

# BRÓCOLI, ENEMIGO NATURAL CONTRA LAS HELADAS

## BROCCOLI, A NATURAL ENEMY AGAINST FROST

Bastían Aravena • Fernanda Améstica  
Profesora Guía: Paulina Figueroa  
Colegio Teresa de Los Andes, Bulnes  
Asesor Científico: Pamela González  
Evaluador: Luisauris Jaimes

### Resumen

El brócoli durante su desarrollo puede estar sometido a temperaturas inferiores a 10°C, lo que pareciera indicar que tiene una tolerancia al frío. Esta es una propiedad muy valorada en la agroindustria en el almacenaje de vegetales altamente susceptibles al daño por frío, la lechuga es una de ellas y representa el segundo producto hortícola más cultivado en Chile. En esta investigación se trabajó en evaluar el efecto de la aplicación de un extracto de brócoli en la tolerancia al frío de las lechugas costinas. Para obtener extractos, se manejan por separado la flor y "las hojas y tallos". Obtenidos los extractos etanólicos se cuantificó el contenido de compuestos fenólicos utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu y la actividad antioxidante a través del ensayo de captación del radical DPPH\*. Se determinó que no existían diferencias significativas entre los extractos de flor y "tallo y hoja" en relación al contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante. Se consideró además que las hojas y el tallo del brócoli son subproductos que no tienen uso comercial, se escogieron estos extractos para continuar el estudio. El extracto seleccionado se aplicó en volúmenes de 5 y 25 mL, además de las muestras de control en lechugas costinas que se mantuvieron en condiciones de refrigeración durante 13 días. Los resultados mostraron que la adición de 5 mL de extracto redujo el área dañada y la deshidratación de las lechugas, concluyendo que el extracto previno el daño por frío en lechugas costinas.

**Palabras claves:** Actividad antioxidante; Compuestos fenólicos; Daño por frío; Resistencia térmica.

### Abstract

Broccoli during its development can be subjected to temperatures below 10°C, which seems to indicate that it has a tolerance to cold. This is a highly valued property in the agro-industry in the storage of vegetables highly susceptible to cold damage, lettuce is one of them and represents the second most cultivated horticultural product in Chile. In this research work was done to evaluate the effect of the application of a broccoli extract on the cold tolerance of cosine lettuce. To obtain extracts, the flower and "leaves and stems" were handled separately. Once the ethanolic extracts were obtained, the content of phenolic compounds was quantified using the Folin-Ciocalteu reagent and the antioxidant activity through the DPPH\* radical uptake test. It was determined that there were no significant differences between the flower extracts and "stem and leaf" In relation to the content of total phenols and antioxidant capacity. It was also considered that the leaves and the stem of broccoli are by-products that have no commercial use, these extracts were chosen to continue the study. The selected extract was applied in volumes of 5 and 25 mL, in addition to the control samples, in cosine lettuces that were kept under refrigerated conditions for 13 days. The results showed that the addition of 5 mL of extract reduced the damaged area and dehydration of the lettuces, concluding that the extract prevented the cold damage in cosine lettuces.

**Keywords:** Antioxidant activity; Phenolic compounds; Cold damage; Thermal resistance.



# Introducción

Los compuestos bioactivos se encuentran en casi todos los alimentos de origen vegetal aportando color, sabor y/o aroma. Hay evidencias que muestran que son capaces de prevenir algunas enfermedades crónicas como hiperlipidemia, cáncer y enfermedades cognitivas como el Alzheimer (Metri-Ojeda *et al.*, 2017). Químicamente, corresponden mayoritariamente a compuestos fenólicos, que son compuestos que poseen al menos un anillo aromático unido a un grupo hidroxilo. Estas estructuras son metabolitos secundarios de las plantas sintetizados como protección frente a condiciones externas adversas, tales como déficit hídrico, alta radiación UV, bajas temperaturas y el ataque de patógenos (Luna, 2012). En este contexto, su presencia en un vegetal depende de diversos factores tales como variedad, genética, estado de madurez, estructura de la planta, composición del suelo y condiciones del cultivo (Gutierrez *et al.*, 2016).

Diversos estudios (Gutierrez *et al.*, 2016; Matri-Ojeda *et al.*, 2017). señalan que tanto las hojas como el tallo de los vegetales poseen compuestos bioactivos similares o aún más altos que los propios frutos, por lo que pueden ser aprovechados para la recuperación de estos compuestos.

