



## ALTERAÇÕES NA COLORAÇÃO E NOS TEORES DE CLOROFILA E DE CAROTENOIDES TOTAIS EM BRÓCOLIS APÓS O ARMAZENAMENTO

Letícia Winke Dias<sup>1</sup>; Cristiane Mariliz Stöcker<sup>2</sup>; André Pich Brunet<sup>3</sup>; Andreia da Silva Almeida<sup>4</sup>; Lílian Madruga Tunes<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Engenheira agrônoma. Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes. Universidade Federal de Pelotas. E-mail: [leticiawinke@yahoo.com.br](mailto:leticiawinke@yahoo.com.br) - Pelotas/RS – Brasil

<sup>2</sup>Engenheira agrônoma. Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar. Universidade Federal de Pelotas.

<sup>3</sup>Engenheiro agrônomo. Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes. Universidade Federal de Pelotas.

<sup>4</sup>Bacharel em Biologia. Pós-doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes. Universidade Federal de Pelotas.

<sup>5</sup>Profª. Doutora do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes. Universidade Federal de Pelotas.

Recebido em: 30/09/2014 – Aprovado em: 15/11/2014 – Publicado em: 01/12/2014

### RESUMO

O brócolis é uma hortaliça de inflorescência, sendo um alimento rico em vitaminas A e C, clorofilas, fósforo, ferro e cálcio. Apresentando um inconveniente, a curta vida útil, pois com o passar do tempo ocorre à deterioração de sua cor provocada pela degradação das clorofilas que, enquanto presentes, mascaram a cor dos outros pigmentos. Nesse contexto, objetivou-se verificar as alterações na coloração e nos teores de clorofilas e de carotenóides em brócolis após o armazenamento. O delineamento experimental foi completamente casualizado, consistindo como tratamentos as inflorescências, híbrido e ramoso e, aplicação dos armazenamentos, temperatura ambiente; atmosfera refrigerada; e, congelamento, além do tratamento testemunha. As variáveis analisadas foram teor de umidade, cor, clorofila total, a, b e carotenóides totais. Verificou-se que o grau de umidade varia entre os tipos de inflorescências e ao longo da aplicação dos tratamentos. Os tratamentos de atmosfera refrigerada e de congelamento preservaram a coloração verde quando comparados à temperatura ambiente. Para os teores de clorofila a, clorofila b e carotenóides de forma geral ocorreram aumentos significativos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Antioxidantes; *Brassica oleracea* L.; temperatura.

### CHANGES IN AND COLORING CONTENT OF CHLOROPHYLL AND CAROTENOID TOTALS IN BROCCOLI

#### ABSTRACT

Broccoli is a vegetable of inflorescence, with a food rich in vitamins A and C, chlorophyll, phosphorus, iron, calcium. Featuring an inconvenience, the short shelf life because with the passage of time is the deterioration of its color caused by chlorophyll degradation that while gifts, mask the color of the other pigments. In this context, aimed to verify the changes in coloration and in chlorophyll and carotenoids

in broccoli after storage. The experimental design was completely randomized, as treatments consisting inflorescences, hybrid and branchy and application of storage at room temperature; chilled atmosphere; and freezing, beyond the control treatment. The variables analyzed were moisture content, color, total chlorophyll, a, b and total carotenoids. It was found that the moisture content varies between types of inflorescences and throughout treatment application. Treatments refrigerated air and freezing of green color preserved when compared to room temperature. For the contents of chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoids generally significant increases occurred.

**KEYWORDS:** Antioxidants; *Brassica oleracea* L.; temperature.

## INTRODUÇÃO

O brócolis (*Brassica oleracea* L.) é uma hortaliça de grande consumo entre os brasileiros, sendo consumido principalmente *in natura* ou minimamente processado. Estima-se que o consumo per capita de frutas e hortaliças tenha crescido em 25% na última década (ROMBALDI et al., 2007), e que para brócolis esse percentual tenha sido ainda maior. O provável fator desse incremento foi à popularização do conhecimento de que se trata de uma hortaliça fonte de compostos fitoquímicos potencialmente protetores, incluído compostos fenólicos, carotenoides, selênio e vitaminas (MANCHALI et al., 2012). Além disso, seus potenciais benefícios como anticarcinogênicos e antioxidantes vem sendo atribuído ao seu conteúdo relativamente alto de glicosinatos (LATTÉ et al., 2011).

O amarelecimento de vegetais, em especial de brócolis, é uma das alterações mais facilmente perceptíveis após a colheita, interferindo no valor comercial do produto (ASODA et al., 2009). Essa alteração é acompanhada de perdas de componentes bioativos, como ácido ascórbico (JEFFERY & ARAYA, 2009) glucosinatos e ácido fólico (JONES et al., 2010).

