



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y FORESTALES

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

**APLICACIÓN DE LA TECNOLOGÍA DE LEDS (DIODOS EMISORES DE LUZ)  
EN POSTCOSECHA. TRATAMIENTOS CON PULSOS DE LUZ DE BAJA  
INTENSIDAD PARA PRESERVAR LA CALIDAD COMERCIAL DE KALE.**

---

Trabajo Final de Carrera

**Alumna: Giambelluca, Ana Laura**

Fecha de entrega: 17 de marzo de 2020

Directora: Lorenza Costa

Co-directora: Alejandra Bárcena

Lugar de trabajo: INFIVE (Instituto de Fisiología Vegetal)

# Índice

---

Resumen.....	02
1. Introducción	
1.1. Características del Kale	
Origen .....	03
Sistemática.....	03
Morfología.....	03
Requerimientos de la especie.....	04
Ciclo del cultivo.....	05
Valor nutricional.....	05
1.2. Senescencia postcosecha.....	07
1.3. Tratamientos postcosecha.....	09
La luz como regulador de la senescencia.....	11
Tecnología de LED aplicada en postcosecha.....	12
2. Hipótesis.....	14
3. Objetivos.....	14
4. Materiales y métodos	
Material vegetal y diseño del experimento.....	15
Medida de conductancia estomática .....	17
Medida de color.....	18
Medida de pigmentos.....	19
Medida de proteínas.....	20
Medida de amonio.....	22
Medida de nitrógeno total.....	23
Medida de ácido ascórbico.....	24
Medida de glucosinolatos.....	25
5. Resultados	
Pérdida de peso y conductancia estomática.....	27
Color.....	28
Contenido de clorofilas.....	29
Contenido de proteínas.....	31
Contenido de amonio.....	31
Contenido de nitrógeno total.....	32
Contenido de ácido Ascórbico.....	33
Contenido de glucosinolatos.....	34
5. Discusión.....	36
6. Conclusiones.....	42
7. Bibliografía.....	43

# Resumen

---

Los tratamientos postcosecha para retrasar la senescencia son utilizados con la finalidad de prolongar la vida útil de los productos perecederos. Uno de los factores ambientales que regulan la senescencia es la luz visible, y se ha estudiado que dependiendo de la intensidad y calidad de luz utilizada durante el almacenamiento postcosecha de un vegetal, el efecto puede ser positivo o negativo en cuanto al desarrollo de la senescencia. La tecnología de LEDs permite implementar tratamientos postcosecha con luz visible de manera sencilla. En el presente trabajo estudiamos la utilización de pulsos diarios de 1 h de luz visible de baja intensidad para retrasar la senescencia postcosecha en hojas de Kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica* L.) almacenadas a temperatura ambiente. Como parámetros característicos de senescencia foliar analizamos la degradación de clorofilas y proteínas. Además para caracterizar la calidad nutricional del producto analizamos el contenido de ácido ascórbico y la presencia de glucosinolatos. Los tratamientos con pulsos diarios de 1 h de luz visible resultaron efectivos para retrasar la senescencia postcosecha en Kale tanto cuando se utilizó luz blanca como cuando se utilizó luz roja. Las hojas de Kale tratadas con luz presentaron menor amarillamiento, la degradación de las clorofilas, de proteínas y ácido ascórbico fue menor respecto a las hojas de Kale que no fueron tratadas con luz. Además, identificamos luego de 8 días de almacenamiento en las hojas tratadas tanto con luz blanca como con luz roja, gluconapin, un glucosinolato que está ausente en el control. A partir de los resultados obtenidos se puede concluir que la implementación de pulsos de 1 h de luz (blanca o roja) de baja intensidad utilizando LEDs permite prolongar la vida útil de las hojas de Kale almacenadas a temperatura ambiente, preservando la calidad nutricional y comercial.

**Palabras claves:** Senescencia postcosecha, LEDs, luz blanca, luz roja.

# 1. Introducción

---

## 1.1 Características del Kale:

### **Origen:**

El Kale (*Brassica oleracea var. sabellica* L.) es una hortaliza de hoja perteneciente a la familia de las Brassicaceae originaria de Asia menor. Se difundió en Europa ya desde el año 600 D.C., principalmente en el Centro y Norte europeo (Neugart et al., 2014).

En América su introducción es más reciente. En Estados Unidos, su producción se incrementó de 1600 a 2500 ha entre 2007-2012 (Šamec et al., 2019). En nuestro país el cultivo de Kale es muy reciente. La producción en el Cinturón Hortícola Platense se instaló en los últimos 5 años aproximadamente (Del Pino, com. Pers., 2019).

### **Sistemática Kale:** (Trópicos, 2019)

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht

Superorden: Rosanae Takht.

Orden: Brassicales Bromhead

Familia: Brassicaceae Burnett

Género: *Brassica* L.

Especie: *Brassica oleracea* L.

Variedad: *Brassica oleracea var. sabellica* L.

### **Morfología:**

El Kale es una planta herbácea cuya altura puede variar desde los 30 cm hasta 3 m de altura. La característica que la distingue es la disposición de sus hojas, las cuales no

forman una cabeza y presentan formas variadas que pueden ser enteras, lobuladas o muy divididas y crespas. El color de las hojas es variable, van desde el verde hasta el morado, dependiendo de los cultivares (Figura 1). Las inflorescencias son racimosas y las flores actinomorfas, bisexuales, tetrámeras, de color amarillas o blancas. El fruto es de tipo silicua dehiscente (Hurrell et al., 2019).



**Figura 1:** Variedades de hojas de Kale. a: variedad púrpura o morado; b: variedad rosino; c: variedad verde; d: variedad negro o toscano.

### ***Requerimientos de la especie:***

El Kale es una especie de fácil manejo, sus requerimientos son similares a los de otras Brassicaceae. Se recomienda hacer rotaciones con cultivos que no pertenezcan a la familia y volver a plantarlos sobre el mismo suelo cada 3-4 años. En cuanto a las condiciones edáficas, se puede cultivar en una amplia variedad de suelos, aunque se recomiendan los de pH ácido-neutro (pH 6-6,5) con buena capacidad de agua y aire. Las plántulas se producen principalmente a partir de semillas. El cultivo tolera condiciones climáticas desfavorables, como salinidad y altas o bajas temperaturas. En cuanto a la cosecha de las hojas tiene lugar a partir de la 3ra-4ta hoja. Se cosechan las hojas inferiores (más maduras), lo que promueve el desarrollo de las hojas más jóvenes y en consecuencia un mayor rendimiento (Šamec et al., 2019).

### **Ciclo del cultivo:**

El manejo del cultivo es sencillo, se siembra en almácigos o en asiento (directamente en el lugar definitivo). La distancia entre plantas debe ser de 20-25 cm. La siembra debe realizarse a 1,5 cm de profundidad. Luego de la siembra se procede al riego del cultivo.

En el caso de la siembra en almácigo se llevará a cabo el trasplante cuando las plantas posean 10 cm de altura, o al visualizarse el segundo par de hojas (Sommantico, 2018).

La cosecha tendrá lugar 3-4 meses después de la siembra (Tabla 1) cuando la planta produce su quinta hoja, la cosecha es escalonada por lo que se irán cortando hojas (generalmente las más externas) dejando siempre la yema apical.

En la provincia de Buenos Aires se realizan dos siembras en el año y luego de 3-4 meses de crecimiento comienza la cosecha que se realiza durante dos meses (Tabla 1).

**Tabla 1:** Momentos de siembra y de cosecha del Kale (Sommantico, 2018).

	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
Primera producción	Siembra	Siembra	Siembra			Cosecha	Cosecha					
Segunda producción	Cosecha							Siembra	Siembra			Cosecha

### **Valor nutricional:**

La familia de las Brassicaceae se caracteriza por tener una variedad de compuestos beneficiosos para la salud humana. Podemos mencionar la presencia de vitamina C, carotenoides y fenoles, que le aportan propiedades antioxidantes (Björkman et al., 2011; Deng et al., 2017). Además, las Brassicaceae se caracterizan por la presencia de glucosinolatos, un grupo de compuestos cuyos productos de hidrólisis tienen propiedades anticancerígenas (Podsędek, 2007).

El Kale, como miembro de la familia Brassicaceae, tiene un importante valor nutricional (Tabla 2 y 3), aportando un alto contenido de fibras y de energía (Tabla 2). A su vez tiene un alto contenido de vitaminas A y C, micronutrientes (hierro, zinc y manganeso),

macronutrientes (calcio y magnesio), fenoles, carotenoides, glucosinolatos (Becerra-Moreno et al., 2014; Korus, 2011; Thavarajah et al., 2019; Walsh et al., 2015). Becerra-Moreno et al. (2014) reportaron que una porción de Kale aporta más del 40% de vitamina A y del 10% de vitamina C, de lo que se recomienda consumir diariamente.

Además del alto valor nutricional del Kale, otro promotor de la expansión del cultivo es la baja oferta que hay en el mercado argentino, lo cual provoca que pueda comercializarse con un precio más elevado que otras hortalizas de hojas (Tamashiro, 2017).

**Tabla 2:** Composición nutricional de Brassicaceae (por porción, 100g) (USDA., 2019).

	<b>Kale</b>	<b>Brócoli</b>	<b>Repollitos de Bruselas</b>	<b>Coliflor</b>	<b>Repollo</b>
<b>Agua (g)</b>	89,63	89,3	86	92,07	92,18
<b>Energía (Kcal)</b>	35	34	43	25	25
<b>Proteínas (g)</b>	2,92	2,82	3,38	1,92	1,28
<b>Lípidos totales(g)</b>	1,49	0,37	0,3	0,28	0,1
<b>Cenizas (g)</b>	1,54	0,87	1,37	0,76	0,64
<b>Fibras (g)</b>	4,41	2,6	3,8	2	2,5
<b>Azúcares(g)</b>	0,99	1,7	2,2	1,91	3,2

**Tabla 3:** Composición mineral de Kale (por porción, 100g). (USDA, 2019).

Minerales	Kale (porción de 100g)
Ca	254 mg
Fe	1,6 mg
Mg	33 mg
P	55 mg
K	348 mg
Na	53 mg
Zn	0,39 mg
Mn	0,92 mg
Se	0,9 µg

## 1.2 Senescencia postcosecha de hojas

La senescencia foliar es una etapa del desarrollo de las hojas durante la que ocurren modificaciones en el metabolismo que conducen a la disminución de la actividad fotosintética debido al desmantelamiento del aparato fotosintético lo que implica la degradación de proteínas y pigmentos contenidos en los cloroplastos (Costa et al., 2013 b).