En el caso del brócoli sólo el 50% del peso es aprovechado para consumo humano (inflorescencias y semillas) mientras que el resto de la planta, tallos y hojas, suelen ser desechados constituyendo una fuente de contaminación. Sólo en algunos casos estos desechos

son utilizados como alimento para ganado (Metri-Ojeda *et al.*, 2017). Lo anterior lleva a pensar que las fracciones normalmente desechadas del brócoli, también presentan sus propiedades benéficas y éstas pudieran ser traspasadas a otros vegetales. El brócoli da a conocer dentro de sus características una valorable resistencia al frío, el cual lo lleva a tolerar temperaturas desde los 0°C, permitiendo así que en temporadas de heladas de corto y largo ciclo sus plantaciones permanezcan sin daños ni la coloración morada que se puede visualizar en otras hortalizas. (Dolores, 2014).

Por otra parte, la lechuga (*Lactuca sativa* L.) es la más importante entre las hortalizas de hoja que se consumen crudas. Actualmente, es el segundo cultivo hortícola de mayor extensión territorial en Chile (6.272 ha) con un 9,8% de la superficie nacional destinada al cultivo de hortalizas (Eguillor *et al.*, 2016; Carbonell, 2002). Su cultivo se desarrolla mejor en climas templados a frescos con temperaturas medias mensuales de 13 a 18°C, en suelos con alto contenido de materia orgánica y buen drenaje (Agüero, 2011; Luna, 2012). En sus primeras etapas de desarrollo es resistente a bajas temperaturas cercanas a los 0°C. Sin embargo, al acercarse la época de cosecha se vuelve más sensible al frío (Carbonell, 2002), por lo que ha sido incluida dentro de la categoría de frutas y verduras con mayor susceptibilidad al daño por las heladas por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (Snyder y Melo Abreu, 2010). Las hortalizas de hoja, como son las lechugas, se caracterizan por presentar altas tasas de respiración y transpiración,



un elevado contenido de agua y pocas sustancias de reservas, factores que las hacen particularmente frágiles y altamente perecederas luego de la cosecha, ya que favorecen su marchitamiento y deshidratación rápida al ser expuestos a condiciones ambientales inadecuadas (Agüero, 2011).

Durante las últimas décadas las condiciones climáticas de nuestro país han sufrido una serie de variaciones llegando a ser común el paso de ondas polares en los meses invernales. Estas nuevas condiciones repercuten enormemente en la agricultura local, es así como una onda polar que azotó la zona centro sur durante el mes de julio del año 2007 significó pérdidas cercanas a los US\$ 250 millones en el sector agrícola. En palabras del entonces Ministro de Agricultura, Álvaro Rojas, el sector agrícola vive su momento más complejo de los últimos 50 años.

En este sentido, la temperatura es el factor postcosecha que más influye en la velocidad de deterioro de los vegetales, determinando la velocidad de las actividades metabólicas. El empleo de temperaturas muy bajas puede causar desórdenes fisiológicos e incluso muerte del tejido lo que se conoce como daño por frío (Agüero, 2011). El síntoma más característico del daño por heladas es la muerte de las células, debido a la pérdida de las membranas, lo que ocasiona un funcionamiento celular inadecuado. La pérdida de estas estructuras se manifiesta a través del marchitamiento de las hojas, aparición de daños en la cutícula, aparición de manchas marrones (de apariencia acuosa), pérdida de la textura crujiente y de peso (Snyder y Melo Abreu, 2010; Agüero, 2011; Luna, 2012). La pérdida de agua de las hortalizas depende directamente de la humedad relativa del medio, cuyo óptimo es en un rango de 90 a 95 %. Valores menores favorecen la pérdida de agua y valores mayores, el crecimiento de microorganismos (Agüero, 2011).

La información presentada en los párrafos anteriores convierte al Brócoli en una fuente atractiva para la obtención de antioxidantes naturales de alta calidad que pudieran ser utilizados para reducir las pérdidas por daño por frío en lechugas, aumentando su vida útil. De aquí que el objeto de esta investigación sea evaluar el efecto de la aplicación de un extracto de brócoli en la tolerancia al frío de la lechuga costina". Para dar cumplimiento al objetivo de investigación se pretende evaluar el contenido de compuestos fenólicos en extractos de inflorescencia y de "hoja y tallos" de brócoli, comparar la actividad antioxidante en extractos de

inflorescencia y de "hojas y tallo" de brócoli, y evaluar el efecto de la aplicación del extracto de brócoli en daño por frío en lechuga costina.

