



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA

**“Caracterización química y enzimática del enverdecimiento
de coliflor congelada”**

TESIS

PRESENTA:

I.Q. JARED YAIR GARCÍA OVANDO

DIRIGIDO POR:

Dra. Ma. Estela Vázquez Barrios

Centro Universitario, Santiago de Querétaro, Qro.
Noviembre 2023



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



Caracterización química y enzimática del
enverdecimiento de coliflor congelada.

por

Jared Yair García Ovando

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](#).

Clave RI: FQMAC-309137



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

“Caracterización química y enzimática del enverdecimiento de coliflor congelada.”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

I.Q. JARED YAIR GARCÍA OVANDO

Dirigido por:

Dra. Ma. Estela Vázquez Barrios

Sinodales:

Dra. Estela Vázquez Barrios

Presidente

Dra. Edmundo M. Mercado Silva

Secretaria

Dr. Eduardo Castaño Tostado

Vocal

Dr. Gerardo M. Nava Morales

Vocal

Dra. Dalia Vázquez Celestino

Vocal

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano
Directora de la Facultad de Química

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y Posgrado

Centro Universitario, Querétaro, Qro. México
Noviembre, 2023

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DEL ESTUDIANTE

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.

Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

I.Q. Jared Yair García Ovando

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

- A la Universidad Autónoma de Querétaro por el uso de equipos y laboratorios.
- Al Conahcyt por la beca otorgada durante el periodo Julio 2021 a Julio 2023 y que contribuyó a concluir el periodo de estudios del posgrado.
- A las empresas involucradas durante el desarrollo de este proyecto por aportar la materia prima necesaria para los análisis.
- A la Dra. Ma Estela Vázquez por brindarme la oportunidad de trabajar bajo su directriz, así como por el apoyo durante todo el ciclo de trabajo, de igual manera al comité de sinodales evaluadores de este trabajo por sus valiosas aportaciones.
- A mi familia, mi madre, tíos, abuela y hermano, por todo el apoyo que siempre me han brindado, los consejos y el empuje cuando fue necesario.
- A las nuevas amistades que hice durante esta etapa, especialmente en el laboratorio de Poscosecha de Frutas y hortalizas, Manuel, Noemí y Mayra quienes hicieron de las largas jornadas un tiempo más ameno.

INDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA	i	
INDICE DE CONTENIDO	ii	
INDICE DE TABLAS	iv	
INDICE DE FIGURAS	v	
INDICE DE ILUSTRACIONES	v	
RESUMEN	vi	
ABSTRACT	vii	
1	INTRODUCCIÓN	1
2	ANTECEDENTES	2
2.1	Generalidades de Coliflor	2
2.1.1	Importancia económica	2
2.1.2	Variedades de coliflor	3
2.1.3	Composición química de coliflor blanca	4
2.2	Almacenamiento de coliflor	9
2.3	Congelación de coliflor	9
2.3.1	Escaldado	9
2.3.2	Congelación de coliflor	12
2.3.2.1	Factores de calidad en coliflor congelada	14
2.3.2.2	Color	14
2.3.2.3	Defectos en coliflor congelada	16
2.3.2.4	Pérdida de nutrientes	17
2.4	Enverdecimiento en productos hortícolas procesados	17
2.5	Regulación de factores asociados al enverdecimiento	21
3	JUSTIFICACIÓN	23
4	OBJETIVOS	24
5	MATERIALES Y MÉTODOS	25
5.1	Material biológico	25
5.2	Estrategia experimental	25
5.3	Métodos	26
5.3.1	Calidad Visual y porcentaje de enverdecimiento	26
5.3.2	Determinación de color	26
5.3.3	Cuantificación de clorofila	27
5.3.4	Determinación de glucosinolatos	27
5.3.5	Determinación de la actividad enzimática	28

5.3.5.1	Actividad de peroxidasa	28
5.3.5.2	Actividad de mirosinasa	28
5.3.5.3	Determinación de proteína por Bradford para actividad específica de proteína	29
5.3.6	Procesado en condiciones de laboratorio	29
5.3.6.1	Escaldado en agua caliente	29
5.3.6.2	Escaldado en vapor	29
5.3.6.3	Escaldado en microondas	29
5.3.6.4	Enfriamiento	29
5.3.6.5	Congelación	30
5.4	Diseño experimental y análisis estadístico	30
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
6.1	Etapas 1	32
6.1.1	Calidad Visual	32
6.1.2	Determinación Colorimétrica	34
6.1.3	Contenido de Clorofila	35
6.1.4	Actividad de la Peroxidasa	36
6.2	Etapas 2	37
6.2.1	Calidad Visual	38
6.2.2	Evaluación de color en muestras escaldadas con agua, vapor y microondas	40
6.2.3	Actividad de la Peroxidasa en muestras escaldadas con agua, vapor y microondas	42
6.3	Etapas 3.	43
6.3.1	Contenido de Glucosinolatos en muestras de coliflor escaldadas	43
6.3.2	Actividad de la mirosinasa en muestras de coliflor escaldadas	46
7	CONCLUSIONES	48
8	BIBLIOGRAFÍA	49
9	ANEXOS	58

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Características deseables de la coliflor.	2
Tabla 2	Composición nutricional de la coliflor por 100 g de parte comestible.	5
Tabla 3	Concentración de glucosinolatos presente en algunas crucíferas.	7
Tabla 4	Factores de calidad que deben cumplir las coliflores frescas antes de ser sometidas al proceso de congelación.	15
Tabla 5	Tratamientos evaluados en la experimentación.	31
Tabla 6	Tabla 6. Apariencia de muestras de coliflor otorgadas por la empresa A y B.	33
Tabla 7	Determinación de color en muestras de coliflor en diferentes etapas de proceso.	35
Tabla 8	Contenido de clorofila ($\mu\text{g/g}$) en coliflor de diferentes etapas de proceso.	36
Tabla 9	Actividad enzimática de peroxidasa (UPOD/g) en coliflor de diferentes etapas de proceso.	37
Tabla 10	Porcentaje de enverdecimiento (% EV) en la coliflor escaldada en agua caliente (94 °C), vapor de agua y microondas (1000W).	38
Tabla 11	Valores del parámetro a^* y peroxidasa en muestras de coliflor escaldadas en agua caliente (94°C), vapor de agua y microondas (1000 W). Muestras de la empresa A y de un mercado local.	41
Tabla 12	Contenido de glucosinolatos y actividad de la mirosinasa en muestras de coliflor escaldadas en agua, vapor y microondas.	44

INDICE DE FIGURAS

Figura 1	Clasificación de glucosinolatos de acuerdo con la composición de aminoácidos de la cadena lateral R (Arbona, 2020)	6
Figura 2	Ruta de degradación de los glucosinolatos y sus productos de degradación (Prieto et al., 2019)	9
Figura 3	Ruta de síntesis de los pigmentos amarillos y verdes relacionados al enverdecimiento del ajo (de Iseppi et al., 2021; Wu et al., 2021)	20
Figura 4	Floretes de coliflor blanca variedad botrytis a) crudos sin presencia de enverdecimiento, b) tras salir del proceso de escaldado, c) tras haber pasado por el enfriamiento.	22
Figura 5	Apariencia visual de coliflor blanca en empresa A. a) Fresca, b) y c) escaldadas en agua por 90 s y 180 s; d) y e) escaldadas en vapor por 90 s y 180 s; y f) y g) escaldadas en microondas por 90 s y 180 s.	39
Figura 6	Apariencia visual de coliflor blanca de mercado local. a) Fresca, y escaldadas en agua b) 90 s, c) 180 s, vapor, d) 90 s, e) 180 s, microondas, f) 90 s, g) 180 s.	39

INDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1	Coliflor blanca var. botrytis. a) Pella cubierta por sus hojas; b) Apariencia de una pella blanca.	4
Ilustración 2	Diagrama de flujo del proceso de congelación de la empresa A y B.	25
Ilustración 3	Diagrama de la estrategia experimental seguida en cada etapa.	26
Ilustración 4	Diseño experimental en cada etapa de la estrategia experimental.	30

RESUMEN

La coliflor es una crucifera con alto contenido de fibra, glucosinolatos y minerales. Debido a su corta vida poscosecha el principal método de comercialización es la congelación; sin embargo, durante el proceso puede ocurrir un problema de calidad conocido como “pata verde”, caracterizado por el desarrollo de una coloración verde en el tallo de los floretes representando hasta un 40 % del producto final. El objetivo del trabajo de investigación fue realizar la caracterización química y enzimática del enverdecimiento de coliflor congelada. Se trabajó con muestras obtenidas de cada etapa de proceso de una congeladora comercial y se recreó el proceso de escaldado en agua en condiciones de laboratorio, adicionalmente y con el objetivo de evaluar el efecto de diferentes tipos de escaldado en el enverdecimiento se añadieron 2 escaldados adicionales (vapor y microondas) por tiempos de 1:30 y 3 minutos. El enverdecimiento es denotado por valores negativos de a^* en el esquema CIE $L^*a^*b^*$, muestras enverdecidas presentaron valores negativos de a^* 90% mayores a las muestras blancas. Se concluyó que el contenido de clorofila no fue relevante en el desarrollo del defecto debido a que no estuvo presente en coliflor enverdecida. Se midió la actividad de la peroxidasa para comprobar su correcta inactivación en el proceso, La actividad enzimática disminuyó después de aplicar los tratamientos de escaldado; sin embargo, el escaldado en vapor mostró disminuciones menores al 30% por lo que se concluyó no es efectivo para inactivar la actividad enzimática. El contenido total de glucosinolatos fue mayor en muestras enverdecidas frescas y escaldadas por 40%; la actividad de la mirosinasa fue mayor en muestras enverdecidas y no mostró diferencias significativas entre tratamientos, sin embargo en muestras blancas los escaldados en agua y vapor por ambos tiempos (90 y 180 s) disminuyeron la actividad de la enzima por arriba del 60%; el porcentaje de enverdecimiento en muestras escaldadas en agua por 180 s (5.4 %) y microondas por 180 s (9.2%) fue inferior al porcentaje de 20% establecido por la USDA para regular el defecto.

Palabras claves: Coliflor, Glucosinolatos, Enverdecimiento, Congelación

ABSTRACT

Cauliflower has high contents of fiber, glucosinolates and minerals. Due to its short post-harvest life the main marketing method is freezing; however, during the process occurs a quality problem known as "green stem", characterized by the development of a green coloration on the stem of the florets representing up to 40 % of the final product. The objective of the research work was to perform the chemical and enzymatic characterization of greening in frozen cauliflower. Samples were collected from each process stage of a commercial freezer and the water-scalding process was recreated under laboratory conditions, in addition and in order to evaluate the effect of different types of scalding on greening, 2 additional scalders (steam and microwave) were added for 1:30 and 3 minutes. Greening is denoted by negative values of a^* in the CIELa*b* scheme, greenish samples had negative values of a^* 90% higher than white samples. It was concluded that chlorophyll content was not relevant in greening because it was not present in cauliflower. Peroxidase activity was measured to check its correct inactivation in the process, enzymatic activity decreased after applying scalding treatments; however, the steam scalding showed decreases less than 30% so it was concluded is not effective to inactivate enzyme activity. Total glucosinolate content was higher in fresh and scalded greenish samples by 40%; myrosinase activity was higher in greenish samples and showed no significant differences between treatments, however in white samples scalded in water and steam by both times (90 and 180 s) decreased enzyme activity above 60%; the percentage of greening in scalded samples in water by 180 s (5.4%) and microwave by 180 s (9.2%) was lower than the 20% set by the USDA to regulate the defect.

Key words: Cauliflower, Glucosinolates, Greening, Freezing.

1. INTRODUCCIÓN

La coliflor posee beneficios y propiedades importantes para la salud gracias a su composición nutricional, destaca la presencia de fenoles, minerales, vitaminas, fibra y glucosinolatos; así como su elevado contenido de agua y bajo contenido de carbohidratos (Fundación Española de Nutrición, 2011). La coliflor fresca presenta una corta vida poscosecha incluso en condiciones de refrigeración, de tal forma que solo se puede conservar por lapsos de 6 a 9 días a temperaturas de 5 - 15 °C. Por esta razón, el principal método de conservación para su comercialización es la congelación, la cual requiere de un pretratamiento de escaldado para evitar cambios indeseables en el producto durante su almacenamiento debido principalmente a la actividad de las enzimas (Ahmed y Ali, 2013; Suslow y Cantwell, 1998). Sin embargo, durante la congelación ocurre un problema de calidad conocido como “pata verde”, caracterizado por el desarrollo de una coloración verde en el tallo de los floretes representando hasta un 40 % del producto final. Se ha reportado el desarrollo de color verde durante el almacenamiento en otros productos hortícolas como el ajo, principalmente por la participación de compuestos azufrados como la allina (de Iseppi *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2021); de manera comparativa; la degradación de los glucosinolatos en la coliflor podría estar asociado al desarrollo del enverdecimiento. Los glucosinolatos son compuestos nitrógeno-azufrados característicos de las crucíferas, se liberan de la vacuola cuando se producen alteraciones al tejido celular de la coliflor, ya sea por daños físicos o mecánicos, así como por estrés o exposición a altas temperaturas.

Este proyecto surge por interés de una congeladora de la región dedicada al ramo de alimentos congelados y liofilizados, particularmente con brócoli y coliflor; esta empresa procesa de 11,000 a 19,000 kg de coliflor al día, el defecto ha ocasionado pérdidas a la empresa del 30 – 40 % respecto al producto terminado. Debido a la escasa información existente respecto a este defecto, el presente trabajo evalúa los factores involucrados en el desarrollo del enverdecimiento de la coliflor durante el proceso de congelación comercial para poder aportar información sobre posibles soluciones para reducir las pérdidas económicas.

2. ANTECEDENTES

2.1 Generalidades de Coliflor

La coliflor es una crucífera perteneciente a la familia Brassicaceae, consta de un tallo floral ramificado conocido como inflorescencia, su meristemo es el encargado de producir hojas y flores mediante un sistema de autorreplicación de brotes y ramas que forman la parte comestible conocida como cabeza o pella (Pedreros Hernández, 2016; Singh *et al.*, 2017; Smyth, 1995). Su temperatura de desarrollo se encuentra en intervalos mínimos de 5 a 8 °C y máximos de 25 a 28 °C (Singh *et al.*, 2017). En la Tabla 1 se muestran las características que debe poseer la pella de coliflor blanca para ser cosechada en un tiempo de 55 a 65 días después de la siembra (Singh *et al.*, 2017).

Tabla 1 Características deseables de la coliflor

Rasgo evaluado en la pella	Característica deseable
Forma	Semiesférica
Diámetro	15-18 cm
Peso	600-1000 g
Color	Blanco o blanco cremoso
Sin defectos visuales	Arrozado, pelusa

Fuente: (Singh *et al.*, 2017)

2.1.1 Importancia económica

El brócoli y la coliflor son las especies del género *Brassica* que más se comercializan tanto frescas como congeladas. En 2017 México ocupó el tercer lugar dentro del top 10 de países productores de coliflor con un porcentaje de 2.13 %, sólo por detrás de India y China con 34.49 % y 35.77 %, respectivamente (Indian Horticulture Database, (2021). En 2019, Guanajuato, Puebla e Hidalgo representaron los estados más importantes en cuanto a la producción de esta crucífera obteniendo porcentajes anuales de 35.2, 15.5 y 14.0 %, respectivamente; en el mismo año, la exportación de brócoli y coliflor en México representó el 25.6 % de la participación mundial, Estados Unidos encabezó el principal destino de exportación, seguido de Canadá y Japón (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2020). La producción mundial de brócoli y coliflor en el año 2020 fue encabezada por China e

India con 9.5 y 9.0 millones de toneladas, respectivamente; México ocupó el quinto lugar de la lista con una producción de 690 mil millones de toneladas; aproximadamente el 46 % de la coliflor producida en el país es exportada, de tal forma que el 80 % de las hortalizas congeladas exportadas son conformadas por el brócoli y la coliflor (FAOSTAT, 2020).

2.1.2 Variedades de coliflor

Cada variedad de coliflor posee una coloración diferente, teniendo coliflores blancas, naranjas, moradas y verdes. Las variedades naranjas y moradas suelen tener mejor composición nutricional que las coliflores blancas, debido a su mayor contenido de carotenoides y antocianinas (Koss-Mikolajczyk *et al.*, 2019).

La coliflor naranja debe su coloración a la mutación del gen designado como “orange gene, Or”, ocasionando que la pella blanca, los meristemas y la médula del tallo adquieran una coloración naranja; además, este gen es capaz de inducir la formación de cromoplastos en lugar de favorecer la expresión de genes implicados en la biosíntesis de carotenoides (Lopez *et al.*, (2008); Lu *et al.*, (2007)).

La coliflor morada debe su coloración a la mutación del gen semidominante designado como “purple gene, Pr”, la coliflor morada acumula grandes cantidades de antocianinas, contiene 7 variedades de cianidinas siendo la cianidina 3-(cumaril-cafeil)-glucósido-5-(malonil) glucósido el compuesto predominante (Chiu *et al.*, (2010) citado en (Singh *et al.*, 2017)). La coliflor morada presenta más del doble del contenido de glucosinolatos que la variedad blanca debido a su mayor composición de fenoles, razón por la que el contenido de isotiocianatos como 3-(Metilsulfinil)propil-ITC (3-MSP) y 2-Propenil-ITC (AITC), ambos involucrados como agentes quimiopreventivos que previenen distintos tipos de cáncer, es mayor en comparación con la coliflor blanca (Koss- Mikolajczyk *et al.*, 2019).

La coliflor blanca debe su coloración a que durante su crecimiento la pella es protegida de la luz solar con sus hojas externas de gran tamaño (Ilustración 1), evitando así el desarrollo de clorofila (Ciuraru, 2019). México ocupa el quinto lugar en producción de brócoli y coliflor blanca frescos, por esta razón la variedad blanca es la que más se comercializa (FAOSTAT, 2020).

