



PROYECTO DE TRABAJO FINAL DE CARRERA

CALIDAD Y NIVEL DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE BROTES DE RABANITO EN DISTINTOS ESTADIOS DEL DESARROLLO Y ALTERNATIVAS DE ENVASADO PARA MAXIMIZAR SU CONSERVACIÓN

Trabajo de Investigación: Modalidad dúo

Área temática: Alimentos de origen vegetal

Alumno: Laura Micaela Orlacchio

N° de legajo: 28029/3

Correo electrónico: lauraorlacchio95@gmail.com

Alumno: Magdalena Oviedo

N° de legajo: 28030/6

Correo electrónico: magdalenaoviedo123@gmail.com

Director: Dra. María Laura Lemoine

Co-Director: Dr. Luis María Rodoni

Lugar de trabajo: Curso de Agroindustrias y LIPA (Laboratorio de Investigación en Productos Agroindustriales). Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata.

Fecha de entrega: 2022



Facultad de
Ciencias Agrarias
y Forestales



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA

Este trabajo final de carrera fue realizado en el Laboratorio de Investigación en Productos Agroindustriales (LIPA), de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata, para optar al grado académico de Ingeniero Agrónomo de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata.

AGRADECIMIENTOS

A la cátedra de Agroindustria y el LIPA por acompañarnos en este camino y abrirnos las puertas de la cátedra.

A nuestras familias y amistades que nos acompañaron durante toda la carrera.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Brotes vegetales como alimento	1
1.2 Consumo de brotes vegetales	3
1.3 Germinación	4
1.3.1 Eventos de la germinación	5
1.3.2 Factores que influyen en la germinación	6
1.3.3 Tipos de germinación	7
1.3.4 Efecto del proceso de germinación	8
1.3.5 Métodos de germinación de brotes	9
1.4 Aspectos nutricionales de los brotes	11
1.5 Rabanito	12
1.5.1 Condiciones para la germinación de semillas de rabanito	12
1.5.2 Características nutricionales y nutraceuticas de los brotes de rabanito	13
1.6 Poscosecha de brotes	14
1.6.1 Almacenamiento refrigerado	14
1.6.2 Atmósferas modificadas	15
2 OBJETIVO GENERAL	16
2.1 Objetivos específicos	16
3. MATERIALES Y METODOLOGÍA	17
3.1 Material vegetal y condiciones de germinación	17
3.2 Construcción y características del germinador	18
3.3 Ensayos	19
3.3.1 Ensayo 1	19
3.3.2 Ensayo 2	20
3.4 Determinaciones analíticas	21
3.4.1 Ensayo 1	21
3.4.2 Ensayo 2	24
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
4.1 Análisis del contenido de compuestos antioxidantes durante diferentes etapas del desarrollo de brotes de rabanito.	27

4.2 Efecto del envasado en atmósfera modificada sobre el mantenimiento de la calidad y la vida útil de los brotes de rabanito durante el almacenamiento refrigerado.	33
5. CONCLUSIONES	42
6. BIBLIOGRAFÍA CITADA	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Valores de transmisión de CO ₂ y O ₂ (mL m ⁻² d ⁻¹)	20
Tabla 2: Descripción de los diferentes estados de desarrollo de los brotes de rabanito	28
Tabla 3: Índices de calidad de los brotes de rabanito almacenados en diferentes envases y a 5 °C por 15 d. Mediana (n=7). Los índices se realizaron según una escala de 4 niveles, 0: ausencia de defecto, 1: defecto incipiente, 2: defecto moderado, 3: defecto marcado. Las letras indican diferencias significativas según test de Chi-cuadrado, un nivel de significancia de p <0,05.	40

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Brotes de diferentes variedades. Brote de Brócoli (A) Brote de Berro (B) Brote de Soja (C) Brote de Remolacha (D) Brote de Repollo (E)	11
Figura 1.2. Estructura de diferentes semillas. Estructura de una semilla gramínea (A) y Leguminosa (B). Donde se observa A: Tejido aleuronar, C: Coleóptilo, Em: embrión, En: Endosperma, P: Plúmula, R: radícula, S: escutelo.....	15
Figura 1.3. Germinación epígea.....	18
Figura 1.4. Germinación hipógea.....	19
Figura 1.5. Germinación de diferentes especies en frascos.....	20
Figura 1.6. Brotes de distintas especies en bolsas de algodón.....	21

Figura 1.7. Germinación de Rabanito, (<i>Raphanus sativus</i> L.), en bandeja de germinación.....	21
Figura 1.8. Semillas de Rabanito (<i>Raphanus sativus</i> L.) a la izquierda, y planta anual con el tubérculo.....	23
Figura 1.9. Brotes de Rabanito (<i>Raphanus sativus</i> L.) con tallo y cotiledones rojizos por la presencia de antocianinas	26
Figura 3.1. Semillas de Rabanito (<i>Raphanus sativus</i> L.) (A). Centrifugado para eliminar el exceso de agua (B).....	28
Figura 3.2. Bandeja de germinación con brotes de Rabanito (<i>Raphanus sativus</i> L.).....	28
Figura 3.3. Esquema del germinador construido con las bandejas de germinación, luces LED y termómetro.....	29
Figura 3.4. Bandejas germinadoras dentro del recipiente plástico (izquierda), bandeja germinadora de malla microperforada y marco de PVC (derecha).....	29
Figura 3.5. Bandejas germinadoras dentro del armazón, durante el proceso de germinación con termómetro para controlar la temperatura.....	30
Figura 3.6. Sellador con calor para las bolsas (A). Envase PET (B). Bolsas y envase PET con brotes de Rabanito (<i>Raphanus sativus</i> L.) (C).....	31
Figura 3.7. Espacio de color CIE lab con coordenadas a^* , b^* y L^*	32
Figura 3.9. Medida de color de los brotes de Rabanito (<i>Raphanus sativus</i> L.) (A). Colorímetro Minolta CR-300 (B).....	33
Figura 3.10. Molienda de brotes de rabanitos congelados.....	34
Figura 3.11.Extractos etanólicos de los brotes de Rabanito (<i>Raphanus sativus</i> L.).....	35

Figura 3.12. Servomex MiniFoodPack 5200 a la izquierda, aguja con septum a la derecha.....	36
Figura 3.13. Medición de la actividad respiratoria de los brotes de Rabanito (<i>Raphanus sativus</i> L.).....	37
Figura 3.14. Medición de la pérdida de peso de los brotes de Rabanito (<i>Raphanus sativus</i> L.).....	37
Figura 4.1. Bandeja con brotes de Rabanito (<i>Raphanus sativus</i> L.) en diferentes estados de desarrollo.....	39
Figura 4.2. Longitud de los brotes de rabanito (<i>Raphanus sativus</i> L.) en cada estado de desarrollo.....	39
Figura 4.3. A) Longitud en cm del hipocótilo en 5 estados de desarrollo de brotes de rabanito, B) Longitud en cm de las raíces en 5 estados de desarrollo de brotes de rabanito. Se muestra el promedio \pm error estándar (n=30). Diferentes letras indican diferencias significativas basadas en el test de Tukey con una significancia de $P < 0,05$	40
Figura 4.4. Medición del componente verde del espacio de color CIE Lab, a^* para cada estado de desarrollo.....	41
Figura 4.5. Valor del ángulo Hue en los 5 estados de desarrollo de brotes de rabanito. Se muestra el promedio \pm error estándar (n=30). Diferentes letras indican diferencias significativas basadas en el test de Tukey con una significancia de $p < 0,05$	42
Figura 4.6. Contenido de fenólicos en los 5 estados de desarrollo de brotes de rabanito. Se muestra el promedio \pm error estándar (n=4). Diferentes letras indican diferencias significativas basadas en el test de Tukey con una significancia de $p < 0,05$	44

Figura 4.7. Poder antioxidante por ABTS ⁺ en los 5 estados de desarrollo de brotes de rabanito. Se muestra el promedio \pm error estándar (n=4). Diferentes letras indican diferencias significativas basadas en el test de Tukey con una significancia de $p < 0,05$	44
Figura 4.8. Poder antioxidante por DDPH en los 5 estados de desarrollo de brotes de rabanito. Se muestra el promedio \pm error estándar (n=4). Diferentes letras indican diferencias significativas basadas en el test de Tukey con una significancia de $p < 0,05$	45
Figura 4.9. Arriba PD 961, abajo a la izquierda PET, abajo a la derecha PD 941.....	46
Figura 4.10. Medición de atmósfera dentro del envase.....	47
Figura 4.11. Atmósferas modificadas generadas dentro de los distintos envases luego de 24 hs, 9, 15 y 20 días de almacenamiento a 5 °C. A) Presión parcial de O ₂ y B) Presión parcial de CO ₂ . Se muestra el promedio \pm error estándar (n=4).	48
Figura 4.12. % de pérdida de peso de los brotes de rabanito envasados en los diferentes envases luego de 9, 15 y 20 días de almacenamiento a 5 °C. Se muestra el promedio \pm error estándar (n=4). Diferentes letras indican diferencias significativas basadas en el test de Tukey con una significancia de $p < 0,05$	49
Figura 4.13. Ángulo Hue de los brotes de rabanito envasados en los diferentes envases luego de 9, 15 y 20 días de almacenamiento a 5 °C. Se muestra el promedio \pm error estándar (n=30). Diferentes letras indican diferencias significativas basadas en el test de Tukey con una significancia de $p < 0,05$	50
Figura 4.14. Valor de a* de los brotes de rabanito envasados en los diferentes envases luego de 9, 15 y 20 días de almacenamiento a 5 °C. Se muestra el promedio \pm error	

estándar (n=30). Diferentes letras indican diferencias significativas basadas en el test de Tukey con una significancia de $p < 0,05$	50
Figura 4.15. Brotes envasados en AM, sin presencia de raíces adventicias (Izquierda). Testigo con presencia de raíces adventicias (Derecha).....	52
Figura 4.16. Tasa respiratoria de los brotes de rabanito envasados en los diferentes envases luego de 9, 15 y 20 días de almacenamiento a 5 °C. Se muestra el promedio \pm error estándar (n=3). Diferentes letras indican diferencias significativas basadas en el test de Tukey con una significancia de $p < 0,05$	54

RESUMEN

En la actualidad, los consumidores se han vuelto más conscientes de la relación entre la alimentación y la salud, y el consumo de verduras frescas y nutritivas es una tendencia en crecimiento. Los brotes vegetales, se caracterizan por su alto valor nutritivo, digestibilidad, contenido de fitoquímicos bioactivos y antioxidantes. Existen una gran variedad de brotes como los de leguminosas y cereales. Los brotes de crucíferas (*Brassicaceae*) como el rabanito han ganado importancia, ya que son ricos en vitaminas, fibras, minerales y compuestos bioactivos. Los brotes se suelen cosechar por tamaño siguiendo criterios comerciales. Sin embargo, es importante conocer desde el punto de vista nutricional, en qué momento del desarrollo los brotes poseen los mayores niveles de compuestos antioxidantes. En este trabajo se determinó el contenido de compuestos antioxidantes en brotes de rabanito en las diferentes etapas de su desarrollo. Se observó que a medida que el brote creció, la concentración de compuestos bioactivos fue disminuyendo. Cosechar brotes en estado de desarrollo incipiente permitió obtener un producto con mayor potencial nutracéutico y con mayor poder antioxidante. Por otro lado, los brotes frescos poseen acotada vida útil y requieren almacenamiento refrigerado. El envasado en atmósferas modificadas es una alternativa para complementar el almacenamiento de estos productos. Sin embargo, para que sea factible de aplicar, se debe conocer el beneficio que otorgan en comparación a los envases PET, que actualmente son los más utilizados. En este trabajo se evaluó el efecto del envasado en atmósfera modificada sobre la calidad y vida útil de los brotes de rabanito durante el almacenamiento refrigerado. Durante el almacenamiento refrigerado los brotes de rabanito resultaron ser susceptibles a la deshidratación, podredumbres, generación de malos olores y desarrollo radicular. El uso de atmósfera modificada fue efectiva para disminuir estos defectos y favoreció la conservación y por lo tanto la calidad de este producto. La efectividad del uso de las atmósferas modificadas dependió del envase utilizado. El envasado en PD-961 conservó la calidad de los brotes hasta 20 días siendo la más recomendable para este producto.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Brotes vegetales como alimento

Durante los últimos años la tendencia en el consumo de alimentos muestra una preferencia generalizada por los alimentos naturales y en particular los de origen vegetal. Esta demanda se agudizó después de la situación sanitaria que se vivió recientemente, donde hubo un vuelco hacia los alimentos de origen orgánico, y mayor exigencia por parte del consumidor en cuanto a los procesos productivos. Esta propensión permitió explorar nuevos alimentos, con diversas características y formas de obtención (Castagnino et al., 2020). En este auge de nuevos productos, aparecen los brotes o germinados de distintas especies como una alternativa de alta calidad, que aportan a la dieta una variada cantidad de vitaminas y enzimas (Arrieta Miranda, 2021). Un brote se define como el producto obtenido de la germinación de semillas y su desarrollo en agua u otro medio, recolectado antes del desarrollo de las hojas verdaderas y que se destina a ser consumido entero, incluyendo la semilla (Di Gioia et al., 2017).

Según el Código Alimentario Argentino -Artículo 820 - (Resolución Conjunta SPR el N° 169/2013 y SAGyP N° 230/2013) “Se entiende con la denominación de “brotes de... (indicación de especie)” se designa a las plántulas desarrolladas hasta cotiledones abiertos, de distintas especies vegetales frescas incluidas en el Código. Deberán expendirse con el nombre vulgar y científico correspondiente a la especie que se trate”.

Si bien no existe información certera del origen de los brotes, es sabido que se consumen hace siglos tanto en oriente como en occidente. Existen evidencias que indican que alrededor del año 3000 a.C ya se consumían germinados de soja y cebada en China y Japón con fines medicinales, incluso aparecen en la primera farmacopea china (siglo II) (Pérez Galeano & Zapata Valencia, 2015).

Los brotes se obtienen a través del proceso de germinación y corresponden a estadios tempranos de vida del vegetal, pueden consumirse en fresco o como componente de productos preparados como ensaladas, sopas, salsas y otros alimentos, incluso para decoración o finalización de otros platos aportando cualidades sensoriales por sus colores, sabores y texturas, Figura 1.1.

Las especies más utilizadas son de las familias *Cruciferae*, *Cucurbitaceae*, *Asteraceae*, *Chenopodiaceae*, *Lamiaceae* y *Apiaceae* (Turner et al., 2020).

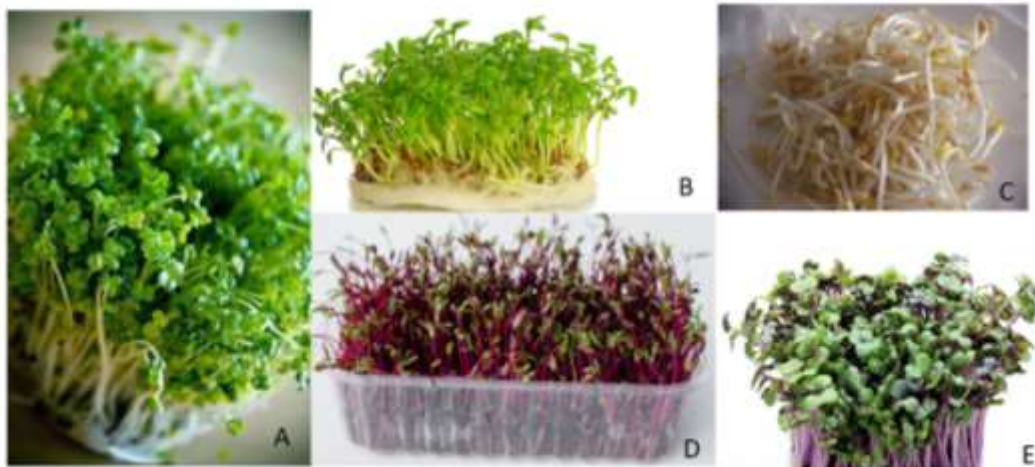


Figura 1.1. Brotes de diferentes variedades. Brote de Brócoli (A) Brote de Berro (B) Brote de Soja (C) Brote de Remolacha (D) Brote de Repollo (E)

En un contexto donde la población elige cada vez más habitar las grandes urbes, pero demanda alimentos naturales, los brotes son alimentos estratégicos por varias razones:

- Poseen un alto valor nutricional, con un amplio espectro vitamínico y compuestos bioactivos, principalmente antioxidantes naturales, que aportan grandes beneficios en la prevención de enfermedades (Arrieta Miranda, 2021).