La senescencia foliar es un proceso genéticamente programado y regulado por factores ambientales (luz, temperatura, etc.) y factores endógenos (hormonas, edad de la hoja, etc.) (Guiamet, 2004). Para la comercialización y el consumo de Kale se cosechan las hojas, por lo que la cosecha induce la senescencia foliar por corte, ya que drásticamente disminuye el aporte de agua, hormonas y nutrientes en la hoja provocando un severo estrés (King y Morris, 1994). El síntoma más evidente de la senescencia foliar es el amarillamiento lo que conduce a la pérdida de calidad comercial para los vegetales de hojas donde el color verde brillante de las mismas es un atributo de calidad comercial (Albornoz y Cantwell, 2015). Además del cambio de color, ocurren cambios bioquímicos que conducen a la pérdida de calidad nutricional del producto, por ejemplo disminución de antioxidantes, proteínas y azúcares (Page et al., 2001).

Otros procesos fisiológicos que conducen al deterioro de las hojas luego de la cosecha son la respiración y la transpiración. El primero de estos se debe a la degradación de reservas con el fin de generar energía para mantener las estructuras funcionales de la planta. Durante la vida postcosecha las reservas se van agotando lo cual repercute negativamente en la calidad del producto (reducción de sabor, turgencia, peso, valor nutritivo). En cuanto a la transpiración es un proceso indeseable porque provoca la pérdida del contenido de agua del producto, lo cual disminuye la turgencia afectando la apariencia y textura del vegetal además de llevar a una pérdida de peso importante que

afecta a los productos si se venden por peso. En el caso del Kale al ser una hortaliza de hoja y con bordes sinuosos posee una elevada relación superficie/volumen por lo que la tasa de transpiración es elevada (Gamboa, 2017).

Dado que los vegetales de hoja, como el Kale, tienen una vida postcosecha muy corta debido a su elevada tasa respiratoria, su alta tasa transpiratoria y al desarrollo de la senescencia inducida por corte, un manejo postcosecha adecuado para estos productos deberá tener en cuenta algunos factores ambientales que afectan notablemente a estos tres procesos fisiológicos:

- La temperatura: es el principal factor, pues una alta temperatura acelera los procesos de respiración y transpiración provocando un deterioro en el producto (Kader, 2013). No obstante, la reducción de la misma a temperaturas inferiores a la del ambiente pero superior a la del punto de congelación del alimento (refrigeración), o mismo por debajo de esta (congelación) disminuye la velocidad de todos los procesos metabólicos, evitando el deterioro del producto (Koukounaras et al., 2007).
- Humedad: la diferencia de presión de vapor que hay entre el producto y el ambiente provoca un gradiente que obliga a que se restablezca el equilibrio osmótico. Esto genera que si hay baja humedad ambiente parte del agua retenida en el alimento sale del mismo a fin de que ambas humedades logren el equilibrio. Es por ello que regular la humedad en la cual se conserva el producto es esencial. Este factor está influenciado por la temperatura y la velocidad del aire (Kader, 1992).
- Concentración de gases: tanto la concentración de oxígeno como de dióxido de carbono tienen influencia en el deterioro de las hortalizas durante el almacenamiento. La tasa respiratoria se ve reducida en una atmósfera con elevada concentración de dióxido de carbono, lo cual se debe a que la respiración necesita oxígeno para llevarse a cabo mientras que el producto liberado además de energía es el dióxido de carbono (Kader, 1992).

- La luz: se conoce que la senescencia se induce en oscuridad, si bien puede ser interrumpida exponiendo los tejidos a la luz (Brouwer et al., 2012). Sin embargo, la luz puede generar un aumento en la temperatura lo que se traducirá en un incremento de la transpiración de las hojas (Zhan et al., 2012).

### **1.3 Tratamientos postcosecha**

Múltiples son los tratamientos postcosecha existentes que tienen como objetivo retrasar la senescencia. Los mismos dependen del tipo de producto a conservar. En el caso de hortalizas de hoja las tecnologías más utilizadas son: la refrigeración, el almacenamiento en atmósferas modificadas y controladas, tratamientos térmicos de alta temperatura, tratamientos con luz UV-C, y más recientemente el uso de luz visible (Yuan et al., 2010).

La tecnología más utilizada en la preservación de alimentos es la refrigeración. El fundamento de su implementación se debe a que provoca la reducción de la velocidad metabólica y de la síntesis de etileno (hormona que acelera la senescencia), es de hecho la recomendación indicada para el manejo postcosecha de las hortalizas de hoja (Albornoz y Cantwell, 2015; Koukounaras et al., 2007). Albornoz y Cantwell (2015) reportaron que en hojas de Kale, almacenadas a 0°C, disminuye el amarillamiento y la degradación de clorofilas.

Debido a que la refrigeración es una metodología que requiere una inversión con un costo económico considerable, en países en desarrollo no se utiliza este tipo de tratamiento durante las etapas que van desde la cosecha hasta el momento de llegar al lugar de venta, donde el producto puede quedar en heladera pero que en la mayoría de los comercios permanece a temperatura ambiente (Jones et al., 2006; Yuan et al., 2010). Por estos motivos se buscan tecnologías alternativas a la refrigeración para prolongar de vida postcosecha de las hortalizas a temperatura ambiente.

Una de las tecnologías alternativas es el almacenamiento en atmósferas modificadas y controladas cuyo fundamento se basa en el uso de atmosferas con baja concentración de oxígeno y/o altas de dióxido de carbono en el medio donde se almacena el producto y de este modo se disminuyen todas las actividades metabólicas que ocurren durante la postcosecha. Sin embargo, para el caso de Brócoli (*Brassica oleracea var. italica* Plenck) se logra retrasar la senescencia postcosecha del producto pero se corre el riesgo de generar olores indeseables ya que la baja concentración de oxígeno promueve la generación de derivados de glucosinolatos que causan olores desagradables. Por ello, se pueden usar atmósferas controladas pero con un 10% de oxígeno (Del Pino, 2014). En Rúcula (*Eruca vesicaria* (L.) Cav.), una hortaliza de hoja que pertenece a la familia de las Brassicaceas, el uso de atmósferas con baja concentración de oxígeno resultó efectivo para mantener la apariencia general del producto (color y frescura) tanto durante el almacenamiento refrigerado como a temperatura ambiente (Løkke et al., 2012).

El tratamiento con altas temperaturas, puede aplicarse por diversos métodos: vapor, agua caliente (más implementado) o aire seco. Es muy usado para el control de insectos y enfermedades, pero además se ha demostrado que tiene efectos sobre muchos procesos metabólicos, por ejemplo retrasa la senescencia postcosecha de Brócoli (Costa et al., 2005).

El tratamiento con radiación UV-C posee la capacidad de eliminar microorganismos, inducir mecanismos de defensa (síntesis de fitoalexinas); incrementar los niveles de antioxidantes; e inactivar enzimas relacionadas con los procesos de maduración y senescencia lo cual permite mantener la calidad nutricional de los productos (Rivera-Pastrana et al., 2007). Este tratamiento se ha probado en frutas y verduras, entre ellas Brócoli, en el cual se retrasó el amarillamiento y la degradación de clorofilas, disminuyó la tasa respiratoria y mantuvo la capacidad antioxidante, lo cual es beneficioso ya que

permite incrementar y conservar durante el almacenamiento la calidad nutritiva (Costa et al., 2006).

En los últimos años se ha comenzado a trabajar en el uso de tratamientos con luz visible durante la postcosecha para retrasar la senescencia de vegetales verdes, a temperatura ambiente. Dependiendo la intensidad y calidad de luz utilizada, los efectos pueden ser beneficiosos o perjudiciales para el vegetal. Se encontraron buenos resultados para Espinaca (*Spinacia oleracea* L.), Albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y Brócoli (Gergoff et al., 2013; Costa et al., 2013 b; Favre et al., 2018). En todos los casos se demostró que los tratamientos con luz de baja intensidad fueron efectivos para retrasar la degradación de clorofilas y proteínas (principales marcadores de senescencia) y otros metabolitos (ácido ascórbico, antocianinas, azúcares) relacionados con la calidad nutricional de los vegetales.

### ***La luz como regulador de la senescencia***

Se ha observado en muchos trabajos previos que la luz puede retrasar la senescencia de hojas (Biswal y Biswal, 1984). La luz puede actuar de dos maneras diferentes sobre los síntomas de senescencia: 1- a través de la fotosíntesis mediada por clorofilas, generando fotoasimilados que pueden actuar como reguladores de senescencia (Hasperué et al., 2011) y 2- a través de otros fotoreceptores (criptocromos activados con luz azul y fitocromos activados con luz roja) que actúan como señales que disparan cambios metabólicos. Por ejemplo, los fitocromos están involucrados en señales que conducen a preservar la integridad del cloroplasto (Liebsch y Keech, 2016). Por lo tanto, es posible que diferente calidad de luz tenga efectos diferentes sobre la vida postcosecha de hortalizas.

## **Tecnología de LEDs aplicada en postcosecha**

Uno de los problemas del uso de luz como tratamiento postcosecha de vegetales es la rápida deshidratación que se produce como consecuencia no sólo de la apertura de estomas sino del calor liberado por las fuentes de luz. En este sentido resulta adecuada la implementación de tratamientos con luz provenientes de LEDs (diodos emisores de luz) ya que tienen la ventaja frente a otras fuentes en cuanto a la generación de calor.

Se han utilizado tratamientos con pulsos de luz visible proveniente de lámparas LEDs para retrasar la senescencia. La aplicación de luz continua mediante LEDs blancos enriquecidos en azul, dio como resultado el mantenimiento de la calidad postcosecha de Repollitos de Bruselas (*Brassica oleracea var. capitata* L.) almacenados a 22 °C (Hasperué et al., 2016). Zhan et al., (2012) utilizaron luz continua de baja intensidad para retrasar la senescencia durante el almacenamiento de Brócoli a baja temperatura y encontraron que el tratamiento fue efectivo para disminuir la pérdida de color verde y mantener la textura y el aroma. Ma et al. (2014) utilizaron tratamientos con LEDs rojos de baja intensidad durante 4 días y lograron retrasar el amarillamiento postcosecha de Brócoli y mantener el contenido de ácido ascórbico a 20°C. Pintos et al. (2019), evaluaron el efecto de la exposición a diferentes intensidades de luz LED blanca sobre la senescencia de Brócoli almacenado a 4°C y obtuvieron que el tratamiento diario durante 3 h con luz de baja intensidad fue efectivo para retrasar el amarillamiento postcosecha de Brócoli.

También se han utilizado tratamientos con LEDs durante el crecimiento de brotes de Brócoli utilizando diferentes calidades de luz: LED blanca ( $15,5 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), roja (660 nm,  $14 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) y azul (445 nm,  $11 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) para determinar cuál de ellas permite mantener por más tiempo la calidad nutracéutica de los brotes durante la postcosecha,

resultando los brotes tratados con luz blanca y azul los que presentaron mayor cantidad de glucosinolatos, clorofilas y  $\beta$ -carotenos (Gómez-Lobato et al., 2017).