A atuação da molécula do etileno um hidrocarboneto, hormônio gasoso, o qual difunde livremente de uma célula para outra através das membranas atuando como ativador de uma cascata de sinais relacionada à expressão de genes ligados ao amadurecimento e aumento da síntese das clorofilases, celulases, poligalacturonase, pectinametilesterase, piruvato desidrogenase (DEL AGUILA, 2013; SIVAKUMAR & WALL, 2013). Essa função de coordenação do etileno é reforçada pela capacidade de estimular sua própria síntese nos frutos climatéricos conhecida como síntese autocatalítica, ou seja, a síntese de etileno gera mais etileno, aumentando ainda mais o processo de amadurecimento ou amarelamento (PUN et al., 2013).

Os hortifrutigranjeiros têm sido destacados como excelentes fontes de carboidratos, vitaminas, sais minerais, antioxidantes e de fibras. A investigação científica começa então, a ser dirigida para estudos relacionando esses alimentos com a proteção a saúde do consumidor (EINBOND et al., 2004). Vários métodos têm sido usados na extensão da vida pós-colheita de cabeças de brócolis intactas, incluindo refrigeração (TOIVONEN, 1998a); atmosfera modificada (RAI et al., 2008), calor (COSTA et al., 2005a), radiação UV-C (BAPAT et al., 2010) e uso do 1-metilciclopropeno (1-MCP) (LEE et al., 2012).

Os pigmentos fotossintéticos presentes e a sua abundância variam de acordo com a espécie. A clorofila a está presente em todos os organismos que realizam fotossíntese, sendo o pigmento utilizado para realizar a fase fotoquímica, enquanto os demais pigmentos auxiliam na absorção de luz e na transferência de energia para

os centros de reação, sendo assim chamados de pigmentos acessórios. A clorofila b, os carotenóides e as ficobilinas constituem os chamados pigmentos acessórios (TAIZ & ZEIGER, 2009).

Nesse contexto, objetivou-se verificar as alterações na coloração e nos teores de clorofilas e de carotenóides totais em brócolis após o armazenamento.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido em laboratório didático de Ciência e Tecnologia de Alimentos, localizado no município do Capão do Leão – Brasil - RS (Latitude 31°48'02.69" S). Utilizaram-se cultivares de brócolis do tipo ramosa e híbrida.

Os brócolis oriundos do comércio local da cidade Pelotas-RS, adquiridos no mês de janeiro de 2014, foram utilizados para realização desse estudo. O delineamento experimental foi completamente casualizado, consistindo como tratamentos as inflorescências, híbrido (em forma de cabeça única) e ramoso (em forma lateral) e, aplicação dos armazenamentos, temperatura ambiente a 24°C ± 1, sem a presença de luz; atmosfera refrigerada com umidade relativa de 80%± 5, a 4°C ± 1; e, congelamento a -20°C, além do tratamento testemunha (não tratado). As avaliações ocorreram aos quatro e aos seis dias após a aplicação dos tratamentos.

As variáveis respostas avaliadas foram grau de umidade, cor, clorofila total, *a*, *b* e carotenóides totais. Para a determinação do grau de umidade utilizou-se o aquecimento a 105°C em estufa de ar forçado até atingir peso constante e os resultados foram expressos em percentual de matéria seca (AOAC, 2005). A coloração das inflorescências foi medida com o emprego de colorímetro (Minolta Chromometer Modelo CR 300, D65, Osaka, Japan), com oito mm de abertura no padrão CIE-L\*a\*b\*. Para calcular o ângulo Hue (°Hue), que define a tonalidade de cor, usaram-se os valores de *a*\* e *b*\* (°Hue= tan<sup>-1</sup>b\*/*a*\*). Valores de °Hue próximos a 180° representam inflorescências mais verde; aqueles próximos a 90° são mais amarelos; e quando tendem a 0°, vermelhos. As medições foram realizadas em faces opostas de cada inflorescência.