- Son económicos, ya que para la producción de estos alimentos se necesitan pocos insumos y semillas sin tratamientos químicos y además tienen un rendimiento alto, por su porte voluminoso.

- Sencillos y rápidos, los brotes se caracterizan por su sencilla obtención a partir de semillas en simples procesos de germinación que llevan tiempos próximos a una semana para lograr productos listos para su consumo en fresco. En cuanto a la producción, el proceso de germinación no requiere tareas específicas.

- Requieren poco espacio y materiales para su producción, los brotes se pueden hacer en cualquier espacio del hogar, con la utilización de poco espacio para su producción y materiales para su obtención.

Los brotes corresponden a los vegetales denominados de cuarta gama, se conoce así a los vegetales que son mínimamente procesados que se caracterizan por recibir tratamientos de lavado, corte y envasado (Matiacevich et al., 2016).

Los brotes pueden ser un cultivo emergente interesante, ya que por lo expuesto anteriormente se necesitan menos recursos para producir una cantidad nutricionalmente equivalente o superior a la de los vegetales maduros, con menor demanda de insumos, incluso aquellos de gran valor como el agua (Bafumo et al., 2022). Más allá de las ventajas indicadas anteriormente, los brotes presentan algunas dificultades. Entre ellas, el bajo rendimiento en peso del producto, lo que hace que sean productos relativamente caros en relación a su peso. Otra dificultad se relaciona con la posible contaminación con patógenos, aunque esto es posible en cualquier vegetal y el riesgo debiera ser bajo si se aplican buenas prácticas de manufactura (BPMs). Un último aspecto que se destaca es la elevada perecebilidad de los brotes que hace que solo puedan almacenarse poco tiempo incluso en refrigeración (Xiao et al., 2014).

1.2 Consumo de brotes vegetales

Si bien la tendencia muestra una creciente preocupación por la alimentación saludable e incorporación en la dieta de alimentos vegetales, el consumo y crecimiento del mismo no es igual para todos los países, incluso tampoco para todos los continentes. Existe una marcada correlación entre el desarrollo del país y la preferencia por estos alimentos, siendo Europa el segundo mercado después de América del Norte en lo referente a productos frutihortícolas procesados incluyendo a los vegetales de cuarta gama (Galizio & Díaz, 2020).

En los últimos años el consumo de brotes percibe un fuerte impulso por parte de la gastronomía en todo el mundo ya que existe una creciente demanda y a su vez una tendencia gastronómica inclinada hacia la incorporación de productos naturales, principalmente en restaurant o mercados exclusivos (Xiao et al., 2015) dado que este tipo de productos son versátiles y en pequeñas cantidades aportan grandes cantidades de sabor, color, textura, a su vez son transversales a todos los comensales ya que se puede incluir en la cocina vegetariana, vegana, y crudivegana (Natarén Santel, 2017).

Para América Latina la situación es muy distinta, paradójicamente es una región donde existe abundancia y variedad de vegetales y frutas, pero la industria de los productos mínimamente procesados no alcanza el nivel de crecimiento que presenta en países desarrollados, y con la particularidad de que en países como Brasil, Argentina, Chile y Uruguay, la oferta, consumo y diversificación de brotes, son todavía

limitados debido al relativo alto costo del producto en relación a otros vegetales, la oferta se concentra en las grandes ciudades, lo que está directamente relacionado al poder adquisitivo de los consumidores (Galizio & Díaz, 2020), dificultando el acceso en otras regiones del país y concentrándolas en grandes cadenas de supermercado.

Otra característica de estos productos, es la inelasticidad de su demanda es decir son productos que el comprador habitual los elige por factores relacionados con el servicio o valor agregado que cada alternativa propone, y no por su precio (Chiesa & Alonso, 2009). Más allá de esta situación, se espera que el mercado de brotes crezca en los próximos años.

1.3 Germinación

Antes del inicio de la germinación, la semilla es una fuente rica en nutrientes, pero debido a su estructura (Figura 1.2), frecuentemente pueden ser duras y de difícil digestión. La germinación de la semilla se define como una serie de eventos que inicia con la hidratación de la semilla y finaliza con la emergencia de la radícula.

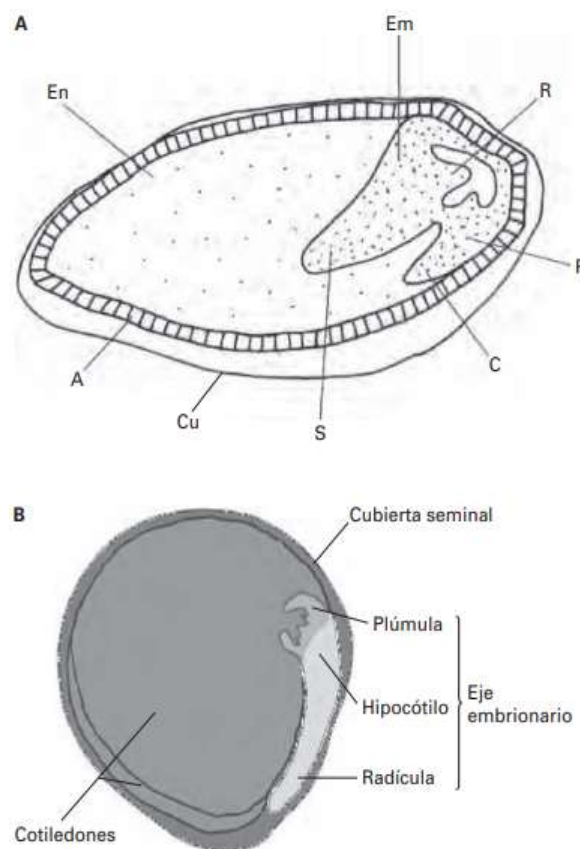


Figura 1.2. Estructura de diferentes semillas. Estructura de una semilla gramínea (A) y Leguminosa (B). Figura A: se observa A: Tejido aleuronar, C: Coleóptilo: embrión, En: Endosperma, P: Plúmula, R: radícula, S: escutelo

Es un proceso complejo que ocurre en las semillas, donde intervienen enzimas que permiten activar el metabolismo, para desencadenar cambios químicos que se traducen en una modificación en la morfología (Pérez Galeano & Zapata Valencia, 2015). La germinación y el crecimiento del embrión promueven una intensa actividad metabólica en la cual se producen numerosas reacciones bioquímicas, entre las que se destacan las correspondientes al catabolismo de carbohidratos y grasas y a la síntesis de vitaminas, azúcares, proteínas y sales minerales. En general la germinación incrementa la digestibilidad y asimilación de nutrientes.

1.3.1 Eventos de la germinación

El proceso de la germinación puede desglosarse en 4 eventos que ocurren desde la imbibición de la semilla hasta la emergencia de la radícula:

1. *La imbibición de agua.* La toma de agua por una semilla madura se da en tres etapas: una inicial que corresponde a la toma rápida, una segunda etapa de meseta y por último un nuevo incremento en la absorción de agua, que se corresponde con el período de elongación del embrión o de la radícula. La duración de cada etapa está vinculada con las características de la semilla (tamaño, contenido de sustratos hidratables, permeabilidad de la cubierta seminal, etc.) y con las condiciones externas en las que se produce la imbibición (temperatura, composición del sustrato del suelo, contenido de humedad).

2. *La síntesis y activación de los sistemas enzimáticos.* Al inicio de la imbibición uno de los aspectos más importantes es la producción de ATP y la actividad respiratoria. Durante esta fase, algunas semillas producen etanol por deficiencia de O₂, a causa de la falta de ingreso de éste desde el exterior debido a la cubierta seminal impermeable a dicho gas. Dicho desbalance interno de O₂ puede provocar acumulación de piruvato. Asimismo, en esta fase de imbibición tiene gran importancia el ciclo de las pentosas-fosfato y la glicólisis. Las mitocondrias de las semillas secas a pesar de estar poco diferenciadas debido al proceso de desecación, contienen suficientes enzimas del ciclo de Krebs como para aún producir ATP (Azcón-Bieto & Talón., 2008). En cuanto a las semillas que almacenan almidón en sus cotiledones, las mismas tienen la capacidad de reparar y reactivar las mitocondrias en la semilla seca. En cambio, las semillas que almacenan lípidos producen nuevas mitocondrias (Azcón-Bieto & Talón., 2008). De esta manera, durante los primeros instantes de la imbibición, la respiración de la semilla es fundamentalmente anaerobia, y se

transforma en aerobia a medida que la radícula o el eje embrionario atraviesan los tejidos envolventes y rompen la cubierta seminal.

3. *Degradación de las sustancias de reserva.* La plántula debe recibir carbono, energía, minerales y vitaminas hasta que desarrolle capacidad fotosintética y se convierta en un organismo autótrofo. Para que las sustancias de reserva pasen a formar parte del metabolismo heterotrófico de la plántula, es necesaria una hidrólisis previa de las mismas; de esta manera las sustancias podrán ser conducidas desde los órganos de reserva a los órganos en activo crecimiento, mediante las correspondientes rutas celulares.

4. *Elongación de las células del embrión y emergencia de la radícula.* Instancia en la que concluye la germinación y comienza el crecimiento de la plántula. Se produce la elongación celular, de igual manera que el crecimiento por elongación de otros tejidos, el crecimiento radicular se favorece por el ablandamiento de la pared celular y posterior presión por turgencia de las células localizadas en la región subapical (Azcón-Bieto & Talón., 2008).

1.3.2 Factores que influyen en la germinación

Los factores que afectan a la germinación los podemos dividir en dos tipos: factores internos (intrínsecos, propios de la semilla) y factores externos (extrínsecos, dependientes del ambiente). Dentro de los factores internos la madurez fisiológica y morfológica y la viabilidad de la semilla son de gran importancia. Se considera que una semilla está madura cuando alcanzó su completo desarrollo tanto desde el punto de vista morfológico como fisiológico. La madurez morfológica se consigue cuando las diferentes estructuras de las semillas se han completado, esta finaliza cuando el embrión alcanza su máximo desarrollo. La madurez se suele lograr sobre la misma planta; sin embargo, existen algunas especies que diseminan sus semillas antes de alcanzarla.

La viabilidad de las semillas corresponde con un período de tiempo durante el cual las semillas conservan su capacidad para germinar. Es variable y depende del tipo de semilla y de las condiciones de almacenamiento.

Los factores externos que influyen en la germinación son el agua, los niveles de O₂ y CO₂ y la temperatura. Como se mencionó, la semilla debe absorber agua para germinar y la velocidad de dicho proceso depende de la presencia de agua externa y de la humedad o vapor de agua en el ambiente y de la permeabilidad de la cubierta

de la semilla. También es necesaria una adecuada disponibilidad de O₂ y CO₂ para mantener la actividad metabólica del embrión (Azcón-Bieto & Talón., 2008). La temperatura afecta la velocidad de las reacciones enzimáticas que ocurren en la semilla luego de la rehidratación. Las semillas sólo germinan dentro de un cierto margen de temperatura, que depende de la especie (Azcon-Bieto & Talón; 2008).

1.3.3 Tipos de germinación

Existen dos tipos de germinación, la epigea, en la cual los cotiledones emergen del suelo debido a un considerable crecimiento del hipocótilo (se denomina así a la región comprendida entre la radícula y el punto de inserción de los cotiledones). Posteriormente, en los cotiledones se diferencian los cloroplastos, transformándolos en órganos fotosintéticos que actúan como si fueran hojas. Por último, comienza el desarrollo del epicótilo (es la porción del eje comprendida entre el punto de inserción de los cotiledones y las primeras hojas) (Figura 1.3). Entre los cultivos que presentan este tipo de germinación están la cebolla, el tomate, mostaza, lechuga y girasol entre otros.

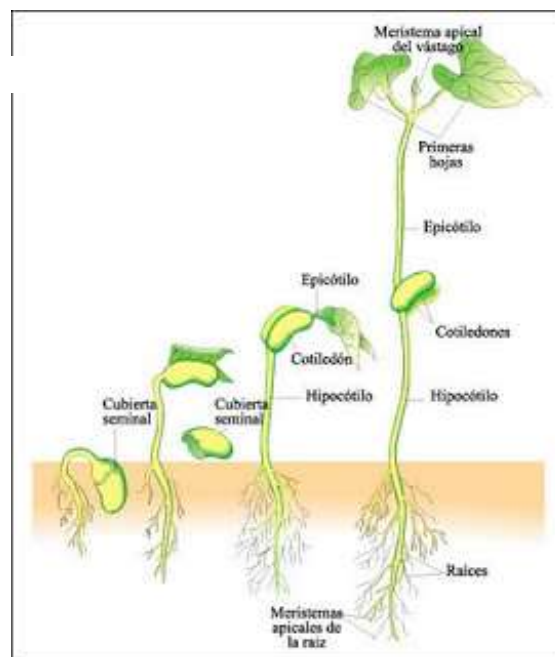


Figura 1.3. Germinación epigea

El otro tipo de germinación que se conoce es la hipógea, donde los cotiledones permanecen enterrados, únicamente la plúmula atraviesa el suelo. El hipocótilo es muy corto, prácticamente nulo. Luego, el epicótilo se elonga y aparecen las primeras hojas verdaderas, que son los primeros órganos fotosintetizadores de la plántula, (Figura 1.4). Algunos ejemplos son el trigo, maíz, cebada y arveja.

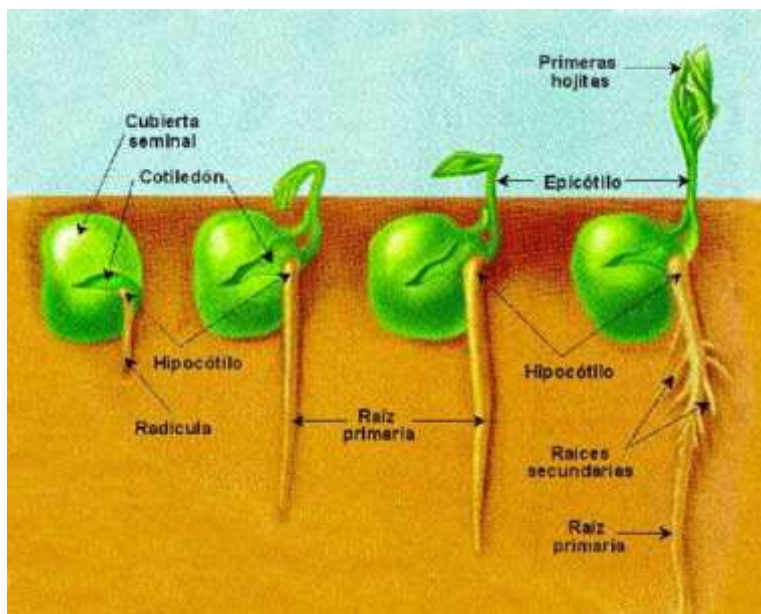


Figura 1.4. Germinación hipógea

1.3.4 Efecto del proceso de germinación

Durante la germinación sucede la transformación de las sustancias de reserva. Los polisacáridos se degradan en oligo y monosacáridos, las grasas en ácidos grasos libres, mientras que las proteínas en oligopéptidos y aminoácidos libres. Para ello se activan una serie de enzimas que descomponen las proteínas, los carbohidratos y los ácidos grasos, por lo que la germinación puede considerarse como un tipo de predigestión que ayuda a descomponer los materiales complejos de alto peso molecular en moléculas pequeñas (Márton et al., 2010). Estos cambios tienen un impacto en la palatabilidad, digestibilidad y disponibilidad de ciertos nutrientes. Por otro lado, las semillas contienen elementos denominados factores antinutricionales, estos están presentes naturalmente en la semilla, algunos de ellos son las enzimas como la tripsina en las legumbres o compuestos tales como los taninos, saponinas y los fitatos de cereales, entre otros. El efecto de esos compuestos radica en la interferencia en la capacidad del organismo para digerir proteínas, tiaminas, hierro, calcio. Durante la germinación estos factores antinutricionales se reducen a niveles inofensivos lo que aumenta la digestibilidad y el valor nutricional de las semillas (Miyahira et al., 2021).