## Métodos

### Obtención de extractos

En primer lugar, se clasificaron las inflorescencias, tallo y hojas del brócoli. Cada fracción se lavó con 1,5 L de agua con hipoclorito de sodio al 1%.

6 g de tallo y hojas fueron sometidos a 2 minutos de molienda húmeda en un molino de cuchillas con 60 mL de etanol al 80% v/v. Luego, de manera similar se obtuvieron los extractos de las inflorescencias. Todas las muestras fueron maceradas por 6 días a temperatura ambiente y posteriormente filtradas. Los extractos obtenidos se almacenaron a temperatura de refrigeración hasta su posterior uso.

### Cuantificación de compuestos fenólicos totales por el método de Folin - Ciocalteu

Siguiendo la metodología descrita por Singleton *et al.* (1999), se realizó el ensayo en microplaca de 96 pozos, que fue encubada por 30 min a 37°C en el lector de microplacas Bio-TeK Synergy HT, para posteriormente registrar la absorbancia a 725 nm. La cuantificación de resultados se realizó con una curva de calibración con ácido gálico de seis puntos (desde 19,6 a 280 mg/L). Determinación de la actividad antioxidante a través del ensayo de captación del radical DPPH:

150 µL de cada muestra y de radical DPPH (radical 2,2 difenil-1-picrilhidrazil) 0,2 mM fueron medidos a 515 nm luego de 15 min de incubación a temperatura ambiente en el lector de microplacas Bio-TeK Synergy HT. Los resultados fueron expresados como porcentaje de inhibición del radical, el cual se calculó con la siguiente fórmula,  $100 \times (\text{Absorbancia inicial DPPH} - \text{Absorbancia de la muestra}) / \text{Absorbancia inicial DPPH}$ .

### Evaluación del daño por frío

Las lechugas *longifolia*, popularmente conocidas como costinas, se cortaron longitudinalmente en dos. Luego fueron rociadas (asperjadas) con extracto de tallo y hoja, extractos seleccionados de acuerdo al contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante, en volúmenes de 0,5 y 25 mL respectivamente.



Todas las muestras, incluido el control (sin extracto asperjado), se refrigeraron durante 2 semanas a temperatura de  $6 \pm 2^\circ\text{C}$ . Día por medio se registró la masa y se fotografiaron las muestras. Transcurrido los 15 días fueron observadas en un microscopio óptico. El porcentaje de área dañada se determinó a partir de las fotografías, empleando el software ImageJ.

### Análisis estadístico

Todos los ensayos se realizaron en triplicado. Los datos obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza uni-factorial y comparación de medias mediante la prueba Tukey de la mínima diferencia significativa (LSD, con  $p=0.05$ ), utilizando el programa Microsoft Excel.

## Resultados

En la Tabla N° 1 se presentan los resultados de la determinación de compuestos fenólicos (mEAG) expresados como mg EAG /1000 g de extracto de inflorescencia y de "tallo y hoja" de brócoli.

Estructura vegetal	mEAG
Tallo y hoja	$1,36 \pm 0,28$
Inflorescencia	$1,47 \pm 0,14$

Tabla N° 1. Contenidos de compuestos fenólicos de los extractos de brócoli.

La actividad antioxidante, evaluada a través del ensayo de inhibición del radical DPPH fue expresada como el porcentaje (%) de inhibición del radical. Los resultados obtenidos en este ensayo se presentan en la Figura N° 1.

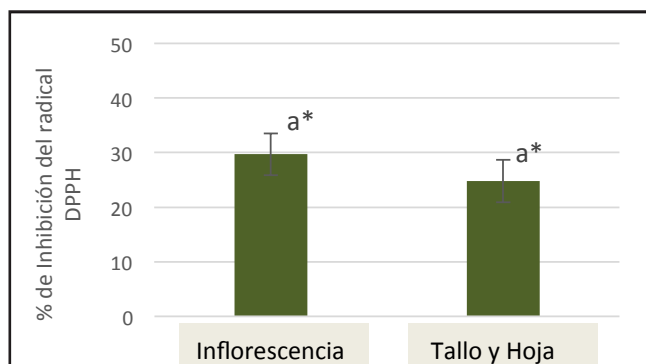
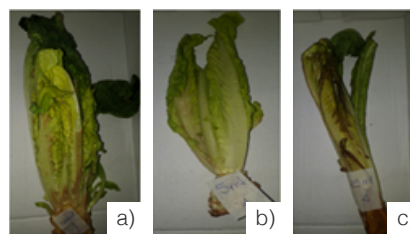
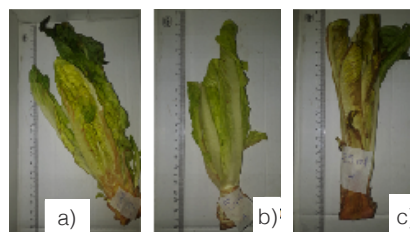