Os teores de clorofilas e de carotenóides totais foram determinados com amostras de 1 g maceradas em um almofariz em presença de cinco mL de acetona a 80% (v/v). O material foi centrifugado a 10.000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante transferido para balão volumétrico de 25 mL, completando-se esse volume com acetona a 80% (v/v). Os teores de clorofila *a*, *b*, totais (*a*+*b*) e de carotenóides totais foram calculados pelo uso das equações (Equações 1, 2, 3 e 4) estabelecidas por LICHTENTHALER (1987) a partir da absorbância da solução obtida por espectrofotometria a 647, 663 e 470 nm. Os resultados foram expressos em mg.g<sup>-1</sup> de massa seca (MS).

$$\text{Chl totais} = 7,15 (A663) + 18,71 (A647) \quad (1)$$

$$\text{Chl 'a'} = 12,25 (A663) - 2,79 (A647) \quad (2)$$

$$\text{Chl 'b'} = 21,50 (A647) - 5,10 (A663) \quad (3)$$

$$\text{Carotenóides totais} = [1000 (A470) - 1,82 \text{ Chl a} - 85,02 \text{ Chl b}] / 198 \quad (4)$$

Os dados foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e à homocedasticidade pelo teste de Hartley. Posteriormente, foram submetidos à análise de variância (p≤0,05). Os efeitos de inflorescências foram avaliados pelo teste t (p≤0,05), de armazenamento pelo teste de Tukey (p≤0,05) e, a comparação com a testemunha foi realizada pelo teste de Dunnett (p≤0,05).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação entre os fatores testados para todas as variáveis estudadas. Para a inflorescência ramoso, no tratamento temperatura ambiente, não foi possível realizar a determinação das análises, pois o brócolis não apresentava condições de consumo (Tabelas 1 e 2). Ao estudar o teor de umidade verificou-se que na inflorescência híbrido os tratamentos de armazenamento diferiram ao longo do tempo. E, quando comparado com a testemunha observou-se que não ocorreu diferença significativa apenas em relação à temperatura ambiente. Para o °Hue, os tratamentos de atmosfera refrigerada e de congelamento preservaram a coloração verde quando comparados com a temperatura ambiente, em relação à testemunha ocorreu degradação da clorofila (Tabela 1).

**TABELA 1.** Umidade em base seca (%) e ângulo °Hue em brócolis com inflorescências híbrido e ramoso após diferentes formas de armazenamento. FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2014.

Armazenamento	Umidade		°Hue	
	Híbrido	Ramoso	Híbrido	Ramoso
Testemunha (T)	20,28	20,91	166,44	125,57
			4 DAT <sup>2/</sup>	
Temperatura ambiente	18,83 <sup>b</sup>	nd <sup>3/</sup>	90,77 <sup>a *</sup>	nd
Atmosfera refrigerada	32,09 <sup>aA *</sup>	20,19 <sup>B</sup>	110,38 <sup>aA *</sup>	116,03 <sup>A</sup>
			6 DAT	
Temperatura ambiente	15,41 <sup>c *</sup>	nd	102,83 <sup>b *</sup>	nd
Atmosfera refrigerada	33,42 <sup>aA *</sup>	33,34 <sup>aA *</sup>	119,69 <sup>aA *</sup>	116,84 <sup>aA *</sup>
Congelamento	30,97 <sup>bA *</sup>	26,56 <sup>bB *</sup>	123,86 <sup>aA *</sup>	118,56 <sup>aA *</sup>

<sup>\*</sup>, Significativo pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ) em relação à testemunha (T). <sup>1/</sup> Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) comparando o efeito do armazenamento dentro de cada inflorescência. Médias seguidas por mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) comparando o efeito das inflorescências dentro de armazenamento. <sup>2/</sup> DAT: dias após os tratamentos. <sup>3/</sup> nd: não determinado.

**TABELA 2.** Teores de clorofila a, b, total (a+b) e carotenoides totais ( $\text{mg g}^{-1}$  de MS) extraídos de brócolis com inflorescências híbrido e ramoso após diferentes formas de armazenamento. FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2014.

Armazenamento	Clorofila a		Clorofila b		Clorofila total		Carotenóides totais	
	Híbrido	Ramoso	Híbrido	Ramoso	Híbrido	Ramoso	Híbrido	Ramoso
Testemunha (T)	0,064	0,144	0,015	0,199	0,079	0,343	12,98	25,49
					4 DAT <sup>2/</sup>			
T. ambiente	0,040 <sup>bA</sup>	nd <sup>3/</sup>	0,060 <sup>b *</sup>	nd	0,100 <sup>b *</sup>	nd	15,90 <sup>a</sup>	nd
A. refrigerada	0,117 <sup>aB *</sup>	0,277 <sup>A *</sup>	0,205 <sup>aB *</sup>	0,483 <sup>A *</sup>	0,322 <sup>aB *</sup>	0,760 <sup>aA *</sup>	15,32 <sup>aB</sup>	66,43 <sup>A *</sup>
					6 DAT			
T. ambiente	0,176 <sup>a</sup>	nd	0,256 <sup>a *</sup>	nd	0,432 <sup>a *</sup>	nd	32,60 <sup>a *</sup>	nd
A. refrigerada	0,060 <sup>cB</sup>	0,197 <sup>aA *</sup>	0,016 <sup>bB</sup>	0,316 <sup>bA *</sup>	0,076 <sup>cB</sup>	0,513 <sup>bA *</sup>	8,69 <sup>bB *</sup>	53,21 <sup>bA *</sup>
Congelamento	0,102 <sup>bB *</sup>	0,248 <sup>aA *</sup>	0,062 <sup>bB *</sup>	0,591 <sup>aA *</sup>	0,164 <sup>bB *</sup>	0,839 <sup>aA *</sup>	9,26 <sup>bB *</sup>	95,54 <sup>aA *</sup>