2.1.3 Composición química de coliflor blanca

La Tabla 2 muestra la composición nutricional de la coliflor, destaca su contenido de vitaminas (vitamina C) y minerales (potasio); además contiene fitoquímicos como compuestos fenólicos, carotenoides, glucosinolatos, flavonoides, que tienen efectos antioxidantes (Dos Reis *et al.*, 2015; Drabińska *et al.*, 2021; Koss-Mikołajczyk *et al.*, 2019).

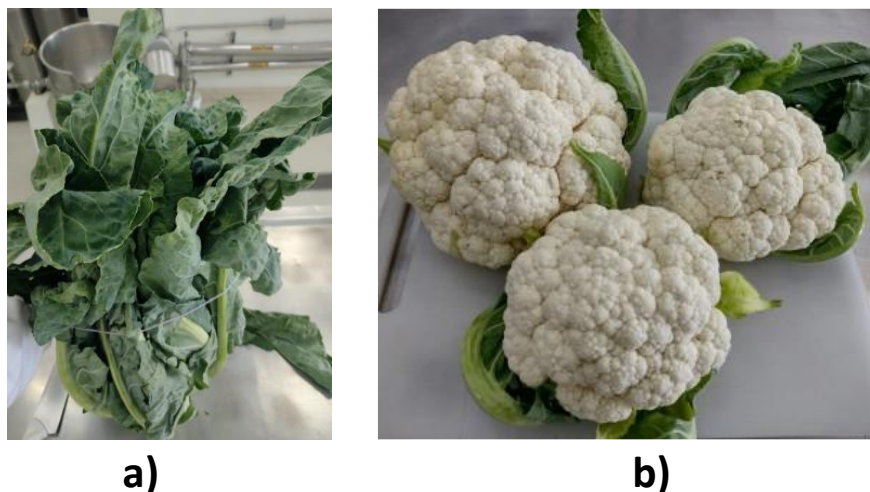


Ilustración 1. Coliflor blanca var. botrytis. a) Pella cubierta por sus hojas; b) Apariencia de una pella blanca.

La principal característica que distingue a las crucíferas de los demás vegetales es la presencia de glucosinolatos (Possenti *et al.*, (2017). Los glucosinolatos pueden ser nitro - sulfurados y pueden presentar ligera actividad antioxidante debido a que no se relacionan directamente con la eliminación de radicales libres (Ali, 2015). Ellos son los responsables del sabor característico de la coliflor.

Los glucosinolatos son aniones conformados por fracciones de glucósido y un grupo sulfato, tienen carácter hidrofílico debido a que durante su hidrólisis liberan moléculas de glucosa (Pérez, 2014). Están conformados por un grupo β -D-tioglucofuranosa, una oxima sulfonada y una cadena lateral, la cual otorga la clasificación de glucosinolatos de acuerdo con el conjunto de aminoácidos presentes en el grupo R (Figura 1) (Kapusta-Duch *et al.*, 2016).

Tabla 2 Composición nutricional de la coliflor por 100 g de parte comestible

Calorías (kcal)	25
Proteínas (g)	1.92
Lípidos (g)	0.28
Carbohidratos (g)	4.97
Azúcares (g)	1.91
Fibra (g)	2.0
Calcio (mg)	22
Hierro (mg)	0.42
Potasio (mg)	299
Sodio (mg)	30
Zinc (mg)	0.27
Vitamina C (mg)	48.2
Vitamina A (equivalentes de retinol)	0
Vitamina E (mg)	0.08
Vitamina K (mg)	0.27
Folatos (mg)	57

Fuente: (Pedreros Hernández, 2016)

Los glucosinolatos se clasifican en alifáticos, indol y aromáticos dependiendo de los aminoácidos de los que derive su cadena lateral R, de esta manera, la cadena alifática está dada por alanina, leucina, isoleucina, metionina, valina; la cadena aromática está dada por fenilalanina y tirosina; por último, el triptófano es el único constituyente de la cadena indol; la estructura de la cadena R define las características fisicoquímicas y la importancia biológica de cada uno de los productos de degradación de los glucosinolatos (Prieto *et al.*, 2019).

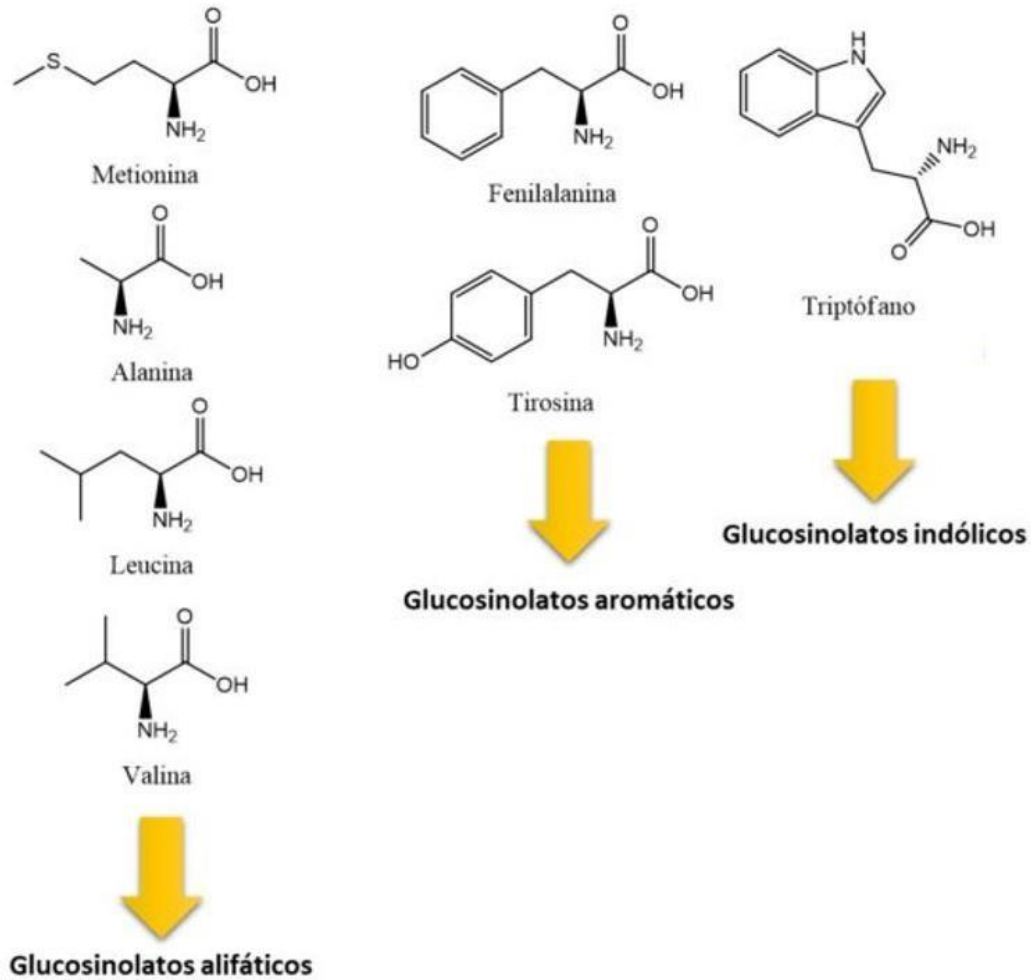


Figura 1 Clasificación de glucosinolatos de acuerdo con la composición de aminoácidos de la cadena lateral R (Arbona, 2020)

Los glucosinolatos se almacenan en la vacuola de la célula de las plantas, son transportados a través del floema mediante una corriente de translocación que los lleva hasta el órgano pozo donde desarrollan funciones de defensa contra organismos o bien de síntesis de compuestos de defensa de la planta (Pérez, 2014).

En la Tabla 3 se muestra el contenido de glucosinolatos en algunas crucíferas, cabe mencionar que la cantidad de glucosinolatos presentes depende de la variedad, de la temperatura durante el desarrollo, de la edad y tipo de órgano (Prieto *et al.*, 2019). Se ha reportado que las mayores actividades de síntesis se encuentran en

hojas jóvenes; además, la temperatura y las condiciones de almacenamiento en fresco; así como el procesamiento al que sea sometida la coliflor también influyen en la concentración final de los glucosinolatos (Pérez, 2014), este es el caso de los glucosinolatos indólicos, los cuales tienen mayor susceptibilidad al efecto de la temperatura, en comparación, con los glucosinolatos alifáticos en el brócoli que incrementan entre 4 y 8 °C (Cartea *et al.*, 2008).

Tabla 3 Concentración de glucosinolatos presente en algunas crucíferas

Hortalizas	Cantidad de glucosinolato (mg / 100 g)	
	Crudo	Cocido
Brócoli	61.1	37.2
Col de bruselas	247	148
Kale	108.9	78.6
Coliflor	62	42
Nabo	56	29.1

Fuente: Marks *et al.*, 2003 en (Pérez, 2014)

La enzima responsable de hidrolizar a los glucosinolatos es la mirosinasa o β -tioglucosidasa, se encuentra en células de mirosina, mayormente identificadas en la superficie externa de la pared celular de las brassicaceas (Prieto *et al.*, 2019). El sistema glucosinolato-mirosinasa no existe inicialmente en la coliflor debido a que ambos compuestos se encuentran compartamentalizados, de manera que se forma después de la ruptura celular como resultado del daño por corte, prensado y cocción de la coliflor, así como procesos que utilicen altas temperaturas o involucren la descongelación de la hortaliza (Kapusta-Duch *et al.*, 2016; Prieto *et al.*, 2019). La hidrólisis enzimática de los glucosinolatos origina 5 productos de degradación: isotiocianatos, tiocianatos, nitrilos, epitionitrilos y oxazilidinas; a su vez, durante la hidrólisis se liberan moléculas de β -D-glucosa, bisulfato y una aglucona inestable también conocida como grupo tiohidroxi-O-sulfato, el cual reorganiza su estructura de acuerdo con las condiciones de pH del medio, la concentración de iones ferrosos o la presencia de proteínas epitioespecíficas

(ESP), para formar cada uno de los productos de descomposición de los glucosinolatos (Prieto *et al.*, 2019).

El tipo de producto de degradación de los glucosinolatos depende de las condiciones de pH, concentración de iones ferrosos, proteínas epitioespecíficas (ESP) y de la estructura en la que se reordene la aglicona inestable (Figura 2), (Kapusta-Duch *et al.*, 2016; Pérez, 2014; Prieto *et al.*, 2019):

- Isotiocianatos: Formados por el reordenamiento de la aglicona en condiciones de pH fisiológico, esta es la razón por la que representan el principal producto de descomposición de glucosinolatos presente en la coliflor.
- Tiocianatos: Formados por el reordenamiento del indol benzilglucosinolato derivado de la aglicona en condiciones de pH>8.0.
- Nitrilos: Formados por el reordenamiento de la aglicona en condiciones de pH ácidos, es decir, pH<3.0, siempre y cuando haya presencia de proteínas epitioespecíficas.
- Epitionitrilos: Formados únicamente si existen dobles enlaces presentes en el glucosinolato, los cuales serán degradados por las proteínas epitioespecíficas junto al átomo de azufre liberado en la formación de nitrilos.
- Oxazolidinas-2-tión: Formado únicamente si la cadena lateral R se encuentra hidroxilada en el carbono número 3, son formados por la ciclización espontánea del isotiocianato.

Los nitrilos pueden soportar temperaturas mayores a 100 °C donde incluso no sufren de degradaciones. Por su parte, los isotiocianatos reaccionan con grupos hidroxilo o amino generando la formación de O-tiocarbamatos. (Kapusta-Duch *et al.*, 2016), dando tonalidades pardas.

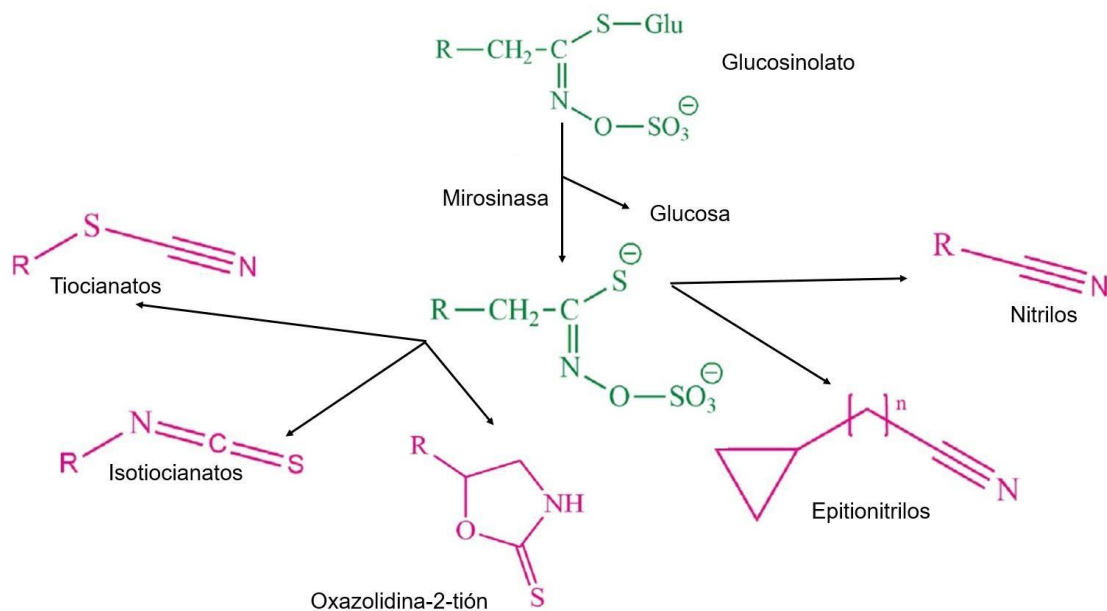


Figura 2 Ruta de degradación de los glucosinolatos y sus productos de degradación (Prieto *et al.*, 2019)

2.2 Almacenamiento de coliflor

La coliflor presenta una corta vida poscosecha de 7 – 10 días a temperatura ambiente, y aunque la refrigeración alarga su vida a 15 días, la pella adquiere una tonalidad amarilla o marrón demeritando su calidad, la temperatura óptima de almacenamiento de la coliflor es a 0 °C con 95 - 98 % de HR, en estas condiciones puede durar hasta por 3 semanas; sin embargo puede presentar pérdida de firmeza Suslow y Cantwell, (1998). Por esta razón suele comercializarse de forma congelada.

2.3 Congelación de coliflor

2.3.1 Escaldado

El escaldado es un tratamiento térmico que utiliza agua a temperaturas que van de 70 a 100 °C, suele ser empleado antes del secado, congelado, freído o enlatado de productos frescos. Es indispensable para todas las hortalizas a congelar excepto para la cebolla y los pimientos verdes (Willenberg y Mills-Gray, 2021). Consiste en el calentamiento del producto fresco, entero o troceado, hasta una temperatura específica por un periodo de tiempo determinado, seguido de un

enfriamiento rápido para ser rápidamente congelado o sometido a un siguiente procesamiento (Xiao *et al.*, 2017).

El escaldado mantiene la calidad del producto procesado durante almacenamientos prolongados debido a que elimina microorganismos e inactiva enzimas mediante la ralentización de su actividad o por completa inhibición, que podrían causar el deterioro del alimento durante toda la cadena de producción y transporte. Un escaldado incorrecto permitirá que las enzimas continúen activas durante el almacenamiento en congelación provocando el desarrollo de tonalidades y sabores indeseables, así como pérdida de sabor, color, vitaminas y minerales (Xiao *et al.*, 2017). De igual manera, el escaldado puede aportar a la limpieza de la superficie externa de la muestra de partículas extrañas, así como provocar el ablandamiento de las hortalizas, lo cual puede ser positivo para tejidos duros, pero negativo para los suaves (Willenberg y Mills-Gray, 2021).

El proceso de escaldado en agua requiere del uso de gradientes de temperaturas, las altas temperaturas impactan en el contenido de proteínas mediante su desnaturalización y lixiviación en el agua de procesamiento. De igual manera, es común la reducción en el contenido de minerales, aunque este hecho no se asocia a la destrucción de minerales, sino más bien a su difusión en el agua de procesamiento, por ejemplo, de potasio, sodio y hierro, aunque minerales como fósforo, azufre, zinc y manganeso no reducen significativas (Ahmed y Ali, 2013). Otros compuestos que se ven disminuidos son los compuestos fenólicos totales, esto debido a la alteración de vacuolas y apoplastos, los cuales liberan polifenoles al agua de procesamiento, además, los mismos polifenoles sufren de lixiviación por su alta solubilidad (Ahmed y Ali, 2013; Ali, 2015).

La principal ventaja del escaldado es la inactivación simultánea de enzimas y microorganismos, lo cual se traduce en la disminución de los tiempos de procesamiento y, por ende, en el aumento de la eficiencia energética; además, el escaldado también tiene influencia en reacciones no enzimáticas como la reacción de Maillard, la cual ocasiona la pérdida de color del alimento, debido a que la reacción depende del contenido de azúcares reductores presentes, el escaldado

contribuye directamente a la retención del color del alimento al disminuir los azúcares reductores (Xiao *et al.*, 2017).

A pesar de las ventajas del escaldado, este proceso presenta limitaciones (Xiao *et al.*, 2017), entre ellas: la pérdida de nutrientes provocada principalmente por lixiviación o difusión debido a que nutrientes como vitaminas, minerales, carbohidratos, azúcares y proteínas pueden solubilizarse en el agua, esto sin mencionar que las altas temperaturas pueden provocar degradación de otros compuestos. El agua de proceso puede llegar a considerarse un contaminante ambiental, ya que el agua puede contener las sustancias bioquímicas y nutrientes lixiviados.