## Hipótesis de trabajo:

---

Los tratamientos con pulsos de luz de baja intensidad retrasan la senescencia postcosecha de Kale almacenado a temperatura ambiente y el efecto sobre la calidad comercial del producto depende no sólo de la intensidad sino también de la calidad de luz utilizada para realizar los tratamientos.

## Objetivos:

---

1- Analizar el efecto del tratamiento con pulsos de luz blanca de baja intensidad sobre la senescencia postcosecha de hojas de Kale almacenadas a temperatura ambiente y evaluar el impacto sobre la calidad del producto.

2- Analizar el efecto del tratamiento con pulsos de luz roja de baja intensidad sobre la senescencia postcosecha de hojas de Kale almacenadas a temperatura ambiente y evaluar el impacto sobre la calidad comercial del producto.

# Materiales y métodos

---

## *Material vegetal y diseño del experimento*

Para realizar el ensayo postcosecha se trabajó con hojas de Kale, proveniente de un cultivo realizado bajo invernáculo en la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires, en la cátedra de Horticultura, durante la primavera de 2018. Las hojas de Kale se cosecharon en septiembre de 2018; se seleccionaron para la cosecha hojas totalmente expandidas de la parte media del cultivo (aproximadamente 25 cm de largo) y de color verde oscuro y uniforme (Figura 2).



**Figura 2:** Hojas de Kale cosechadas para el ensayo

Las hojas recién cosechadas se mantuvieron en una cámara húmeda para trasladarlas hasta el laboratorio (INFIVE, La Plata). Una vez en el laboratorio las hojas fueron acondicionadas en bandejas de plástico para comenzar con los tratamientos. Se llevaron a cabo tres tratamientos:

- 1- Sin pulsos de luz diarios (controles): C
- 2- Pulsos diarios de 1 h con luz blanca de baja intensidad ( $20 \mu\text{moles.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ): LB.
- 3- Pulsos diarios de 1 h con luz roja de baja intensidad ( $20 \mu\text{moles.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ): LR.

Se colocaron 4 hojas de Kale por bandeja y se acondicionaron 3 bandejas por tratamiento (n=12). Para realizar los tratamientos las bandejas se colocaron bajo las luces sin cubierta

sobre las hojas. Para realizar los tratamientos con pulsos de luz se utilizaron LEDs blancos y rojos respectivamente y se controló la intensidad de la luz y la calidad de la luz con un espectroradiómetro (Red Tide USB650 Fiber Optic Spectrometer) (Figura 3).



**A**

Espectro de luz LED blancos medidos con el espectroradiómetro

Zona del espectro	Intensidad de luz
Rojo	4,5 micromol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
Rojo lejano	4,1 micromol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
Verde	5,5 micromol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
Azul	10 micromol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
UVB	0,7 micromol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>

Espectro de luz LED rojo medido con el espectroradiómetro

Zona del espectro	Intensidad de luz
Rojo	3,9 micromol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
Rojo lejano	4,0 micromol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
Verde	0,7 micromol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
Azul	0,8 micromol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
UVB	0,7 micromol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>

**B**

**Figura 3:** A- Espectroradiómetro utilizado para medir la intensidad y calidad de luz. B- Datos de la calidad de luz emitida por los LEDs utilizados para el tratamiento, determinada mediante el espectroradiómetro.

Luego de los tratamientos diarios, las muestras se almacenaron en oscuridad a temperatura ambiente. Los tratamientos y el almacenamiento fueron realizados en una cámara de cultivo con condiciones de temperatura y humedad controladas (20-25°C y aproximadamente 90% humedad ambiente). Diariamente se determinó el peso de las muestras y se calculó con los datos correspondientes la pérdida de peso de las muestras al final del almacenamiento.

Se tomaron muestras de hojas de Kale el día inicial del ensayo (D0) y luego de 2 y 8 días de almacenamiento (D2 y D8 respectivamente) para la medida de los parámetros bioquímicos (clorofilas, proteínas, etc.). Las muestras fueron discos de hoja cortados con un sacabocados de 1cm de diámetro y se almacenaron a -20°C hasta el momento de

realizar los análisis. Para el caso particular de medidas de ácido ascórbico los discos de hoja fueron inmediatamente congelados con N<sub>2</sub> líquido y se conservaron en freezer a -80°C debido a la inestabilidad del compuesto a medir.

### ***Medida de la conductancia estomática:***

#### **Fundamento**

La conductancia estomática estima la tasa de intercambio gaseoso (consumo de dióxido de carbono) y la transpiración (pérdida de agua) a través de los estomas de la hoja, ambos parámetros determinados por el grado de apertura estomática y, por lo tanto, de la resistencia física al movimiento de gases entre el aire y el interior de la hoja. La conductancia estomática es una función de la densidad, tamaño y grado de apertura de los estomas; al tener mayor cantidad de estomas abiertos se obtiene una mayor conductancia, lo cual indica que las tasas de fotosíntesis y transpiración son potencialmente más altas (Pietragalla y Pask, 2012).

La apertura de los estomas es muy sensible a la luz, por lo que se midió la conductancia estomática de las hojas antes y después de realizar el tratamiento con luz blanca o luz roja, con el objetivo de analizar si la intensidad de luz utilizada es suficiente para obtener una respuesta en la conductancia estomática. Para medir la conductancia estomática se utilizó un porómetro de estado estacionario (steady state) (Decagon: SC-1; PP-Systems: PMR-5) que cuenta con una cámara abierta que se sujeta en la superficie de la hoja (es una pinza con un sensor), estableciendo el vapor de agua liberado a través de los estomas un gradiente de humedad relativa (HR) a lo largo de la cámara. El instrumento mide la HR en dos puntos a lo largo de la cámara y una vez que se alcanza el estado estacionario, calcula y muestra la difusión de la conductancia en la hoja (el recíproco de la resistencia) (Figura 4).



**Figura 4:** Imagen ilustrativa de un porómetro (LabFerrer, 2019).

### **Procedimiento**

Antes y después de realizar el tratamiento con luz se midió la conductancia estomática (permite observar la apertura de los estomas).

### ***Medida del color:***

#### **Fundamento**

Para el registro del color a medida que se llevaba a cabo el ensayo se utilizó un colorímetro, el cual es un método no destructivo. Para la cuantificación del color se ilumina la muestra y en base a que la superficie de la hoja va a absorber las longitudes de onda de los colores complementarios a los que se ven y va a reflejar los percibidos por el ojo humano, por medio de ecuaciones matemáticas se consigue la cuantificación del color de las hojas al medir las combinaciones de los tres colores primarios. En este caso la variación del color va del verde oscuro al amarillo, habiendo una gama de colores intermedios que quedan expresados en una escala (Hue), siendo los números altos más oscuros y los bajos más claros. Para apreciar de una forma más sencilla la variación de color se expresaron los resultados como la diferencia de los valores de la escala para los diferentes tratamientos del día cero con los del último día del ensayo (grado de amarillamiento), cuanto mayor son los valores (una diferencia más notoria) más se modificó el color y, por lo tanto, indica un incremento en el amarillamiento.

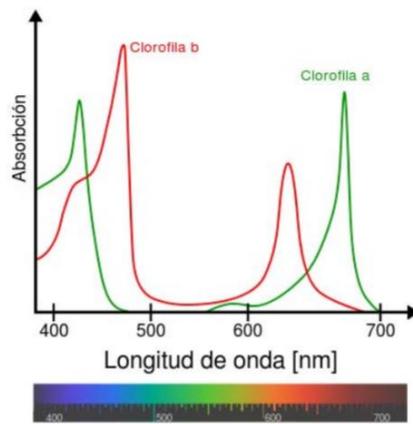
### **Procedimiento**

Diariamente se midió el color de las hojas en los distintos tratamientos. Cada hoja se midió en 5 puntos diferentes de la superficie, tratando de cubrir toda la superficie.

### ***Medida de pigmentos en hojas de Kale:***

#### **Fundamento:**

Se extraen los pigmentos (compuestos no polares) contenidos en los cloroplastos mediante una homogenización de tejido vegetal utilizando un solvente adecuado (menos polar que el agua). Luego de la homogenización, se separan por centrifugación los restos de tejido vegetal de la solución de pigmentos/solvente. Se mide el contenido de pigmentos en la solución obtenida utilizando el método “Espectrofotometría de absorción molecular”. De acuerdo a este método trabajando a las longitudes de onda ( $\lambda$ ) adecuadas para cada analito y con soluciones diluidas, podemos relacionar directamente la absorbancia de la solución con la concentración del analito (Ley de Lambert y Beer). Las  $\lambda$  adecuadas para cada analito se seleccionan a partir de su “Espectro de absorción”, en el que se seleccionará una zona del mismo donde el analito de interés presente máxima absorbancia pero sin interferencias. El espectro de absorción de las clorofilas presenta dos bandas importantes de absorción una en la región entre 400 y 500 nm y otra en la región entre 600 y 700 nm (Figura 5).



**Figura 5:** Espectro de absorción de las clorofilas en la región del visible. (Pugliesi, 2008)

### **Procedimiento**

Para mantener la temperatura baja durante la preparación del extracto, se trabajó sobre un baño de hielo.

Se colocaron en un mortero de porcelana 2 discos de hojas de Kale de 1 cm de diámetro con 1 mL de una mezcla acetona:agua (80:20; v:v) y una pizca de cuarzo. Se homogeneizaron y se trasvasaron los extractos a tubos tipo Eppendorff y se centrifugaron a 10000 rpm durante 5 min a baja temperatura. Se reservaron los sobrenadantes para hacer las medidas en el espectrofotómetro.

Se midió la absorbancia a 663,2 y 646,8 nm para las clorofilas a y b respectivamente que corresponden a las longitudes de onda ( $\lambda$ ) indicadas para medir extractos de clorofilas preparados en acetona 80% (Figura 5). Se calcularon las concentraciones de clorofilas a, b y totales según las ecuaciones de Lichtenthaler (1987). Los resultados se expresaron como  $\mu\text{g}$  de pigmento por unidad de área ( $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ).

#### **Fórmulas de cálculo:**

$$\text{Clorofila a} = 12,25 \times A_{663,2} - 2,79 \times A_{646,8}$$

$$\text{Clorofila b} = 21,50 \times A_{646,8} - 5,10 \times A_{663,2}$$

$$\text{C a+Cb} = 7,15 \times A_{663,2} + 18,71 \times A_{646,8}$$

### ***Medida de proteínas en hojas de Kale:***

#### **Fundamento**

Se extraen las proteínas foliares mediante una homogeneización utilizando un buffer pH 7 que contenga inhibidores de proteasas para evitar la degradación de las proteínas ya que al romper el tejido las proteasas quedarán en contacto con sus sustratos. Dado que las hojas senescentes presentan una intensa actividad proteolítica, si no agregamos inhibidores de proteasas el contenido de proteínas será subestimado debido a la degradación que se produciría en el extracto. Luego de la homogeneización se separan los restos de tejidos de la solución que contiene a las proteínas por centrifugación.

