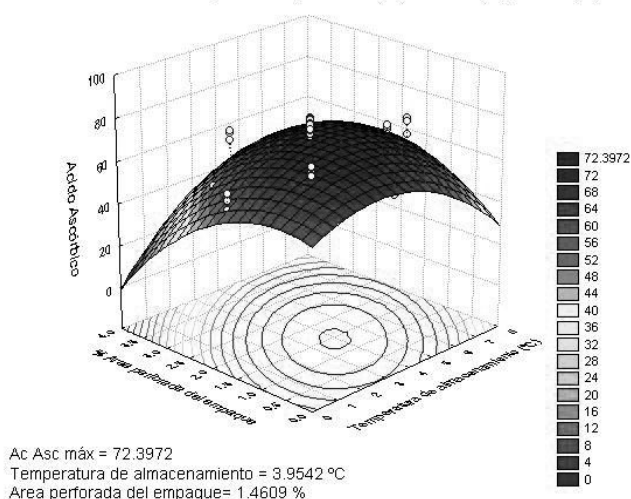


Figura 2. Superficie de Respuesta para ácido ascórbico en función de temperatura de almacenamiento y porcentaje de área perforada del empaque en brócoli.

Figure 2. Response surface for ascorbic acid in function of storing and percentage of the perforated area of the package in broccoli.

ción del tiempo de almacenamiento y el área perforada del empaque la cual corresponde a la figura 3.

Además, el resultado del procedimiento RSREG del programa SAS® para experimentos de superficies de respuesta, encontró un punto máximo predicho de 78,45 mg.100g⁻¹, bajo las condiciones de temperatura de 3,02°C, tiempo de almacenamiento de 9,43 días y un porcentaje de área perforada del empaque de 3,77%, siendo éste un punto estacionario máximo. Esto configura la combinación óptima de los tres factores estudiados que permite la menor pérdida de AA en las inflorescencias de brócoli, una expresión matemática del modelo de regresión que predice esta situación es como sigue:

being the latter a maximum stationary point. This forms the optimum combination of the three studied factors studied that allow the lowest loss of AA in florets of broccoli, a math expression of the regression model allows predicting this situation:

$$AA = 42.247823 + 5.1127272 (T) + 2.093379 (A) + 9.851884 (P) - 1.1000071 (T^2) + 0.525198 (A^2) - 0.234583 (P^2) - 1.066542 (T*A) + 0.197625 (T*P) - 1.124838 (A*P) + \hat{a}.$$

These results agree to Barth and Zhuang (1996), who on an essay about the influence of the plastic packaging and the modified atmosphere on the antioxidant vitamin and the quality of the broccoli flower minimally processed, deduced that storing the samples at 5°C for 6 days better

X_1 = Tiempo de almacenamiento X_2 = % de área perforada del empaque
 $Ac Asc = 32.0583 + 6.0608 * X_1 + 17.8396 * X_2 - 0.2971 * X_1 * X_1 - 0.4064 * X_1 * X_2 - 4.9685 * X_2 * X_2$

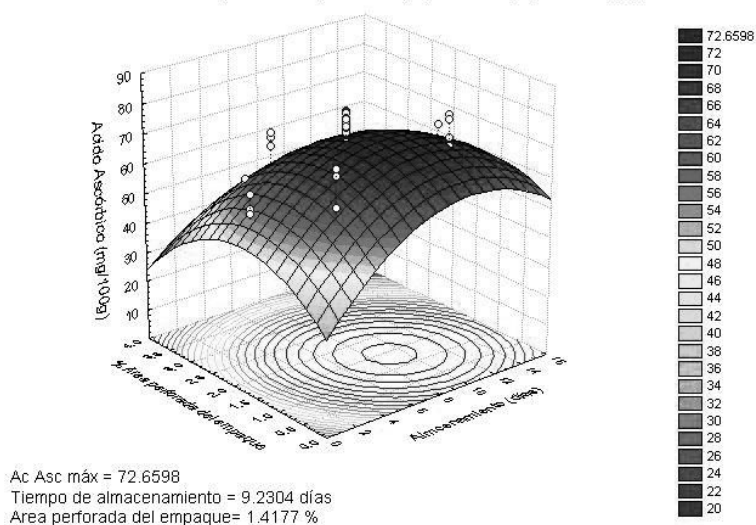


Figura 3. Superficie de respuesta para ácido ascórbico en función de tiempo de almacenamiento y porcentaje de área perforada del empaque en brócoli.

Figure 3. Response surface for ascorbic acid in function of storing time and percentage of perforated area of the package in broccoli

$AA = 42,247823 + 5,1127272 (T) + 2,093379 (A) + 9,851884 (P) - 1,1000071 (T^2) + 0,525198 (A^2) - 0,234583 (P^2) - 1,066542 (T * A) + 0,197625 (T * P) - 1,124838 (A * P) + \hat{a}$.