Con el principal objetivo de reducir las limitaciones anteriores se han buscado nuevas tecnologías de escaldado las cuales permiten un mayor aprovechamiento energético, al igual que menor pérdida nutricional y contaminación ambiental. Una alternativa es el escaldado por vapor, el cual emplea vapor sobrecalentado como medio de calentamiento, suelen diferenciarse dos etapas durante el proceso; en la etapa inicial existe transferencia de calor desde el vapor condensado hacia la superficie de los productos con los que entra en contacto, durante la segunda etapa, la superficie del producto alcanza las temperaturas óptimas de inactivación de las enzimas o microorganismos. Su principal ventaja radica en una mayor retención de compuestos hidrosolubles como consecuencia de la baja lixiviación. Por otro lado, suele presentar problemas de uniformidad al no otorgar un constante en toda la superficie, como consecuencia de que el alimento es transportado en bandas con desplazamiento constante, lo que además representa un mayor costo energético (Xiao *et al.*, 2017). De acuerdo con Prieto *et al.* (2019), tiempos cortos de escaldado, por lo general menor a 7 minutos, son requeridos para una correcta conservación del contenido de glucosinolatos en Brassicas, debido a la inactivación de la mirosinasa.

Otra alternativa es el escaldado por microondas, en este proceso la energía emitida por las microondas es absorbida por el alimento y transformada en calor mediante un calentamiento dieléctrico. Este tratamiento también puede presentar pérdida de

nutrientes por lixiviación, pero en menor grado que los procesos de escaldado anteriormente mencionados, la razón de esto es que la única interacción presente se da entre el campo electromagnético y la superficie del alimento, además, el calentamiento sucede tanto en la superficie como en el interior del alimento, lo que no solo evita los problemas de uniformidad del escaldado por vapor, sino que también contribuye a tener mayores temperaturas de calentamiento, menores tiempos de procesamiento y el uso de mayores volúmenes de alimento. Por otro lado, factores como la pérdida de agua y la profundidad de penetración de las microondas constituyen las principales desventajas, debido a las pérdidas de humedad y el alcance de penetración del calor (Xiao *et al.*, 2017).

2.3.2 Congelación de coliflor

La congelación permite contrarrestar el rápido deterioro que sufre la coliflor fresca (Cotrina Vila, 1982; Sharma *et al.*, 2021); especialmente cuando se aplica como pre-tratamiento el escaldado, éste permite una inactivación enzimática; sin embargo, si no se aplica adecuadamente es posible que las muestras congeladas durante su almacenamiento y en la descongelación, presenten actividad residual de enzimas (Kapusta-Duch *et al.*, 2016)

La congelación representa el proceso de conservación más común de productos hortícolas, reduce la tasa de deterioro del producto al disminuir las reacciones de deterioro ocasionadas por microorganismos, alargando así su vida de anaquel, es comúnmente aplicada a productos que serán consumidos a largo plazo. Por otro lado, durante la congelación se forman cristales de agua, lo que repercute en los tejidos celulares del vegetal al provocar la desintegración celular, este efecto es más marcado cuanto más lento y prolongado es el proceso (Kapusta-Duch *et al.*, 2016).

Los parámetros para obtener una buena congelación involucran (Acurio Arcos y Alvarez Beltrán, 2021) el preenfriamiento para disminuir la temperatura del producto hasta el valor en el que inicia el cambio de fase. La nucleación que se logra cuando la temperatura baja, sin llegar a la congelación. La etapa de cambio de fase se caracteriza por la formación de cristales de hielo y representa el inicio

del punto de congelación, esta etapa finaliza cuando la temperatura interna del alimento es de -5°C . Finalmente el super enfriamiento se logra cuando la temperatura ha descendido por debajo del punto de congelación. Para el congelamiento de coliflor se deben elegir cabezas compactas y blancas, recortar las hojas y cortar las cabezas en trozos con un ancho determinado. El escaldado puede realizarse durante 3 minutos en agua, o 5 minutos en vapor, posteriormente se procede al enfriamiento rápido, escurrido, envasado, sellado y congelado. (Willenberg y Mills-Gray, 2021).

De acuerdo con las normas establecidas en el Codex Alimentarius (Codex Alimentarius CXS 111-1981, 2019) y la (USDA, 1996) en su documento Estándares de Estados Unidos para coliflor congelada, las coliflores que se destinen a una congelación rápida deben tener pellas frescas, limpias y sanas, las cuales, a su vez pueden haber sido recortadas y divididas en partes, además de haber tenido un proceso previo de lavado y escaldado. Las pellas pueden trabajarse de manera entera, troceada, por racimos o cualquier otra forma de presentación siempre y cuando sea distinta de las formas anteriores y cumpla con los requisitos establecidos en la norma (Codex Alimentarius CXS 111-1981, 2019; USDA, 1996).

Los racimos en los que puede ser trabajada la coliflor de acuerdo con la norma anterior se clasifican en:

- Racimos grandes: Segmentos de coliflor con longitudes no menores de 20 mm, incluyendo a las cabezas recortadas y descorazonadas. Se permite como máximo un 10 % de la carga total de racimos con longitud menor a la establecida.
- Racimos pequeños: Segmentos individuales de coliflor con longitudes de entre 6 y 20 mm, incluyendo a las cabezas recortadas y descorazonadas. Permitiendo como máximo un 20 % de la carga total de racimos con longitud mayor a 20 mm, y un máximo del 10 % para racimos con longitud menor a 6 mm; este es la presentación que trabaja las empresas que proporcionaron el material para este trabajo.

2.3.2.1 Factores de calidad en coliflor congelada

El grado de calidad de la coliflor congelada de acuerdo con la (USDA, 1996) está basado en el reconocimiento y cumplimiento de prerrequisitos tales como uniformidad de características presentes en la muestra fresca respecto del olor, apariencia y factores de calidad como ausencia de manchas, de hojas dañadas y de daños mecánicos, además de características de textura, defectos de coloración, estructura y compacidad de la pella (USDA, 1996). Para efectos de la Norma CXS 111-1981 del Codex Alimentarius, la Tabla 4 muestra los factores de calidad que deben cumplir las coliflores frescas antes de ser sometidas al proceso de congelación.

Adicionalmente, las coliflores deben estar exentas de sabores u olores extraños, incluyendo materia extraña e inclusive arena o tierra, es posible que se puedan añadir ingredientes facultativos dentro de los cuales están permitidos la sal y condimentos tales como especias y hierbas aromáticas. De igual manera, se permite el uso de aditivos alimentarios como ácido cítrico o ácido málico utilizados en el agua de escaldado o enfriado (Codex Alimentarius CXS 111-1981, 2019). Una vez congelada la coliflor, esta puede ser clasificada en grado A, grado B o grado subestándar dependiendo del nivel de cumplimiento que presente el lote completo de coliflores congeladas en cuanto a factores establecidos de calidad.

2.3.2.2 Color

La coloración de un producto alimenticio representa la característica sensorial de mayor relevancia en cuanto a las preferencias del consumidor. Los cambios en la coloración de un alimento durante su cocinado representan el grado de impacto, tanto positivo como negativo de las condiciones de procesamiento (Sharma *et al.*, 2021). Las coliflores que se someten a un congelamiento rápido deben mantener la uniformidad blanca o blanco crema en la tonalidad de la pella; sin embargo, es aceptable que presente leves coloraciones verdes, amarillas o rosas. De la misma manera, los tallos pueden ser de color verde claro o presentar una ligera coloración azul (Codex Alimentarius CXS 111-1981, 2019).

Tabla 4. Factores de calidad que deben cumplir las coliflores frescas antes de ser sometidas al proceso de congelación

Factor de calidad	Descripción
Partes descoloridas	Tonalidades grisáceas, verdes o análogas presentes en la superficie. <ul style="list-style-type: none"> • Defecto grave: La decoloración no desaparece con la cocción • Defecto menor: La decoloración desaparece con la cocción
Daño mecánico	Dependiendo de la presentación de la coliflor: <ul style="list-style-type: none"> • Defecto en coliflor troceada: Unidad con más del 50% de la pella dañada • Defecto en coliflor entera: Unidad con más del 25% de la pella dañada
Partes manchadas	Daños patológicos o por insectos los cuales pueden presentarse en el interior de la coliflor. <ul style="list-style-type: none"> • Defecto menor: La apariencia de la unidad es afectada ligeramente • Defecto mayor: La apariencia de la unidad es afectada materialmente • Defecto grave: La apariencia de la unidad es tan afectada que se descarta para su preparación
Tallos fibrosos	<ul style="list-style-type: none"> • Defecto mayor: Unidad con fibras duras muy visibles que afectan la calidad comestible • Defecto grave: Unidad con fibras duras de aspecto desagradable que descartan el producto
Superficies mal recortadas	Unidad con cortes profundos o aspecto defectuoso
Mal desarrollo o compactación	Unidad con pellas que presenten arrozado o de consistencia blanda o pulposa
Hojas verdes gruesas	Unidad con hojas verdes duras o con secciones donde la hoja no se encuentre completamente adherida

Fuente: (Codex Alimentarius CXS 111-1981, 2019)

El color representa el atributo más importante en cuanto la apariencia, no es de sorprenderse que cambios indeseables en este factor lleven al rechazo por parte del consumidor, lo que afecta el valor de mercado. El color es comúnmente asociado con la calidad, frescura y aspectos nutricionales. Sin embargo, el color también es empleado como indicador de los tratamientos térmicos, tal es el caso

del escaldado, donde permite evaluar la severidad y pérdida de calidad (Xiao *et al.*, 2017).

En el caso de altas temperaturas, la pérdida de color es atribuida al deterioro y consecuente degradación de los pigmentos (Zhan *et al.*, 2019). De igual manera, se ha demostrado que el hecho de aplicar un pretratamiento con calor y la consecuente inactivación de las enzimas asociadas al deterioro favorece la duración del almacenamiento en congelación, tal como lo mencionaron Steinka *et al.*, (2017), la decoloración en vegetales congelados como consecuencia de las actividades enzimáticas puede evitarse mediante previa inactivación enzimática con pretratamientos que empleen calor (Zhan *et al.*, 2019).

2.3.2.3 Defectos en coliflor congelada

Se considera como defecto cualquier inconformidad respecto a una o varias unidades de producto de acuerdo con requisitos específicos de calidad (Codex Alimentarius CXS 111-1981, 2019).

Debido a que la congelación de la coliflor no mejora su calidad, se debe tener en cuenta el cumplimiento de características deseables en tamaño, grado de madurez y color de la coliflor fresca, de lo contrario, la coliflor congelada resultará con presencia de defectos que afectarán la calidad comercial (Acurio Arcos y Alvarez Beltrán, 2021). De acuerdo con la USDA, (1996) las coliflores frescas y sometidas a la congelación deben estar libres de defectos tales como manchado por lesiones causadas por insectos, patógenos, o cualquier otra lesión que afecte la calidad de la coliflor. El defecto puede clasificarse como menor si hay presencia de un manchado oscuro, el cual supere un área de 4 mm de diámetro, pero sea menor de 6 mm, o haya presencia de un manchado claro de un área no mayor a 6 mm de diámetro. En contraparte, se habla de un defecto mayor cuando hay presencia de un manchado oscuro, el cual supera un área de 6mm de diámetro (USDA, 1996). Los daños de carácter; se refiere al conjunto de defectos presentes en la pella que involucran la pérdida del grado de firmeza y de compactación de esta. Este defecto se puede subclasificar a su vez como de carácter difuso cuando el racimo presenta pellas con flores alargadas que le otorgan una apariencia muy

“borrosa”. De carácter arrozado, cuando el racimo presenta pellas con ramas alargadas, esto ocasiona que los racimos presenten un aspecto suelto, abierto y granuloso, debido a su separación. Y de carácter blando, cuando el racimo presenta aspecto blando y flácido, además, la pulpa tiene un carácter muy moldeable (USDA, 1996).

Los estudios realizados por Aparicio-Cuesta y García-Moreno, (1988) permitieron conocer el efecto de la congelación a -22 °C en coliflores enteras sobre factores tales como el color, donde reportan que la tonalidad en las coliflores congeladas disminuye. Por su parte la textura de la coliflor congelada es blanda y su sabor disminuye a lo largo del tiempo de almacenamiento

2.3.2.4 Pérdida de nutrientes

Todos los procesos de conservación conllevan con la pérdida de nutrientes debido a su solubilidad o degradación por el tratamiento. En el caso de la vitamina C, la pérdida es asociada a los pretratamientos empleados antes de la congelación; sin embargo, factores como como la temperatura y el tiempo de almacenamiento en el congelado también ocasiona pérdidas de vitamina C (Zhan *et al.*, 2019). Pilar Cano *et al.*, (1993), reporta que la razón por la que se pierde vitamina C en el congelamiento no es por un proceso de degradación de la vitamina sino por lixiviación en el proceso y durante la descongelación. Los minerales son generalmente estables durante el almacenamiento prolongado en congelación; sin embargo, las pérdidas de estos compuestos es principalmente durante el escaldado por lixiviación (Puupponen-Pimiä *et al.*, 2003).

2.4 Enverdecimiento en productos hortícolas procesados

El principal compuesto asociado a la coloración verde de frutas y hortalizas es la clorofila, pigmento responsable del color de plantas, hojas, algas y frutos inmaduros. Su estructura comprende átomos de carbono y nitrógeno unidos a un átomo central de magnesio en un arreglo de cuatro anillos de pirrol; existen dos tipos principales de clorofila, la clorofila a y la clorofila b. La clorofila a se caracteriza por la presencia de una cadena lateral de metilo, CH₃, unido a uno de los carbonos del anillo tetrapirrólico y da una coloración azul-verde; por su parte, la clorofila b la

cadena lateral de metilo es sustituida por un grupo formilo, CHO, en el carbono número 7 y da una coloración amarillo-verde (Pareek *et al.*, 2017).

La clorofila puede sufrir distintas alteraciones durante el procesamiento de los alimentos, lo que resulta en cambios de color en los mismos. El problema más frecuente se da con la eliminación irreversible del átomo de magnesio del anillo clorofílico, lo que ocasiona la formación de feofitina, un derivado clorofílico en el que se da el desplazamiento del átomo de magnesio por hidrógeno, y la consecuente formación de feofitinas a y b, los cuales dan tonalidades cafés y verde olivo, respectivamente. La sustitución del magnesio puede producirse a temperatura ambiente en soluciones con pH ácido o en presencia de dióxido de azufre diluido. La eliminación del átomo de magnesio también puede darse por el uso de temperaturas elevadas, aunque en este caso lo que se produce es un feofórbido, el cual es un compuesto sin el grupo fitol ni el átomo de magnesio que da con una coloración verde opaco. Cuando hay presencia de minerales como zinc y cobre, estos forman complejos con la feofitina y producen una coloración verde, pero no idéntica al de la clorofila. En cambio, bajo condiciones de pH alcalino se producen otros derivados como las clorofilidas, los cuales son derivados de clorofila sin la presencia del grupo fitol y de coloración muy similar a la clorofila, así como defectos que involucran el ablandamiento del tejido vegetal, por tanto, es de gran importancia asegurar un ajuste correcto y preciso del pH en las aguas de escalde o enfriamiento, lo cual se logra mediante la adición de hidróxido de sodio (NaOH) o hidróxido de magnesio $Mg(OH)_2$ (Pareek *et al.*, 2017).

Las investigaciones realizadas respecto al mecanismo de enverdecimiento en coliflor son escasas. Rivera Córdova (1994) evaluó la aplicación de dos programas de fertilización con adición de boro y materia orgánica como medida para eliminar la incidencia de “pata verde” en coliflor, sin embargo, no encontró cambios significativos en el nivel de clorofila de cada tratamiento. Bajo estas circunstancias, en este trabajo se plantea la necesidad de utilizar el mecanismo de enverdecimiento del ajo como un medio de referencia para evaluar el mismo fenómeno en la coliflor.

El ajo es una planta de importancia mundial y con importantes beneficios a la salud, es rico en nutrientes, tiene efectos antiinflamatorios, antioxidativos, entre otros. Las plantas de ajo acumulan nitrógeno y azufre mediante la síntesis de compuestos conocidos como sulfóxidos de S-alquilcisteína, los compuestos azufrados son liberados durante la trituration, la refrigeración y el almacenamiento con ácidos monocarboxílicos (Speranza y Morelli, (2012). Durante el procesamiento o transformación del ajo a subproductos como polvo, puré u otros productos, toma una coloración verde, la cual repercute el aspecto y, por consiguiente, reduce la calidad comercial de los subproductos (Wu *et al.*, 2021).

A pesar de que la alicina es reconocida como el principal tiosulfonato del ajo, los tiosulfonatos que contienen 1-propenilo son los principales responsables de la síntesis de estructuras necesarias para los pigmentos precursores (PP) del enverdecimiento del ajo, conocidos como desarrolladores de color. Estos compuestos son derivados de la isoalina en la reacción catalizada por la enzima aliinasa. (de Iseppi *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2021).

El mecanismo de enverdecimiento en ajo se muestra en la Figura 3, de manera general, este mecanismo consta de 3 etapas:

En la primera se forman los sulfóxidos de S-alquilcisteína a través de la interacción de la aliina (sulfóxido de S-alilcisteína) y la isoalina (S-1-propenilcisteína) (de Iseppi *et al.*, 2021). En la segunda etapa se forman los tiosulfonatos derivados de la actividad de la enzima aliinasa y los sulfóxidos de S-alquilcisteína durante la ruptura de la célula por maceración, corte o trituration. La aliinasa hidroliza los sulfóxidos de S-alcal- cisteína y promueve la formación de amoníaco, ácido pirúvico y ácido sulfénico. Posteriormente, el ácido sulfénico sufre de una autocondensación espontánea para convertirse en tiosulfonatos que contienen 1 propenil. (Lancaster y Collin, (1981); Li *et al.*, (2015), Shimon *et al.*, (2007) citado en (de Iseppi *et al.*, 2021)). Finalmente la formación de pigmentos a través de N sustitución de los tiosulfonatos para dar 3-4 dimetilpirroles que reaccionan con tiocarbonilos y forman los precursores de pigmentos característicos de la coloración en los bulbos. (Comparini *et al.*, (2018); Kubec *et al.*, (2017) Los pigmentos amarillos son

resultado de la interacción entre los productos derivados de la isoaloinina y el ácido pirúvico, mientras que los pigmentos azules son resultado de la interacción de precursores con la alicina. (de Iseppi *et al.*, 2021). Los aminoácidos involucrados en la producción de los pigmentos del ajo son: alanina, glutamina, ácido glutámico, asparagina, ácido aspártico, arginina y lisina. Lee *et al* (2010) demostraron que aminoácidos como la histidina, serina y la cisteína no están relacionados con la síntesis de pigmentos (Cho *et al.*, 2009; Kubec y Velisek, 2007; de Iseppi *et al.*, 2021).