En el extracto proteico obtenido se cuantifican las proteínas mediante el método de Bradford (Bradford, 1976). Este método es una Espectrofotometría de Absorción molecular en el espectro visible, basado en la Ley de Lambert Beer, pero que requiere una reacción previa del analito para generar un compuesto de color, es decir, que absorbe en el visible. De acuerdo a este método las proteínas reaccionan con el colorante Coomassie Brilliant Blue G250 para formar un complejo azul que puede cuantificarse midiendo la absorbancia a 595 nm. Si en la reacción las proteínas están en defecto, la absorbancia medida será directamente proporcional a la concentración de las mismas. Como en todos los casos en que necesitamos una reacción previa del analito, para transformar la medida de absorbancia en la concentración de proteínas, es necesario realizar una curva de calibración, utilizando como patrón la proteína seroalbúmina bovina (BSA).

### **Procedimiento**

Para la medición de proteínas se trabajó sobre un baño de hielo.

Se colocaron en un mortero de porcelana 3 discos de hojas de Kale de 1 cm de diámetro con 1 mL de buffer 50 mM tris-hidroximetilaminometano-HCl, pH 7, utilizando EDTA 1 mM y PMSF 1 mM como inhibidores de proteasas, y una pizca de cuarzo. Se homogenizaron y se trasvasaron a un tubo tipo Eppendorff y se centrifugaron a 10000 rpm durante 10 min a baja temperatura. Se reservó el sobrenadante de cada extracto obtenido para hacer la reacción de color y posteriormente las medidas en el espectrofotómetro.

Se preparó una curva de calibración a partir de soluciones de concentración conocida de la proteína de referencia, BSA, la que se preparó a partir de una solución madre de 0,5 mg/mL.

La mezcla de reacción tanto para las soluciones patrón como para los extractos fue de 100  $\mu$ l (muestra+agua) con 1 mL Bradford (Tabla 4)

**Tabla 4:** Mezcla de reacción para la medición de proteínas

	ug prot (µl)	Agua (µl)	Bradford (mL)
Para curva de calibración	0	100	1
	5	95	1
	10	90	1
	15	85	1
	20	80	1
	25	75	1

### ***Medida de Amonio en hojas de Kale:***

#### **Fundamento:**

Para medir amonio en tejidos vegetales es necesario hacer un homogeneizado de tejido utilizando como solución de extracción ácido diluido. Esto es necesario ya que el amonio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) en medio neutro o alcalino se volatiliza fácilmente ( $\text{NH}_3$ ) mientras que en medio ácido será retenido como sal de amonio. Por lo tanto se extrae con ácido sulfúrico diluido y se obtiene como sulfato de amonio. Luego se separan los restos de tejido mediante centrifugación y el sobrenadante se utiliza para cuantificar el amonio. Para ello se realiza una reacción de color que pone en evidencia la presencia del amonio, por ejemplo la reacción de Neesler. El reactivo de Neesler (tetraiodomercuriato en medio alcalino) reacciona con el amonio para dar un color amarillo intenso que se cuantifica midiendo la absorbancia a 425 nm. Al igual que en el caso de las proteínas (Método de Bradford), en este caso es una espectrofotometría de absorción molecular en el visible con una reacción previa, por lo tanto para transformar la medida de absorbancia en concentración de amonio debemos realizar una curva de calibración a partir de soluciones conocidas de sulfato de amonio.

#### **Procedimiento**

Para la medición de amonio es importante mantener la temperatura baja durante la preparación del extracto, por lo que se trabajó sobre un baño de hielo.

Se colocaron en un mortero de porcelana 5 discos de hojas de Kale de 1 cm de diámetro con 850 µl de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,3 mM y una pizca de cuarzo, se homogenizaron y se trasvasaron a un tubo tipo Eppendorff y se centrifugaron a 10000 rpm por un lapso de 5 min. Luego se extrajo el sobrenadante y se lo reservó para medir el contenido de amonio mediante la reacción de Nessler, registrando la Absorbancia a 425 nm. Para la curva de calibración se utilizó como patrón una solución 20 ppm de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Tanto para las soluciones patrones como para los extractos, la mezcla de reacción utilizada fue 1 mL (muestra+agua) con 40 µl de Nessler (Tabla 5).

**Tabla 5:** Mezcla de reacción para la medición de amonio

µl solución sulfato	Concentración sulfato de amonio (µg)	Agua(µl)	Nessler (µl)
0	0	1000	40
100	2	900	40
200	4	800	40
300	6	700	40
400	8	600	40
500	10	500	40

### ***Medida de Nitrógeno total en hojas de Kale:***

#### **Fundamento:**

El método de referencia para medir el contenido de nitrógeno total en una muestra es el método de Kjeldahl. El método consta de tres etapas: 1- Digestión de la muestra con ácido sulfúrico concentrado a 380°C y en presencia de catalizadores. Durante esta etapa el nitrógeno contenido en la muestra se transformará en sulfato de amonio. 2- Neutralización y destilación por arrastre con vapor de agua. Durante esta etapa el sulfato de amonio libera el nitrógeno como amoníaco el que es fácilmente destilado por arrastre con vapor de agua ya que es muy volátil y se lo recoge sobre ácido bórico en exceso

donde vuelve a transformarse en amonio (borato de amonio). 3- Valoración del borato de amonio con ácido clorhídrico de normalidad conocida.

Con este método se evalúa nitrógeno total, ya que no sólo abarca el que se encuentra presente en las proteínas sino que también el no proteico como amidas, aminas, ácidos nucleicos, entre otros componentes del tejido vegetal (Viña y Arango, 2016).

### **Procedimiento**

Se pesaron 0,5 g de hojas de Kale previamente secadas en estufa a 60°C hasta peso constante. Se colocó el tejido vegetal en un balón de Kjeldahl con 6 mL de ácido sulfúrico concentrado y una mezcla de catalizadores (3,5 g de  $K_2SO_4$  y 0,5 mL de  $CuSO_4$  al 5%). Se colocó en un digestor Kjeldahl (SH22ON Graphite Digester Hanon) a 380°C durante 5 h. Luego de la digestión se colocó el balón con la muestra digerida en un destilador automático de Kjeldahl (K9840 Automatic Distillation Unit Hanon) con el siguiente programa de destilación: 20 mL de agua para diluir, 50 mL de NaOH 35%, 50 mL de  $H_3BO_3$  al 3%, 15 mL de agua de lavado y 10 min de destilación. Una vez finalizada la destilación se realizó la valoración del borato de amonio utilizando HCl 0,145 N recién valorado. Como indicador de punto final se utilizó una mezcla de indicadores adecuados: rojo de metilo y azul de bromo cresol (0,1 y 0,07% respectivamente en etanol).

### ***Medida de Ácido ascórbico (AA) en hojas de Kale:***

#### **Fundamento:**

Se extrae el ácido ascórbico a partir de los tejidos vegetales mediante una homogenización con ácido trifluoroacético. Luego se separan los restos de tejido mediante centrifugación y el sobrenadante resultante, donde se encuentra el ácido ascórbico, se somete a una cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para separar al ácido ascórbico de otros compuestos presentes en el extracto. Una vez separados los

compuestos en la columna cromatográfica mediante la elución adecuada de la misma se registran los compuestos separados a medida que pasan por un detector y de esta manera se podrá identificar el ácido ascórbico a través de su tiempo de retención (tr) y cuantificarlo integrando el área bajo el pico correspondiente. Para la elución de ácido ascórbico se utiliza fosfato de potasio como eluyente (Gutiérrez et al., 2007).

### **Procedimiento**

Dado que el ácido ascórbico es muy inestable, para la medición del mismo es importante mantener la temperatura baja durante la preparación del extracto, por lo que se trabajó sobre un baño de hielo pero, además, con el agregado de nitrógeno líquido.

Se determinó el contenido de ácido ascórbico según Gutiérrez et al. (2007).

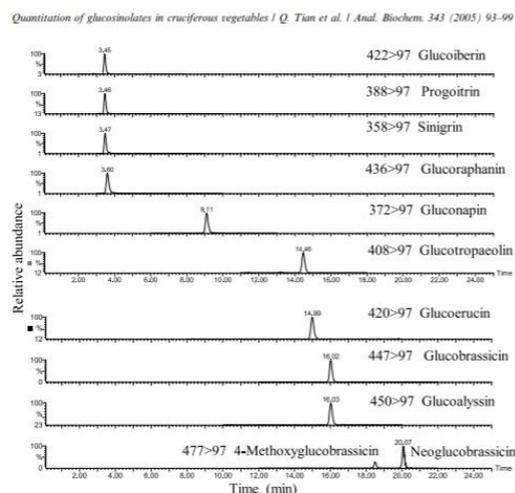
Para ello se pesaron 100 mg de hoja y se colocaron en un mortero de porcelana para homogenizarlo con 1 mL 6% (p/v) de TFA (en N<sub>2</sub> líquido) y una pizca de cuarzo, en frío. Se vertió en un tubo de tipo Eppendorff y se centrifugó a 13000 rpm por 15 min, se tomaron 500 µl del sobrenadante. El contenido de ácido ascórbico (AA) fue determinado con un HPLC (cromatógrafo líquido) equipado con LC-10Atvp (Shimatzu, Japón) módulo para administrar el solvente (fase móvil), una columna C-18 (Varian Chromsep 100 mm x 4.6 mm) y un detector UV-Vis SPD-10Avp (Shimatzu, Japón) que mide a 265 nm. Las mediciones se realizaron isocráticamente usando un buffer de elución 100 mmol /L fosfato potasio pH 3. El AA total se midió de forma similar a partir del extracto obtenido, después de reducir dehidroascórbico (DHA) con 10 mmol/L DTT.

## ***Medida de Glucosinolatos en hojas de Kale***

### **Fundamento:**

Los glucosinolatos se extraen con metanol a partir de hojas de Kale inactivando previamente la enzima mirosinasa para evitar su degradación. El extracto metanólico se

utiliza luego para hacer una separación de compuestos mediante una cromatografía gaseosa (Figura 6) y posteriormente se analizan los compuestos separados mediante espectrometría de masa (CG-MS).



**Figura 6:** Tiempos de separación de los diferentes glucosinolatos presentes en las crucíferas en una cromatografía gaseosa (Tian et al., 2005).

### **Procedimiento**

Se colocaron 15 discos de tejido en un mortero los cuales se trituraron con nitrógeno líquido homogeneizando la muestra para luego verterla en un tubo tipo Eppendorff.

Posteriormente se calentaron en un bloque seco a 75°C por 2 min.

Se precalentó metanol 70% (v/v) a 70°C, y se agregó 1 mL a cada muestra, se incubó en un baño de agua a 70°C por 20 min. Luego se centrifugó a 6000 rpm 5 min a 18°C. Se extrajo el sobrenadante colocándose en un Eppendorff y ajustando el volumen a 1 mL con metanol 70%.