<sup>\*</sup> Significativo pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ) em relação à testemunha (T). <sup>1/</sup> Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) comparando o efeito do armazenamento dentro de cada inflorescência. Médias seguidas por mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) comparando o efeito das inflorescências dentro de armazenamento. <sup>2/</sup> DAT: dias após os tratamentos. <sup>3/</sup> nd: não determinado.

No entanto, TOIVONEN et al. (1998b), comprovaram que há diferenças de respostas entre genótipos de brócolis quanto ao amarelecimento. Segundo TENG & CHEN (1999), os pigmentos clorofilianos são susceptíveis a mudanças químicas e físicas durante o processamento de vegetais. Mudanças na coloração em função de tratamento térmico é resultado, principalmente, da conversão da clorofila em feofitina através da substituição do  $Mg^{+2}$  da clorofila por hidrogênio (KAISER et al., 2012). A velocidade da reação de feofitinação é geralmente maior que a de outras rotas de degradação da clorofila, sendo considerado o mais importante mecanismo de destruição da clorofila durante o processamento e armazenagem de vegetais (MARTINS et al., 2002). Segundo dados de COSTA et al. (2005b), a perda da coloração esverdeada em brócolis ocorre com a redução nos teores de clorofila *a* e *b*, resultando em diminuição dos valores do  $^{\circ}Hue$ , sendo que as maiores reduções são referentes ao teor de clorofila *a*.

A atmosfera refrigerada e de congelamento demonstram a preservação da coloração verde, além do aumento significativo dos teores de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides quando comparados à temperatura ambiente.

## CONCLUSÕES

Verificou-se que o grau de umidade varia entre os tipos de inflorescências e ao longo da aplicação dos tratamentos. Os tratamentos de atmosfera refrigerada e de congelamento preservaram a coloração verde quando comparados à temperatura ambiente. Para os teores de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides de forma geral ocorreram aumentos significativos.

## REFERÊNCIAS

ABLE, A. J.; WONG, L.S.; PRASAD, A.; O'HARE, T.J. The effects of 1-methylcyclopropene on the shelf life of minimally processed leafy asian vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v. 27, n. 2, p. 157-161, 2003.

ALI, A.; ONG, M.K.; FORNEY, C.F. Effect of ozone pre-conditioning on quality and antioxidant capacity of papaya fruit during ambient storage. **Food Chemistry**, v.142, p. 19-26, 2014.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 17<sup>a</sup> ed. **Official Methods of Analysis**. Arlington, 2005.

ASODA, T.; TERAJ, H.; KATO, M.; SUZUKI, Y. Effects of postharvest ethanol vapor treatment on ethylene responsiveness in broccoli. **Postharvest Biology and Technology**, v. 52, p. 216-220, 2009.

BAPAT, V. A.; TRIVEDI, P. K.; GHOSH, A.; SANE, V. A. GANAPATHI, T. R., NATH, P. Ripening of fleshy fruit: Molecular insight and the role of ethylene. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 94-107, 2010.

COSTA, M.L.; CIVELLO, P.M.; CHAVES, A.R.; MARTINEZ, G.A. Effect of ethephon and 6 benzylaminopurine on chlorophyll degrading enzymes and a peroxidase – linked chlorophyll bleaching during postharvest senescence of broccoli (*Brassica*

*oleracea* L.) at 20°C. **Postharvest Biology and Technology**, v. 35, p. 191–199, 2005a.

COSTA, M.L.; CIVELLO, P.M.; CHAVES, A.R.; MARTINEZ, G.A. Effect of ethephon and 6 benzylaminopurine on chlorophyll degrading enzymes and a peroxidase – linked chlorophyll bleaching during postharvest senescence of broccoli (*Brassica oleracea* L.) at 20°C. **Postharvest Biology and Technology**, v. 35, p. 191–199, 2005b.

DEL AGUILA, J.S. **Hormônios e reguladores do crescimento vegetal: Morfologia e Fisiologia Vegetal**. Disponível em:<<http://200.132.139.11/aulas/Eno>> Acesso em 19/01/2014.