El enverdecimiento del ajo se puede controlar mediante la regulación de factores de prevención en el almacenamiento y procesamiento, así como de factores ambientales que incluyen a la temperatura, atmósferas controladas, control por acidificación, tratamientos térmicos y secado (Zang *et al.* (2013); Madhu *et al.* (2019).

La regulación de la temperatura permite controlar la actividad de la enzima γ -glutamil transpeptidasa (GGT) involucrada en la biosíntesis de los sulfóxidos de S-alcal-cisteína, precursores del enverdecimiento. (de Iseppi *et al.*, 2021).

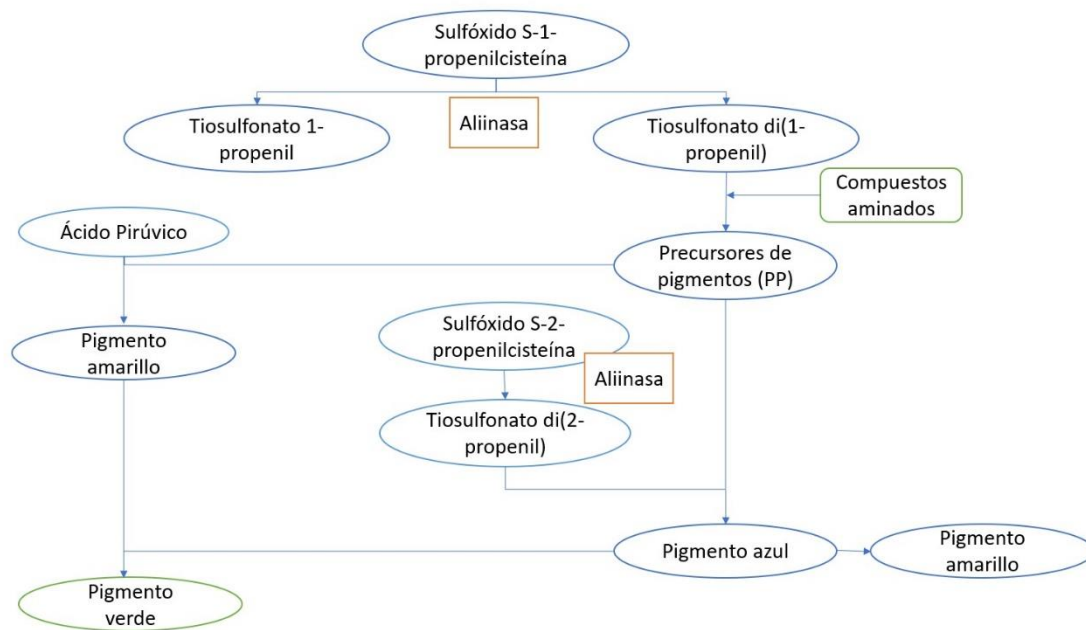


Figura 3 Ruta de síntesis de los pigmentos amarillos y verdes relacionados al enverdecimiento del ajo (de Iseppi *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2021)

2.5 Regulación de factores asociados al enverdecimiento

En el almacenamiento, temperaturas de $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$ inhiben casi completamente la actividad de las enzimas; temperaturas mayores a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ inactivan térmicamente la GGT, lo que resulta en el bloqueo de la ruta de enverdecimiento debido a que los sustratos de la enzima participan en otras rutas de degradación. (Volk *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2013). Por otro lado, las altas temperaturas empleadas en el escaldado inactivan las enzimas como la aliinasa y GGT, ambas enzimas presentan poca tolerancia a las condiciones de escaldado por lo que se inactivan totalmente después de 30 minutos a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ la GGT y en 15 minutos a $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ la aliinasa. (Huang *et al.*, 2019 ; Yin *et al.*, 2019 ; de Iseppi *et al.*, 2021). Es importante que la regulación del proceso se realice antes de que la aliinasa haya formado tiosulfatos, ya que la conversión de estos últimos compuestos en pigmentos se ve favorecida en altas temperaturas.

Las condiciones de pH influyen en las reacciones enzimáticas y no enzimáticas involucradas en el enverdecimiento, pH menores a 3.0 tienen efectos importantes en la inhibición de la degradación del pigmento azul necesario para el enverdecimiento del ajo. Debido a que el pH del ajo se encuentra en rangos de 4.5 a 5.5 es necesario realizar la acidificación del medio utilizando ácidos orgánicos como ácido ascórbico, ácido málico y ácido cítrico, los cuales no afectan la integridad de la membrana de células vegetales y, por tanto, no permiten que la enzima actúe sobre su sustrato durante los procesos de corte o maceración (de Iseppi *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2021).

El control por atmósferas modificadas; es decir, cambiando la concentración de oxígeno y dióxido de carbono en el ambiente, previene la decoloración del ajo fresco durante su almacenamiento, y prolonga la calidad del ajo debido al retraso del deterioro. El principal inconveniente de esta regulación se da durante el transporte y almacenamiento debido al cambio en las condiciones ambientales, lo cual puede provocar la consecuente reactivación de la enzima involucrada en el proceso de decoloración (de Iseppi *et al.*, 2021).

La reducción de la actividad de agua por secado limita la actividad de reacciones enzimáticas y no enzimáticas, este es el caso de la alicina, enzima involucrada en el enverdecimiento del ajo, la cual presenta disminución de su actividad durante el secado (de Iseppi *et al.*, 2021).

El enverdecimiento de coliflor (Figura 4) representa una problemática actual para las plantas procesadoras de esta hortaliza. Este problema incluso puede detectarse desde el momento del corte, y los usuarios han reportado que se acentúa durante el escaldado y el posterior enfriamiento permaneciendo en los productos congelados y en la mayoría de las ocasiones excede el 10 % permitido. El enverdecimiento ocasiona pérdidas de entre 5 y 7 % del valor comercial respecto a un producto grado A sin enverdecimiento.

Existe poca literatura e investigación referente al enverdecimiento en productos hortícolas. Por ello, el análisis de coliflor congelada comercialmente y que presente este fenómeno es de importancia para conocer los puntos críticos donde se puede actuar y así poder controlar o inhibir las reacciones involucradas mediante cambios en el tipo de procesamiento realizado o en los parámetros involucrados: temperatura y tiempo empleado.

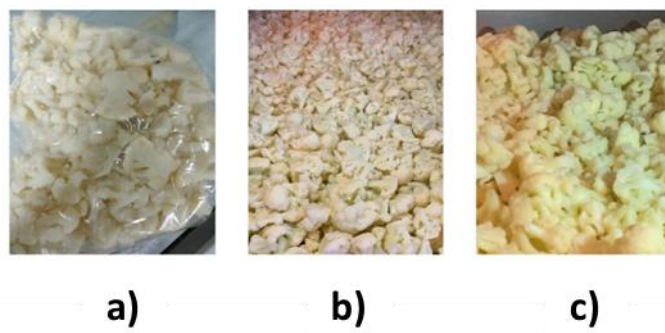


Figura 4 Floretes de coliflor blanca variedad botrytis a) crudos sin presencia de enverdecimiento, b) tras salir del proceso de escaldado, c) tras haber pasado por el enfriamiento

3 JUSTIFICACIÓN

Dos exportadoras de hortalizas congeladas, ubicadas en Querétaro y en Agascalientes, presentan un problema en la coliflor congelada referente al desarrollo de color verde conocido como “pata verde”. A pesar de que este problema no es reconocido como un defecto que el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) penalice, si es un factor que repercute en la comercialización del producto final debido a que el límite aceptable de “pata verde” para exportación comercial se encuentra entre el 10 y 20 %.

El enverdecimiento de la coliflor se acentúa durante el proceso de escaldado, a pesar de que se alcanzan temperaturas en las que previamente se ha reportado la inactivación de la enzima mirosinasa. Si bien el mecanismo de enverdecimiento ha sido previamente dilucidado en el ajo, en la literatura científica no hay evidencia de estudios asociados a este problema en coliflor, por lo que hay nula información respecto al efecto que presentan los productos de descomposición de los glucosinolatos formados por hidrólisis enzimática de la mirosinasa sobre el enverdecimiento de la coliflor. Por este motivo, el propósito del presente trabajo es evaluar los compuestos involucrados en el enverdecimiento de la coliflor después de su procesamiento térmico y almacenamiento en congelación, con el fin de evitar o reducir el problema y disminuir las pérdidas comerciales que se generan.

4 OBJETIVOS

Objetivo General

- Caracterizar química y enzimáticamente el enverdecimiento de coliflor congelada en las etapas de tratamiento térmico y almacenamiento a -20°C.

Objetivos Específicos

- Evaluar la calidad visual y la composición química de muestras con y sin enverdecimiento de cada etapa del proceso.
- Comparar el efecto de distintos tipos de escaldado (escaldado en agua caliente, vapor y microondas) en el desarrollo del enverdecimiento de floretes de coliflor.
- Cuantificar el contenido de glucosinolatos y la actividad de la enzima mirosinasa en muestras con y sin enverdecimiento.

5 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Material biológico

Los floretes de coliflor fueron proporcionados por dos empresas congeladoras de coliflor ubicadas en Querétaro y Aguascalientes. Se obtuvieron lotes de muestra de las etapas de recepción, escaldado y congelado de la empresa A y de la etapa de Escaldado/Congelado de la empresa B. Además, se obtuvieron pellas recién cosechadas por los productores, así como pellas procedentes de un mercado local para reproducir el proceso de congelación en condiciones de laboratorio.

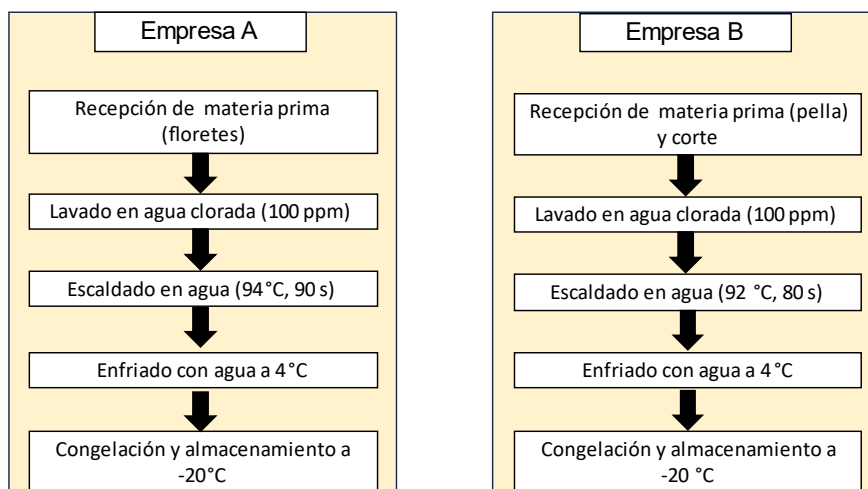


Ilustración 2. Diagrama de flujo del proceso de congelación de la empresa A y B.

5.2 Estrategia experimental

El trabajo experimental se llevó a cabo en 3 etapas; en la primera y de manera exploratoria, se analizaron muestras por calidad visual, porcentaje de enverdecimiento, color, contenido de clorofila y actividad enzimática (peroxidasa). En la segunda etapa las muestras fueron escaldadas y congeladas en condiciones de laboratorio se recreó el proceso de escalde y congelación empleado en las empresas en condiciones de laboratorio y evaluando tres sistemas de escaldado (agua, microondas y vapor), se llevó a cabo la selección de coliflores blancas con ausencia de daños físicos y mecánicos, posteriormente las muestras se sanitizaron en una solución de agua con hipoclorito de sodio a 100 ppm y fueron sometidas al proceso de escalde en agua potable, en vapor y por microondas para continuar con el enfriamiento en agua (4°C) y finalmente, la congelación y almacenamiento a -

20°C hasta su análisis.). En la tercera etapa se evaluó el contenido de glucosinolatos y la actividad de la enzima mirosinasa en muestras frescas blancas y enverdecidas.

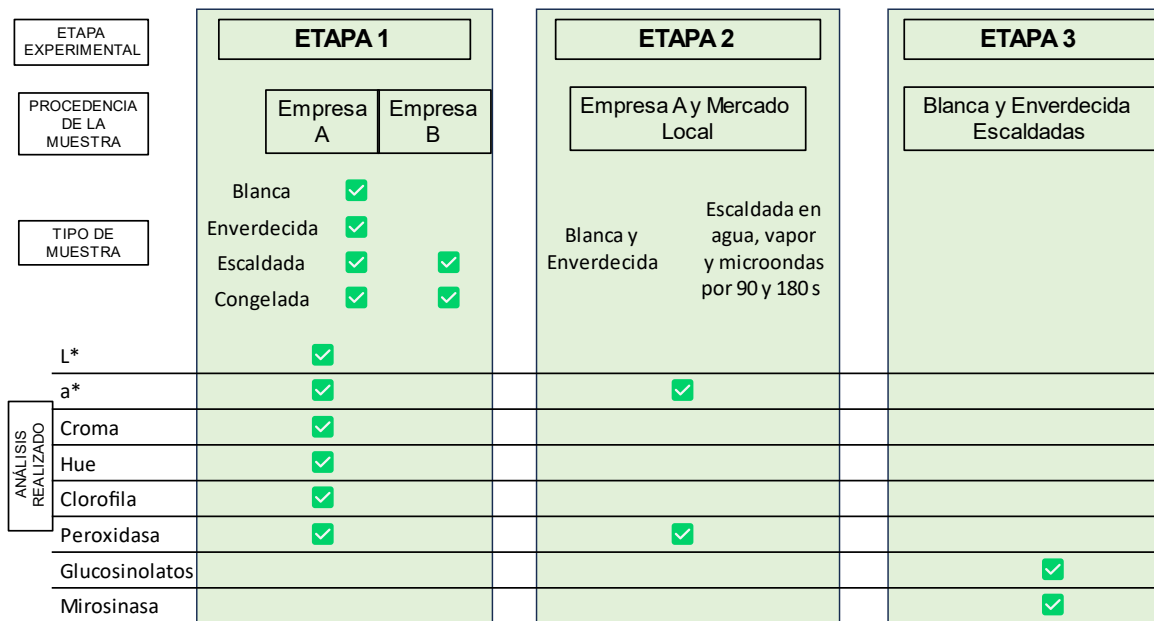


Ilustración 3. Diagrama de la estrategia experimental seguida en cada etapa.

5.3 Métodos

5.3.1 Calidad Visual y porcentaje de enverdecimiento

La calidad visual de los floretes de coliflor se evaluó a través del registro fotográfico con una cámara CANON (EOS Rebel t7i), se tomaron fotografías de la zona del florete y del tallo a cada una de las muestras analizadas. El porcentaje de enverdecimiento se determinó evaluando el peso (g) enverdecido de cada tratamiento respecto al peso (g) total.

5.3.2 Determinación de color

Se determinó el color en los floretes de coliflor mediante un Colorímetro Konica Minolta modelo CR-400 (Minolta, Inc, Tokyo, Japón), utilizando un iluminante D65 y observador a 10°. Para cada florete seleccionado se determinaron las coordenadas del sistema CIELab; luminosidad (L) que indica el color blanco o brillo de las muestras, sus valores varían entre 0 y 100; por su parte la coordenada a* indica las tonalidades de verde (-a*) a rojo (+a) y la coordenada b* indica las tonalidades de

azul (-b*) a amarillo (+b). Con los valores de las coordenadas se calculó el croma (C) (Fórmula 1) y el ángulo de matiz (Hue = H) (Fórmula 2) (Comisión Internacional de le Eclerage, 1976).

$$Croma = \sqrt{a^2 + b^2}$$

Fórmula 1. Croma.

$$Hue = \arctan \frac{b}{a}$$

Fórmula 2. Ángulo de matiz.

5.3.3 Cuantificación de clorofila

El contenido de clorofila se determinó mediante el método descrito por (Lichtenthaler, 1987), el cual se basó en la medición de la absorbancia de la clorofila a y b en rangos en 663 nm y 647 nm, respectivamente. Para esto, se tomaron 10 g de muestra enverdecida, la cual se molió con 15 ml de una solución acetona:agua (80:20; v/v) y se centrifugó durante 10 minutos a 13,5000 x g. El sobrenadante se concentró con corriente de N_2 gaseoso, la solución se colocó en un espectrofotómetro y se midió la absorbancia a 663 y 647 nm para determinar la clorofila a y b, respectivamente. Los resultados se expresaron en Miligramos de clorofila por gramo de peso fresco (mg/ g FW). (Drabinska et al., 2021).

5.3.4 Determinación de glucosinolatos

Para determinar el contenido de glucosinolatos, se siguió el protocolo descrito por (Mawlong *et al.* 2017). Se homogenizaron 0.25 g de muestra con 5 ml de metanol 80%, la mezcla se dejó agitando por 14 horas a temperatura ambiente, posteriormente, se centrifugó a 8000 rpm por 15 min y se filtró y recuperó el sobrenadante al que se le denominó solución A. A continuación, se tomaron 100 μ l y se añadieron a 1.5 ml de tetracloropaladato de sodio 2 mM para obtener la solución B. La solución B se dejó incubar 1 h a temperatura ambiente y se leyó la absorbancia en microplaca de 96 pozos a 425 nm en un lector de microplaca Bio-Rad modelo iMark.

5.3.5 Determinación de la actividad enzimática

5.3.5.1 Actividad de peroxidasa

La actividad de la enzima peroxidasa se determinó por el protocolo de (Zhang *et al.*, 2005) con base en la prueba del guayacol. Para obtener el extracto enzimático de peroxidasa se homogenizaron 2 g de tejido de coliflor con 10 ml de buffer fosfato 0.05 M (pH 7.0), y Polyclar AT (polivinilpirrolidona insoluble). La mezcla se centrifugó por 15 min a 16000 g y 4°C, se tomó el sobrenadante al cual se le denominó extracto enzimático crudo. La actividad enzimática se realizó utilizando guayacol como sustrato en una mezcla de reacción con volumen total de 3 ml (25 µl de extracto enzimático, 2.73 ml de buffer fosfato 0.05 M (pH 7.0), 0.1 ml de peróxido de hidrógeno H_2O_2 y 0.15 ml de guayacol). Se midieron incrementos en absorbancia a 470 nm cada 15 s durante 3 min, la unidad de actividad enzimática se definió como la cantidad de enzima que provocaba un cambio de 0.001 en la absorbancia por minuto. El blanco se realizó cambiando la cantidad de tejido por agua destilada en la misma proporción.