Se guardaron los extractos de glucosinolatos a -80°C hasta su análisis.

La medición fue realizada en el laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires (Ciudad Autónoma de Buenos Aires) implementando el método analítico de cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masa.

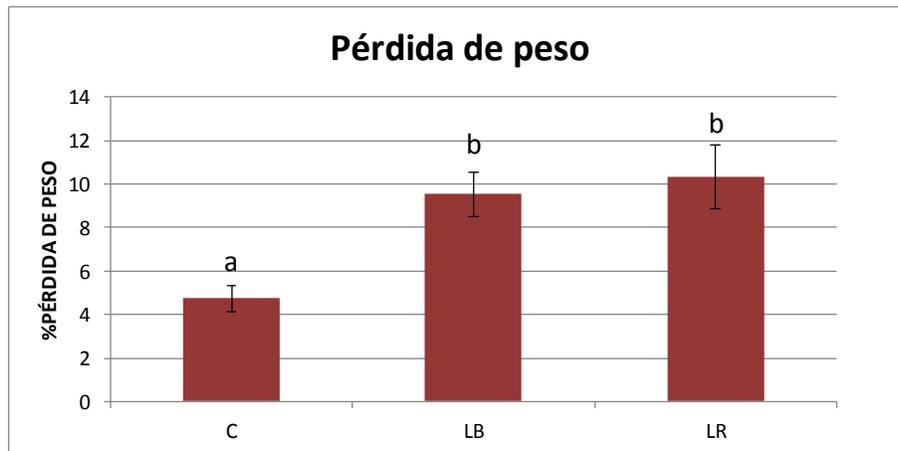
# Resultados:

---

## *Pérdida de peso y conductancia estomática*

Se pesaron las hojas diariamente y se determinó el porcentaje de pérdida de peso al final del almacenamiento.

Las muestras control perdieron aproximadamente un 4,5% del peso inicial, mientras que las muestras tratadas con luz blanca o roja perdieron aproximadamente un 10% de peso inicial, no existiendo diferencias significativas entre las distintas calidades de luz (Figura 7).



**Figura 7:** Pérdida de peso porcentual registrada en el control (C), tratamiento con luz blanca (LB) y con luz roja (LR). Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Antes de aplicar los tratamientos la conductancia estomática fue similar en las muestras control y tratadas (Tabla 6). Después del tratamiento con luz, la conductancia estomática fue significativamente mayor en las hojas de Kale que recibieron el pulso de luz. No se observaron diferencias significativas para la conductancia estomática entre las hojas tratadas con luz blanca y las tratadas con luz roja (Tabla 6).

**Tabla 6:** Conductancia estomática de las hojas de Kale luego de 1 día de tratamiento (D1). Las medidas se realizaron en los controles (C, corresponde a muestras que no recibieron el pulso de luz) y en los tratamientos con luz antes y después de aplicar el pulso de luz correspondiente. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

<b>Tratamientos</b>	<b>Conductancia estomática</b>	
	<b>Antes del tratamiento</b>	<b>Después del tratamiento</b>
<b>C D1</b>	11,33 ± 1,23 <sup>a</sup>	8,17 ± 2,52 <sup>a</sup>
<b>Luz Blanca D1</b>	8,70 ± 0,44 <sup>a</sup>	21,00 ± 1,98 <sup>b</sup>
<b>Luz Roja D1</b>	12,50 ± 2,55 <sup>a</sup>	19,70 ± 3,48 <sup>b</sup>

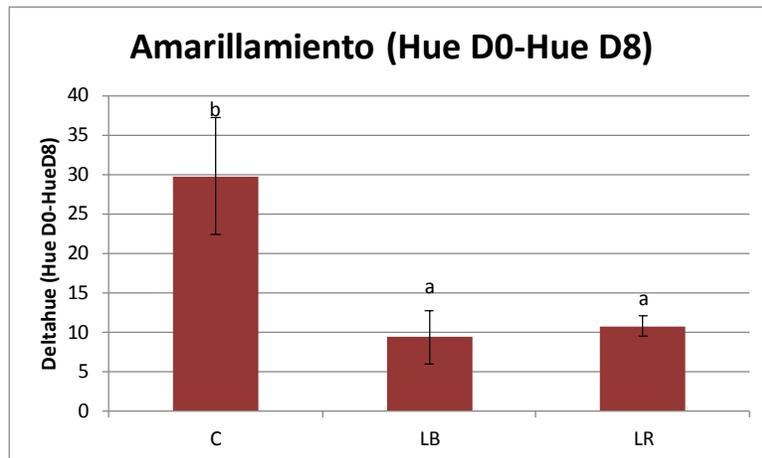
### **Color:**

Se determinó el color superficial de las hojas de Kale utilizando el valor del ángulo Hue (parámetro obtenido con el colorímetro que permite cuantificar los cambios de color entre el verde y el amarillo). A partir de este valor se calculó el amarillamiento como la diferencia del valor de Hue entre el día inicial y el día final del ensayo para cada tratamiento (Hue D0 - Hue D8). Una diferencia mayor del valor de Hue corresponde a un mayor amarillamiento.

Los tratamientos con luz blanca y roja retuvieron el color de las hojas de Kale, lo que podía apreciarse a simple vista (Figura 8), así como también tuvieron un menor amarillamiento (Figura 9), con respecto al control. No se obtuvieron diferencias significativas entre las diferentes calidades de luz (blanca versus roja).

**Figura 8:** Apariencia visual de hojas de Kale.



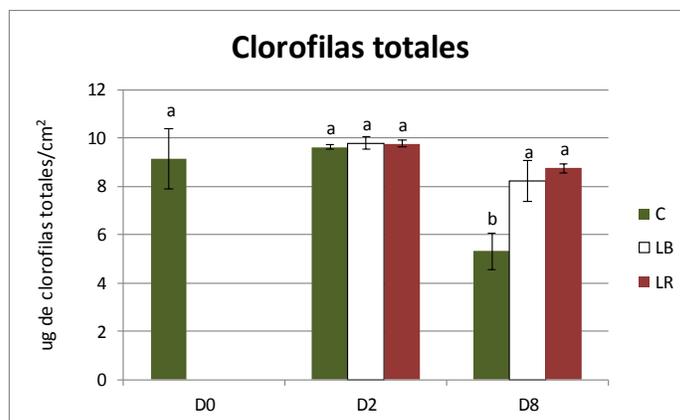


**Figura 9:** Amarillamiento (cambio de Hue entre el inicio y el final del ensayo para cada uno de los tratamientos). Cada barra corresponde al promedio obtenido para las 12 hojas analizadas por tratamiento (C: Control, LB: Luz blanca, LR: Luz roja). Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

### **Contenido de clorofilas**

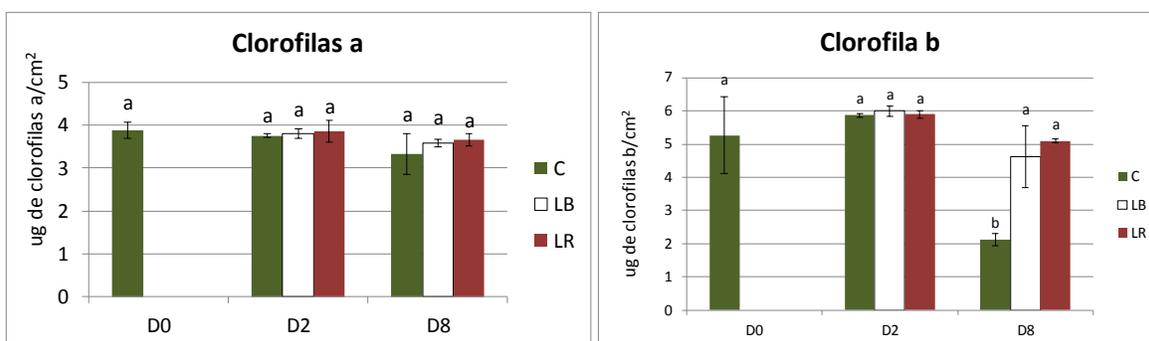
Se analizó el contenido de clorofilas como uno de los parámetros característicos de senescencia foliar.

No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos y el control luego de dos días de almacenamiento. Mientras que sí se observaron diferencias luego de 8 días de almacenamiento, donde los tratamientos con luz blanca y roja presentan un contenido de clorofilas significativamente superior al contenido de clorofilas en el control. Los tratamientos con luz blanca y roja no presentaron diferencias significativas entre ellos (Figura 10).



**Figura 10:** Contenido de clorofilas totales (clorofila a+b) para el control (C) y los dos tratamientos (LB: luz blanca; LR: luz roja) durante el almacenamiento. D0, D2 y D8 corresponden a 0, 2 y 8 días de almacenamiento. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

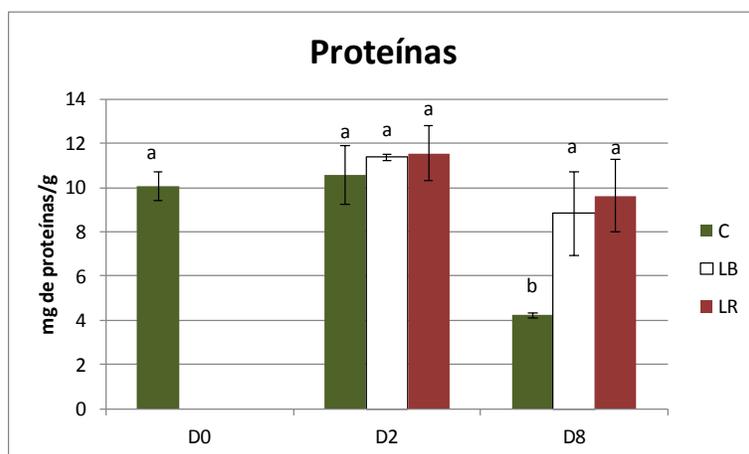
Las clorofilas se degradan a medida que transcurre el tiempo desde la cosecha en los diferentes tratamientos, pero cuando analizamos la degradación de cada una de las clorofilas (a y b) en particular encontramos que la reducción de las clorofilas se debe en mayor medida a las clorofilas de tipo b, ya que en cuanto al contenido de clorofilas a no hay diferencias significativas en el transcurso del ensayo (Figura 11), mientras que en las clorofilas b el contenido disminuyó significativamente en el control con respecto a los tratamientos con luz. No se observó diferencias significativas entre ambos tratamientos con luz (blanca versus roja, Figura 11).