1.3.5 Métodos de germinación de brotes

Los brotes pueden ser producidos de distintas formas. Un método involucra la *germinación en frascos*. Para esto deben utilizarse frascos de vidrio de boca ancha (Figura 1.5). También se necesita una gasa de algodón o cualquier otro material aislante que no sea tóxico y facilite la ventilación, y por último un cordón para sujetar firmemente la gasa sobre la boca del frasco (Theissen, 2016). El proceso comienza con la desinfección de las semillas con H_2O_2 , y luego un lavado para eliminar impurezas y semillas partidas. También es necesario desinfectar los elementos antes mencionados. Luego se colocan en remojo las semillas, dentro del mismo frasco, el tiempo dependerá de la especie a germinar. Una vez cumplido el tiempo de remojo se remueve el agua y se coloca el frasco boca abajo con la gasa en el extremo, favoreciendo al escurrimiento del exceso de agua. Se lavará con abundante agua cada dos o tres días hasta que germine y se logren brotes con una longitud comercial de 3 a 6 cm, que se da alrededor del 5to día de germinación.



Figura 1.5. Germinación de diferentes especies en frascos.

También pueden utilizarse *bolsas germinadoras* en lugar de frascos. En este caso se utilizan bolsas de algodón 100% (Figura 1.6), donde se colocan las semillas a germinar y se introducen en agua. Luego se enjuagan y se cuelga la bolsa permitiendo que escurra el excedente de agua, los días siguientes se lavará la bolsa al menos dos

veces al día, manteniéndola colgada para permitir la filtración de agua, hasta lograr los brotes del tamaño deseado. En el último método que comentaremos y que utilizamos en la presente tesis de grado se utilizan *bandejas germinadoras*, con hendiduras por donde pueda pasar la raíz, para permitir la absorción de agua (Figura 1.7). Presenta la ventaja de producir brotes más erectos, respecto a los anteriores. El procedimiento para este método, consta en remojar las semillas desinfectadas previamente y colocarlas sobre la bandeja, con agua por debajo, sin que esté en contacto y rociarlas periódicamente con agua desinfectada hasta cumplir con el tiempo de germinación.



Figura 1.6. Brotes de distintas especies en bolsas de algodón



Figura 1.7. Germinación de Rabanito (*Raphanus sativus* L.), en bandeja de germinación.

1.4 Aspectos nutricionales de los brotes

Desde el punto de vista nutricional, en general las semillas comestibles pueden adquirir mejores propiedades al germinar, o incluso ser utilizadas como alimentos funcionales para prevenir enfermedades crónicas (Gan et al., 2017). En comparación, los germinados tienen una mayor concentración de componentes nutricionales y nutraceuticos que las plantas maduras.

Otra característica nutricional interesante es la concentración vitamínica y precursores de estos productos alimenticios, que le otorgan gran valor nutricional a los germinados. En investigaciones recientes se reportaron cantidades relevantes de α -tocoferol (vitamina E), β -caroteno (pro-vitamina A), ácido ascórbico (vitamina C) y filoquinona (vitamina K) aunque se observó una alta variabilidad entre las diferentes especies y cultivares (Paradiso et al., 2018).

Dentro de los componentes nutraceuticos más importantes se incluyen compuestos fotoquímicos como los antioxidantes, que aportan importantes beneficios en la prevención de enfermedades, ya que tienen un papel fundamental en el estrés oxidativo. El estrés oxidativo es causado por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno (EROs) o radicales libres y la capacidad del sistema biológico de neutralizar rápidamente estas especies y reparar el daño resultante. En condiciones normales, se da un equilibrio entre la producción de radicales libres u otras especies reactivas con la acción de los antioxidantes (Coronado et al., 2015). Los antioxidantes presentan dos mecanismos de acción: en primer lugar, evitando una proliferación desmesurada de radicales libre, para evitar el daño celular como consecuencia del estrés oxidativo. En segundo lugar, después del daño, los antioxidantes tienen la capacidad de contrastar la concentración de radicales libres, para impedir que avance el deterioro (Huamaní, 2021).

Existen dos vías antioxidantes para proteger al organismo de los radicales libres, la vía endógena y exógena, respectivamente. Los antioxidantes endógenos se caracterizan por ser biosintetizados a través del organismo, la catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, son algunos ejemplos de este grupo (Huamaní, 2021).

En cuanto a la vía exógena, se refiere a los antioxidantes que se incorporan mediante la dieta diaria con el consumo de alimentos, ejemplos de este grupo son la vitamina C, vitamina E, carotenoides y polifenoles.

1.5 Rabanito

El nombre científico es *Raphanus sativus* L. perteneciente a la familia *Cruciferae*. El género *Raphanus* se originó en las regiones que van desde el Mar Mediterráneo hasta el Mar Negro y se clasificó en dos secciones de *Raphanis* DC y *Hesperidopsis* Boiss. Es una planta anual, de raíz pivotante que presenta formas diversas, se inserta en la base de un tubérculo hipocotíleo comestible. La forma puede ser redonda, oval o alargada y de diversos colores, rosa, rojo, amarillo o negro. Tienen un sabor ligeramente picante. Sus hojas son oblongas, recortadas en los bordes y ásperas al tacto. En la floración emite un tallo que puede alcanzar hasta 1,5 m. Las flores se agrupan en racimos y pueden ser blancas o violetas.

Las semillas de Rabanito (*Raphanus sativus* L.) se caracterizan por tener forma esférica irregular u ovoide, con un tamaño de aproximadamente de 3 mm de diámetro. El color de la cubierta seminal varía de pardo a claro. En un gramo pueden contabilizarse entre 80 a 120 semillas y tienen una capacidad germinativa de aproximadamente cuatro años (Taladrid & Espinosa, 2021).



Figura 1.8. Semillas de Rabanito (*Raphanus sativus* L.) a la izquierda, y planta anual con el tubérculo a la derecha.

1.5.1 Condiciones para la germinación de semillas de rabanito

El rabanito germina de forma hipógea (Vercellino et al., 2019).

La condición óptima para la germinación de esta especie consta de un periodo inicial de oscuridad y posteriormente exposición interrumpida de luz. Se ha descrito que la luz tiene un efecto inhibitorio de la germinación en esta especie (Vercellino et al., 2019). La alternancia entre períodos de luz y oscuridad durante el crecimiento del brote permite que el mismo atraviese etapas de fotosíntesis y respiración. En general se utilizan fotoperíodos de 8/16 h luz oscuridad (Kyriacou et al., 2016). En cuanto a la

temperatura, la germinación presenta una correlación positiva con el aumento de la temperatura con un rango óptimo entre 14 y 28 °C.

1.5.2 Características nutricionales y nutraceuticas de los brotes de rabanito

Como la mayoría de las hortalizas los brotes tienen una elevada cantidad de agua en su composición, con baja concentración de hidratos de carbono. Específicamente para el brote de rabanito la composición nutricional ronda 94,4 g/g de agua; 1,3 g/g de hidratos de carbono; 2,2 g/g de proteínas; < 0,1g/g de grasas, 1,2 g/g de fibra bruta y 0,9 de g/g cenizas (Bafumo, 2022).

Por otra parte, los brotes de crucíferas como el brócoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) y el rábano (*Raphanus sativus* L.) son muy ricas en fitoquímicos como los glucosinolatos y las antocianinas. Los glucosinolatos (GLS), especialmente los isotiocianatos (ITC), se encuentran en una concentración de entre un 50-90% en semillas de rabanito, especialmente el isotiocianato glucoraphanina responsable de la pungencia característica de este producto y es bien conocido por ejercer actividad antimicrobiana contra bacterias y hongos en las plantas y por su relación con la prevención del cáncer (Wang et al., 2017). Los brotes de rabanito también son fuentes de compuestos fenólicos. Los mismos se corresponden con compuestos que poseen varias funciones fenol (nombre común del hidroxibenceno), unidas a estructuras aromáticas o alifáticas. Son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas. Algunos son indispensables para las funciones fisiológicas vegetales, otros participan en funciones de defensa ante situaciones de estrés y diversos estímulos. Los fenoles poseen actividad antioxidante. El rabanito contiene principalmente flavonoides, entre los que destacan compuestos flavonoles (quercetina y kaempferol) y las antocianinas. Las antocianinas representan los principales pigmentos solubles en agua, dan el color rojizo al tallo de los brotes, como se observa en la Figura 1.9.



Figura 1.9. Brotes de Rabanito (Raphanus Sativus L.) con tallo y cotiledones rojizos por la presencia de antocianinas

1.6 Poscosecha de brotes

Una de las principales limitaciones que tienen los brotes de hortalizas es su corta vida útil, de ahí que surge la necesidad de encontrar tecnologías para conservar su calidad.

1.6.1 Almacenamiento refrigerado

Considerando que se trata de hortalizas con alta actividad fisiológica, tanto por su elevada actividad respiratoria y enzimática y por ser productos en activo crecimiento, el uso correcto de la temperatura de almacenamiento, es uno de los principales parámetros a tener en cuenta durante su manejo poscosecha. Desde el punto de vista de la conservación estos productos requieren almacenamiento refrigerado en el rango de 0 a 5 °C. En dichas condiciones pueden almacenarse entre 10 a 20 días.

Se sabe que los vegetales respiran durante el proceso de germinación, metabolizando los carbohidratos que almacenan en los cotiledones. Una vez que se agotan dichas fuentes de carbohidratos, comienza la degradación de los brotes. Por lo tanto, la reducción de la actividad metabólica del brote y la extensión de su vida útil son de gran interés tecnológico.

1.6.2 *Atmósferas modificadas*

El almacenamiento en atmósferas modificadas (AM) y controladas (AC) se fundamenta en mantener los productos en una atmósfera diferente a la del aire. Generalmente involucra la reducción del nivel de oxígeno y el aumento del dióxido de carbono en la atmósfera generada (Rodoni, 2014).

Las AM pueden sub-dividirse en dos grupos: AM activa y AM pasiva. En las AM activas se inyecta una mezcla gaseosa inicial en el envase compuesto por una película semipermeable en la que se encuentra contenido el producto. Contrariamente, en las AM pasivas no se realiza una inyección inicial de gases, la modificación atmosférica en el interior del envase se genera como resultado del balance entre la respiración de los tejidos vegetales y la difusión de O₂ y CO₂ a través de la película que lo recubre, es decir la atmósfera se forma por la actividad metabólica del propio vegetal (Rodoni, 2014).

El uso adecuado de las AM puede generar beneficios como disminución de la tasa respiratoria, retraso de la senescencia y maduración, control de pudriciones, entre otras (Artés Calero, 2006).

Para obtener beneficios, es necesario generar una atmósfera equilibrada adecuada, que depende principalmente de la tasa de respiración del producto, la temperatura, el peso, la superficie expuesta y la permeabilidad de la película (D'ambrosio et al., 2017).

Pero, por otra parte, si las AM no se utilizan de manera correcta o si el período de almacenamiento se prolonga, las AM pueden dar origen a algunos efectos no deseados como la inducción de reacciones fermentativas y formación de metabolitos indeseados.

El envasado en atmósferas modificadas surge como una alternativa posible para complementar el almacenamiento refrigerado de brotes, esto implica el uso de materiales de envasado con permeabilidades selectivas al O₂, CO₂, y vapor de agua.

A pesar de que existe una amplia literatura sobre el uso poscosecha de atmósferas modificadas para frutas y hortalizas, no se conoce si esta tecnología sería beneficiosa para brotes de rabanito

2 OBJETIVO GENERAL

Determinar el contenido de compuestos antioxidantes en las diferentes etapas de desarrollo de brotes de rabanito y evaluar la influencia del envasado en atmósfera modificada para maximizar su calidad y conservación.

2.1 Objetivos específicos

I-Determinar el contenido de compuestos antioxidantes en las diferentes etapas durante el desarrollo de brotes de rabanito.

Hipótesis I

Los brotes de rabanito presentan diferentes niveles de compuestos antioxidantes en sus distintas etapas del desarrollo.

II-Evaluar el efecto del envasado en atmósfera modificada sobre el mantenimiento de la calidad y la prolongación de la vida útil de los brotes de rabanito durante el almacenamiento refrigerado.

Hipótesis II

Niveles adecuados de O₂ y CO₂ de la atmósfera dentro del envase que contiene los brotes de rabanito impactan positivamente en la calidad y vida útil de los mismos.

3. MATERIALES Y METODOLOGÍA

3.1 Material vegetal y condiciones de germinación

Para la producción de brotes, se utilizaron semillas orgánicas de rabanito (*Raphanus sativus* L.) (Figura 3.1) provenientes de mercados especializados de la provincia de San Juan; previo a la germinación, se pesaron 120 g y se lavaron con agua potable a temperatura ambiente para eliminar impurezas y semillas partidas. Se desinfectaron con una solución de H₂O₂ al 3 % a una temperatura entre 55-60 °C por 5 min, posteriormente fueron sumergidas en agua potable durante 8 hs con el fin de hidratarlas y activarlas. Una vez activadas, las semillas se distribuyeron uniformemente sobre mallas plásticas de germinación pescando dentro de bandejas plásticas con agua destilada hervida, a razón de 20 g por bandeja. El proceso de germinación comenzó con un período de oscuridad de 24 hs y luego durante el crecimiento se aplicó luz artificial LED blanca con un fotoperíodo de 12/12 hs (luz/oscuridad), a una temperatura de entre 18 °C y 24 °C (Figura 3.2).

Los brotes se dejaron desarrollar hasta el 5to día de germinación, alcanzando una longitud de entre 8 y 9 cm. Una vez cosechados se enjuagaron con agua potable y para eliminar el exceso de agua en el producto antes de realizar los ensayos se utilizó una centrifuga manual como se observa en la Figura 3.1



Figura 3. 1. Semillas de Rabanito (*Raphanus sativus* L.) (A). Centrifugado para eliminar el exceso de agua (B)



Figura 3. 2. Bandeja de germinación con brotes de Rabanito (*Raphanus sativus* L.)

3.2 Construcción y características del germinador

Con el objetivo de crear y controlar las condiciones necesarias para la germinación se diseñó y construyó un germinador (figura 3.3).

El diseño cuenta con 4 partes fundamentales:

- Armazón cubierto por polietileno negro
- Bandejas de germinación cubiertas por una malla para sostener las semillas.
- Luces LED con temporizador
- Controlador de temperatura y humedad

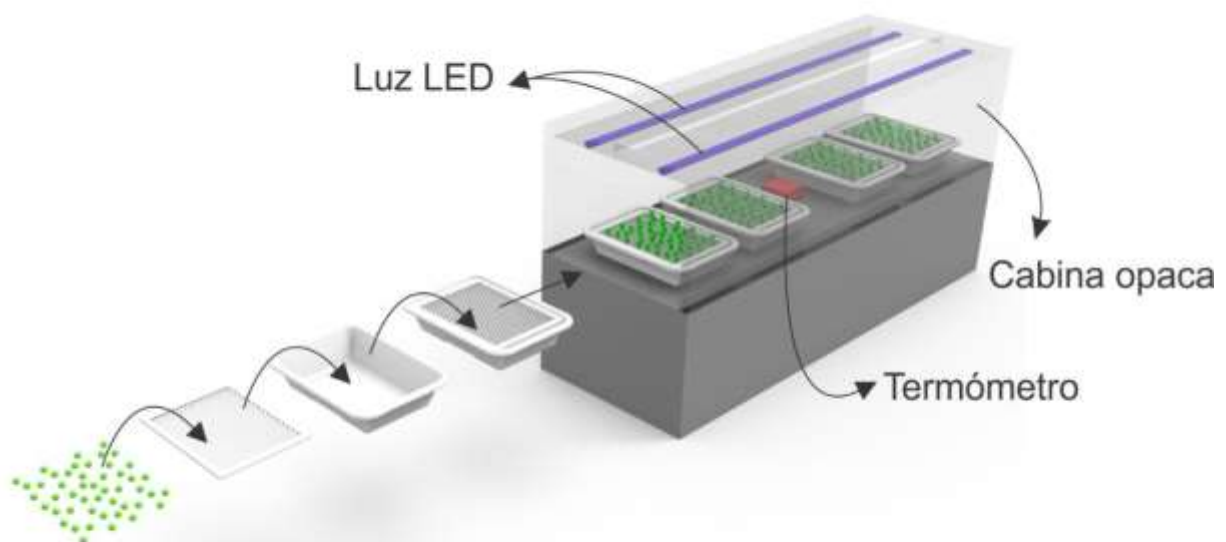


Figura 3. 3. Esquema del germinador construido con las bandejas de germinación, luces LED y termómetro

Se construyó un armazón de 1,65 x 0,82 x 0,83 m (ancho x altura x profundidad), cubierto por un nylon negro asegurando oscuridad total. Esto permitió aplicar mediante

luz artificial LED un fotoperíodo de 12/12 hs (luz/oscuridad). Dentro de este armazón se ubicó un soporte de madera donde se colocaron las bandejas germinadoras, con una distancia de 0,5 cm entre las semillas y el agua. Se colocaron 4 tiras de luces LED blanco cálido y 4 tiras de luces LED blanco frío de 12 V con una intensidad de 185 lux a una distancia de 0,80 m de las bandejas germinadoras. Las bandejas de 0,31 x 0,23 m fueron construidas con una malla microperforada y marco de PVC, estas mallas fueron colocadas sobre bandejas plásticas de 0,45 x 0,28 m donde se colocó el agua. En cada bandeja se colocaron 20 g de semillas, previamente tratadas como en punto 3.1.