5.3.5.2 Actividad de mirosinasa

La determinación de la mirosinasa (EC 3.2.1.147; tioglucósido glucohidrolasa) se siguió el protocolo descrito por Charron *et al.*, (2005) con modificaciones. Para la extracción de la enzima se pesaron 6 g de muestra y se le añadieron 15 ml de buffer citrato fosfato (30 mM y pH 7.0) que contenía 1 mM de EDTA. Después de homogenizar, se centrifugó a 11600 rpm por 5 min (4°C) y se recuperó el sobrenadante, al que se denominó solución de mirosinasa. El ensayo de actividad se realizó por método espectrofotométrico; se preparó una mezcla de reacción con volumen de 1.5 mL el cual contenía 50 µl de solución de mirosinasa, 1.35 mL de buffer citrato fosfato (32.22 mM; pH 6.5) que contenía 1.07 mM de EDTA, y 100 µl de una solución de sinigrina (37.50 mM). El blanco se preparó sustituyendo el volumen de sinigrina por el mismo volumen de agua. Se midió la absorbancia a 290 nm durante 5 minutos en un espectrofotómetro, se determinó la actividad enzimática utilizando 6780 ($M^{-1}cm^{-1}$) como coeficiente de extinción molar.

5.3.5.3 Determinación de proteína por Bradford para actividad específica de proteína

Se tomaron 6 g de coliflor los cuales se homogenizaron con 15 mL de buffer de extracción citrato fosfato 30 mM (pH 7.0) que contenía 1 mM de EDTA, después de la centrifugación a 11600 rpm por 5 min (4°C) el extracto fue filtrado y se tomó el sobrenadante. Posteriormente, se tomaron 100 µl del filtrado los cuales se aforaron a 2 mL con el buffer de extracción; se volvió a tomar 100 µl del aforado y se añadieron a la microplaca de 96 pozos junto a 130 µl de reactivo de Bradford, la reacción se dejó incubar a temperatura ambiente por 2 minutos y se midió la absorbancia a 595 nm en un lector de microplacas Bio-Rad modelo iMark, para la medición del blanco se sustituyeron los 100 µl de aforado por buffer de extracción (Bradford, 1976).

5.3.6 Procesado en condiciones de laboratorio

5.3.6.1 Escaldado en agua caliente

En un recipiente de acero inoxidable se vertieron 1 L de agua y se calentó en estufa comercial hasta alcanzar la temperatura de 92-95°C. Se tomaron porciones de 350 g de muestra para ser depositadas en el agua de escalde por tiempos de 90 y 180 s (Ahmed y Ali, 2013).

5.3.6.2 Escaldado en vapor

En un recipiente de acero inoxidable se vertieron 1000 ml de agua y se calentaron hasta alcanzar la temperatura de 92-95°C para posteriormente tapar el recipiente, una vez se generó el vapor de agua, se tomaron porciones de 350 g y se colocaron en el interior del recipiente por tiempos de 90 y 180 s (Ahmed y Ali, 2013).

5.3.6.3 Escaldado en microondas

Se utilizó un horno microondas (1000 W). Las porciones de 350 g se colocaron en un recipiente de vidrio tipo Birex con 15 ml de agua, el tiempo de escaldado dentro del microondas fue de 90 y 180 s (Ahmed y Ali, 2013).

5.3.6.4 Enfriamiento

Las muestras escaldadas se escurrieron y se colocaron en un baño de agua-hielo (4°C) por el mismo tiempo que duró el escaldado o hasta que el interior de la coliflor

alcanzó una temperatura interna de 30°C. Posteriormente, las muestras fueron congeladas (Volden *et al.*, 2009).

5.3.6.5 Congelación

La congelación se llevó a cabo usando nitrógeno líquido. Los productos congelados se envasaron en bolsas de polietileno de baja densidad con volúmenes de 500 g, una vez envasados las muestras se almacenaron a -20°C. (González-Hidalgo *et al.*, 2019; Messing, 2015).

5.4 Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental utilizado en cada etapa se muestra en la Ilustración 4. Los datos obtenidos en las variables de color, contenido de clorofila total, contenido de glucosinolatos, actividad de POD y Mirosinasa se analizaron estadísticamente a través de un análisis de varianza ($p = 0,95$) y cuando correspondió se compararon las medias utilizando el test de Tukey ($p \leq 0,05$).

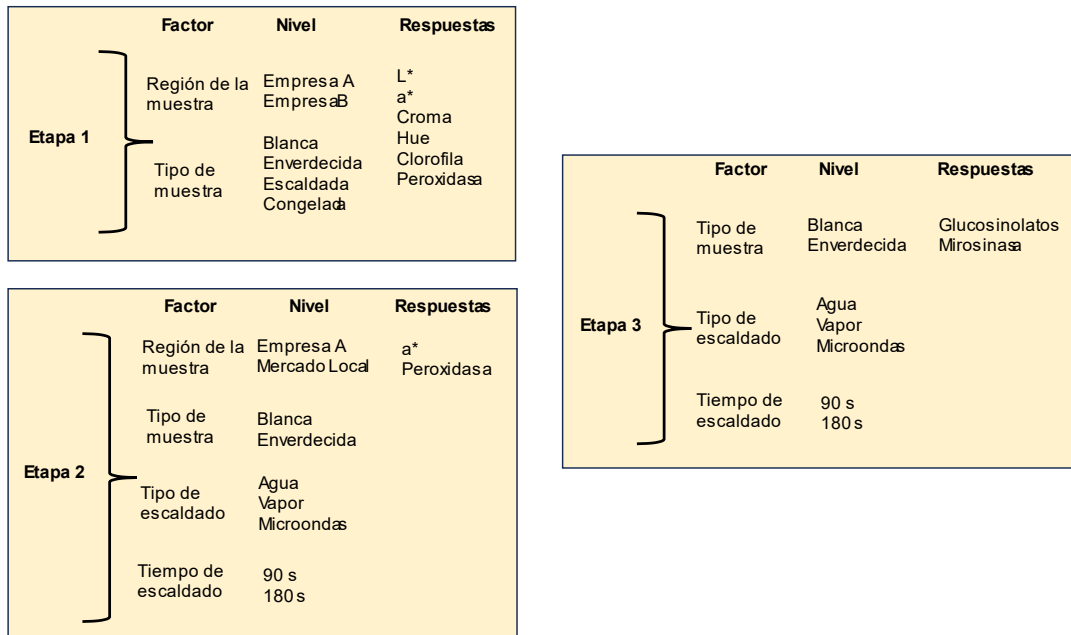


Ilustración 4. Diseño experimental en cada etapa de la estrategia experimental.

Los tratamientos evaluados en cada etapa fueron los siguientes.

Tabla 5. Tratamientos evaluados en la experimentación.

Tratamiento	Tipo de muestra	Tipo de escaldado	Tiempo de escalde (s)
BC	Blanca	N	N
BA90	Blanca	Agua	90
BA180	Blanca	Agua	180
BV90	Blanca	Vapor	90
BV180	Blanca	Vapor	180
BM90	Blanca	Microondas	90
BM180	Blanca	Microondas	180
VC	Verde	N	N
VA90	Verde	Agua	90
VA180	Verde	Agua	180
VV90	Verde	Vapor	90
VV180	Verde	Vapor	180
VM90	Verde	Microondas	90
VM180	Verde	Microondas	180

N: No se realizó escaldado. BC: Coliflor blanca fresca; BA90: Coliflor blanca escaldada en agua por 90 s; BA180: Coliflor blanca escaldada en agua por 180 s; BV90: Coliflor blanca escaldada en vapor por 90 s, BV180: Coliflor blanca escaldada en vapor por 180 s; BM90: Coliflor blanca escaldada en microondas por 90 s; BM180: Coliflor blanca escaldada en microondas por 180 s; VC: Coliflor verde fresca; VA90: Coliflor verde escaldada en agua por 90 s; VA180: Coliflor verde escaldada en agua por 180 s; VV90: Coliflor verde escaldada en vapor por 90 s, VV180: Coliflor verde escaldada en vapor por 180 s; VM90: Coliflor verde escaldada en microondas por 90 s; VM180: Coliflor verde escaldada en microondas por 180 s.

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Etapa 1

En muestras de coliflor de las etapas de proceso (fresca, escaldada y congelada) se evaluó la apariencia visual y el % de enverdecimiento; así como el color, contenido de clorofila, contenido de proteína y la actividad de la peroxidasa. De la empresa A se tuvo acceso a muestras en las 3 etapas de proceso, pero en la empresa B solo se proporcionó muestras de la última etapa, escaldadas-congeladas.


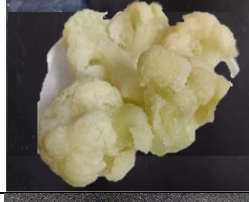



6.1.1 Calidad Visual

Para que las empresas reciban la materia prima evalúan la calidad con la que llega del campo; en las especificaciones que establece la USDA en el documento “United States Standards for Grades of Frozen Cauliflower” del año 1996, la materia prima no debe exceder más del 8 % de defecto en la uniformidad de color; sin embargo, el fenómeno de enverdecimiento o “pata verde” no está declarado en dicha norma como tal. En este sentido, las empresas mexicanas dedicadas a este rubro han establecido de manera interna un estándar que les ha permitido lograr los grados A y B en la calidad exigida para poder exportar el producto congelado. No es claro el % de enverdecimiento que se acepta, pero por experiencia las empresas saben que si la materia prima fresca recibida por el productor rebasa el 10 % de defecto en uniformidad de color se puede llegar a tener el doble (20 %) de este defecto en el producto procesado.

De acuerdo con USDA (1996) el grado A en la coliflor congelada no debe rebasar el 5 % de defectos incluyendo los de color y el grado B o subestándar no más del 10%. Con la experiencia, las empresas mencionan que se puede aceptar materia prima hasta con un 10 % de defectos visuales particularmente con tallo verde para poder cumplir con los requisitos para el grado A. Sin embargo, cuando el porcentaje es mayor, se prevé que en proceso se llegará a alcanzar cerca del 20 %, lo que representa una merma considerable, y la empresa destinan personal para que eliminen de manera manual las muestras enverdecidas y pueda cumplir la normatividad. La apariencia visual y el % de enverdecimiento (% EV) de muestras

de coliflor de las diferentes etapas de proceso de las dos empresas se muestra en la Tabla 6; los resultados indican que las muestras de coliflor fresca presentaron menos del 10 % de enverdecimiento; mientras que las escaldadas en agua a 94 – 96 °C por 90 s presentaron un 16.8 % y las muestras congeladas 27.6 % en la empresa A y de 14.8 % en muestras escaldadas-congeladas en la empresa B; ambas muestras congeladas superan el límite establecido por la USDA (10 %).

Tabla 6. Apariencia de muestras de coliflor otorgadas por la empresa A y B.

Empresa	Etapa de proceso	Apariencia visual	% EV
A	Fresca Blanca		0%
	Fresca Enverdecida		<10%
	Escaldada (Agua 94-96 °C / 90 s)		16.8%
	Congelada (- 20 °C)		27.6%
B	Escaldada-congelada (Agua 92-94 °C / 80 s)		14.8%

Aunque este defecto no impacta en el sabor ni en la inocuidad de las muestras, si es un problema que llega a representar pérdidas económicas. Las muestras que presentan enverdecimiento, que han sido retiradas de las muestras congeladas, se

someten a reproceso para obtener otras presentaciones, ya sea como deshidratado o en polvo el cual se destina para el consumo animal debido a su alto contenido de proteína (17.64 %), representando un producto de menor ganancia para las empresas.

6.1.2 Determinación Colorimétrica

El color es uno de los atributos de los alimentos y en productos congelados puede definir la compra (Petzold, *et al.* 2014). El color puede evaluarse a través de sus coordenadas definidas como luminosidad ($L=0$ es negro puro; mientras $L=100$ es blanco puro), y los tonos verde-rojos denotados como “a”; así como los tonos azul-amarillo denotado como “b”. Los valores de “a” como de “b” van de -60 a +60 (McGuire, 1992). La coliflor fresca sin enverdecimiento presenta una luminosidad de 82.415, la cual disminuye un 7.5 % ($L=76.305$) en muestras enverdecidas y un 27.4 % ($L=59.86$) con el escaldado sin disminuir más en las muestras congeladas ($L=58.73$) (Tabla 7). Mientras que los valores de la coordenada “a” aumentan 5 veces y los valores de Hue aumentan 30%. Como se mencionó, no se pudo contar con muestras frescas ni escaldadas de la empresa B; sin embargo, se observa que los valores de las coordenadas de color de las muestras escaldadas-congeladas son similares a las muestras de la empresa A. Lee y Cho (2019) reportaron valores similares de L^* (82.5) en coliflor blanca fresca así como la disminución después de aplicar el escaldado en agua por 180 s, los valores de L^* fueron similares a los obtenidos en muestras de la empresa A, pero mayores a los de la empresa B; Volden *et al.* (2009) analizaron dos variedades de coliflor blanca, “Aviso” y “Flamenco”, y dos variedades verdes “Celio” y “Emeraude”; y obtuvieron valores de L^* similares (82) al de la coliflor blanca pero menor comparado con la coliflor verde (50-55). Este mayor valor de L^* en coliflor blanca también fue reportado por Gu, Wang *et al.* (2015) quién analizó coliflores verdes del tipo “Loose curd”, reportando valores de $-a^*$ de -1.4 a -4.4, los valores más altos de a^* en coliflor blanca indican que las diferencias también pueden atribuirse a la variedad de cultivar empleada.

Tabla 7. Determinación de color en muestras de coliflor en diferentes etapas de proceso.

Empresa	Tratamiento	Color			
		L	a*	Croma	Hue
A	Blanca Fresca	82.4 ± 2.2 a	-0.7 ± 0.3 a	11.5 ± 1.8 a	93.7 ± 2.0 a
	Enverdecida Fresca	76.3 ± 3.0 b	-1.9 ± 0.5 b	13.2 ± 1.4 a	98.4 ± 2.0 a
	Escaldada enverdecida	59.9 ± 0.7c	-3.5 ± 0.7 c	6.1 ± 1.9 b	125.9 ± 5.1 b
	Congelada enverdecida	58.7 ± 1.0 c	-4.3 ± 0.4c	7.8 ± 0.3 b	123.7 ± 2.8 b
B	Escaldada Blanca	63.6 ± 3.9 a	-1.7 ± 0.6 a	11.4 ± 2.3 a	99.1 ± 4.2 a
	Escaldada enverdecida	62.3 ± 5.1 a	-3.2 ± 0.7b	14.0 ± 3.0 b	103.6 ± 3.7 b

Los resultados se muestran como la media ± desviación estándar. Valores con letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0.05$. entre filas por empresa.

6.1.3 Contenido de Clorofila

La clorofila es el compuesto característico responsable de la coloración verde en productos hortícolas (Lancaster *et al.* 1997). En las muestras de coliflor de la empresa A que presentaron el defecto de enverdecimiento no se evidenció la presencia ni de clorofila a ni de la clorofila b (Tabla 8), lo cual coincide con lo reportado por Guzmán *et al.* (2012) quienes no obtuvieron clorofila en coliflor blanca, por su parte, Podscedek (2007) reportó que la coliflor blanca contiene cantidades insignificantes de clorofila o menores a 0.03 mg/g. Por otro lado, en las muestras de la empresa B se pudo cuantificar un bajo contenido de clorofila total de 0.027 mg/g en coliflor escaldada-congelada, lo cual coincide con lo reportado por Izadpahan *et al.* (2022), quienes reportaron los mismos contenidos (0.027 mg/g) en coliflor blanca cv. Clapton y 0.567 mg/g en coliflor verde cv. Trevi. A pesar de los hallazgos de clorofila en las muestras de la empresa B, la coliflor blanca no mostró diferencia significativa respecto a la coliflor enverdecida en el contenido de clorofila total, los resultados sugieren que la clorofila no es el compuesto responsable del enverdecimiento de la coliflor congelada.

Tabla 8. Contenido de clorofila ($\mu\text{g/g}$) en coliflor de diferentes etapas de proceso.

Empresa	Tratamiento	Clorofila (mg/g)		
		Clorofila a	Clorofila b	Clorofila Total
A	Blanca Fresca	ND	ND	ND
	Enverdecida Fresca	ND	ND	ND
	Escaldada enverdecida	ND	ND	ND
	Congelada enverdecida	ND	ND	ND
B	Escaldada Blanca	$0.009 \pm 0.001a$	$0.017 \pm 0.002a$	$0.026 \pm 0.003a$
	Escaldada enverdecida	$0.010 \pm 0.002a$	$0.018 \pm 0.003a$	$0.27 \pm 0.005a$

Los resultados se muestran como la media \pm desviación estándar. Valores con letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0.05$. entre filas por empresa. ND: No detectado.