**Figura 11:** Concentración de clorofilas a (izquierda) y b (derecha) en los diferentes tratamientos (C: control; LB: luz blanca; LR: luz roja) y en los distintos días. D0, D2 y D8 corresponden a 0, 2 y 8 días de almacenamiento. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

## Contenido de proteínas

Otro de los parámetros característicos de la senescencia foliar es la degradación de proteínas. En este trabajo analizamos el contenido de proteínas solubles. Si bien entre los días 0 y 2 no hay diferencias significativas entre el control y los tratamientos, sí se observaron diferencias luego de 8 días de almacenamiento, donde los tratamientos con luz blanca y roja presentan un contenido de proteínas solubles significativamente superior al contenido de proteínas en el control. No se obtuvieron diferencias significativas entre las diferentes calidades de luz (blanca versus roja, Figura 12).

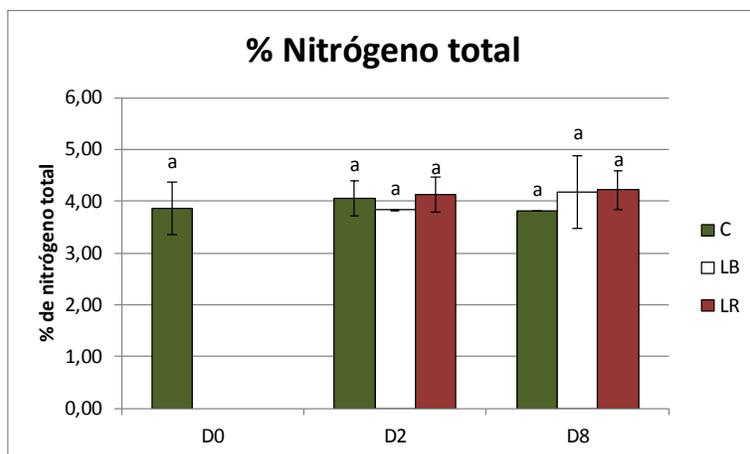


**Figura 12:** Contenido de proteínas en hojas de Kale a lo largo del almacenamiento en los diferentes tratamientos (C: control; LB: luz blanca; LR: luz roja). D0, D2 y D8 corresponden a 0, 2 y 8 días de almacenamiento. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

## Contenido de amonio

Dado que la masiva degradación de proteínas durante la senescencia foliar puede llevar a una acumulación de amonio sobre todo en sistemas que no tienen la posibilidad de reciclar el nitrógeno liberado durante la proteólisis, como es el caso de la senescencia postcosecha analizamos el contenido de amonio durante la senescencia de hojas de Kale luego de 2 y 8 días de almacenamiento.

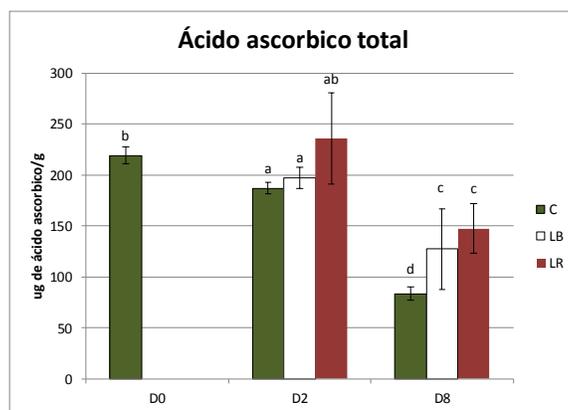




**Figura 14:** Porcentaje de nitrógeno total en hojas de Kale a lo largo del almacenamiento en los diferentes tratamientos (C: control; LB: luz blanca; LR: luz roja) D0, D2 y D8 corresponden a 0, 2 y 8 días de almacenamiento con las correspondientes repeticiones.

### Contenido de ácido ascórbico

Se analizó el contenido de ácido ascórbico, como uno de los parámetros de calidad nutricional. Luego de 2 días de almacenamiento el contenido de ácido ascórbico disminuye en el control y en el tratamiento con luz blanca. Luego de 8 días de almacenamiento, el contenido de AA disminuye en todos los tratamientos, si bien los tratamientos con luz blanca y roja presentan un contenido de ácido ascórbico significativamente superior al del control. Los tratamientos con luz blanca y roja no mostraron diferencias significativas entre ellos luego de 8 días de tratamiento (Figura 15).



**Figura 15:** Contenido de ácido ascórbico a lo largo del almacenamiento en los diferentes tratamientos (C: control; LB: luz blanca; LR: luz roja). D0, D2 y D8 corresponden a 0, 2 y 8 días de almacenamiento. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

## Contenido de glucosinolatos

En el laboratorio del INFIVE se prepararon los extractos metanólicos que fueron enviados al laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires (Ciudad Autónoma de Buenos Aires) para realizar el análisis por CG-MS.

Los resultados obtenidos se presentan en las Tablas 7-9.

**Tabla 7:** Glucosinolatos identificados en hojas de Kale, en el modo iónico negativo con la matriz nHo.

a)	[M-H] <sup>-</sup>	nHo			
		Ctrol t=0	Ctrol tf	Luz blanca	Luz roja
GTR	409.4200	si	si	si	si
GER	421.4900	si	si	si	si
GIB/ GNS	423.46/4 23.45	si	si	si	si

**Tabla 8:** Glucosinolatos identificados en hojas de Kale, en el modo iónico positivo con sodio como aducto con las matrices nHo. CHCA, 9AA, GA.

a)	[M+Na] <sup>+</sup>	Ctrol t=0				Ctrol t=tf				Luz Blanca				Luz Roja			
		nHo	CHCA	9AA	GA	nHo	CHCA	9AA	GA	nHo	CHCA	9AA	GA	nHo	CHCA	9AA	GA
GNA	396.3900	Si	si	-	-	si	-	-	si	si	si	-	si	Si	si	-	si
GER	444.4900	-	-	-	-	-	-	-	-	si	-	-	si	-	-	-	-

**Tabla 9:** Glucosinolatos identificados en hojas de Kale, en el modo iónico positivo con potasio como aducto con las matrices nHo. CHCA, 9AA, GA.

a)	[M+K] <sup>+</sup>	Ctrol t=0				Ctrol t=tf				Luz Blanca				Luz Roja			
		nHo	CHCA	9AA	GA	nHo	CHCA	9AA	GA	nHo	CHCA	9AA	GA	nHo	CHCA	9AA	GA
GBN	426.4100	-	-	-	-	-	-	si	-	-	-	si	-	-	-	-	-
PRO	428.3900	-	-	-	-	-	-	-	si	-	-	-	-	-	-	-	-
SIN	436.4500	-	-	si	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	si	-
GER	460.4900	-	-	si	-	-	-	si	si	-	-	si	si	-	-	-	-
SLB	464.4200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	si	-
GOC/ GBA	478.4600	-	-	-	-	si	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Tabla 10:** Glucosinolatos identificados en hojas de Kale.

Abreviatura	Nombre común	Fórmula química
GTR	glucotropaeolin	$C_{14}H_{19}NO_9S_2$
GER	glucoerucin	$C_{12}H_{22}NO_9S_3$
GIB/ GNS	glucoiberin/ gluconasturtiin	$C_{11}H_{21}NO_{10}S_3$ / $C_{15}H_{21}NO_9S_2$
GNA	gluconapin	$C_{11}H_{19}NO_9S_2$
GBN	glucobrassicinapin	$C_{12}H_{21}NO_{10}S_3$
PRO	progoitrin	$C_{11}H_{19}NO_{10}S_2$
SIN	sinigrin	$C_{10}H_{16}NO_9S_2K$
SLB	sinallim	$C_{14}H_{19}NO_{10}S_2$
GOC/ GBA	glucocheirolin/ glucobarbarin	$C_{11}H_{21}NO_{11}S_3$ / $C_{15}H_{21}NO_{10}S_2$

Los resultados de las tablas pueden resumirse en las siguientes interpretaciones:

En total se identificaron 9 tipos de glucosinolatos en los extractos de Kale (Tabla 10): cinco de ellos pertenecen al grupo de glucosinolatos alifáticos (GER, GNA GBN, PRO, SIN), dos de ellos al grupo de los aromáticos (GTR, SLB), y otros dos que podrían ser alifáticos o aromáticos. En este trabajo no se detectaron glucosinolatos del grupo indólico en las hojas de Kale.

Utilizando la matriz CHCA, se identificó el glucosinolatos GNA, en el D0, el que al final del almacenamiento se detectó en las muestras tratadas con luz blanca y luz roja, mientras que no estuvo presente en las muestras control.

Utilizando la matriz 9AA, el glucosinolato SIN, se identificó en el D0 y al final del almacenamiento se detectó en las muestras tratadas con luz roja, mientras que no estuvo presente en el control y en las muestras tratadas con luz blanca al final del almacenamiento.

## Discusión

---

Para el consumo de Kale se cosechan las hojas maduras y como consecuencia de la cosecha se induce rápidamente la senescencia foliar por lo que la vida postcosecha de las hojas de Kale almacenadas a temperatura ambiente es muy corta (3 o 4 días). Durante la senescencia postcosecha de vegetales verdes, el cambio en el color de las hojas es el síntoma más visible de deterioro, pero ocurren en simultáneo otros cambios que afectan la calidad comercial y nutritiva de estos productos, por ejemplo, la degradación de proteínas y azúcares (Favre et al., 2018).

En el caso de hojas de Kale, Albornoz y Cantwell (2015) han propuesto la medida del amarillamiento (color superficial), la determinación del nivel de clorofilas y carotenoides y la estimación del pardeamiento para definir la apariencia general y evaluar la calidad comercial del producto. Las hojas de Kale se consumen con un color verde brillante, al igual que en otras hortalizas de hoja, éste es el atributo principal de calidad comercial del producto. Después de la cosecha, las hojas maduras de Kale se vuelven amarillas en muy pocos días, y se ha demostrado que la pérdida de calidad comercial y nutricional aumenta con el tiempo (Noichinda et al., 2007) y la temperatura de almacenamiento (Albornoz y Cantwell, 2015). Por lo tanto, la recomendación para el adecuado manejo postcosecha de Kale es utilizar baja temperatura y alta humedad relativa (Noichinda et al., 2007).

La tecnología postcosecha más adecuada es la refrigeración, sin embargo, debido al elevado costo de esta tecnología, en países en desarrollo como el nuestro, muchas de las etapas que ocurren desde la cosecha hasta la llegada al consumidor se llevan a cabo a temperatura ambiente, esto es: almacenamiento transitorio en el lugar de la cosecha, transporte en el camión hasta el sitio de expendio, almacenamiento temporario en el punto de venta y llegada al hogar de los consumidores (Jones et al., 2006; Yuan et al., 2010). Por este motivo, resulta interesante buscar estrategias alternativas a la refrigeración para prolongar la vida postcosecha de las hortalizas a temperatura ambiente. En este sentido una estrategia que se ha comenzado a implementar es el uso de luz visible para prolongar la vida postcosecha de hortalizas aprovechando las facilidades que ofrece la tecnología de LEDs, que se encuentra en pleno desarrollo. En los últimos años se han utilizado con éxito tratamientos con luz continua de baja intensidad y de diferente calidad de luz, i.e. LEDs de luz roja, azul y blanca modificada, para retrasar la senescencia postcosecha de Brócoli y de Repollitos de Bruselas. En ambos casos los tratamientos utilizados lograron retrasar la pérdida de color y conservar la calidad nutricional de estos vegetales (Ma et al., 2014; Hasperué et al., 2016).