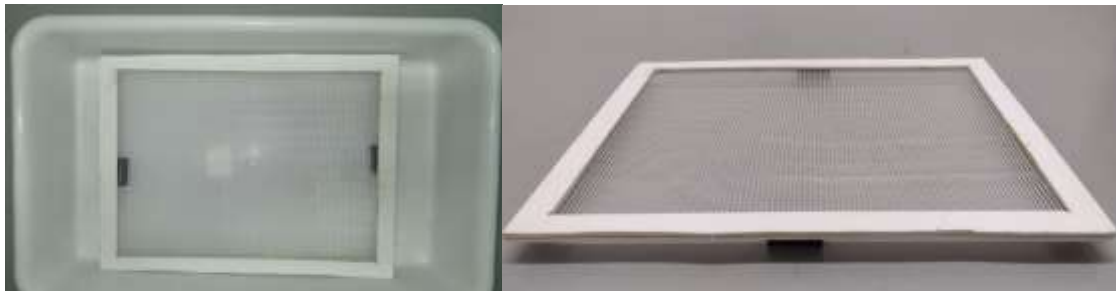


Figura 3. 4. Bandeja germinadoras dentro del recipiente plástico (izquierda), bandeja germinadora de malla microperforada y marco de PVC (derecha)

3.3 Ensayos

3.3.1 Ensayo 1: *Contenido de compuestos antioxidantes en las diferentes etapas durante el desarrollo de brotes de rabanito.*

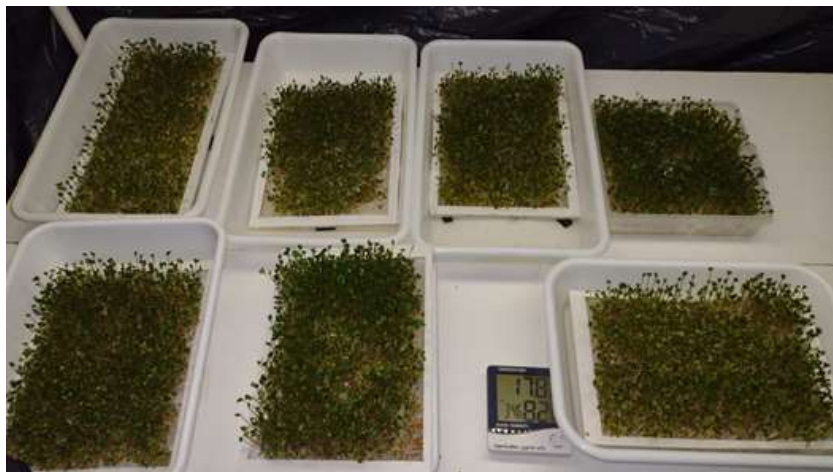


Figura 3. 5. Bandeja germinadoras dentro del armazón, durante el proceso de germinación con termómetro para controlar la temperatura

Durante el proceso de germinación descrito en el punto 3.1, se cosecharon muestras de brotes luego de 48, 72, 96, 120 y 144 hs de germinación, obteniéndose los estados

E1, E2, E3, E4 y E5, respectivamente. Sobre las muestras frescas se realizaron las determinaciones morfológicas y el color de los brotes como se detalla en la sección 4. Luego las muestras de brotes se congelaron en N₂ líquido y se almacenaron a -20°C para su posterior análisis.

Sobre las muestras congeladas, se realizaron las determinaciones de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos como se detalla en la sección 4.

3.3.2 Ensayo 2: Efecto del envasado en atmósfera modificada sobre el mantenimiento de la calidad y la prolongación de la vida útil de los brotes de rabanito durante el almacenamiento refrigerado.

Se colocaron 17 g de brotes de rabanito de longitud comercial (E4) obtenidos según punto 3.1 en los siguientes envases:

- Envase PET cubierto con film PVC (11 cm de diám. x 4 cm de prof)
- Envase PET cerrado con tapa de PET (11 cm de diám. x 4 cm de prof.)
- Bolsa 1 (PD 961 Cryovac) sellada (10 x 20 cm)
- Bolsa 2 (PD 941 Cryovac) sellada (10 x 20 cm)



Figura 3.6. Sellador con calor para las bolsas (A). Envase PET (B). Bolsas y envase PET con brotes de Rabanito (*Raphanus sativus* L.) (C)

La bolsa 1 y la bolsa 2 son poliolefinas PD-961 y PD-941(Cryovac Division, Sealed Air Corp, Duncan, SC, USA). Las características de permeabilidad frente al CO₂ y O₂ se observan en la (Tabla 1).

Tabla 1: Valores de transmisión de CO₂ y O₂ (mL m⁻² d⁻¹)

Envase	CO ₂	O ₂
PD-961	19000–22000 (1 atm, 23 °C)	6000-8000 (1 atm, 23 °C)
PD-941	36000 (1 atm, 23 °C)	16500 (1 atm, 23 °C)
PET	180-390 (1 atm, 23 °C)	50-30 (1 atm, 23 °C)

Los envases se almacenaron por 20 días a 5 °C. Se realizaron 12 repeticiones para cada tipo de envase. Durante el almacenamiento se registraron las presiones parciales de O₂ y CO₂, la tasa respiratoria, se evaluó la calidad general, el color, la incidencia y severidad de las pudriciones, el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante, como se detalla en la sección 4.

3.4 Determinaciones analíticas

3.4.1 Ensayo 1: Contenido de compuestos antioxidantes en las diferentes etapas durante el desarrollo de brotes de rabanito.

3.4.1.1 Morfología de los brotes: Las mediciones morfológicas de los brotes rabanito se realizaron con un calibre. Se determinó la longitud del hipocótilo (H), raíz (R) y longitudes totales de brotes (H + R). También se calculó la relación H / R. Las medidas se efectuaron en 30 brotes para cada estado de desarrollo.

3.4.1.2 Color: La determinación del color de los brotes se realizó con un colorímetro (Minolta CR-400, Osaka, Japón). El color se expresó en el sistema de medida de color CIE Lab (Figura 3.7), que define el color a partir de las coordenadas adimensionales L*, a* y b*, donde:

L*: representa la luminosidad, varía de 0 (negro) a 100 (blanco).

a*: coordenadas rojo/verde (este eje indica la variación de color entre el rojo, con a* positivo, y el verde, con a* negativo).

b*: coordenadas amarillo/ azul (este eje indica la variación de color entre el amarillo, con b* positivo, y el azul, con b* negativo).

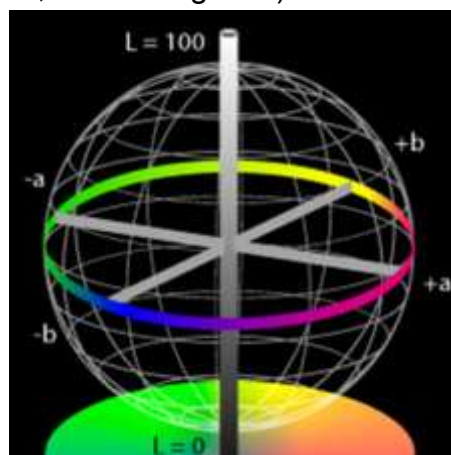


Figura 3.7. Espacio de color CIE Lab con coordenadas a*, b* y L*.

A partir de los parámetros a^* y b^* se calculó el ángulo HUE donde:

HUE (H): ángulo que representa la tonalidad de la muestra, va de 0 a 360°. Se calcula de la siguiente manera:

$$H = \begin{cases} \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \\ \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) + 360^\circ ; \text{ si } \arctan\frac{b^*}{a^*} \geq 0 \end{cases}$$

Se realizaron mediciones de cada estado de desarrollo, tomando una muestra de brotes que se dispusieron en placas de Petri, cubriéndola completamente sobre un fondo negro para evitar las interferencias de color con la superficie de apoyo subyacente. La medición se realizó por duplicado en 5 puntos diferentes de la placa directamente sobre los brotes (Figura 3.9)

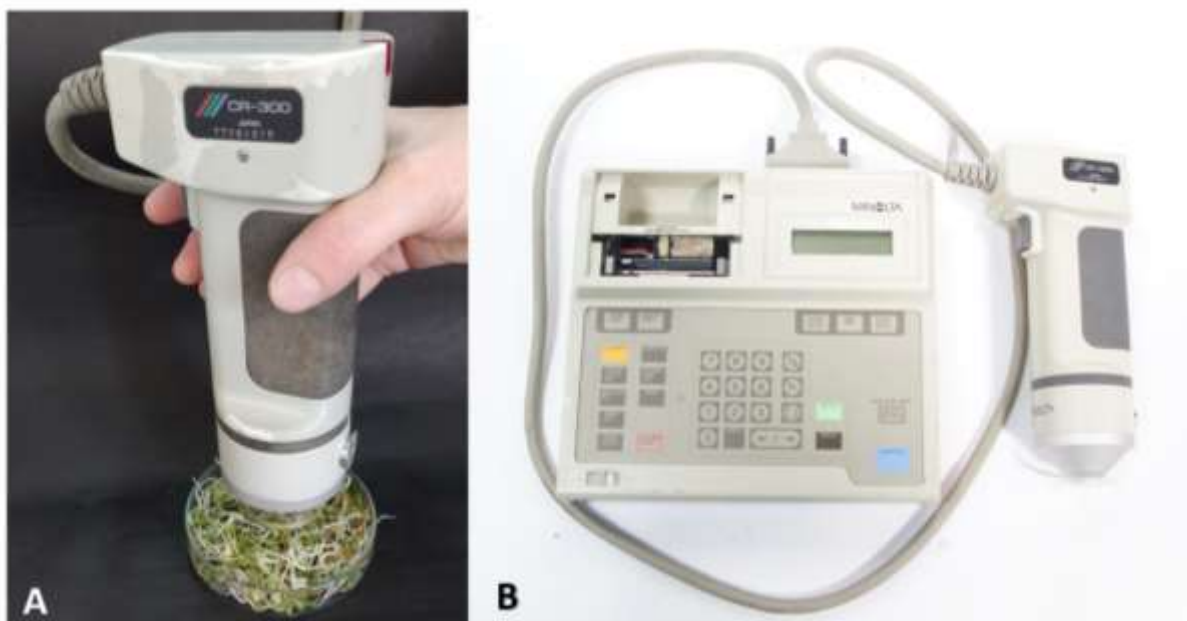


Figura 3.9. Medida de color de los brotes de Rabanito (*Raphanus Sativus L.*) (A). Colorímetro Minolta CR-300 (B)

3.4.1.3 Preparación de extractos: Se realizaron extractos, de cada uno de los estados de desarrollo, con dos repeticiones. Se molieron 3,6 g de tejido en un mortero de cerámica con nitrógeno líquido, evitando el descongelamiento. Fueron colocados en un recipiente apto para centrifuga con 10 mL de etanol. Se centrifugaron durante 13 min a 4.500 rpm. Al finalizar, se retiró el sobrenadante y se colocó en un eppendorff y se almacenó a -20 °C hasta su posterior análisis. El mismo se empleó luego para determinar compuestos fenólicos y capacidad antioxidante total por DPPH[•] y ABTS^{•+} por espectrofotometría.



Figura 3.10 Molienda de brotes de rabanitos congelados

3.4.1.4 Compuestos fenólicos: El contenido de fenoles totales se determinó empleando el reactivo de Folin-Ciocalteu según Zaro et al. (2014). Se colocaron 50 μL de muestra en un tubo de ensayo y se agregaron 50 μL de reactivo de Folin-Ciocalteu diluido 1:1 con agua destilada, se agitó y luego de 3 min, se añadieron 100 μL de una solución de 20% (m/v) de Na_2CO_3 en 0,1 mol L^{-1} NaOH y la solución resultante se incubó a 25 °C durante 90 min (Singleton et al., 1999). Se midió la absorbancia espectrofotométricamente a 760 nm (Espectrofotómetro 721 Visible 360-1000nm, China), las sustancias reactivas al Folin Ciocalteu (FC) se cuantificaron usando ácido clorogénico como estándar. Los resultados se expresaron como fenoles totales (g kg^{-1}). Las muestras se analizaron por duplicado.

3.4.1.5 Capacidad antioxidante por DPPH•: Se realizó según Zaro et al. (2014). Para ello, se colocaron diferentes volúmenes de muestra de los extractos etanólicos preparados según 4.3, según el estado de desarrollo analizado, en diferentes tubos de ensayo, para cada muestra. Se llevaron a volumen final de 150 μL añadiendo etanol (100, 75 y 50 μL respectivamente). Se dejó un testigo con 0 μL de muestra y 150 μL de etanol. Luego se agregó 1 mL de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•) hasta un volumen final de 1150 μL y se incubó durante 90 min en oscuridad. Se midió la absorbancia espectrofotométricamente a 515 nm. El contenido de antioxidantes se calculó como los gramos de tejido necesarios para reducir en un 50% la concentración

inicial de DPPH (Brand-Williams et al., 1995). Los resultados se expresaron como EC_{50}^{-1} . Las muestras se analizaron por duplicado para cada estado de desarrollo.

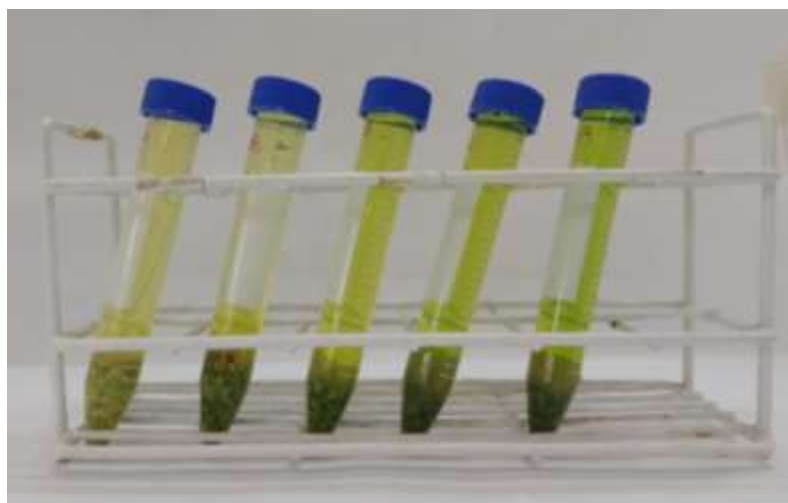


Figura 3.11 Extractos etanólicos de los brotes de Rabanito (*Raphanus Sativus L.*)

3.4.1.6 Capacidad antioxidante por ABTS⁺: El ensayo de ABTS⁺ se realizó según lo descrito por Arnao, (2001). La solución madre de ABTS⁺ se preparó pesando 7 mmol de sal ABTS⁺ de amonio y 2,45 mmol de $K_2S_2O_8$, que se añadieron a agua destilada hasta completar 1L de solución y se dejaron reaccionar durante la noche a 20 °C en la oscuridad. La solución de trabajo ABTS⁺ se preparó diluyendo la solución madre hasta una absorbancia de $0,7 \pm 0,03$ a 734 nm. Luego, se añadieron 20 μ L del extracto obtenido en el ítem 4.3 en tubo de ensayo con 30 μ L de etanol y 1 mL de solución de ABTS⁺, se agitó, se incubó durante 6 min y se midió la absorbancia a 734 nm. Las muestras se midieron por triplicado. Los resultados se expresaron como % de reducción de la absorbancia mg^{-1} .