EINBOND, L.S.; REYNERTSON, K.A.; LUO, X.; BASILE, M.J.; KENNELLY, E.J. Antocyanin antioxidants from edible fruits. **Food Chemistry**, v. 84, p. 23-28, 2004.

JEFFERY E.H.; ARAYA M. Physiological effects of broccoli consumption. **Phytochemistry Reviews**, v.8, p. 283-298, 2009.

JONES R.B.; FRISINA C.L.; WINKLER S.; IMSIC M.; TOMKINS R.B. Cooking method significantly effects glucosinolate content and sulforaphane production in broccoli florets. **Food Chem.**, v.123, p.237–242, 2010.

KAISER, A.; BRINKMANN, M.; CARLE, R.; KAMMERER, D.R. Influence of thermal treatment on color, enzyme activities, and antioxidant capacity of innovative paste like parsley products. **Journal of agricultural and food chemistry**, v.60, n.12, p. 3291-3301, 2012.

LATTÉ, K.P.; APPEL, K-E.; LAMPEN, A. Health benefits and possible risks of broccoli – An overview. **Food Chem Toxicol.**, v.49, n.12, p. 3287-3309, 2011.

LEE J.; CHENG L.; RUDELL D.R.; WATKINS C.B. Antioxidant metabolism of 1-methylcyclopropene (1-MCP) treated ‘Empire’ apples during controlled atmosphere storage. **Postharvest Biology and Tecnology**, v. 65, p. 79-91, 2012.

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: PACKER, L.,DOUCE, R. (Eds.). **Methods Inenzimology**, London: Academic Press, v.148, p. 350-381, 1987.

MANCHALI, S.; MURTHY, K.N.C.; PATIL, B.S. Crucial facts about health benefits of popular cruciferous vegetables. **J Funct Foods**, v.4, n.1, p. 94 – 106, 2012.

MARTINS, R.C.; SILVA, C.L.M. Modelling colour and chlorophyll losses of frozen green beans (*Phaseolus vulgaris*, L.). **International Journal of Refrigeration**, v. 25, p. 966-974, 2002.

PUN, U.K.; NIKI, T.; ICHIMURA, K. Ethanol reduces sensitivity to ethylene and delays petal senescence in cut *Tweedia caerulea* flowers. **Plant Growth Regulation**, n.69, p. 125-1330, 2013.

RAI, D.R.; TYAGI, S.K.; JHA, S.N.; MOHAN, S. Qualitative changes in the broccoli (*Brassica oleracea italica*) under modified atmosphere packaging in perforated polymeric film. **Journal of Food Science and Technology**, v.45, p. 247–250, 2008.

ROMBALDI, C.V.; TIBOLA, C.S.; FACHINELLO, J.C.; SILVA, J.A. Percepção de consumidores do Rio Grande do Sul em relação a quesitos de qualidade em frutas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, p. 681-684, 2007.

SERRANO, M.; MARTINEZ – ROMERO, D.; GUILLÉN, F.; CASTILLO, S.; VALERO, D. Maintenance of broccoli quality and functional properties during cold storage as affected by modified atmosphere packaging. **Postharvest Biology and Technology**, v. 39, p. 61 – 68, 2006.

SIVAKUMAR, D.; WALL, M.M. Papaya Fruit Quality Management during the Postharvest Supply Chain. **Food Reviews International**, v.29, n.1, p. 24-48, 2013.

TAIZ, L.; E ZEIGER, E. **Plant Physiology**. Sinauer, Assoc. Inc. Sunderland Ma, USA, 5<sup>a</sup> ed., p. 782, 2009.

TENG, S.S.; CHENG, B.H. Formation of pyrochlorophylls and their derivatives in spinach leaves during heating. **Food Chemistry**, v. 65, p. 367-373, 1999.

TOIVONEN, P.M.A.; SWEENEY, M. Differences in chlorophyll loss at 130C for two broccoli (*Brassica oleracea* L.) cultivars associated with antioxidant enzyme activities. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 46, p. 20–24, 1998a.

TOIVONEN, P.M.A.; SWEENEY, M. Differences in chlorophyll loss at 130C for two broccoli (*Brassica oleracea* L.) cultivars associated with antioxidant enzyme activities. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 46, p. 20–24, 1998b.

YUAN, G.; SUN, B.; YUAN, Y.; WANG, Q. Effect of 1-methylcyclopropene on shelf life, visual quality, antioxidant enzymes and health – promoting compounds in broccoli florets. **Food Chemistry**, v. 118, p. 774-781, 2009.