En este trabajo estudiamos el efecto de pulsos (1 h) de luz visible de baja intensidad ( $20 \mu\text{moles.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ), aplicados a través de tecnología LEDs sobre la calidad comercial y nutricional de hojas de Kale a temperatura ambiente. Los LEDs ofrecen la ventaja de ser fuentes de luz adecuadas para realizar fácilmente los tratamientos con luz visible sin provocar un aumento de temperatura como ocurre con otras fuentes de luz. Por este motivo, se esperaba que la implementación del uso de LEDs para realizar los tratamientos con luz visible fuera, entre otras cosas, una herramienta que contribuiría a disminuir la pérdida de peso del producto dado que se evitó el aumento de temperatura durante el tratamiento lumínico. Sin embargo, en este trabajo hemos observado que la pérdida de

peso continúa representando una desventaja en la implementación de estos tratamientos (Figura 7). Posiblemente la pérdida de peso se debe a una combinación de varios factores y entre ellos, la apertura estomática juega un rol importante. Los vegetales al ser iluminados, captan un estímulo lumínico que provoca la apertura estomática (Eckert y Kaldenhoff, 2000). Esto ocasiona la pérdida de agua debido a la transpiración, lo que colabora con la pérdida de peso. En este trabajo hemos observado que el tratamiento lumínico utilizado, a pesar de ser de baja intensidad de luz, es suficiente para permitir la apertura estomática durante la iluminación del producto (Tabla 6). Teniendo en cuenta esto, se puede sugerir que los tratamientos con luz presentaron mayor pérdida de peso debido a la pérdida de agua generada por la apertura estomática, mientras que la pérdida de peso en las muestras control fue significativamente inferior ya que estuvieron almacenados permanentemente en oscuridad (Figura 7). Estos resultados coinciden con los reportados por Noichinda et al. (2007) en Kale Chino (*Brassica oleracea var. alboglabra*) donde las hojas tratadas con luz de baja intensidad ( $21,8 \mu\text{moles}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) también presentaron mayor pérdida de peso. El mismo efecto del tratamiento lumínico sobre la pérdida de peso se registró en hortalizas de hoja, tal como cuando se aplicaron pulsos de luz en hojas de Albahaca (Costa et al., 2013 b) o la aplicación de luz continua en hojas de Lechuga (Zhan et al., 2013).

A pesar de la pérdida de peso, podemos afirmar que el tratamiento con pulsos diarios de 1 h de luz visible resultó efectivo para retrasar el amarillamiento ya que tanto en el caso de luz blanca como en el caso de luz roja se obtuvieron hojas de Kale más verdes y de mejor apariencia al final del ensayo (Figura 8 y 9).

El proceso de senescencia se caracteriza por el desmantelamiento del aparato fotosintético, lo que implica la degradación de clorofilas y proteínas cloroplásticas, lo cual afecta el normal funcionamiento de los cloroplastos, provocando la disminución de la actividad fotosintética (Buchanan-Wollaston et al., 2003). Dado que la degradación de

clorofilas y proteínas se consideran como dos eventos marcadores de la senescencia de hojas, utilizamos estos dos compuestos para analizar si los tratamientos con pulsos de luz retrasan la senescencia de las hojas de Kale. Ambos tratamientos con pulsos de luz (blanca o roja) retrasaron la degradación de clorofilas (Figura 10) lo cual coincidió con los resultados del amarillamiento de las hojas (Figuras 9).

Las plantas superiores poseen dos tipos de clorofilas, Clorofila a (Chla) y Clorofila b (Chlb), que se encuentran asociadas a proteínas formando los complejos clorofilas-proteínas ubicados en las membranas tilacoidales y que están involucrados en el proceso de fotosíntesis (Valla, 1979). Al analizar los dos tipos de clorofilas, clorofila a y b, encontramos que la degradación de clorofilas totales, luego de 8 días de almacenamiento, se debe principalmente a la degradación de clorofila b, ya que la degradación de clorofilas b fue mayor que la de clorofila a en todos los casos (Figura 11). Resultados similares fueron reportados por Noichinda et al. (2007) en Kale Chino donde la clorofila a se mantuvo, mientras que la clorofila b disminuyó especialmente en el control, siendo este efecto menor en las hojas tratadas con luz de baja intensidad ( $21,8 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). El mismo comportamiento reporta Favre et al. (2018) en Brócoli tratado con luz blanca de baja intensidad ( $20\text{-}25 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Este resultado puede relacionarse con el hecho de que el primer paso de la degradación de la Chlb es la reducción enzimática (catalizado por la Chlb reductasa) para transformarse en Chla (Hortensteiner, 2006), por lo tanto las evidencias obtenidas en este y otros trabajos sugieren que el efecto de la luz sobre la degradación de clorofilas, sería a nivel de un paso posterior de la vía de degradación de clorofilas a.

En cuanto a las proteínas, podemos mencionar que en el caso de senescencia postcosecha de vegetales, la intensa actividad proteolítica que se induce durante la senescencia conduce a la degradación de proteínas acompañada de una ligera acumulación de amonio producto de este metabolismo (Rolny et al., 2011; Costa et al

2013 a). En este trabajo hemos observado que ambos procesos se ven retrasados por efecto de los tratamientos con luz visible (Figuras 12 y 13) ya que en las hojas de Kale tratadas se observaron mayores contenidos de proteínas solubles al final del almacenamiento y no se observó acumulación de amonio independientemente de la calidad de luz utilizada, mientras que en las muestras control disminuyeron las proteínas y se acumuló amonio al final del ensayo (Figuras 12 y 13). Estos resultados coinciden con el trabajo realizado por Favre et al. (2018) en Brócoli, donde los tratamientos con pulsos de luz visible de 1 o 2 h retuvieron aproximadamente el 70% de las proteínas mientras que las muestras control sólo el 50%. Similares resultados obtuvieron Costa et al. (2013 b) en Albahaca donde el tratamiento de 2 h de luz de baja intensidad ( $30\text{-}37 \mu\text{moles.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) fue efectivo para retener las proteínas.

En cuanto a la acumulación de amonio observada en el control, para el caso de Kale, Albornoz y Cantwell (2015), detectaron un incremento en el contenido de amonio de hojas de Kale, luego de 14 días de almacenamiento a 5°C. Resultados similares a este trabajo se obtuvieron en Albahaca luego de 5 días de almacenamiento a temperatura ambiente en el control, mientras que las hojas tratadas con pulsos de luz blanca no mostraron diferencias significativas con el primer día de almacenamiento (Costa et al., 2013 b).

Dado que durante el almacenamiento postcosecha de Kale el contenido de N total de las hojas no se modificó (Figura 14) a pesar de la degradación de proteínas, podemos sugerir que en el proceso de senescencia la distribución de compuestos nitrogenados proteicos y no proteicos se modificó.

Otro aspecto importante a considerar es el efecto del tratamiento con luz visible de baja intensidad sobre el contenido de otros compuestos que definen la calidad nutricional de Kale, *i. e.* ácido ascórbico, fenoles y glucosinolatos.

Las hojas de Kale, aportan un alto contenido de ácido ascórbico (Becerra-Moreno et al., 2014; Korus, 2011). Sin embargo, su contenido disminuye rápidamente después de la

cosecha, por lo que conservar estos compuestos es muy importante. Con los tratamientos de pulsos de luz blanca y luz roja se logró retrasar la degradación de ácido ascórbico, mientras que en el control la disminución de ácido ascórbico fue significativa (Figura 15). El retraso en la degradación de ácido ascórbico mediado por la luz ha sido reportado previamente en hojas de Espinaca tratadas con pulsos de luz de baja intensidad y almacenadas en frío (Gergoff et al., 2013); y en hojas de Lechuga tratadas con luz continua de baja intensidad a 4°C (Zhan et al., 2013).

Analizamos además los glucosinolatos en las hojas de Kale, otros compuestos de gran importancia en cuanto a la calidad nutricional. Todos los glucosinolatos identificados en este trabajo han sido reportados previamente en Kale y en otras Brassicaceas (Hwang et al., 2019; Deng et al., 2017). La mayoría de los glucosinolatos que identificamos, están presentes tanto en las muestras del día 0, como luego de 8 días de almacenamiento en todos los tratamientos. Ahora bien, de los glucosinolatos identificados, dos de ellos resultaron de interés por sus propiedades nutraceuticos descriptas: gluconapin (GNA) y sinigrin (SIN) (Tabla 11). El glucosinolato sinigrin se ha reportado como anticancerígeno, antibacterial y antioxidante (Hwang et al., 2019). Estos dos compuestos, se detectaron en las muestras del día 0 y en las muestras tratadas con luz roja (GNA y SIN) y luz blanca (GNA) se detectaron al final del almacenamiento, mientras que no se detectaron en las muestras control. Es decir, el tratamiento con luz visible de baja intensidad fue efectivo para conservar glucosinolatos de interés nutricional. Esto concuerda con los ensayos realizados en Brócoli (Kopsell y Sams, 2013; Gómez-Lobato et al., 2017) y en Repollo Pakchoi (*Brassica campestris* L. ssp. *chinesis* (L.) Makino var. *communis* Tsen et Lee) (Yang et al., 2009), en los cuales las muestras tratadas con luz mostraron un retraso en la degradación de los glucosinolatos.

Considerando todos los resultados obtenidos, dado que los tratamientos con pulsos de luz visible de baja intensidad fueron efectivos para retrasar el amarillamiento de las hojas de

Kale, y retrasar la degradación de clorofilas y de proteínas durante el almacenamiento a temperatura ambiente podemos afirmar que retrasaron la senescencia postcosecha. Además podemos sugerir que, dado que no hay diferencias significativas entre los tratamientos con pulsos de luz blanca y roja, la aplicación de pulsos con luz roja sería suficiente para lograr un retraso de la senescencia. Además, los tratamientos con pulsos de luz visible de baja intensidad lograron mantener la calidad nutricional de Kale, ya que retuvo el contenido de ácido ascórbico y glucosinolatos. El efecto de los pulsos de luz sobre la calidad comercial y nutricional del Kale fue independiente de la calidad de luz aplicada en los tratamientos.

## Conclusión

---

Teniendo en cuenta que la oscuridad acelera el proceso de senescencia en el presente trabajo se planteó como hipótesis que la aplicación de pulsos de luz de baja intensidad retrasa la senescencia postcosecha en Kale. Para ello se evaluaron dos tratamientos posibles: pulsos de luz blanca de baja intensidad y de luz roja de baja intensidad. En base a los resultados obtenidos se observó que independientemente de la calidad de luz utilizada en este trabajo, los tratamientos lograron retrasar la senescencia postcosecha en Kale almacenado a temperatura ambiente, preservando tanto la calidad comercial como nutricional.