3.4.2 Ensayo 2: Efecto del envasado en atmósfera modificada sobre el mantenimiento de la calidad y la prolongación de la vida útil de los brotes de rabanito durante el almacenamiento refrigerado.

3.4.2.1 Composición gaseosa en el interior de los envases: Las presiones parciales de O_2 y CO_2 del interior de los envases se analizaron con un Servomex MiniFoodPack 5200, UK. Se tomó un volumen de muestra de la atmósfera dentro del envase a través de un septum colocado en el envase, se tomaron muestras a las 24 hs, 9, 15 y 20 días

de almacenamiento a 5 °C, en cada tipo de envase. Las muestras se analizaron por triplicado.



Figura 3.12 Servomex MiniFoodPack 5200 a la izquierda, aguja con septum a la derecha

3.4.2.2 Tasa respiratoria (TR): Se tomaron aproximadamente 20 g de muestra de brotes y se incubaron durante 15 min en un recipiente hermético de 600 mL. La TR se determinó con un sensor infrarrojo para CO₂ (NDIR, Cavadevices, Argentina), y se determinó en mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ según Pintos et al., 2021. La TR se midió al inicio del ensayo y a los 9,15 y 20 días de almacenamiento. Las muestras se analizaron por triplicado.



Figura 3.13 Medición de la actividad respiratoria de los brotes de Rabanito (*Raphanus sativus* L.)

3.4.2.3 Pérdida de peso (PP): Para determinar la PP, los brotes se pesaron en todos los envases al inicio del ensayo y a los 9, 15 y 20 días de almacenamiento. La PP se calculó a partir de los pesos inicial (PI) y final (PF) como $PP (\%) = 100 \times (PI - PF) / PI$, corrigiendo el valor con el peso del envase.



Figura 3.14 Medición de la pérdida de peso de los brotes de Rabanito (*Raphanus sativus L.*)

3.4.2.4 Tasa de podredumbre: Para cada condición de envasado se registró el número de unidades (brotes) que presentaron algún síntoma de podredumbre y se expresó en %. Se utilizó una escala de 0-3 niveles, donde: nivel 0= intacto; nivel 1= incipiente ataque microbiano; nivel 2= podredumbre; nivel 3= podredumbre extendida.

$$IP = \frac{\sum (\text{nivel de daño} \times \text{N}^\circ \text{ de brotes con el daño})}{\text{N}^\circ \text{ de brotes totales}}$$

Las muestras fueron evaluadas a los 15 días de almacenamiento.

3.4.2.5 Desarrollo radicular: Se realizó un índice indicando la presencia y grado de desarrollo de raíces adventicias en los brotes. Los índices se realizaron según una escala de 4 niveles, 0: ausencia de defecto, 1: defecto incipiente, 2: defecto moderado, 3: defecto marcado, para cada condición de envasado a los 15 días de almacenamiento.

3.4.2.6 Aroma: Para cada condición de envasado y a los 15 días de almacenamiento, al momento de abrir los envases se determinó la presencia o ausencia e intensidad de aromas indeseables en el producto.

3.4.2.7 Color: Se monitoreó la evolución del color con un colorímetro (Minolta CR-400, Osaka, Japón), según lo expuesto en el inciso 3.4.1.2. Se realizaron mediciones por duplicado de cada envase al inicio del almacenamiento y a los 9, 15 y 20 días de almacenamiento en 5 puntos diferentes de la placa directamente sobre los brotes.

3.5. Análisis estadístico

Los experimentos se realizaron en un diseño factorial. Para el contenido de antioxidantes en diferentes estados de desarrollo el factor fue el desarrollo de los brotes. Para el efecto del tipo de envase durante el almacenamiento los factores fueron el tipo de envase y el tiempo de almacenamiento. Los datos se analizaron mediante ANOVA y las medias se compararon mediante un test de Tukey $P < 0,05$. Para los índices de calidad se realizó un análisis no paramétrico mediante el test de Chi-cuadrado, con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis del contenido de compuestos antioxidantes durante diferentes etapas del desarrollo de brotes de rabanito.

Como se mencionó en la sección 3, se cosecharon muestras de brotes de rabanito en diferentes estados del desarrollo durante el proceso de germinación, los brotes se cosecharon luego de 48, 72, 96, 120 y 144 h de germinación, obteniéndose, como se observa en la Figura 4.1 los estados de desarrollo E1, E2, E3, E4 y E5, respectivamente.

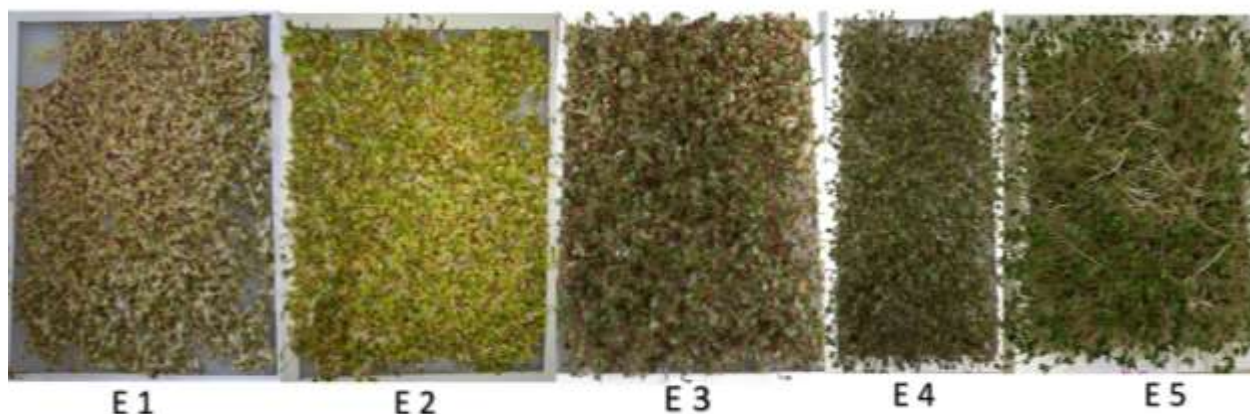


Figura 4.1. Bandeja con brotes de Rabanito (*Raphanus sativus* L.) en diferentes estados de desarrollo.

4.1.1. Morfología de los brotes

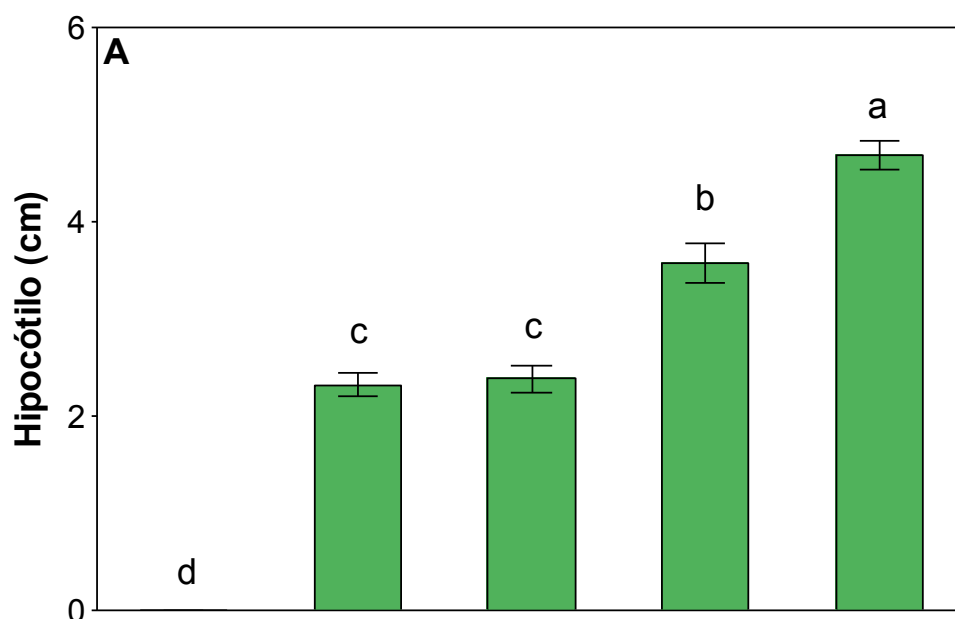
Para los cinco estados de desarrollo, la longitud en cm de la raíz y el hipocótilo fue de 1,1 y 0 (E1); 1,4 y 1,5 (E2); 3 y 2,4 (E3); 3 y 4,6 (E4) y 3 y 4,7 (E5), respectivamente, la raíz del brote creció desde el E1 hasta el E3 y luego detuvo su crecimiento, el hipocótilo comenzó a expandirse a partir del E2 y siguió creciendo hasta incluso el E5 (Figura 4.2)



Figura 4.2 Longitud de los brotes de rabanito (*Raphanus sativus* L.) en cada estado de desarrollo

Tabla 2: Descripción de los diferentes estados de desarrollo de los brotes de rabanito

Estado	Fecha	Tiempo de germinación (hs)	Longitud raíz (cm)	Longitud hipocótilo (cm)	Longitud total (cm)	Relación Hipocótilo/Raíz
E 1	6-abr	48	1,52	0	1,52	0,0
E 2	7-abr	72	2,19	1,27	3,46	0,6
E 3	8-abr	96	3,75	3,26	7,01	0,9
E 4	10-abr	120	2,57	4,69	7,26	1,8
E 5	11-abr	144	2,86	8,22	11,08	2,9



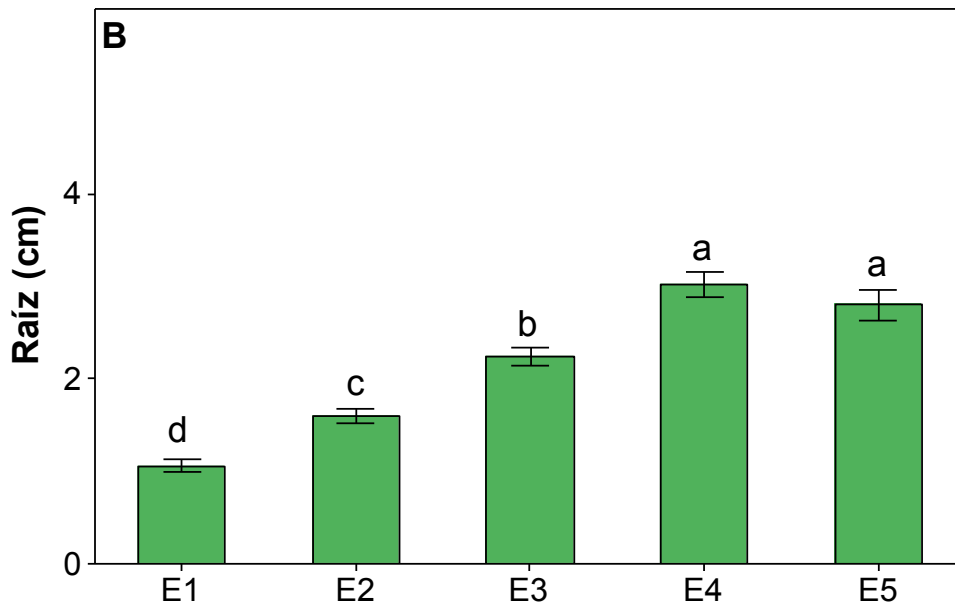


Figura 4.3 A) Longitud en cm del hipocótilo en 5 estados de desarrollo de brotes de rabanito, B) Longitud en cm de las raíces en 5 estados de desarrollo de brotes de rabanito. Se muestra el promedio \pm error estándar ($n=30$). Diferentes letras indican diferencias significativas basadas en el test de Tukey con una significancia de $P < 0,05$.

4.1.2. Color en función del estado de desarrollo

El valor del tono o ángulo Hue se incrementó con el desarrollo de los brotes, esto comenzó a partir del E4 y se hizo más notorio en E5 (Figura 4.5). Los cambios del Hue pueden relacionarse al crecimiento y expansión de los cotiledones y la síntesis de clorofilas (Pintos et al., 2021).

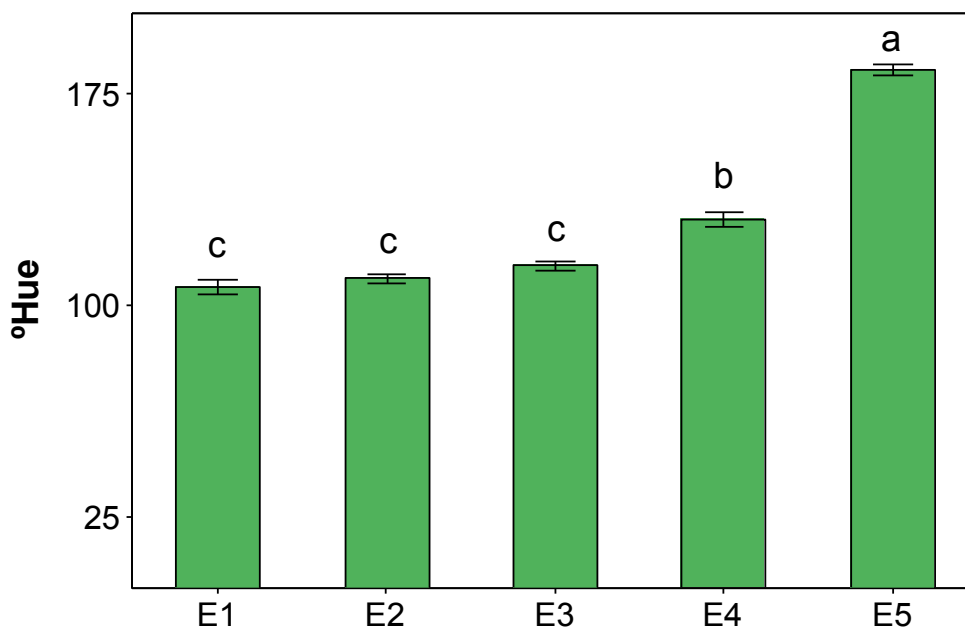


Figura 4.5 Valor del ángulo Hue en los 5 estados de desarrollo de brotes de rabanito. Se muestra el promedio \pm error estándar ($n=30$). Diferentes letras indican diferencias significativas basadas en el test de Tukey con una significancia de $p < 0,05$.

El componente verde del espacio de color CIE Lab, a^* , fue -3,5 en E1, y se redujo 3 unidades en E2. El mismo cambio se observó desde E2 a E3 y de E3 a E4. Sin

embargo, desde E4 a E5 el a^* se redujo 25 unidades. Lo que sugiere que la mayor síntesis de clorofila se corresponde con el desarrollo del brote desde E4 a E5, figura 4.4.