Figura N° 1. Gráfico del porcentaje de Inhibición del radical DPPH por los extractos de brócoli. Series con la misma letra no presentaron diferencias significativas.

En la Figura N° 2 se presentan las fotografías tomadas a las lechugas a los 11 y 13 días de almacenamiento a temperatura de refrigeración.



Día 11 de almacenamiento refrigerada



Día 13 de almacenamiento refrigerada

Figura N° 2. Lechuga costina sin extracto (a), con aplicación de 5 mL de extracto (b) y con 25 mL (c) a distintos días de almacenamiento refrigerado.

Empleando el software ImageJ se cuantificó el porcentaje de área dañada en las lechugas. Los resultados obtenidos se reportan en la Tabla N° 2.

Volumen de extracto añadido (mL)	Área total (cm <sup>2</sup> )	promedio área dañada (%)
0	$192 \pm 57$	22
5	$180 \pm 66$	3
25	$173 \pm 18$	20

Tabla N° 2. Porcentaje (%) de área con daño por frío tras 13 días de almacenamiento refrigerado.

En la Figura N° 3 se muestran fotografías registradas al microscopio óptico del tejido de lechuga con diferentes volúmenes de extracto de tallo y hoja de brócoli añadido, observándose cambios en la forma de la pared celular de las hojas de lechuga.

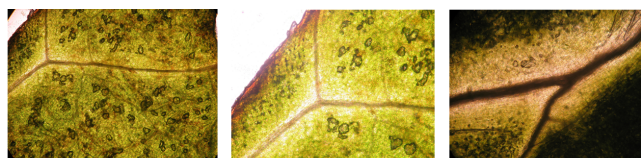


Figura N° 3. Fotografías al microscopio óptico del tejido de lechuga costina sin extracto (izquierda), con 5 mL de extracto (centro) y 25 mL de extracto (derecha) tras 13 días de almacenamiento refrigerado.



En la Figura N° 4 se muestra la gráfica de las masas registradas por las lechugas con respecto al tiempo de refrigeración, con y sin aplicación del extracto de tallo y hoja de brócoli.

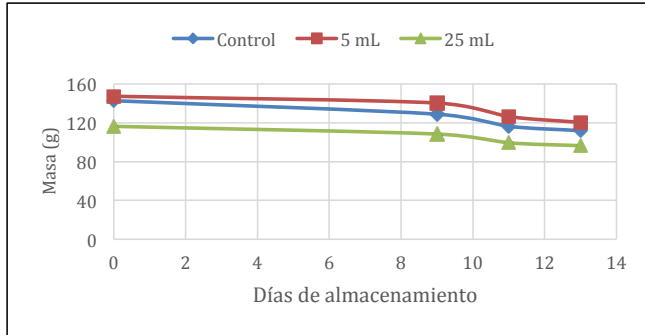


Figura N° 4. Gráfica de masa de las lechugas con respecto a los días de almacenamiento refrigerado.

## Análisis y discusión

Los contenidos de compuestos fenólicos (mEAG) presentes en los extractos de inflorescencia y de tallos y hojas (Tabla N° 1) no presentaron diferencias significativas entre ellos. En comparación con los resultados reportados por Metri-Ojeda *et al.* (2017) el contenido de compuestos fenólicos alcanzado por los extractos evaluados en el presente estudio es menor. Esta diferencia puede ser atribuida a que los autores antes mencionados trabajaron con metanol y/o a las diferencias biológicas y geográficas existentes entre las muestras de tallo y hoja de brócoli evaluadas en cada estudio. De manera concordante con los contenidos de compuestos fenólicos presentes en los extractos, los porcentajes de inhibición del radical DPPH para los extractos de inflorescencia y de “tallo y hoja” no presentaron diferencias significativas entre ellos (29 y 25 %, respectivamente) (Figura N° 1).