6.1.4 Actividad de la Peroxidasa

Uno de los parámetros que usan las empresas dedicadas al procesamiento de frutas y hortalizas es el control de la actividad de las enzimas responsables de cambios de calidad; entre ellos cambios de color, de degradación de vitaminas, cambios de textura y sabor (Köksal y Gülçin, 2008). Tradicionalmente las empresas congeladoras usan como pretratamiento al escaldado como un método para inactivar enzimas, usando a su vez como control de dicho tratamiento a la actividad de la enzima peroxidasa (E.C. 1.11.1.7) ya que se ha reportado que ésta es la enzima la más termoresistente presente en vegetales (Köksal y Gülçin, 2008), se ha reportado que la temperatura de $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ no afecta la actividad de la peroxidasa (Sakharov *et al.* 2002) por lo cual temperaturas de 80 a $98\text{ }^{\circ}\text{C}$ suelen usarse en los tratamientos. En este trabajo, se determinó la actividad de peroxidasa en muestras de coliflor fresca tanto blanca como enverdecida de la empresa A; los resultados indican que las muestras enverdecidas frescas presentaron 80% más actividad enzimática que la coliflor fresca blanca; después del escaldado y en la congelación realizada por la empresa la actividad enzimática fue nula. Llama la atención que se encontró una actividad de 130.44 UPOD/g mucho más alta a la reportada por Ratanapongleka y Onsarn (2017) y por Soare *et al.* (2017), quienes reportaron actividades de POD en coliflor blanca fresca de 15 UPOD/g y 10 UPOD/g, respectivamente. Por su parte, la coliflor escaldada-congelada de la empresa B

presento una actividad residual de 59.63 UPOD/g en muestras sin enverdecimiento y de 52.83 UPOD/g en muestras enverdecidas, sin ser significativamente diferentes entre ellas, una explicación a la alta actividad residual de la POD puede ser temperatura de escaldado que aplica la empresa B (88-92 °C/ 80s) es menor que la aplicada en la empresa A (94 -96 °C/ 90 s). Zhan *et al.* (2018) demostraron que la peroxidasa puede regenerarse después del tratamiento térmico, así como en el almacenamiento prolongado a bajas temperaturas.

Tabla 9. Actividad enzimática de peroxidasa (UPOD/g) en coliflor de diferentes etapas de proceso.

Empresa	Tratamiento	Actividad de la Peroxidasa (UPOD/g)
A	Blanca Fresca	130.4 ± 10.4 a
	Enverdecida Fresca	235.2 ± 41 b
	Escaldada enverdecida	ND
	Congelada enverdecida	ND
B	Escaldada Blanca	59.6 ± 20.1 a
	Escaldada enverdecida	52.8 ± 21.4 a

Los resultados se muestran como la media ± desviación estándar. Valores con letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0.05$. entre filas por empresa. ND: No detectado.

6.2 Etapa 2

A nivel de laboratorio, se evaluó el efecto de 3 diferentes tipos de escaldado (agua caliente a 94 °C, vapor de agua y microondas 1000W) por tiempos de 90 y 180 s en muestras frescas proporcionadas por la empresa A y en muestras frescas obtenidas en un mercado local (ML). Los tiempos de escaldado se tomaron con base al tratamiento que realiza la empresa A (90 s), y en estudios preliminares se evaluaron tiempos de 120, 180, 240 y 300 s observando que a partir de 240 s las muestras presentaban un drástico cambio en la apariencia, por ello se decidió establecer el tiempo de 180 s como el siguiente tiempo de escaldado. Una vez aplicados los tratamientos se evaluó la calidad visual, la actividad de la peroxidasa y el color.

6.2.1 Calidad Visual

El escaldado es un tratamiento térmico que se utiliza como pretratamiento a procesos de deshidratación y congelación de productos hortícolas con la finalidad de evitar cambios en la calidad durante su proceso o almacenamiento. En particular en el proceso de congelación de coliflor el escaldado más utilizado es en agua caliente; a pesar del problema de enverdecimiento reportado en la empresa A, la omisión del escaldado puede provocar que las muestras congeladas presenten aún más cambios indeseables durante su almacenamiento. Por esta razón se evaluaron el tratamiento con vapor y con microondas como posibles alternativas al proceso de escaldado tradicional utilizado por la empresa que permitan disminuir o prevenir el enverdecimiento de la coliflor escaldada y congelada. El porcentaje de enverdecimiento (Tabla 10) fue menor en muestras escaldadas con agua caliente, que en microondas y que en vapor y en todos los tratamientos a mayor tiempo de proceso.

Tabla 10. Porcentaje de enverdecimiento (% EV) en la coliflor escaldada en agua caliente (94 °C), vapor de agua y microondas (1000W).

Tratamiento	CF	A90	A180	V90	V180	M90	M180
% EV							
Empresa A	0	10.8	5.4	44.6	36.0	19.6	9.2
CML	0	13.8	7.0	28.0	19.6	38.0	10.2

ML= Coliflor de mercado local. CF= Coliflor Fresca; A90 y A180 = Coliflor escaldada en agua por 90 y 180s; V90 y V180 = Coliflor escaldada en vapor por 90 y 180 s; M90 y M180s = coliflor escaldada en microondas por 90 y 180 s.

En contra de lo esperado, las muestras escaldadas en vapor presentaron el mayor porcentaje de enverdecimiento (Figura 5d y 5e), esto puede deberse a la naturaleza de la muestra ya que la coliflor es una hortaliza firme, no esponjosa, donde el vapor no pudo penetrar lo suficiente para ejercer el efecto esperado y por ende no se logra tener un porcentaje por debajo de lo permitido por USDA que es del 20 % de defectos, en el que se considera el enverdecimiento. El escaldado en agua y microondas, ambos por 180 s, logró un enverdecimiento por debajo del 10 % (Figura 5c y 5g). Una sugerencia que se puede hacer a la empresa A es cambiar el sistema de escaldado de agua por microondas, pero esto resultaría muy costoso, de manera que lo más viable, y de acuerdo con los menores porcentajes de enverdecimiento,

será sugerir incrementar al doble el tiempo de escaldado que actualmente aplica. De manera general las muestras de mercado local (Tabla 10 y Figura 6) mostraron un comportamiento similar a las muestras de la empresa A.

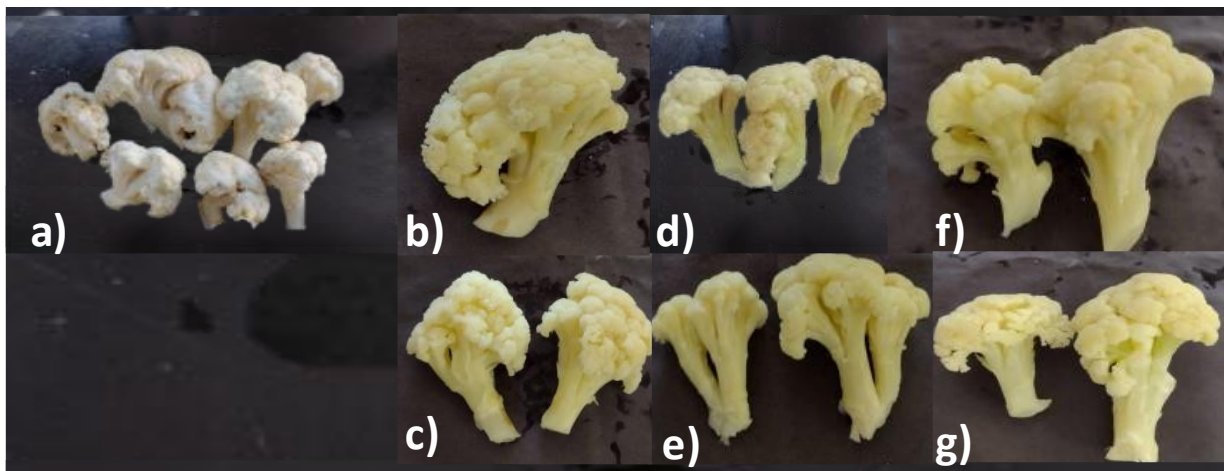


Figura 5. Apariencia visual de coliflor blanca en empresa A. a) Fresca, b) y c) escaldadas en agua por 90 s y 180 s; d) y e) escaldadas en vapor por 90 s y 180 s; y f) y g) escaldadas en microondas por 90 s y 180 s.

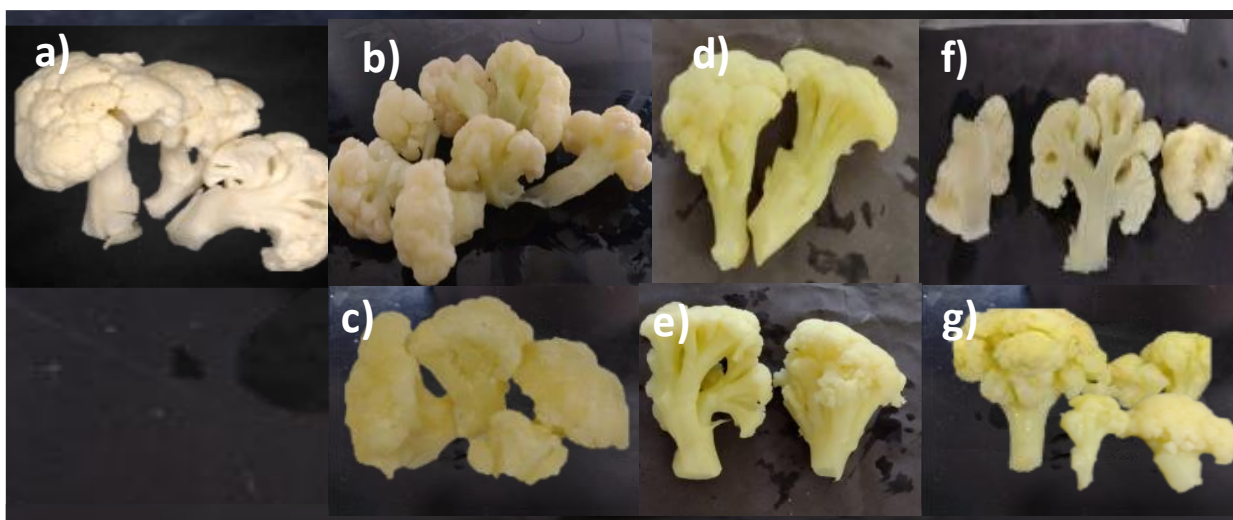


Figura 6. Apariencia visual de coliflor blanca de mercado local. a) Fresca, y escaldadas en agua b) 90 s, c) 180 s, vapor, d) 90 s, e) 180 s, microondas, f) 90 s, g) 180 s.

6.2.2 Evaluación de color en muestras escaldadas con agua, vapor y microondas

La coordenada de color que mejor describe los cambios de color en muestras de coliflor enverdecida es el parámetro “a”; tonalidades más verdes se denotan con mayores valores negativos. Los mayores valores negativos de a^* se observaron en coliflor enverdecida que en coliflor fresca sin enverdecimiento (Tabla 11). Muestras de coliflor frescas de mercado local presentaron el doble de valor de la coordenada “a” (-1.3) que las muestras frescas de la empresa A (-0.6), quizás debido a manejo diferente de las muestras. Las muestras escaldadas en agua caliente y en microondas mostraron valores más negativos de a^* , lo que indica que son muestras con tonalidades más verdes, aunque el porcentaje de enverdecimiento sea menor; es decir que el escalde tanto con agua caliente como microondas disminuyen el % de muestras con enverdecimiento, pero éste es más intenso en tonalidad verde que las muestras con menor % de enverdecimiento; esto sugiere que el valor de a^* no está directamente asociado al porcentaje de enverdecimiento (% EV). En este sentido Lancaster *et al.* (1997) mencionan que la expresión del color de una muestra (su apariencia) no solo depende de los pigmentos presentes sino además de otros aspectos físicos y/o químicos del vegetal; entre ellos la presencia de ceras, tricomas y otras estructuras epiteliales, el tamaño de las células y topografía del propio tejido influyen en la reflexión y refacción de la luz incidente. En la coliflor blanca la expresión del color depende de aspectos físicos como la exposición a la luz solar o químicos como la inducción y formación de cromoplastos (Singh *et al.*, 2017).

El incremento en los valores negativos de a^* en coliflor ha sido reportado por Volden *et al.* (2009) después de escaldar en agua caliente por 3 min y por Lee y Cho (2019) después de escaldar por hervido y vapor; los valores reportados en ambos trabajos fueron de 0.6 en coliflor fresca y -0.4 en coliflor escaldada, además reportaron el mayor incremento en los valores de a^* en muestras escaldado con vapor (200 %) a diferencia de los resultados encontrados en este trabajo donde las muestras de la empresa A mostraron el mayor incremento cuando se escaldaron con agua caliente por 90 s (500 %) y por 180 s (300 %) y en las muestras de mercado local el tratamiento en vapor disminuyó a^* . El escalde en vapor en las muestras de mercado

local fue el único tratamiento que mostró disminución del valor negativo de a^* (45 % en V90s y 85 % en V180s).

Tabla 11. Valores del parámetro a^* y peroxidasa en muestras de coliflor escaldadas en agua caliente (94°C), vapor de agua y microondas (1000 W). Muestras de la empresa A y de un mercado local.

Muestra	Tratamiento	a^*	POD (UPOD/g)
Empresa A	CF	-0.6 ± 0.3 a	130.4 ± 10.4 b
	A90	-3.7 ± 0.6 bcd	2.1 ± 3.6 c
	A180	-2.6 ± 0.7 abc	ND
	V90	-2.1 ± 0.2 ab	84.8 ± 25.9 b
	V180	-1.9 ± 1.2 ab	10.9 ± 9.6 c
	M90	-3.0 ± 0.6 abc	ND
	M180	-2.8 ± 0.9 abc	ND
Coliflor de Mercado Local	CF	-1.3 ± 0.3 ab	116.7 ± 23.4 b
	A90	-2.7 ± 1.0 bc	12.8 ± 2.9 d
	A180	-2.7 ± 0.2 bc	0.1 ± 0.2 d
	V90	-0.7 ± 0.2 a	86.6 ± 8.5 bc
	V180	-0.2 ± 0.2 a	70.1 ± 3.6 c
	M90	-2.7 ± 0.8 bc	5.2 ± 2.3 d
	M180	-2.8 ± 0.9 bc	0.1 ± 0.2 d

CF= Coliflor fresca; A90 y A180 coliflor escaldada en agua por 90 y 180s; V90 y V180 coliflor escaldada en vapor 90 y 180s; M90 y M180 coliflor escaldada en microondas por 90 y 180 s. Letras diferentes denotan diferencia estadística a $p=0.05$ entre filas y por tipo de muestra.

En el trabajo desarrollado por Dos reis *et al.* (2015) escaldando coliflor en agua hirviendo, vapor y microondas, encontraron que los valores de a^* se mantuvieron en un rango positivo siendo el escalde en microondas ($a^* = 3.5$) el valor más pequeño, lo que es contrario a lo encontrado en el presente trabajo. Por su parte, Mazzeo *et al.* (2011) reportaron un incremento de los valores negativos de a^* desde -1.4 en muestras de coliflor fresca a -2.3 y -2.4 en muestras escaldadas con agua hirviendo y vapor, respectivamente lo que significa un incremento del 130 % en su valor, estos tratamientos no mostraron diferencia entre ellos; sin embargo, en este

trabajo el incremento en los valores de a^* variaron de 200 % en el escalde con vapor a 500 % en el escalde con microondas con diferencias significativas entre tratamientos. Además, Pellegrini *et al.* (2010) reportaron incrementos de hasta 700% en los valores negativos de a^* en muestras de coliflor escaldadas con vapor respecto de las muestras frescas. En el presente trabajo, el mayor incremento de valores negativos de “a” fue observado en muestras escaldadas en agua caliente provenientes de la empresa A y en muestras de mercado local escaldadas con vapor el valor de a disminuyó hasta 80 %. Estos resultados sugieren que el tipo y origen de la muestra (Empresa u obtenida de Mercado local) también influyen en el efecto que tendrá cada tipo de escaldado, aunque el principio de los tratamientos es disminuir la actividad enzimática los cambios en las tonalidades pueden deberse a otros factores.

6.2.3 Actividad de la Peroxidasa en muestras escaldadas con agua, vapor y microondas

La peroxidasa es una enzima que se utiliza como índice de calidad en alimentos precocidos congelados ya que su correcta inactivación permite incrementar la vida útil conservando características deseables en el producto final (Pérez, *et al.* 2015), esta enzima se caracteriza por poseer una alta estabilidad térmica por lo que se usa como control de la eficiencia de los tratamientos de escaldado. La Tabla 11 muestra la actividad de la peroxidasa en muestras de coliflor. Como es de esperarse, la mayor actividad la presentan las muestras frescas, y esta disminuye con los tratamientos de escaldado. El efecto más significativo sobre la actividad resultó ser el tratamiento con microondas (1000 W) ya que no se pudo detectar actividad residual después del tratamiento por 90 y 180 s en las muestras de la empresa A y baja actividad de las muestras de mercado local. Con los tratamientos de agua caliente, la actividad enzimática de ambos tipos de muestra disminuyó más de 90% en los 2 tiempos de escaldado. Mientras que, en los tratamientos con vapor, la actividad residual fue de 66 % en V90s y 10 % en V180s en muestras de la empresa A y de 75 % en V90s y 40 % en V180s de las muestras de mercado local. La disminución de la actividad enzimática es atribuida a que en temperaturas mayores a 80 °C la enzima es más susceptible a la desnaturalización, las menores

reducciones observadas después del escaldado con vapor se deben al rango de temperatura alcanzado en el florete (50 - 65°C) ya que la actividad POD aún es estable en ese rango de temperatura (20 - 50°C) (Faidah Rahman *et al.* (2012); Koksai y Gulcin (2008). Faidah Rahman *et al.* (2012) y Munifa Jabeen *et al.* (2022) reportaron rangos de concentraciones entre 100 UPOD/g - 210 UPOD/g en la coliflor fresca, los cuales son consistentes con los encontrados en muestras frescas en el presente trabajo; pero superiores a los reportados por Ratanapongleka y Onsarn (2017) y por Soare *et al.* (2017) quienes reportaron valores entre 2 y 11 UPOD/ g. Estos resultados indican la variabilidad que presenta este material biológico.

6.3 Etapa 3.

Las crucíferas deben su sabor y olor característico a los glucósidos nitrogenados o sulfurados conocidos como glucosinolatos (GLS). Se cuantificó el contenido de glucosinolatos y la actividad de la mirosinasa en muestras de coliflor escaldada en condiciones de laboratorio aplicando agua caliente (94 °C), vapor y microondas (1000 W). Las muestras frescas se dividieron en aquellas que presentaron tonalidades verdes y blancas y en ambas se realizaron las determinaciones.