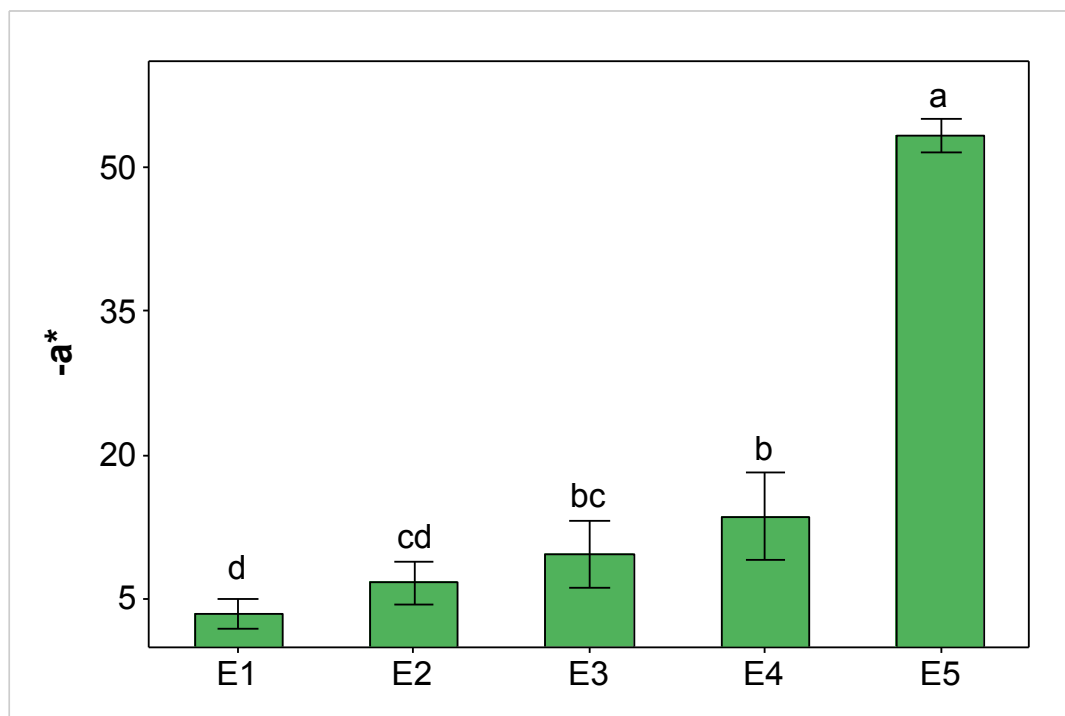


Figura 4.4 Medición del componente verde del espacio de color CIE Lab, a^* para cada estado de desarrollo

La clorofila en general no se considera como un compuesto con propiedades nutraceuticas. Sin embargo, existe evidencia de que las mismas pueden tener un efecto quimioprotector contra ciertos tipos de cánceres, especialmente cuando se encuentran junto al licopeno (Sgherri et al., 2015). Por otra parte, las clorofilas poseen actividad antioxidante en ausencia de luz, aunque interesantemente se tornan prooxidantes en presencia de la misma (Tarchoune et al., 2019).

4.1.3. **Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante**

Los brotes se caracterizan por presentar altas concentraciones de antioxidantes (Paradiso et al., 2018), que tienen un rol importante en el organismo, neutralizando los radicales libres y previniendo el daño causado por el estrés oxidativo (Coronado et al., 2015). Por lo cual, decidimos evaluar cuál estado de desarrollo de los brotes de rabanito es el que presenta potencialmente mejores propiedades nutraceuticas. Los brotes comenzaron con $1,6 \text{ g kg}^{-1}$ de compuestos fenólicos en el E1. Se observó una reducción en el nivel de fenoles durante el desarrollo de los brotes. Desde E1 a E5 los

niveles de fenoles se redujeron a la mitad. La reducción de fenoles durante el desarrollo puede deberse a su utilización en la síntesis de ligninas de la pared celular. Otra posibilidad podría ser un efecto de dilución de los compuestos fenólicos por absorción de agua, dado que los valores que se presentan corresponden al peso fresco de los brotes. Aunque en este escenario hay que considerar que los brotes incrementaron su tamaño en un 700 % en total, lo que indicaría que en realidad hubo una síntesis de fenoles que limitó su reducción a solo 50 %. En este sentido se ha reportado que la luz azul puede estimular el metabolismo secundario y la síntesis de ácidos fenólicos en brotes y microgreens. En este caso la luz es captada por los fotoreceptores criptocromos, fototropinas y un tipo de proteínas denominadas zeitlupe. La señal se transmite a través de diferentes factores de transcripción al núcleo donde se estimulan los genes para la transcripción de la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) y se estimula la ruta de los fenilpropanoides (Artés Hernández et al., 2022). En línea con el nivel de fenoles, la actividad antioxidante mostró una tendencia decreciente a lo largo del desarrollo por ambos métodos evaluados. Dicho descenso fue más marcado con DPPH• que con ABTS•+, lo que puede sugerir cierto cambio en el perfil de compuestos antioxidantes durante el desarrollo. En concordancia con estos resultados, trabajos realizados en brotes de espinaca (*Spinacia oleracea* L.) mostraron que los mismos cosechados tempranamente presentaron concentraciones más elevadas de ácido ascórbico (vitamina C) en comparación a las cosechas en estados más avanzados de desarrollo (Pinto et al., 2015). En dicho trabajo también se observó que el estado brote poseía niveles más elevados de ácido ascórbico, carotenoides, folato, a-tocoferol y filoquinona en comparación al estado de planta adulta. En base a los resultados encontrados podemos concluir que a medida que la planta crece la concentración de compuestos bioactivos va disminuyendo. Deberían seleccionarse brotes en estado de desarrollo incipiente (E1 y E2) para obtener un producto con el mayor potencial nutracéutico posible. De todas maneras, hay que considerar que el anticipo de la cosecha derivaría en un menor rendimiento en peso.

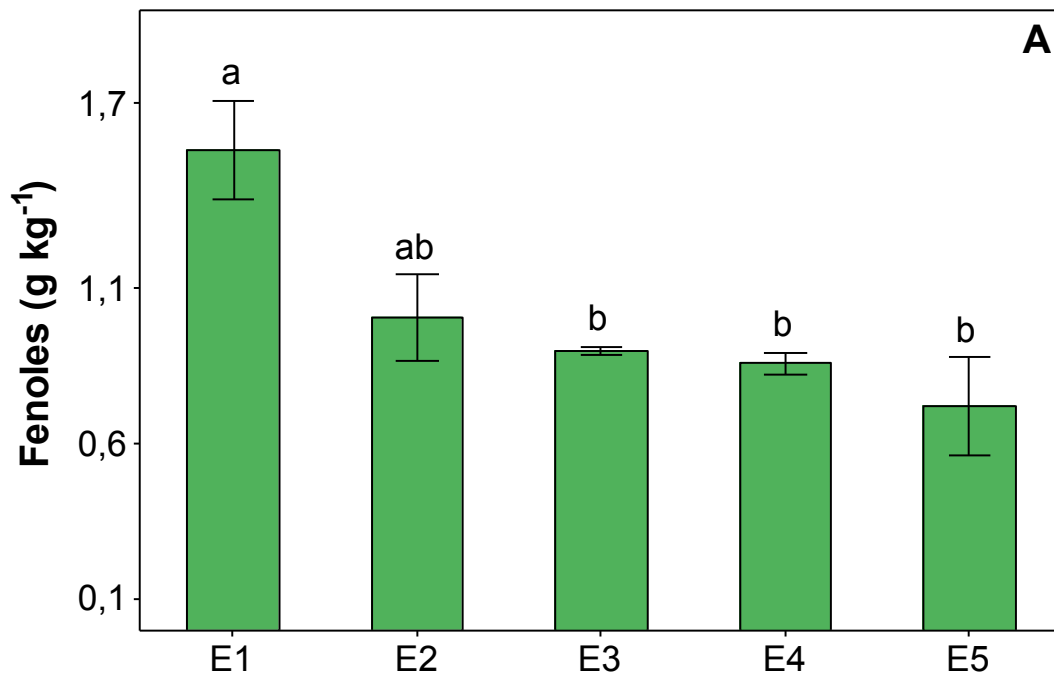


Figura 4.6 Contenido de fenólicos en los 5 estados de desarrollo de brotes de rabanito. Se muestra el promedio \pm error estándar ($n=4$). Diferentes letras indican diferencias significativas basadas en el test de Tukey con una significancia de $p < 0,05$.

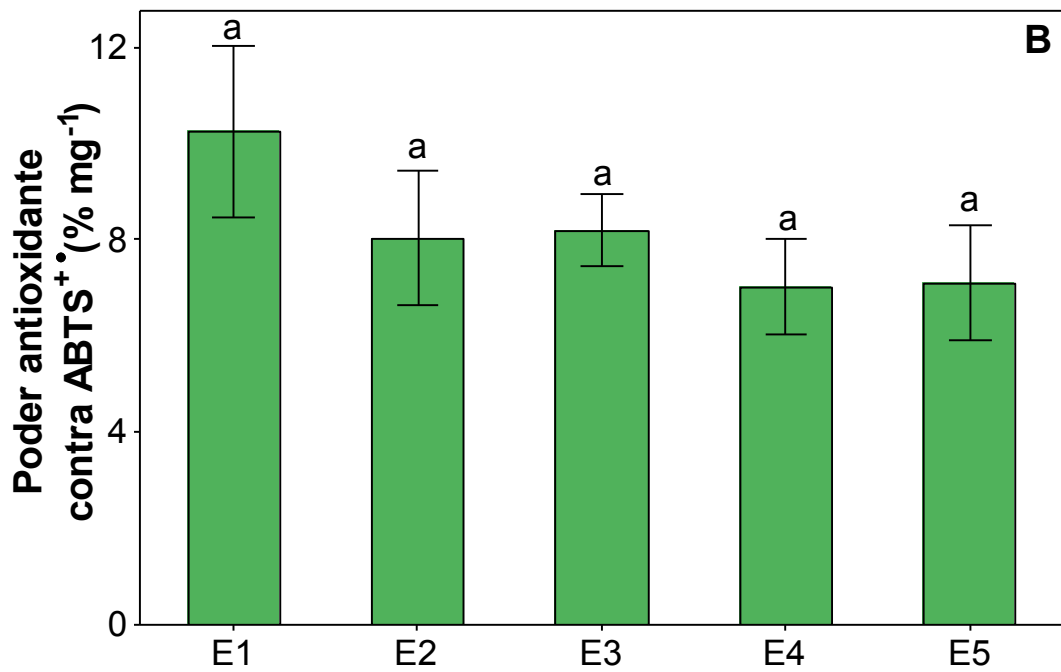


Figura 4.7 Poder antioxidante por ABTS⁺ en los 5 estados de desarrollo de brotes de rabanito. Se muestra el promedio \pm error estándar ($n=4$). Diferentes letras indican diferencias significativas basadas en el test de Tukey con una significancia de $p < 0,05$.

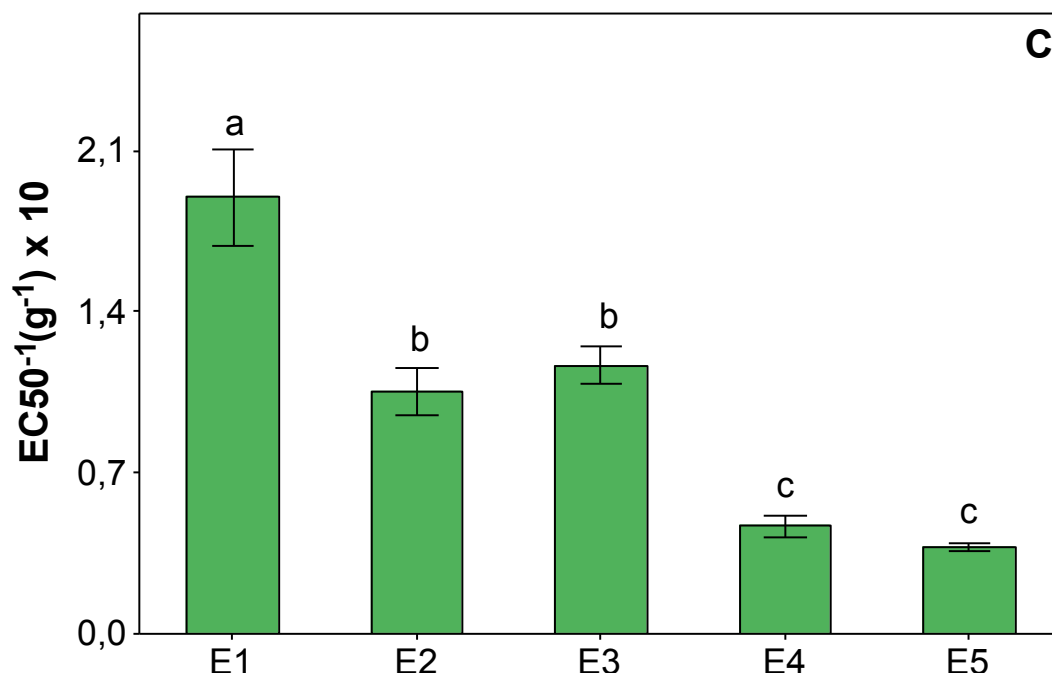


Figura 4.8 Poder antioxidante por DDPH en los 5 estados de desarrollo de brotes de rabanito. Se muestra el promedio \pm error estándar ($n=4$). Diferentes letras indican diferencias significativas basadas en el test de Tukey con una significancia de $p < 0,05$.

4.2 Efecto del envasado en atmósfera modificada sobre el mantenimiento de la calidad y la vida útil de los brotes de rabanito durante el almacenamiento refrigerado.

El almacenamiento a baja temperatura retrasa la pérdida de la calidad poscosecha y extiende la vida de anaquel al disminuir la tasa de respiración, la senescencia y el deterioro. Entonces, una vez cosechados los brotes, es importante el manejo de la temperatura, cuanto más baja la temperatura de refrigeración, mayor vida útil de los mismos (Mir et al., 2017). Las temperaturas en torno a 0 °C para productos insensibles al frío son una meta raramente alcanzada en las cadenas de suministro de poscosecha. Las temperaturas más utilizadas rondan los 4-6 °C. En general se busca combinar el beneficio de las bajas temperaturas con otro tipo de tecnología que pueda tener un efecto adicional positivo sobre la conservación, en este sentido el uso de envases con atmósferas modificadas (AM) es el método más difundido para mantener la calidad. Las AM se basan en modificar las presiones parciales de la atmósfera que rodea al alimento de manera que difiera con la composición del aire. En general los productos hortícolas se benefician de una reducción en los niveles de O₂ y un incremento el CO₂ (Xiao et al., 2014). Además, el envase sirve de barrera al vapor de agua por lo que mantiene la humedad dentro del envase reduciendo la deshidratación. El envasado en AM es la tecnología más utilizada para complementar la refrigeración

y mantener mejor la calidad y prolongar la vida útil de los productos vegetales mínimamente procesados. Sin embargo, el envasado inadecuado puede ser ineficaz o incluso perjudicial si los niveles de O₂ y CO₂ distan marcadamente de los valores óptimos. Se puede comprobar que en el mercado los brotes se ofrecen generalmente en envases PET cuyas permeabilidades a O₂ y CO₂ son bajas. Esto puede provocar una excesiva acumulación de CO₂ y muy bajos niveles de O₂ conduciendo a daños al producto y fermentación. En consecuencia, decidimos analizar si el uso de envases AM es más beneficioso que el almacenamiento en envases PET o el almacenamiento en aire con el propósito de que dicha información pueda ser de utilidad para mejorar el almacenamiento de brotes de rabanito en particular, como así también brotes de diferentes especies. En la Figura 3.6, se muestra las características visuales de los envases utilizados y en la Tabla 1 de la sección 3 se indican las permeabilidades de los mismos.

En este trabajo, se germinaron los brotes de rabanito según la sección 3.1

17 g de brotes de rabanito (*Raphanus sativus*) fueron almacenados en cuatro tipos de envase diferentes, Figura 4.9:

-Controles: Envases de cloruro de polivinilo (PET) recubiertas con film adherente con orificios 11cm de diam x 4 cm

-PET: Envases PET con tapa bisagra de PET cerrados 11cm de diam x 4 cm

-PD-961: Film Cryovac PD-961 sellados de (10 cm x 20 cm) como se describe en la sección 3.3

-PD-941: Film Cryovac PD-941 sellados de (10 cm x 20 cm) como se describe en la sección 3.3



Figura 4.9. Arriba PD 961, abajo a la izquierda PET, abajo a la derecha PD 941

4.2.1 *Atmósfera modificada, pérdida de peso y color*

En los envases con AM se observó que las presiones parciales de O₂ y CO₂ se equilibraron a los 9 d en todos los casos. Este tiempo *a priori* sería excesivo dado que se espera que los mayores beneficios se desprendan de un rápido establecimiento de la atmósfera buscada, ya que este tipo de productos comienzan a deteriorarse inmediatamente comenzado el almacenamiento (Shomodder et al., 2022). El PD-961 se equilibró en 3 kPa O₂ y 3,5 kPa CO₂. En PD-941 la caída de O₂ fue inferior debido a la mayor permeabilidad (Tabla 2). Los envases PET fueron los que mayores niveles de CO₂ acumularon debido a su baja permeabilidad a dicho gas.