Debido a que no se encontraron diferencias significativas en el contenido de compuestos fenólicos y en la

actividad antioxidante de los extractos obtenidos a partir de “tallo y hoja” y los obtenidos desde la inflorescencia de brócoli, y considerando su uso general como simples residuos, se seleccionó a los primeros para continuar esta investigación.

Se puede observar que después del tiempo total de experimentación las lechugas tratadas con el extracto de 5 mL presentan visual y estadísticamente el menor daño por exposición a frío, con un área dañada no mayor al 3% en relación a los otros sustratos experimentales (Tabla N° 2). Luego de 13 días de almacenamiento de las lechugas en frío, solo aquellas asperjadas con el extracto de 5 mL mantienen sus membranas celulares con haces vasculares de color verde claro o pardo claro, mientras que las lechugas que fueron sometidas a la aplicación del extracto en 25 mL y las de control evidencian oscurecimiento de los haces, probablemente debido a la acumulación del látex amargo en su sistema vascular, además de manchas marrones evidentes en la epidermis, todos síntomas atribuibles al daño por frío (Figura N° 3).

En la gráfica de la Figura N° 4 es posible observar como las muestras con adición de 25 mL de extracto presentaron las mayores pérdidas de masa en el tiempo en tanto que aquellas muestras con adición de 5 mL de extracto presentaron pérdidas de masa incluso menores que los controles. La pérdida de masa en las lechugas almacenadas en frío corresponde a la pérdida de agua del vegetal producto de la humedad y temperatura de almacenamiento y representan uno de los factores más dramáticos en el daño por frío. De manera que la aplicación de 5 mL del extracto protegió a las muestras de la pérdida de masa producto de esta variable.

De acuerdo a lo señalado en los párrafos anteriores, el efecto de la adición de 5 mL del extracto “de tallo y hoja” de Brócoli redujo el daño por frío manteniendo a las lechugas en condiciones de mejor preservación.



## Conclusión

El contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante, evaluada a través del ensayo del apagamiento del radical DPPH, no presentaron diferencias significativas para los extractos obtenidos desde la inflorescencia y de "tallos y hojas" de brócoli. La adición de 5 mL de extracto de tallo y hoja de brócoli redujo en un 3% el área dañada por frío en lechuga costina durante 13 días de almacenamiento a temperatura de refrigeración.

### Perspectivas futuras

- Evaluación del extracto de "hoja y tallo" de brócoli para disminuir el daño provocado por las heladas en otros cultivos hortícolas.
- Evaluación del extracto de "hojas y tallos" de brócoli para disminuir el daño por frío en lechugas costinas almacenadas a temperatura ambiente.
- Evaluación de la estabilidad de los extractos de brócoli en el tiempo

## Bibliografía

Agüero MV. 2011. Modelado de la evolución de índices de calidad integral de lechuga mantecosa desde la precosecha hasta el consumidor. Tesis, Universidad Nacional de la Plata, Argentina.

Carbonell C. 2002. Hortalizas: perspectivas. Odepa, Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile.

Eguillor P, Acuña D. 2016. Boletín de hortalizas frescas, Información de precios y de comercio exterior a junio 2016. Publicación de la Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (Odepa) del Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile.

Gutiérrez ME, Franco AC, Cerón A, Abraham MR, Ozuna C. 2016. Extracción de compuestos bioactivos a partir de subproductos vegetales del sector agroalimentario del Estado de Guanajuato. Jóvenes en la Ciencia 2: 1334-1339.

Luna RM. 2012. Influencia de los factores pre y postcosecha en la calidad de la lechuga IV. Tesis, Universidad de Murcia, España.

Metri-Ojeda JC, Gastélum-Martínez E, Baigts-Allende DK. 2017. Aprovechamiento integral de los subproductos agrícolas para la obtención de polifenoles. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos 2: 301-306.

Reardor J, Troxler S. 2020. Brócoli. North Carolina Department of Agriculture and Consumer Services Food and Drug Protection Division. <https://docplayer.es/20391862-North-carolina-department-of-agriculture-and-consumer-services-food-and-drug-protection-division-brocoli.html>

Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. Method Enzymol 299: 152-178.

Snyder RL, Melo-Abreu JP. 2010. Protección contra las heladas: fundamentos, práctica y economía. Serie sobre el medio ambiente y la gestión de los recursos naturales. FAO, Roma, Italia.