6.3.1 Contenido de Glucosinolatos en muestras de coliflor escaldadas

El contenido de GLS en muestras frescas de coliflor blancas “snowball” fue de 75.64 $\mu\text{mol/g}$ y en muestras frescas enverdecidas de 125.28 $\mu\text{mol/g}$, siendo estadísticamente diferentes (Tabla 12). La concentración encontrada en las muestras frescas blancas es similar a lo reportado por Hirani *et al.* (2013) quienes encontraron 72.0 $\mu\text{mol/g}$ en el mismo cultivar; y ligeramente más altos a los reportados por Bhandari y Kwak (2015) para el cv “Bridal” (67.23 $\mu\text{mol/g}$); y a los reportados por Florkiewicz *et al.* (2017) en coliflor blanca “White rose” (62.25 $\mu\text{mol/g}$), pero son más altos a los reportados por Bhandari y Kwak (2015) en coliflor cv “Asia White” quienes obtuvieron 18 $\mu\text{mol/g}$.

Tabla 12. Contenido de glucosinolatos y actividad de la mirosinasa en muestras de coliflor escaldadas en agua, vapor y microondas.

Tratamiento	Glucosinolatos (GLS) ($\mu\text{mol/g}$)	Mirosinasa ($\mu\text{mol/ min g}$)
Coliflor fresca blanca	75.64 \pm 10.02 def	6.50 \pm 0.08 b
Coliflor fresca enverdecida	125.28 \pm 11.04 a	9.41 \pm 0.42 a
BA90	52.40 \pm 14.47 fgh	2.63 \pm 0.38 e
BA180	59.14 \pm 7.90 efg	1.07 \pm 0.05 g
BV90	66.23 \pm 7.97 efg	4.88 \pm 0.28 c
BV180	66.20 \pm 3.42 efg	3.95 \pm 0.07 d
BM90	32.30 \pm 2.08 h	1.93 \pm 0.53 f
BM180	45.10 \pm 6.74 gh	1.16 \pm 0.06 g
VA90	95.93 \pm 4.33 bcd	6.90 \pm 0.32 b
VA180	103.37 \pm 8.36 abc	6.37 \pm 0.35 b
VV90	111.19 \pm 4.10 ab	6.44 \pm 0.19 b
VV180	116.79 \pm 7.45 ab	6.33 \pm 0.14 b
VM90	73.42 \pm 7.36 def	4.40 \pm 0.28 cd
VM180	79.81 \pm 8.80 cde	4.10 \pm 0.56 d

Los resultados se muestran como la media \pm desviación estándar. Valores con letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0.05$. entre filas. ; BA90: Coliflor blanca escaldada en agua por 90 s; BA180: Coliflor blanca escaldada en agua por 180 s; BV90: Coliflor blanca escaldada en vapor por 90 s, BV180: Coliflor blanca escaldada en vapor por 180 s; BM90: Coliflor blanca escaldada en microondas por 90 s; BM180: Coliflor blanca escaldada en microondas por 180 s; VA90: Coliflor verde escaldada en agua por 90 s; VA180: Coliflor verde escaldada en agua por 180 s; VV90: Coliflor verde escaldada en vapor por 90 s, VV180: Coliflor verde escaldada en vapor por 180 s; VM90: Coliflor verde escaldada en microondas por 90 s; VM180: Coliflor verde escaldada en microondas por 180 s.

En este mismo sentido fueron muy bajos comparados a los reportados en cv. "Botrytis" por Drabinska (2021) quien reportó un contenido de 1125 $\mu\text{mol/g}$. Por su parte, Almishayti *et al.* (2021) reportaron concentraciones de GLS entre 160 y 1510 $\mu\text{mol/g}$ en coliflor blanca "Botrytis" y de 230 a 850 $\mu\text{mol/g}$ en coliflor verde "Botrytis".

De manera general, los tratamientos de escaldado provocan una disminución en el contenido de GLS en las muestras de coliflor; siendo más significativo en las muestras tratadas con microondas, seguidas de las tratadas con agua caliente y

finalmente con vapor. En muestras enverdecidas se presentó el mismo comportamiento. Estos resultados indican que los tratamientos con vapor son menos efectivos debido a la baja penetración del calor en la muestra; mientras que el tratamiento con microondas es más efectivo pues la penetración de la microonda puede lograr hasta 2 cm (Ramesh *et al.* 2002) en la muestra con una mayor distribución de energía lo cual puede provocar incluso una pérdida por lixiviación.

Kapusta-Duch *et al.* (2015) reportaron que la concentración de GLS en coliflor verde “Vita verde” fue de 47.38 $\mu\text{mol/g}$ y disminuyó 70 % después de la cocción por 15 min lo que concuerda con lo reportado por Tiwari *et al.* (2015) y por Cieslik *et al.* (2007) quienes demostraron la disminución del contenido de GLS en 30 – 75 % después de 10 - 20 min de cocinado; sin embargo, solo el 20 % fue atribuido a las altas temperaturas y el 80 % restante fue por lixiviación. Por otro lado, McNaughton y Marks (2003) y Song y Thornalley (2007) observaron que la mayor disminución de GLS (60 – 78 %) fue durante el hervido de la coliflor, lo cual concuerda con Volden *et al.* (2009) quienes registraron la mayor pérdida en el escalde (52 %) y la menor disminución en vapor (11 %); este efecto también se encontró en el presente trabajo. Por su parte Pellegrino *et al.* (2010) reportaron que la mayor disminución de GLS se presentó en el hervido (37 %), seguido de microondas (25 %) mientras que en el vapor se presentó incluso un incremento de GLS, este comportamiento también fue observado por Florkiewicz *et al.* (2017) quienes resaltaron el incremento de 53 % en muestras escaldadas en vapor respecto a la coliflor fresca y que la mayor reducción de GLS se observó en el hervido por 10 min, además Nugraedi *et al.* (2014) observaron que la mayor retención de GLS fue mayor en vapor (82 %) que en escaldado (59 %), el incremento en el contenido de GLS puede deberse a una desintegración del tejido vegetal tras el tratamiento térmico debido a que parte de GLS de las células vegetales podrían estar unidos a las paredes celulares y liberarse sólo tras una profunda desintegración de las estructuras celulares; (Vallejo *et al.* (2002) mostró que el tratamiento en vapor con tiempo de 3.5 min ocasiona reducciones mínimas en el contenido de GLS y que la inactivación en la actividad de la mirosinasa hasta por 90 % se consigue después de 7 min.

Drabinska (2021) reportó que la mayor concentración de GLS en floretes de coliflor blanca perteneció a los de tipo indol seguido de los alifáticos, en los tallos predominaron los alifáticos (progoitrina y sinigrina), en floretes el glucosinolato dominante fue glucobrasicina y en tallos fue neoglucobrasicina; este comportamiento depende de la variedad de coliflor. Bhandari y Kwak (2015) hallaron mayor proporción de glucorafanina y la gluconapina en cv “Asia White”, por otro lado, Sarikamis, Aydin y Yavuz (2017) reportaron el glucosinolato alifático glucoiberina como el predominante en coliflor verde “Tiguan” y “Touareg”, seguido de 3-indolmetil del grupo indólico mientras que en la coliflor blanca “Memphis” los predominantes fueron glucoiberina y la sinigrina del grupo alifático; Gu, Wang *et al.* (2015) determinaron mayor presencia de glucosinolatos alifáticos (sinigrina y glucoiberina) que indólicos (triptófano como glucobrassicina), la mayor concentración de glucosinolatos alifáticos ya había sido reportada por Kapusta-Duch *et al.* (2015) quienes identificaron que el 87 % del total de GLS presentes pertenecían a glucosinolatos alifáticos siendo glucoiberina, progoitrina, sinigrina, glucorafanina, gluconapina, glucoibervirina, glucoerucina y gluconastrucina los que se encontraron en concentraciones más elevadas.

6.3.2 Actividad de la mirosinasa en muestras de coliflor escaldadas

La mirosinasa (E.C. 3.2.1.147) es una enzima que cataliza la hidrólisis de los glucosinolatos (Ludikhuizen *et al.* 1999), está presente en la gran mayoría de las Brassicas y está involucrada en la calidad y seguridad de las crucíferas (Yen y Wei, 1993), particularmente contra insectos y patógenos.

La actividad de la mirosinasa en muestras de coliflor blanca fresca (10.35 $\mu\text{mol}/\text{min g}$) fue más alta a lo reportado por Yen y Wei, (1993) quienes reportaron una actividad para coliflor “Botrytis” de 2.84 $\mu\text{mol}/\text{min g}$; y mucho más bajo que lo reportado por Charron *et al.* (2005) en coliflor “Dominant” 52 – 120 $\mu\text{mol}/\text{min g}$ y “snow crown” de 58 -111 $\mu\text{mol}/\text{min g}$. La coliflor enverdecida mostró un valor (9.31 $\mu\text{mol}/\text{min g}$), aunque ligero significativo menor a la muestra blanca (10.35 $\mu\text{mol}/\text{min g}$). Como era de esperarse, todos los tratamientos de escaldado provocaron una disminución de la actividad de la mirosinasa particularmente el tratamiento con microondas y al igual

que el efecto en la concentración de los GLS la efectividad de las ondas microonda puede ocasionar mayores disminuciones en la actividad enzimática.

Llama la atención el efecto que presentaron las muestras tratadas con vapor ya que la actividad de la mirosina es menor que las muestras tratadas con agua caliente pero la concentración de GLS es mayor en vapor que en agua caliente.

Se ha reportado que la inactivación de la mirosinasa es lineal al incremento de temperatura, y que la termorresistencia depende del tipo de producto; Sung *et al.* (2021) observaron que la actividad de la mirosinasa en Brassicas se mantiene después de que han sido sometidas a escaldado por tiempos cortos a temperaturas de 60 °C mientras que la completa inactivación es provocada a temperaturas mayores a 60 °C lo cual no se evidenció en este trabajo. Adediran *et al.* (2020) reportaron que en brócoli la pérdida de la actividad es de 40 % en tiempos de cocinado de 10 min en muestras de 10 g de brócoli troceado en 4 cm y colocadas en bolsas de polietileno de baja densidad y selladas a vacío a partir de 50 °C, y a 60 °C no se registró actividad de mirosinasa. Por su parte, Hwan (2019) reportó la inactivación enzimática hasta alcanzar 70 °C en brócoli y hasta 100 °C en brócoli inmaduro (brotes de brocoli), por otro lado, Baenas *et al.* (2020) demostraron que la pérdida del 90 % de actividad se da después de tratamientos a 80 °C.

Es importante recordar que en este trabajo se evaluó los tratamientos de escaldado en floretes de 2.5 cm como la hace y comercializan las empresas A y B según la USDA. El escaldado en agua caliente por 90 s ocasionó la disminución de la actividad enzimática en 60 % y de 84 % a 180 s, los resultados son comparables a los obtenidos por Rungapamestry *et al.* (2007) quienes reportaron que el escaldado en agua a 90 °C por 105 s inactivó la mirosinasa en 93 %. El escaldado con vapor provocó menor pérdida de actividad de mirosinasa tanto a 90 como a 180 s ya que solo el 24 % y 40 % se inactivo. Sung *et al.* (2021) demostraron que la actividad de mirosinasa permaneció estable después de 2 y hasta 7 min en tratamientos de escaldado con vapor, disminuyendo finalmente el 90 %.

7 CONCLUSIONES

- El enverdecimiento en los tallos de coliflor no es ocasionado por la presencia de clorofila ya que dependiendo de la región de donde se obtuvo la muestra el pigmento no estuvo presente o no presentó diferencias significativas entre muestras blancas y enverdecidas.
- El parámetro determinante en la escala CIEL*a*b* para caracterizar el enverdecimiento es la coordenada a* debido a que representa el cambio hacia tonalidades verdes; las muestras enverdecidas presentan valores 90% mayores en la escala negativa de a* respecto a muestras blancas.
- El escaldado con vapor no es efectivo para evitar el enverdecimiento debido a la poca efectividad que presentó para disminuir la actividad de la peroxidasa y la mirosinasa, así como la mayor presencia en el contenido total de glucosinolatos.
- El método tradicional de escaldado que siguen las empresas, agua caliente por 90 s, mostró residualidad de la actividad de la peroxidasa, y mayores porcentajes de enverdecimiento que el escaldado en agua por 180 s y el escaldado en microondas por 180 s, debido a las implicaciones económicas que representa el cambio de infraestructura en la industria se sugiere ampliar el tiempo de escaldado utilizado por la empresa a 180 s.

8 BIBLIOGRAFÍA

- Acurio Arcos, L. P., y Alvarez Beltrán, T. M. (2021). Efectos de la congelación y ultracongelación en la estructura y textura de frutas y vegetales: Una revisión bibliográfica de datos publicados. <http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/33606>
- Adediran, O. O., Lisa, M., y Keshavan, N. (2020). View of A Comparison of Myrosinase Activity and Stability in Fresh Broccoli (*B. oleracea* var. *Italica*) and Brown Mustard (*B. juncea*) Seeds. *Agrifoodscience.com*. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v8i1.64-68.2704>
- Ahmed, F. A., y Ali, R. F. M. (2013). Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh and processed white cauliflower. *BioMed Research International*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/367819>
- Ali, A. M. (2015). Effect of food processing methods on the bioactive compound of cauliflower. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 93(1), 117–131. <https://doi.org/10.21608/ejar.2015.152818>
- Almushayti, A. Y., Brandt, K., Carroll, M. A., y Scotter, M. J. (2021). Current analytical methods for determination of glucosinolates in vegetables and human tissues. *Journal of Chromatography A*, 1643(462060), 462060. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462060>
- Aparicio-Cuesta, M. P., y García-Moreno, C. (1988). Quality of Frozen Cauliflower during Storage. *Journal of Food Science*, 53(2), 491–493. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.1988.TB07738.X>
- Arbona, V. (2020, mayo 27). Defensa a la mostaza. *Naukas*. <https://naukas.com/2020/05/27/defensa-a-la-mostaza/>
- Baenas, N., Cartea, M. E., Moreno, D. A., Tortosa, M., y Francisco, M. (2020). Processing and cooking effects on glucosinolates and their derivatives. En *Glucosinolates: Properties, Recovery, and Applications* (pp. 181–212). Elsevier.
- Bhandari, S., y Kwak, J.-H. (2015). Chemical composition and antioxidant activity in different tissues of Brassica vegetables. *Molecules* (Basel, Switzerland), 20(1), 1228–1243. <https://doi.org/10.3390/molecules20011228>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248–254. doi:10.1016/0003-2697(76)90527-3

- Cardinali, A. Sergio, L. Di Venere, D. Linsalata, V. Fortunato, D. Conti, A. and Lattanzio, V. (2007) *J. Sci. Food Agric.*, 87, 1417.
- Cartea, M. E., Abilleira, R., y Velasco, P. (2008). Los glucosinolatos como factor de calidad en las brásicas. [https://digital.csic.es/bitstream/10261/45502/1/Cartea_Glucosinolatos_factor... pdf](https://digital.csic.es/bitstream/10261/45502/1/Cartea_Glucosinolatos_factor...pdf)
- Charron, C. S., Saxton, A. M., y Sams, C. E. (2005). Relationship of climate and genotype to seasonal variation in the glucosinolate-myrosinase system. II. Myrosinase activity in ten cultivars of *Brassica oleracea* grown in fall and spring seasons. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(4), 682–690. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2031>
- Ciuraru, I. (2019). Why Is Cauliflower White? The Surprising Truth Behind Its Color- Foodiosity. <https://foodiosity.com/why-is-cauliflower-white/>
- Codex Alimentarius CXS 111-1981. (2019). CXS 111-1981 Norma para las coliflores congeladas rápidamente. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/ru/?Ink=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B111-1981%252FCXS_111s.pdf
- Colorimetry - Part 4: CIE 1976 L*a*b* Colour space. (s/f). Cie.co.at. <https://cie.co.at/publications/colorimetry-part-4-cie-1976-lab-colour-space-0>
- Cotrina Vila, F. (1982). Cultivo de la coliflor. 0–28. https://www.miteco.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1981_21.pdf
- de Iseppi, A., Curioni, A., Marangon, M., Vincenzi, S., y Lomolino, G. (2021). Garlic greening: Pigments' biosynthesis and control strategies. *Italian Journal of Food Science*, 33(1), 73–83. <https://doi.org/10.15586/IJFS.V33I1.1939>
- Dos Reis, L. C. R., De Oliveira, V. R., Hagen, M. E. K., Jablonski, A., Flôres, S. H., y De Oliveira Rios, A. (2015). Effect of cooking on the concentration of bioactive compounds in broccoli (*Brassica oleracea* var. Avenger) and cauliflower (*Brassica oleracea* var. Alphina F1) grown in an organic system. *Food Chemistry*, 172, 770–777. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2014.09.124>

- Dos Reis, L. C. R., de Oliveira, V. R., Hagen, M. E. K., Jablonski, A., Flôres, S. H., y de Oliveira Rios, A. (2015). Carotenoids, flavonoids, chlorophylls, phenolic compounds and antioxidant activity in fresh and cooked broccoli (*Brassica oleracea* var. Avenger) and cauliflower (*Brassica oleracea* var. Alphina F1). *Lebensmittel-Wissenschaft Und Technologie [Food Science and Technology]*, 63(1), 177–183. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.089>
- Drabińska, N., Jeż, M., y Nogueira, M. (2021). Variation in the accumulation of phytochemicals and their bioactive properties among the aerial parts of cauliflower. *Antioxidants*, 10(10). <https://doi.org/10.3390/ANTIOX10101597>
- FAOSTAT. (2020). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. https://www.fao.org/faostat/es/#rankings/countries_by_commodity_exports
- Florkiewicz, A., Ciska, E., Filipiak-Florkiewicz, A., y Topolska, K. (2017). Comparison of Sous-vide methods and traditional hydrothermal treatment on GLS content in Brassica vegetables. *European Food Research and Technology*, 243(9), 1507–1517. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2860-z>
- Fundación Española de Nutrición. (2011). Coliflor. https://www.mapa.gob.es/es/ministerio/servicios/informacion/coliflor_tcm30-102697.pdf
- González-Hidalgo, I., Moreno, D. A., García-Viguera, C., y Ros-García, J. M. (2019). Effect of industrial freezing on the physical and nutritional quality traits in broccoli. *Food Science and Technology International*, 25(1), 56–65. <https://doi.org/10.1177/1082013218795807>
- Gu, H., Wang, J., Zhao, Z., Sheng, X., Yu, H., y Huang, W. (2015). Characterization of the appearance, health-promoting compounds, and antioxidant capacity of the florets of the loose-curd cauliflower. *International Journal of Food Properties*, 18(2), 392–402. <https://doi.org/10.1080/10942912.2013.831445>
- Guzman, I., Yousef, G. G., y Brown, A. F. (2012). Simultaneous extraction and quantitation of carotenoids, chlorophylls, and tocopherols in Brassica vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(29), 7238–7244. <https://doi.org/10.1021/jf302475d>
- Han, F., Cui, H., Zhang, B., Liu, X., Yang, L., Zhuang, M., Lv, H., Li, Z., Wang, Y., Fang, Z., Song, J., y Zhang, Y. (2019). Map-based cloning and