Figura 4.10 Medición de atmósfera dentro del envase

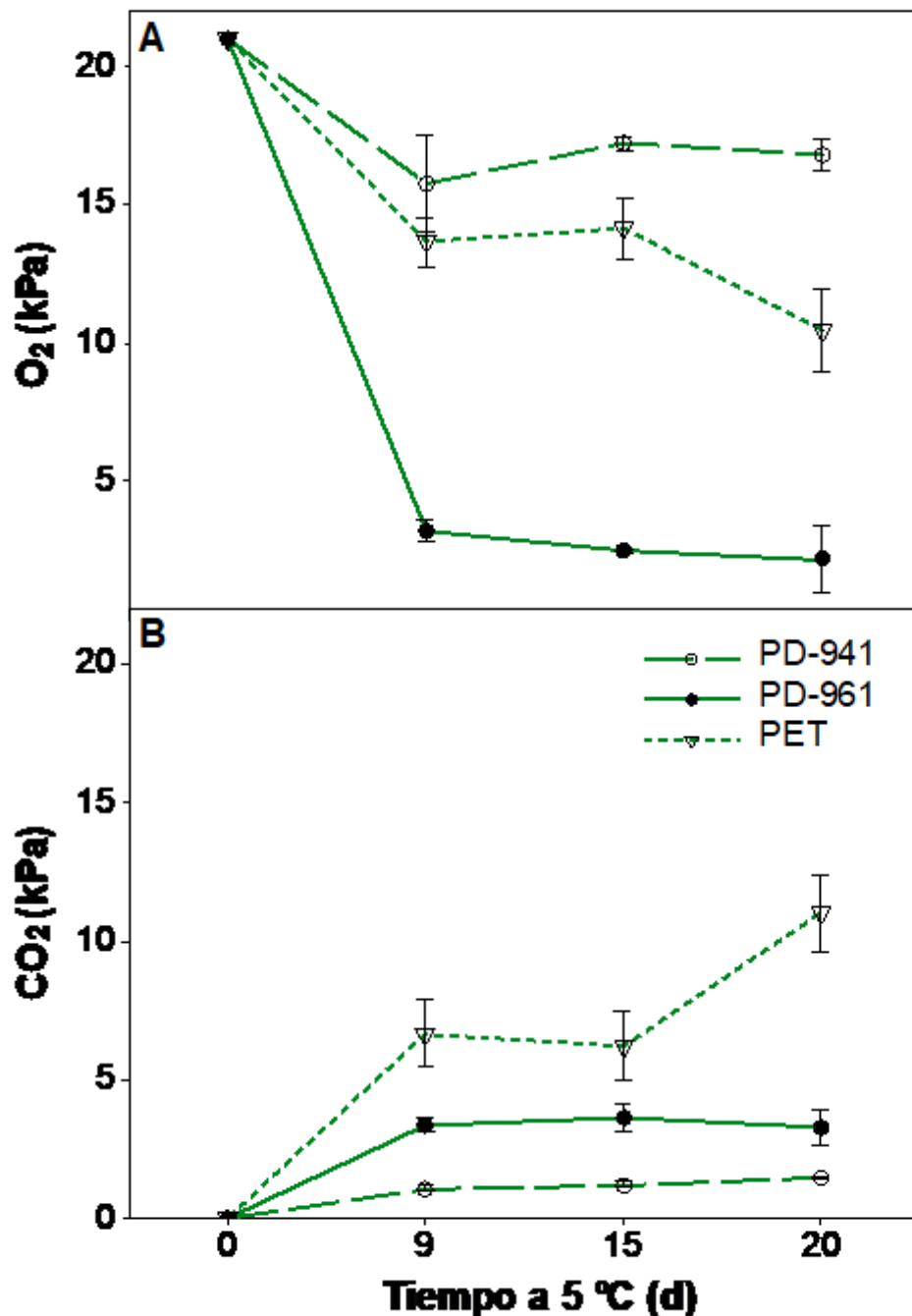


Figura 4.1.1 Atmósferas modificadas generadas dentro de los distintos envases luego de 24 hs, 9, 15 y 20 días de almacenamiento a 5 °C. A) Presión parcial de O₂ y B) Presión parcial de CO₂. Se muestra el promedio ± error estándar (n=4).

La pérdida de peso (PP) es un indicador de la pérdida de agua a causa de los procesos de transpiración y respiración, en consecuencia, se genera una pérdida de calidad debido a la deshidratación que incluye pérdida de turgencia y cambios texturales de los productos frescos luego de la cosecha. Los brotes controles envasados en aire presentaron la mayor pérdida de peso a lo largo del almacenamiento, llegando a un 11 y 14 % luego de 15 y 20 d, respectivamente. Este nivel de PP es elevado y ya ha

sido reportado en brotes de otras especies tales como la quínoa (D'ambrosio et al., 2017). El envase en AM redujo la PP a menos del 2,5 % en todos los envases evaluados.

Las bajas presiones parciales de O₂ y/o elevadas de CO₂ y vapor de agua, generadas dentro de los envases de AM disminuyeron la pérdida de agua y la pérdida de peso.

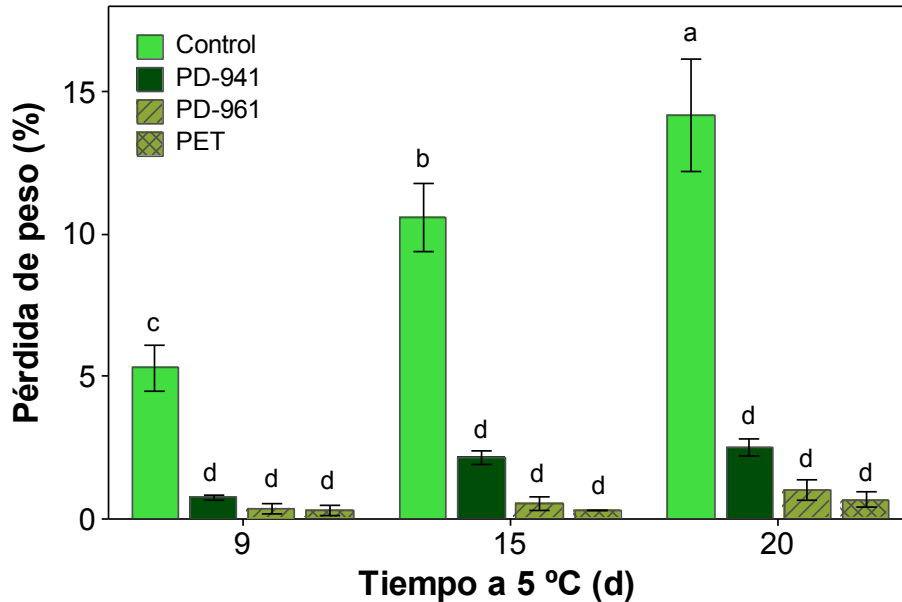


Figura 4.12. % de pérdida de peso de los brotes de rabanito envasados en los diferentes envases luego de 9, 15 y 20 días de almacenamiento a 5 °C. Se muestra el promedio \pm error estándar (n=4). Diferentes letras indican diferencias significativas basadas en el test de Tukey con una significancia de $p < 0,05$.

Respecto al color, no hubo marcadas diferencias en el ángulo Hue entre los diferentes envases utilizados, excepto hacia el final donde los brotes control presentaron un ángulo Hue menor que los envasados. En cuanto al parámetro a* del color, tendió a incrementarse en los brotes almacenados en aire mientras que se mantuvo estable en las demás condiciones. Esto indicó que los brotes sufrieron algún grado de reducción en el color verde durante el almacenamiento. Las atmósferas modificadas pueden disminuir la degradación de pigmentos no sólo clorofilicos sino también antocianinas y de carotenos conservando el color de los productos (Tenorio et al., 2004). Otros autores observaron que en microgreens de rabanito, envasados dentro de películas con diferentes tasas de transmisión de oxígeno (OTR) el contenido total de clorofila no varió significativamente durante 28 d de almacenamiento a 1°C (Xiao et al., 2014).

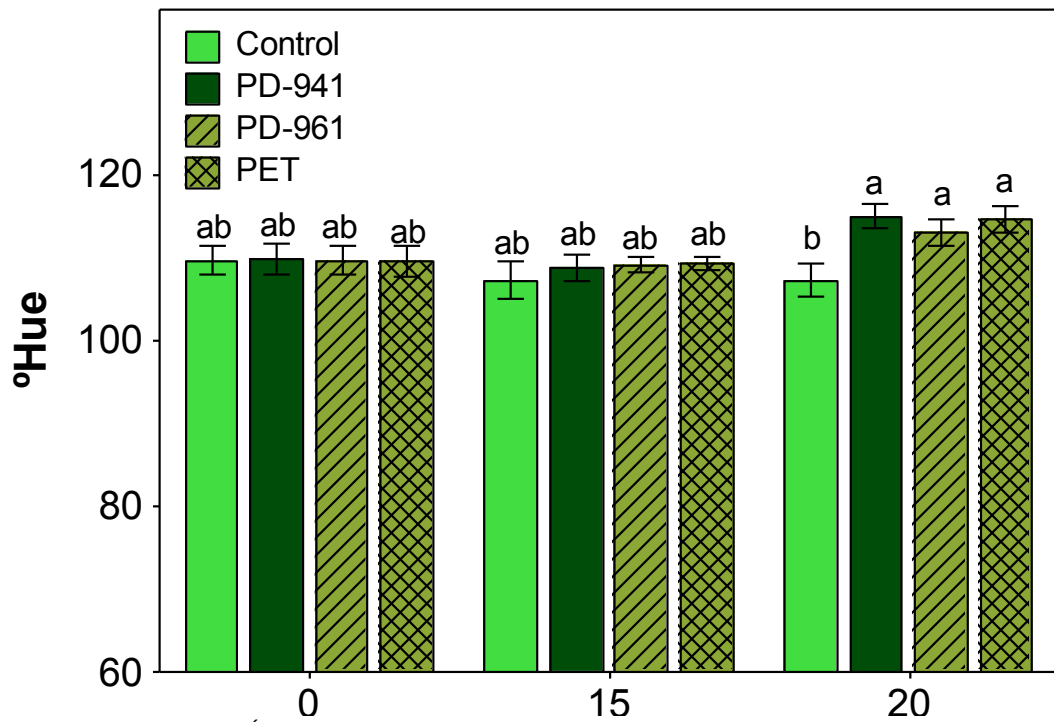


Figura 4.13. Ángulo Hue de los brotes de rabanito envasados en los diferentes envases luego de 9, 15 y 20 días de almacenamiento a 5 °C. Se muestra el promedio \pm error estándar ($n=30$). Diferentes letras indican diferencias significativas basadas en el test de Tukey con una significancia de $p < 0,05$.

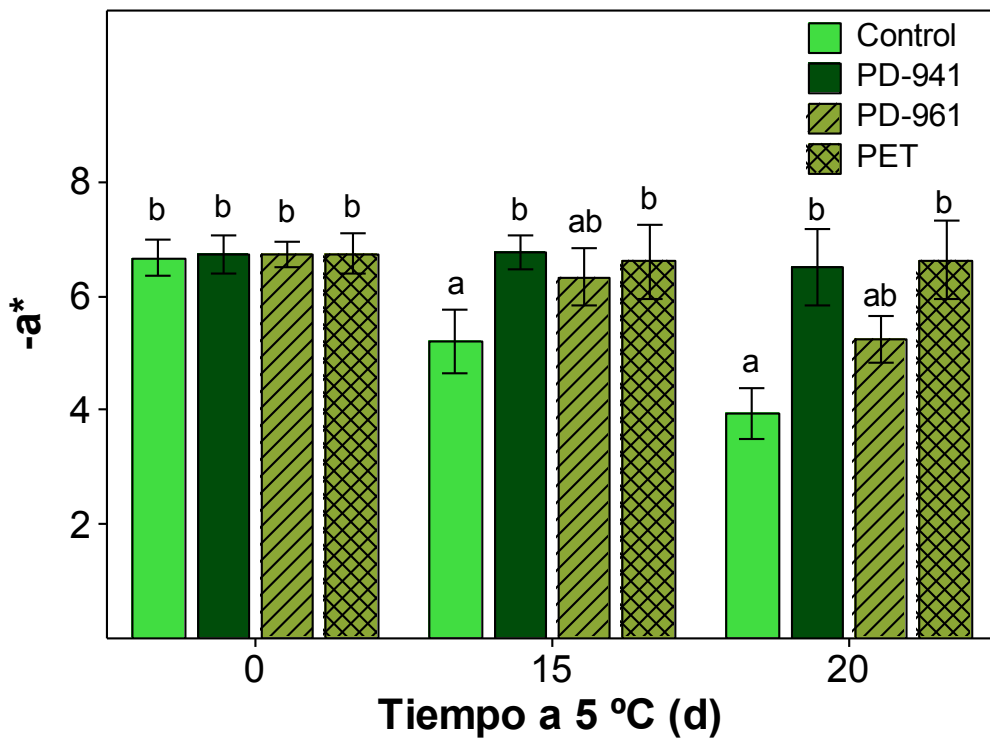


Figura 4.14. Valor de a^* de los brotes de rabanito envasados en los diferentes envases luego de 9, 15 y 20 días de almacenamiento a 5 °C. Se muestra el promedio \pm error estándar ($n=30$). Diferentes letras indican diferencias significativas basadas en el test de Tukey con una significancia de $p < 0,05$.

4.2.2. Índices de calidad y tasa respiratoria

Los principales defectos encontrados durante el almacenamiento fueron la podredumbre blanda, off-flavors o mal aroma y el desarrollo radicular. Luego de 15 d a 5 °C los brotes en aire y en PET evidenciaron podredumbres marcadas mientras que el envasado en las dos películas PD limitó dicho defecto. El film PD-961 fue el más efectivo en controlar las podredumbres. En envase PET se indujo una fuerte presencia de mal aroma en los brotes, mientras que en los demás envases dicho defecto fue solo incipiente. Esto puede explicarse con las presiones de CO₂ y O₂ alcanzadas dentro de envases. El PD-961 alcanzó 3,5 y 3 kPa de CO₂ y O₂, respectivamente. Niveles mayores a 3kPa de CO₂ poseen acción bacterio y fungiestática (Pinto et al., 2020). Lo anterior junto con la menor disponibilidad de oxígeno, probablemente se relacione con el buen control de podredumbres observado en PD-961. En el caso de PD-941 tanto la acumulación de CO₂ y el descenso de O₂ fueron más limitados, lo que condujo a un control modesto de las podredumbres. Por otra parte, el envase PET fue el que mayores niveles de CO₂ acumuló, entre 6-10 kPa. Podría haberse esperado un mejor control de podredumbres, pero esto no sucedió, y los brotes almacenados en PET presentaron excesiva podredumbre o mal olor luego de 15 d. Es posible que estos niveles de CO₂ estén por encima del umbral que provoquen un daño al tejido de este producto (Artés Calero, 2006). Además, los niveles bajos de O₂ en el espacio de cabeza del envase pueden generar condiciones anaeróbicas que pueden fomentar la formación de etanol y acetaldehído, responsables del desarrollo de olores desagradables, mientras que los niveles altos de CO₂ pueden causar daños irreversibles en la membrana. Las películas con alta tasa de transmisión de oxígeno (OTR) han demostrado capacidad para retardar el desarrollo de malos olores al lograr las condiciones deseadas de equilibrio de CO₂ y O₂ dentro de envases conteniendo microgreens de rábano (Xiao et al., 2014). Sin embargo, en este trabajo se muestra que los brotes de rabanito pueden tolerar niveles de O₂ de 3 kPa sin presentar fermentación o mal olor.