Estos resultados coinciden con Barth y Zhuang (1996), quienes en un ensayo sobre la influencia del empaque plástico y atmósfera modificada sobre la vitamina antioxidante y la calidad de la flor del brócoli mínimamente procesado, dedujeron que almacenando las muestras a 5°C y durante 6 días se logra los mejores resultados en cuanto a calidad y mayor vida poscosecha. Barth *et al.*, (1993), reportaron diferencias en la tasa de reducción de ácido ascórbico

results are obtained regarding quality and a higher post harvested life. Barth *et al.* (1993), reported differences in the reduction rate of ascorbic acid in stored broccoli in semi permeable plastic films, modified atmosphere and storing at 20°C for 96 hours, being the one with higher losses the non packed (50%), while the packed registered 12% of reduction of the ascorbic acid. Carvalho and Clemente (2004), evaluating different quantities of packed broccoli and stored at 1°C, found reduction in the content of vitamin C, registering the highest reduction within 12 days, and in those packages with higher quantity of broccoli. Nath *et al.* (2011)

en brócoli empacado en película plástica semipermeable, atmósfera modificada y almacenado a 20°C durante 96 horas, siendo el de mayor pérdida el no empacado (50%), mientras que el empacado registró 12% de reducción de ácido ascórbico. Carvalho y Clemente (2004), evaluando diferentes cantidades de brócoli embalado y almacenado a 1°C, encontraron disminución del contenido de vitamina C, registrándose la mayor disminución a los 12 días y en aquellos empaques con mayor cantidad de brócoli. Nath *et al.* (2011), encontraron mejor retención de compuestos fitoquímicos en inflorescencias de brócoli empacados en bolsas plásticas de polipropileno microperforado y almacenado bajo refrigeración.

Los tres factores estudiados tienen influencia en el contenido de ácido ascórbico de las inflorescencias durante el almacenamiento, registrándose mayores pérdidas de AA en aquellas situaciones de temperatura superior a 5°C, tiempos de almacenamiento mayores a 9 días y área de intercambio gaseoso del empaque por encima al 4%. Temperaturas de almacenamiento por debajo de 1°C produjeron daños por frío en las inflorescencias, áreas perforadas del empaque inferiores al 2% produjeron olores desagradables provocando rechazo de los brócolis.

Conclusiones

Se predijo que la situación óptima para el almacenamiento del brócoli, bajo las condiciones de este estudio, ocurre a temperatura de 3,02°C, 9,43 días de almacén y a un

found better retention of phytochemical compounds in broccoli florets packed in plastic bags with micro perforated polypropylene and stored refrigerated.

The three studied factors have influence in the content of ascorbic acid of florets during storing, registering higher losses in AA in those situations of temperature superior of 5°C, storing time higher in 9 days and area of gas interchange of the package over 4%. Storing temperature under 1°C produced damages because of the cool environment in florets, perforated areas of storing inferior of 2% produced unwanted odors provoking rejection against broccolis.

Conclusions

It was predicted the optimum situation for the broccoli storing under the conditions of this study, it occurs at temperatures of 3.02°C, 9.43 storing days and at 3.77% of the gas interchange area, hence, obtaining a maximum content of AA of 78.45 mg.100g⁻¹.

The statistical methodology used allows establishing optimum combinations of the involved factors in the broccoli storing, this optimization contributed to preserve this important attribute as the ascorbic acid, that can be implemented in the cool chain.

End of english version

3,77% área de intercambio gaseoso, obteniéndose así un máximo de contenido de AA de 78,45 mg.100g⁻¹.

La metodología estadística utilizada permite establecer combinaciones óptimas de los factores involucrados en el almacenamiento del brócoli, esta optimización contribuye a conservar este atributo tan importante como es el ácido ascórbico, pudiendo ser implementada en la cadena de frío.

Literatura citada

- Barth, M.M. y H. Zhuang. 1996. Packaging design affects antioxidant vitamin retention and quality of broccoli florets during postharvest storage. *Postharvest Biol. Technol.* 9: 141-150.
- Barth, M.M., E.L. Kerbel, A.K. Perry y S.J. Schmidt. 1993. Modified atmosphere packaging affects ascorbic acid, enzyme activity and marked quality of Broccoli. *Journal of Food Science* 58(1):140-143.
- Carvalho, P.T. y E. Clemente. 2004. The influence of the broccoli (var. Itálica) fill weight on postharvest quality. *Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas.* 24(4): 646-651.
- Gómez, M. y E. Rosa. 2000. Free amino acid composition in primary and secondary inflorescences of 11 broccoli (*Brassica oleraceae* var Itálica) cultivars and its variation between growing seasons. *Journal Science and Food and Agriculture* 81:295-299.
- Jacobsson, A., T. Nielsen, y I. Sjöholm. 2003. Influence of packaging material and storage temperature on the texture, colour, and weight of broccoli. *Proceedings of the Eighth International Controlled Atmosphere Research Conference, Rotterdam.* 1(6): 323-326.
- Jacobsson, A., T. Nielsen y I. Sjöholm. 2004. Effects of type of packaging material on shelf-life of fresh broccoli by means of changes in weight, colour and texture. *Eur. Food Res. Technol.* 218:157-163.
- Nath, A., B. Bagchia, L.K. Misraa y C. Deka. 2011. Changes in post-harvest phytochemical qualities of broccoli florets during ambient and refrigerated storage. *Food Chemistry.* Article in Press.
- Nishikawa F., I. Tomoko, K. Masaya, H. Hiroshi, I. Yoshinori, y Y. Masamichi. 2005. Effect of sugars on ethylene synthesis and responsiveness in harvested broccoli florets. *Postharvest Biology and Technology* 36:157-165.
- Pelletier, O. 1985. Vitamin C: L-ascorbic and dehydro-L-ascorbic acids. En: *Methods of Vitamin Assay*, J. Augustin, B.P. Klein, and D. Baker (Ed.), 4th ed. John Wiley / Sons, New York.
- Thompson, K. 1995. Tecnología Poscosecha de frutas y hortalizas. *Convenio SENA/REINO UNIDO.* P 81-83.
- Vallejo, F., C. García-Viguera y F. Tomás-Barberán. 2003. Healthpromoting compounds in broccoli as influenced by refrigerated transport and retail sale period. *J. Agric. Food Chem.* 51:3029-3034.