- characterization of BoCCD4, a gene responsible for white/yellow petal color in *B. oleracea*. *BMC Genomics*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/S12864-019-5596-2>
- Hirani, A. H., Zelmer, C. D., McVetty, P. B. E., Daayf, F., y Li, G. (2013). Homoeologous GSL-ELONG gene replacement for manipulation of aliphatic glucosinolates in *Brassica rapa* L. by marker assisted selection. *Frontiers in plant science*, 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00055>
- Hodges, D. M., Munro, K. D., Forney, C. F., y McRae, K. B. (2006). Glucosinolate and free sugar content in cauliflower (*Brassica oleracea* var. botrytis cv. Freemont) during controlled-atmosphere storage. *Postharvest Biology and Technology*, 40(2), 123–132. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.12.019>
- Indian Horticulture. (2021). Org.In.<https://www.icar.org.in/indianhorticulture>
- Izadpanah, F., Frede, K., Soltani, F., y Baldermann, S. (2023). Comparison of Carotenoid, Chlorophyll Concentrations and their Biosynthetic Transcript Levels in Different Coloured Cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. botrytis). *Horticultural Plant Journal*. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2022.09.014>
- Jabeen, M., Akram, N. A., Ashraf, M., Tyagi, A., El-Sheikh, M. A., y Ahmad, P. (2022). Thiamin stimulates growth, yield quality and key biochemical processes of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. Botrytis) under arid conditions. *PloS One*, 17(5), e0266372. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0266372>
- Jiang, Y., Duan, X., Qu, H., y Zheng, S. (2016). Browning: Enzymatic Browning. En B. Caballero, P. M. Finglas, y F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 508–514). Elsevier.
- Kapusta-Duch, J., Kusznierevicz, B., Leszczyńska, T., y Borczak, B. (2016). Effect of cooking on the contents of glucosinolates and their degradation products in selected *Brassica* vegetables. *Journal of Functional Foods*, 23, 412–422. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.03.006>
- Koksal, E., y Gulcin, I. (2008). Purification and Characterization of Peroxidase from Cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. botrytis) Buds. *Protein and Peptide Letters*, 15(4), 320–326. <https://doi.org/10.2174/092986608784246506>

- Koss-Mikołajczyk, I., Kusznerewicz, B., Wiczowski, W., Płatosz, N., y Bartoszek, A. (2019). Phytochemical composition and biological activities of differently pigmented cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) and cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(12), 5499–5507. <https://doi.org/10.1002/JSFA.9811>
- Lancaster, J., Lister, C. E., Reay, P. F. y Triggs, C. M. (1997). Influence of pigment composition on skin color in a wide range of fruits and vegetable. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 122(4), 594-598.
- Lee, H. L., y Choo, W. S. (2019). Effect of Storage Time on Ascorbic Acid and Total Phenolic Contents and Colour of Blanched, Boiled and Steamed Cauliflowers (*Brassica oleracea* L. ssp. *botrytis*). *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 42(2), 535-544. <http://www.pertanika.upm.edu.my/pjssh/browse/regular-issue?article=JTAS-1680-2018>
- Lichtenthaler, H. K. (1987). [34] Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148(C), 350–382. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
- Lopez, A. B., Van Eck, J., Conlin, B. J., Paolillo, D. J., O'Neill, J., y Li, L. (2008). Effect of the cauliflower Or transgene on carotenoid accumulation and chromoplast formation in transgenic potato tubers. *Journal of Experimental Botany*, 59(2), 213–223. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm299>
- Lu, S., Van Eck, J., Zhou, X., Lopez, A. B., O'Halloran, D. M., Cosman, K. M., Conlin, B. J., Paolillo, D. J., Garvin, D. F., Vrebalov, J., Kochian, L. V., Küpper, H., Earle, E. D., Cao, J., y Li, L. (2007). The cauliflower orgene encodes a DnaJ cysteine-rich domain-containing protein that mediates high levels of β -carotene accumulation. *The Plant Cell*, 18(12), 3594–3605. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.046417>
- Maryam, N., y Singh, N. (2015). Effect of preservation methods on physicochemical properties of cauliflower. *International Journal of Scientific Research and Engineering Studies (IJSRES)*, 2(10), 22–25. https://web.archive.org/web/20180421110703id_/http://www.ijres.com/2015/vol-2_issue-10/paper_4.pdf
- Mawlong, I., Sujith Kumar, M. S., Gurung, B., Singh, K. H., y Singh, D. (2017). A simple spectrophotometric method for estimating total glucosinolates in mustard de-oiled cake. *International Journal of Food Properties*, 20(12), 3274–3281. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1286353>

- Mazzeo, T., N'Dri, D., Chiavaro, E., Visconti, A., Fogliano, V., y Pellegrini, N. (2011). Effect of two cooking procedures on phytochemical compounds, total antioxidant capacity and colour of selected frozen vegetables. *Food Chemistry*, 128(3), 627–633. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.070>
- McGuire, R. G. (1992). Reporting of objective color measurements. *HortScience: A Publication of the American Society for Horticultural Science*, 27(12), 1254–1255. <https://doi.org/10.21273/hortsci.27.12.1254>
- Messing, L. (2015). Michigan Fresh - Using, Storing and Preserving Cauliflower. Michigan State University Extension.
- NMX. (1978). Norma Oficial Mexicana “Determinación de pH en alimentos” NOM-F-317-S-1978. http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4704689yfecha=23/05/1978
- Nugrahed, P. Y., Verkerk, R., Widianarko, B., y Dekker, M. (2015). A mechanistic perspective on process-induced changes in glucosinolate content in Brassica vegetables: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(6), 823–838. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.688076>
- Pareek, S., Alok Sagar, N., Sharma, S., y Kumar, V. (2017). Chlorophylls : Chemistry and Biological Functions. In E. Yahia (Ed.), *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health*. (Vol. 2, pp. 269–280). Wiley. https://www.researchgate.net/publication/319703059_Chlorophylls_Chemistry_and_Biological_Functions
- Pedreras Hernández, N. (2016). Beneficios de las verduras crucíferas para la salud humana. ResearchGate, November, 0–19. https://www.researchgate.net/profile/Nicolas_Pedreras/publication/316273005_Beneficios_del_consumo_de_cruciferas_en_la_salud_humana__Benefits_of_Cruciferous_vegetables_consumption_on_human_health/links/58f847730f7e9bfcf93c10bf/Beneficios-del-consumo-de-c
- Pellegrini, N., Chiavaro, E., Gardana, C., Mazzeo, T., Contino, D., Gallo, M., Riso, P., Fogliano, V., y Porrini, M. (2010). Effect of different cooking methods on color, phytochemical concentration, and antioxidant capacity of raw and frozen Brassica vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(7), 4310–4321. <https://doi.org/10.1021/jf904306r>
- Pérez, A. R. (2014). Biosíntesis de los glucosinolatos e importancia nutricional humana y funciones de protección a las plantas. <https://alimentos hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/256>

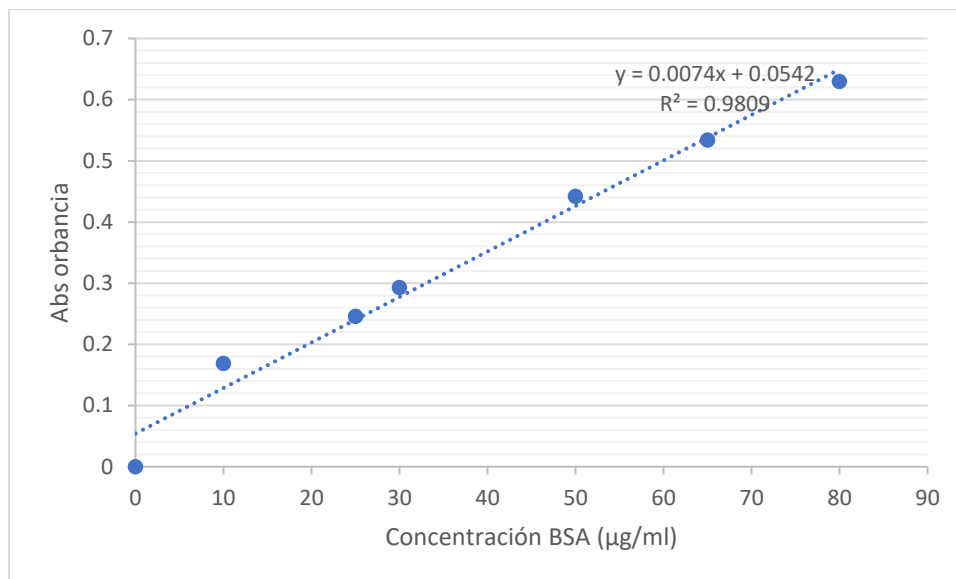
- Petzold, G., Caro, M., y Moreno, J. (2014). Influence of blanching, freezing and frozen storage on physicochemical properties of broad beans (*Vicia faba* L). *Revue Internationale Du Froid* [International Journal of Refrigeration], 40, 429–434. <https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2013.05.007>
- Prabha, T.N. and Patwardhan, M.V. (1986) *Acta Aliment.* Hung., 15, 199.
- Prieto, M. A., López, C. J., y Simal-Gandara, J. (2019). Glucosinolates: Molecular structure, breakdown, genetic, bioavailability, properties and healthy and adverse effects. *Advances in Food and Nutrition Research*, 90, 305–350. <https://doi.org/10.1016/BS.AFNR.2019.02.008>
- Rahman, A. N. F., Ohta, M., Nakatani, K., Hayashi, N., y Fujita, S. (2012). Purification and characterization of polyphenol oxidase from cauliflower (*Brassica oleracea* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(14), 3673–3678. <https://doi.org/10.1021/jf300380b>
- Ratanapongleka, K., y Onsarn, A. (2018). Immobilization of peroxidase from cauliflower stem on ultrafiltration membrane for phenol removal. *Applied Mechanics and Materials*, 879, 137–143. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/amm.879.137>
- Rivera Córdova, R. (1994). Evaluación de dos programas de fertilización con adición de boro y materia orgánica para eliminar la incidencia de “pata verde” en coliflor (*Brassica oleraceae* var. *botrytis*). [Universidad del Valle de Guatemala]. <https://repositorio.uvg.edu.gt/handle/123456789/59>
- Sakharov, I. Y., y Sakharova, I. V. (2002). Extremely high stability of African oil palm tree peroxidase. *Biochimica et Biophysica Acta. Proteins and Proteomics*, 1598(1–2), 108–114. [https://doi.org/10.1016/s0167-4838\(02\)00355-2](https://doi.org/10.1016/s0167-4838(02)00355-2)
- Sarikamiş, G., Aydin, B., y Yavuz, M. (2017). Glucosinolates in heads and sprouts of green, white and romanesco cauliflower. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26(12A), 623. <https://avesis.ankara.edu.tr/yayin/c848f191-9af9-4e92-a1dd-3f5ca1f7bf98/glucosinolates-in-heads-and-sprouts-of-green-white-and-romanesco-cauliflower>
- Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera. (2020). Panorama agroalimentario 2020. <https://www.inforural.com.mx/wp-content/uploads/2020/11/Atlas-Agroalimentario-2020.pdf>
- Sharma, S., Katoch, V., Kumar, S., y Chatterjee, S. (2021). Functional relationship of vegetable colors and bioactive compounds: Implications in

- human health. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 92.
<https://doi.org/10.1016/J.JNUTBIO.2021.108615>
- Singh, B. K., Singh, B., y Singh, P. M. (2017). Breeding Cauliflower: A Review. *Https://Doi.Org/10.1080/19315260.2017.1354242*, 24(1), 58–84.
<https://doi.org/10.1080/19315260.2017.1354242>
- Smyth, D. R. (1995). Flower Development: Origin of the cauliflower. *Current Biology*, 5(4), 361–363. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(95\)00072-8](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(95)00072-8)
- Soare, R., Dinu, M., Băbeanu, C., y Popescu, M. (2017). Antioxidant Enzyme Activities of some Brassica Species. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca Horticulture*, 74(2), 191.
<https://doi.org/10.15835/buasvmcn-hort:0037>
- Sun, J., Wang, Y., Pang, X., Tian, S., Hu, Q., Li, X., Liu, J., Wang, J., y Lu, Y. (2021). The effect of processing and cooking on glucoraphanin and sulforaphane in brassica vegetables. *Food Chemistry*, 360(130007), 130007. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130007>
- Suslow, T., y Cantwell, M. (1998). *Vegetables English - UC Postharvest Technology Center*.
https://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/Datasheets/Vegetables_English/?uid=10yds=799
- USDA. (1996). United States Standards for Grades of Frozen Cauliflower. 4, 1–11.
https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/Frozen_Cauliflower_Standard%5B1%5D.pdf
- Verkerk, R., Dekker, M., y Jongen, W. M. F. (2001). Post-harvest increase of indolyl glucosinolates in response to chopping and storage of Brassica vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(9), 953–958. <https://doi.org/10.1002/jsfa.854>
- Volden, J., Bengtsson, G. B., y Wicklund, T. (2009). Glucosinolates, l-ascorbic acid, total phenols, anthocyanins, antioxidant capacities and colour in cauliflower (*Brassica oleracea* L. ssp. botrytis); effects of long-term freezer storage. *Food Chemistry*, 112(4), 967–976.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.018>
- Willenberg, B., y Mills-Gray, S. (2021). How to freeze vegetables. *Human and Environmental Sciences*.
<https://mospace.umsystem.edu/xmlui/handle/10355/85119>

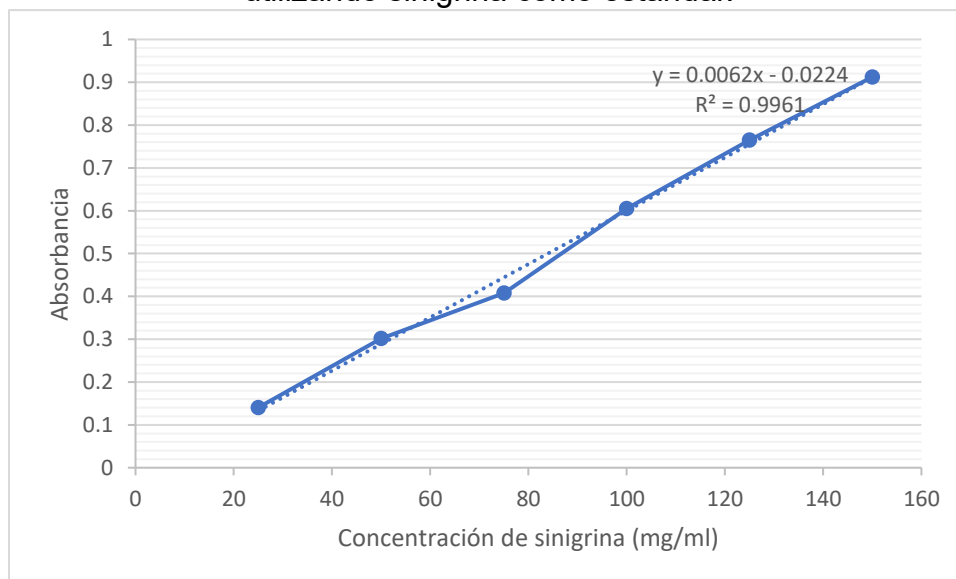
- Wu, J., Niu, Z., Lu, X., Tang, X., Qiao, X., Ma, L., Liu, C., y Li, N. (2021). Transcriptome in Combination Proteome Unveils the Phenylpropane Pathway Involved in Garlic (*Allium sativum*) Greening. *Frontiers in Nutrition*, 8, 764133. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2021.764133/FULL>
- Xiao, H. W., Pan, Z., Deng, L. Z., El-Mashad, H. M., Yang, X. H., Mujumdar, A. S., Gao, Z. J., y Zhang, Q. (2017). Recent developments and trends in thermal blanching – A comprehensive review. *Information Processing in Agriculture*, 4(2), 101–127. <https://doi.org/10.1016/J.INPA.2017.02.001>
- Yen, G.-C., y Wei, Q.-K. (1993). Myrosinase activity and total glucosinolate content of cruciferous vegetables, and some properties of cabbage myrosinase in Taiwan. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61(4), 471–475. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740610415>
- Zhan, X., Zhu, Z., y Sun, D. W. (2019). Effects of pretreatments on quality attributes of long-term deep frozen storage of vegetables: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(5), 743–757. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1496900>
- Zhang, Z., Pang, X., Xuwu, D., Ji, Z., y Jiang, Y. (2005). Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp. *Food Chemistry*, 90(1-2), 47–52. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.03.02
- Zhou, X., Van Eck, J., y Li, L. (2008). Use of the cauliflower Or gene for improving crop nutritional quality. *En Biotechnology Annual Review* (Vol. 14, pp. 171–190). Elsevier.

9 ANEXOS

Anexo 1. Curva de calibración para contenido de proteína por Bradford utilizando BSA como estándar.



Anexo 2. Curva de calibración para contenido de glucosinolatos totales utilizando sinigrina como estándar.



Anexo 3. Curva de calibración para actividad de mirosinasa utilizando sinigrina como estándar.