Durante el almacenamiento se observó que los brotes almacenados en aire desarrollaron una estructura entramada en las raíces. A simple vista las mismas se asemejaban a una suerte de micelio fúngico. Sin embargo, al observar al microscopio se pudo determinar que se trataba de raíces adventicias (Figura 4.15). Este fenómeno representaría un defecto grave desde el punto de vista de la calidad, aunque sólo sean raíces del propio brote porque en apariencia se asemejan al desarrollo de un micelio

y a las podredumbres fúngicas. Es preciso destacar que los brotes envasados en PD-941 presentaron raíces adventicias de forma incipiente luego de 15 d. Dicho envase generó una AM de composición cercana al almacenamiento en aire. Contrariamente,



Figura 4.15. Brotes envasados en AM, sin presencia de raíces adventicias (Izquierda). A la derecha desarrollo radicular en brotes de rabanito envasados sin atmósfera modificada (control) luego de 20 días de almacenamiento a 5°C

los brotes envasados en PET y PD-961 no desarrollaron raíces. En resumen, los datos sugieren que niveles mayores a 3,5 kPa de CO₂ controlarían el desarrollo de raíces adventicias en brotes de rabanito durante el almacenamiento.

Tabla 3: *Índices de calidad de los brotes de rabanito almacenados en diferentes envases y a 5 °C por 15 d. Mediana (n=7). Los índices se realizaron según una escala de 4 niveles, 0: ausencia de defecto, 1: defecto incipiente, 2: defecto moderado, 3: defecto marcado. Las letras indican diferencias significativas según test de Chi-cuadrado, un nivel de significancia de p <0,05.*

Atributo	Envase			
	Control	PD-941	PD-961	PET
Podredumbre	3 a	2 b	0 c	3 a
Desarrollo radicular	2 a	1 b	0 c	0 c
Off-flavors	1 a	1 a	1 a	2,5 a

La tasa respiratoria (TR) se redujo luego de 9 d a 5 °C en todas las condiciones evaluadas. A partir de ese momento la TR mostró comportamiento variable en función del envase. Por un lado, la TR de los brotes envasados en aire y en PD-941 continuó

disminuyendo hasta alcanzar un mínimo al final del almacenamiento. En contraposición, los brotes en PET y PD-961 incrementaron su respiración hacia los 15 d y luego se mantuvo estable hasta los 20 d. Al final del almacenamiento, la TR de los brotes en PD-961 y PET triplicó la de los brotes control. La TR al comienzo del almacenamiento fue alta probablemente debido al manipuleo de los brotes durante la cosecha. Posteriormente, las diferencias en TR se observaron luego de que las atmósferas se equilibrasen. Los resultados muestran que durante el almacenamiento la TR fue menor en los brotes almacenados en elevados niveles de O₂ y bajos de CO₂ en comparación a los almacenados en atmósferas con mayor reducción y acumulación de O₂ y CO₂, respectivamente. En principio este comportamiento resulta contraintuitivo. Además, en órganos cosechados una mayor TR indica mayor grado de deterioro. Sin embargo, la mayor TR observada en los brotes PD-961 podría relacionarse con un mantenimiento del metabolismo de la plántula. En el caso de los brotes en PET, el incremento en la TR pudo deberse a un incremento en la podredumbres. El descenso de la TR registrado en los brotes almacenados en aire o PD-941 puede relacionarse por un lado con la reducción del metabolismo o muerte de los brotes, o también con un incremento en el anabolismo y la síntesis de estructuras radiculares (Tabla 1).

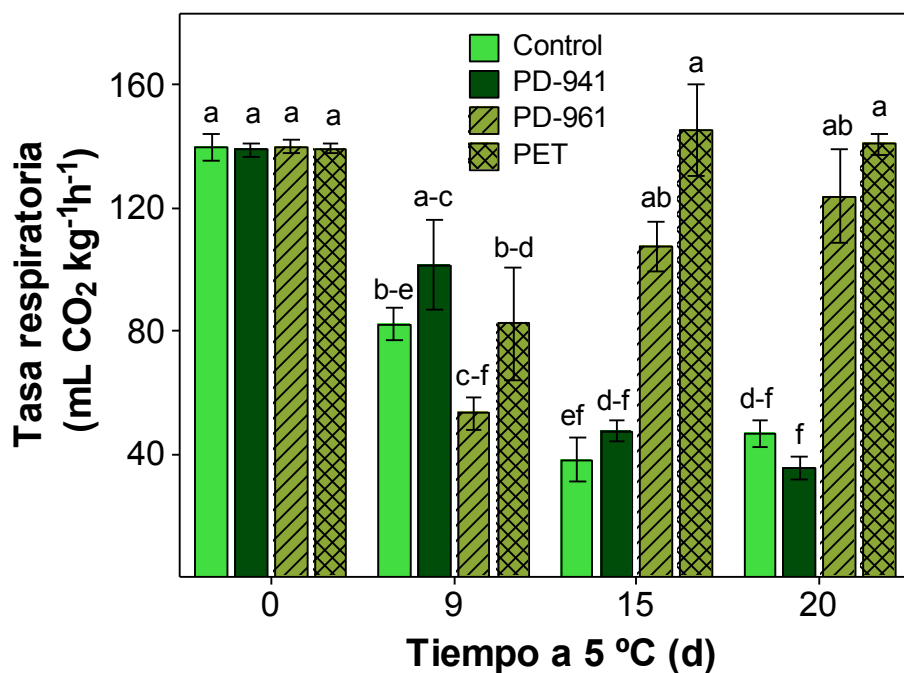


Figura 4.16 Tasa respiratoria de los brotes de rabanito envasados en los diferentes envases luego de 9, 15 y 20 días de almacenamiento a 5 °C. Se muestra el promedio \pm error estándar ($n=3$). Diferentes letras indican diferencias significativas basadas en el test de Tukey con una significancia de $p < 0,05$.

5. CONCLUSIONES

-Este trabajo muestra que el estado de desarrollo a cosecha tiene un impacto directo en el nivel de compuestos fenólicos en base al peso fresco de brotes de rabanito.

- Los estados más tempranos de desarrollo pueden ser una elección para ofrecer un producto con mayor poder antioxidante y potenciado desde el punto de vista nutracéutico.

-Durante el almacenamiento a 5 °C los brotes de rabanito resultaron ser susceptibles a la deshidratación, las podredumbres, generación de malos olores y desarrollo radicular.

-El uso de atmósferas modificadas es una tecnología complementaria fundamental para conservar la calidad de este producto.

-La efectividad difiere enormemente en función del envase utilizado. El envasado en PD-961 conserva la calidad de los brotes hasta 20 d y es la forma de envasado que podemos recomendar.

6. BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Arnao, M. B., Cano, A., & Acosta, M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food chemistry*, 73(2), 239-244.
- Artés Calero, F. 2006. El envasado en atmósfera modificada mejora la calidad de consumo de los productos hortofrutícolas intactos y mínimamente procesados en fresco. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 7(2), 61-85.
- Artés Hernández, F., Castillejo, N., & Martínez-Zamora, L. 2022. UV and visible spectrum led lighting as abiotic elicitors of bioactive compounds in sprouts, microgreens, and baby leaves a comprehensive review including their mode of action. *Foods*, 11(3), 265. <https://doi.org/10.3390/foods11030265>
- Arrieta Miranda, A. 2021. Importancia de los Germinados Para el Consumo Humano. Tesis de grado. Universidad de Santander, Bucaramanga, Santander, Colombia 59 pp. <https://repositorio.udes.edu.co/handle/001/5646>
- Azcón-Bieto, J., & Talón, M. 2008. *Fundamentos de fisiología vegetal*. Edición Universidad de Barcelona.
- Bafumo, R.F., Ramirez, D.A., & Camargo, A. 2022. Microhortalizas de Rúcula y Rabanitos como alternativa novedosa de alimentos saludables. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional De Cuyo, Mendoza, Argentina. 106 pp. <https://bdigital.uncu.edu.ar/17238>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. & Berset, C.L.W.T. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Castagnino, A.M., Marina, J.A., Benvenuti, S., & Castro, M. 2020. Microgreens and sprouts, two innovative functional foods for a healthy diet in Km 0. *Asociación Argentina de Horticultura*, 55-95.
- Chiesa, Á. & Alonso, G. 2009. Hortalizas mínimamente procesadas en los supermercados de Buenos Aires. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 41, 45-57.
- Coronado, M., Vega y León, S., Gutiérrez, R., Vázquez, M., & Radilla, C. 2015. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista chilena de nutrición*, 42, 206-212.
- D'ambrosio, T., Amodio, M.L., Pastore, D., De Santis, G., & Colelli, G. 2017. Chemical, physical and sensorial characterization of fresh quinoa sprouts (*Chenopodium quinoa* Willd.) and effects of modified atmosphere packaging on quality during cold storage. *Food Packaging and Shelf Life* 14, 52-58. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.08.003>
- Di Gioia, F., Renna, M., & Santamaria, P. 2017. Sprouts, microgreens and “baby Leaf” vegetables. En: *Minimally processed refrigerated fruits and vegetables*. Boston, MA, USA: Springer. pp. 403-432. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7018-6_11

- ESSA. European Sprouted Seed Association. Directrices de higiene para la producción de brotes y semillas para germinación de la ESSA. Diario Oficial de la Unión Europea. 2017; 29-52.
- Galizio, R. & Diaz, K. 2020. Technology of horticultural products: minimally processed vegetables (IV gama). Horticultura Argentina, 39 (100), 1851-9342.
- Gan, R.Y., Lui, W.Y., Wu, K., Chan, C.L., Dai, S.H., Sui, Z.Q., & Corke, H. 2017. Bioactive compounds and bioactivities of germinated edible seeds and sprouts: An updated review. Trends in Food Science & Technology 59, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.11.010>
- Huamaní Silva, M.R. 2021. Efecto de la temperatura y la concentración sobre la capacidad antioxidante del extracto acuoso del germinado de *Brassica oleracea var. italica plenck* (brócoli). Tesis de grado. Facultad de Ciencias de los alimentos. Universidad de Cordón Bleu, Lima, Perú. 98 pp. <http://repositorio.ulcb.edu.pe/handle/ULCB/1188>
- Kyriacou, M.C., Roupael, Y., Di Gioia, F., Kyratzis, A., Serio, F., Renna, M., & Santamaria, P. 2016. Micro-scale vegetable production and the rise of microgreens. Trends in food science & technology, 57, 103-115. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.09.005>
- Márton, M., Mándoki, Z., Csapó-kiss, Z., & Csapó, J. 2010. The role of sprouts in human nutrition. A review. Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria 31, 318-324.
- Matiacevich, S., Riquelme, N., & Arancibia, C. 2016. Perspectivas de las tecnologías aplicadas en productos IV-Gama. Facultad Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile, Santiago de Chile, Chile. 41.
- Mir, S.A., Shah, M.A., & Mir, M.M. 2017. Microgreens: Production, shelf life, and bioactive components. Critical reviews in food science and nutrition, 57(12). <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1144557>
- Miyahira, R.F., Lopes, J.D. O., & Antunes, A.E.C. 2021. The use of sprouts to improve the nutritional value of food products: A brief review. Plant Foods for Human Nutrition, 76(2), 143-152. <https://doi.org/10.1007/s11130-021-00888-6>
- Natarén Santel, M.D.L.L. 2017. Plan integral de marketing para la comercialización de micro cultivos en la ciudad de Puebla (Master's thesis, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla).
- Paradiso, V. M., Castellino, M., Renna M., Gattullo, C. E., Calasso M., Terzano R., Allegretta I., Beniamino L., Caponio F., & Santamaria P. 2018. Nutritional characterization and shelf-life of packaged microgreens. Food Function 9, 5629- 5640 <https://doi.org/10.1039/C8FO01182F>
- Pérez Galeano, A., & Zapata Valencia, S. 2015. Evaluación del comportamiento comercial de los germinados y brotes tiernos en la ciudad de Medellín: posibles alternativas de comercialización. Tesis de grado. Facultad de ciencias Administrativas y Agropecuarias, Corporación Universitaria Lasallista, Caldas, Antioquia, Colombia. 47 pp.

- Pinto, E., Almeida, A.A., Aguiar, A.A., & Ferreira, I.M. 2015. Comparison between the mineral profile and nitrate content of microgreens and mature lettuces. *Journal of Food Composition and Analysis*, 37, 38-43. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.06.018>
- Pinto, L., Palma, A., Cefola, M., Pace, B., D'Aquino, S., Carboni, C., & Baruzzi, F. 2020. Effect of modified atmosphere packaging (MAP) and gaseous ozone pre-packaging treatment on the physico-chemical, microbiological and sensory quality of small berry fruit. *Food Packaging and Shelf Life*, 26, 100573. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100573>
- Pintos, F.M., Hasperué, J.H., Ixtaina, P., Vicente, A.R., Lemoine, M.L., & Rodoni, L.M. 2021. Short light exposure preserves broccoli head quality and nutrients during refrigerated storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(10), e15801. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15801>
- Rodoni, L.M. 2014. Evaluación de metodologías no contaminantes para mantener la calidad y extender la vida poscosecha de pimientos (*Capsicum annuum* L.) frescos cortados (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata). <https://doi.org/10.35537/10915/35189>
- Sgherri, C., Pérez-López, U., & Pinzino, C. 2015. Antioxidant properties of food products containing lycopene are increased by the presence of chlorophyll. *Lycopene: Food Sources, Potential Role in Human Health and Antioxidant Effects Edited by bailey JR. New York: Nova Science Publishers, inc*, 39-90.
- Shomodder, A., Thammawong, M. & Nakano, K. 2022. *Reviews in Agricultural Science*, 10: 239-256. https://doi.org/10.7831/ras.10.0_239
- Singleton, V.L., Orthofer, R.M., & Lamuela-Raventos, R. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method. Enzymology*. 299, 152-178.
- Taladrid, I.J., & Espinosa, M.B. 2021. Semillas de rabanitos (*Raphanus sativus* L): observaciones de su morfología bajo microscopía electrónica, germinación y utilidad para estudios de fitotoxicidad. *Polibotánica*, (51), 171-183. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.51.11>
- Tarchoune, I., Sgherri, C., Eddouzi, J., Zinnai, A., Quartacci, M. F., & Zarrouk, M. 2019. Olive leaf addition increases olive oil nutraceutical properties. *Molecules*, 24(3), 545.
- Tenorio, M. D., Villanueva, M. J., & Sagardoy, M. 2004. Changes in carotenoids and chlorophylls in fresh green asparagus (*Asparagus officinalis* L) stored under modified atmosphere packaging. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(4), 357-365. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1631>
- Theissen, C.I.F. 2016. Estudio de Mercado para la Comercialización de Germinados y Semillas Orgánicas para Germinación, Aptos para el Consumo Humano, Dirigida a Minoristas en la Ciudad de Guatemala. Tesis de Maestría. Facultad de ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

- Turner, E.R., Luo, Y., & Buchanan, R.L. 2020. Microgreen nutrition, food safety, and shelf life: A review. *Journal of Food Science*, 85, 870-882.
- Vercellino, R.B., Pandolfo, C.E., Cerrota, A., Cantamutto, M., & Presotto, A. (2019). The roles of light and pericarp on seed dormancy and germination in feral *Raphanus sativus* (*Brassicaceae*). *Weed Research*, 59(5), 396-406. <https://doi.org/10.1111/wre.12377>
- Wang, J., Qiu, Y., Wang, X. et al. 2017. Insights into the species-specific metabolic engineering of glucosinolates in radish (*Raphanus sativus* L.) based on comparative genomic analysis. *Science Rep*, 7, 16040. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16306-4>
- Xiao, Z., Luo, Y., Lester, G.E, Kou, L., Yang, T. & Wang, Q. 2014. Postharvest quality and shelf life of radish microgreens as impacted by storage temperature, packaging film, and chlorine wash treatment. *LWT - Food Science and Technology*, 55(2), 551–558. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.09.009>
- Xiao, Z., Lester, G.E., Park, E., Saftner, R.A., Luo, Y., & Wang, Q. 2015. Evaluation and correlation of sensory attributes and chemical compositions of emerging fresh produce: Microgreens. *Postharvest Biology and Technology*, 110, 140-148. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.021>
- Zaro, M.J., Chaves, A.R., Vicente, A.R., & Concellón, A. 2014. Distribution, stability and fate of 439 phenolic compounds in white and purple eggplants (*Solanum melongena* L.). *Postharvest Biology and Technology*, 92, 70-78. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.01.016>