# Bibliografía

---

- Albornoz, K., y M. I. Cantwell.** 2015. Fresh-cut Kale quality and shelf-life in relation to leaf maturity and storage temperature. In III International Conference on Fresh-Cut Produce: Maintaining Quality and Safety 1141 (pp. 109-116).
- Becerra-Moreno, A., Alanís-Garza, P. A., Mora-Nieves, J. L., Mora-Mora, J. P., y D. A. Jacobo-Velázquez.** 2014. Kale: An excellent source of vitamin C, pro-vitamin A, lutein and glucosinolates. *CyTA-Journal of Food*, 12(3), 298-303.
- Biswal, U. C., y B. Biswal.** 1984. Photocontrol of leaf senescence. *Photochemistry and photobiology*, 39, 875-879.
- Björkman, M., Kligen, I., Birch, A. N., Bones, A. M., Bruce, T. J., Johansen, T. J., Meadow, R., Mølmann, J., Seljåsen L., Smart, L., y D. Stewart.** 2011. Phytochemicals of Brassicaceae in plant protection and human health—Influences of climate, environment and agronomic practice. *Phytochemistry*, 72(7), 538-556.
- Bradford, M.M.** 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–254.
- Brouwer, B., Ziolkowska, A., Bagard, M., Keech, O., y P. Gardeström.** 2012. The impact of light intensity on shade-induced leaf senescence. *Plant, cell & environment*, 35(6), 1084-1098.
- Buchanan-Wollaston, V.E.S., Harrison, E., Mathas, E., Navabpour, S., Page, T., y D. Pink.** 2003. The molecular analysis of leaf senescence—a genomics approach. *Plant Biotechnol. J.* 1, 3-22.
- Costa, M. L., Civello, P. M., Chaves, A. R., y G.A. Martínez.** 2005. Effect of hot air treatments on senescence and quality parameters of harvested broccoli (*Brassica oleracea* L var *Italica*) heads. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(7), 1154-1160.
- Costa L, Vicente A. R., Civello P. M., Chaves A. R. y G. A. Martínez.** 2006. UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets. *Postharv. Biol. Technol.* 39:204-210.
- Costa, M. L., Martínez, D. E., Gomez, F. M., Carrión, C., y J. J. Guamet.** 2013 a. Chloroplast protein degradation: involvement of senescence-associated vacuoles. In: Biswal, B., Krupinska, K., Biswal, U. C. (Eds.). *Advances in Photosynthesis and Respiration Series*, Springer Science + Business Media, Dordrecht, The Netherlands, pp. 417-433.
- Costa, L., Montano, Y. M., Carrión, C., Rolny, N., y J.J. Guamet.** 2013 b. Application of low intensity light pulses to delay postharvest senescence of *Ocimum basilicum* leaves. *Postharvest biology and technology*, 86, 181-191.
- Del Pino, M.** 2014. Guía de cultivo y manejo del Brócoli. Curso de Horticultura y Floricultura. FCAYF. Material editado por el Centro de Estudiantes de la Facultad de Cs. Agrarias y Forestales.
- Deng, M., Qian, H., Chen, L., Sun, B., Chang, J., Miao, H., Cai, C, y Q. Wang.** 2017. Influence of pre-harvest red light irradiation on main phytochemicals and antioxidant activity of Chinese Kale sprouts. *Food chemistry*, 222, 1-5.
- Eckert, M., y R. Kaldenhoff.** 2000. Light-induced stomatal movement of selected *Arabidopsis thaliana* mutants. *Journal of Experimental Botany*, 51(349), 1435-1442.
- Favre, N., Bárcena, A., Bahima, J. V., Martínez, G., y L. Costa.** 2018. Pulses of low intensity light as promising technology to delay postharvest senescence of broccoli. *Postharvest Biology and Technology*, 142, 107-114.
- Gamboa S. B.** 2017. Guía didáctica: producto hortícola y florícola. Curso de Horticultura y Floricultura. FCAYF. Material editado por el Centro de Estudiantes de la Facultad de Cs. Agrarias y Forestales. 26pp.
- Gergoff Grozeff, G. E., Chaves, A. R., y C. G. Bartoli.** 2013. Low irradiance pulses improve postharvest quality of spinach leaves (*Spinacia oleraceae* L. cv *Bison*). *Postharvest Biology and Technology*, 77, 35–42.
- Gómez-Lobato M.E., Civello P.M., Martínez G. A., y D. Frezza.** 2017. Aplicación de tecnologías de irradiación limpias para mejorar la calidad nutracéutica de brotes de Brócoli durante la postcosecha. I Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha, IX Jornadas Argentinas de Biología y Tecnología Poscosecha. 149pp.
- Guamet, J. J.** 2004. La senescencia foliar: incógnitas del desmantelamiento celular. Universidad Nacional de La Plata. AR.
- Gutiérrez T. M., Hoyos O. L. y M. I. Páez.** 2007. Ascorbic acid determination in Gooseberry (*Physalis peruviana* L.), for High-Performance Liquid Chromatography. (HPLC). Facultad de Ciencias Agropecuarias Vol 5 No.1. 10pp.

**Hasperué, J. H., Chaves, A. R., y G. A. Martínez.** 2011. End of day harvest delays postharvest senescence of broccoli florets. *Postharvest biology and technology*, 59(1), 64-70.

**Hasperué, J. H., Rodoni, L. M., Guardianelli, L. M., Chaves, A. R., y G. A. Martínez.** 2016. Use of LED light for Brussels sprouts postharvest conservation. *Scientia Horticulturae*, 213, 281-286.

**Hortensteiner, S.** 2006. Chlorophyll degradation during senescence. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57, 55–77.

**Hurrell, J.A., Ulibarri, E.A., Delucchi, G., y M. L. Pochettino.** 2019. *Biota Rioplatense XIV. Hortalizas. Verduras y legumbres.* Edición L.O.L.A (Literature of Latin America).

**Hwang, I. M., Park, B., Dang, Y. M., Kim, S. Y., y H. Y. Seo.** 2019. Simultaneous direct determination of 15 glucosinolates in eight Brassica species by UHPLC-Q-Orbitrap-MS. *Food chemistry*, 282, 127-133.

**Jones, R. B., Faragher, J. D., y S. Winkler.** 2006. A review of the influence of postharvest treatments on quality and glucosinolate content in broccoli (*Brassica oleracea var italica*) heads. *Postharvest Biol. Technol.* 41, 1-8.

**Kader A.** 1992. *Biología y Tecnología Poscosecha: Una revisión general.* Universidad de California, publicación, 3311, 311-325.

**Kader, A. A.** 2013. Postharvest technology of horticultural crops—An Overview from farm to fork. *Ethiop. J. Appl. Sci. Technol*, 1, 1-8.

**King, G.A., y S.C. Morris.** 1994. Early compositional change during postharvest senescence of broccoli. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119 (5), 1000-1005.

**Kopsell, D. A., y C. E. Sams.** 2013. Increases in shoot tissue pigments, glucosinolates, and mineral elements in sprouting broccoli after exposure to short-duration blue light from light emitting diodes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 138(1), 31-37.

**Korus, A.** 2011. Level of vitamin C, polyphenols, and antioxidant and enzymatic activity in three varieties of Kale (*Brassica oleracea L. var. Acephala*) at different stages of maturity. *International journal of food properties*, 14(5), 1069-1080.

**Koukounaras, A., Siomos, A. S., y E. Sfakiotakis.** 2007. Postharvest CO<sub>2</sub> and ethylene production and quality of rocket (*Eruca sativa* Mill.) leaves as affected by leaf age and storage temperature. *Postharvest Biology and Technology*, 46(2), 167-173.

**LabFerrer.** 2019. Disponible en: <https://www.lab-ferrer.com/sensores/instrumentacion-y-sensores/porometro-conductancia-estomatica>. Último acceso 27 de diciembre de 2019.

**Liebsch, D., y O. Keech.** 2016. Dark-induced leaf senescence: new insights into a complex light-dependent regulatory pathway. *New Phytologist*, 212(3), 563-570.

**Lichtenthaler, H.K.** 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol.* 148, 350– 382.

**Løkke, M. M., Seefeldt, H. F., y M. Edelenbos.** 2012. Freshness and sensory quality of packaged wild rocket. *Postharvest biology and technology*, 73, 99-106.

**Ma, G., Zhang, L., Setiawan, C. K., Yamawaki, K., Asai, T., Nishikawa, F., Maezawa, S., Sato, H., Kanemitsu, N. y M. Kato.** 2014. Effect of red and blue LED light irradiation on ascorbate content and expression of genes related to ascorbate metabolism in postharvest broccoli. *Postharvest Biology and Technology*, 94, 97-103.

**Neugart, S., Fiol, M., Schreiner, M., Rohn, S., Zrenner, R., Kroh, L. W., y A. Krumbein.** 2014. Interaction of moderate UV-B exposure and temperature on the formation of structurally different flavonol glycosides and hydroxycinnamic acid derivatives in Kale (*Brassica oleracea var. sabellica*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(18), 4054-4062.

**Noichinda, S., Bodhipadma, K., Mahamontri, C., Narongruk, T., y S. Ketsa.** 2007. Light during storage prevents loss of ascorbic acid, and increases glucose and fructose levels in Chinese Kale (*Brassica oleracea var. alboglabra*). *Postharvest Biol. Technol.* 44, 312-315.

**Page, T., Griffiths, G., y V. Buchanan-Wollaston.** 2001. Molecular and biochemical characterization of postharvest senescence in broccoli. *Plant Physiology*, 125(2), 718-727.

**Pietragalla, J., y A. Pask.** 2012. Stomatal conductance. *Physiological breeding II: a field guide to wheat phenotyping.* A. Pask, J. Pietragalla, D. Mullan & M. Reynolds (eds.). México, CIMMYT, 15-17.

**Pintos, F., Hasperué J, Rodoni L, Ixtaina P., Vicente A., y G. Martínez.** 2019. Efecto de la aplicación de diferentes intensidades de luz LED sobre la vida poscosecha de Brócoli y Kale. Libro de resúmenes de II Congreso Argentino de Postcosecha. pág 13.

**Podsędek, A.** 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT-Food Science and Technology*, 40(1), 1-11.

**Pugliesi D.** 2008. Chlorophyll ab spectra.PNG. Disponible en: <https://es.wikipedia.org/wiki/Clorofila> \ "/media/Archivo:Chlorophyll\_ab\_spectra-es.svg. Último acceso 15 de diciembre de 2019.

- Rivera-Pastrana D.M., Gardea Béjar A.A., Martínez-Téllez M. A., Rivera-Domínguez M. y G. A. González-Aguilar.** 2007. Postharvest Biochemical Effects of UV-C Irradiation on Fruit and Vegetables. *Revista Fitotécnica Mexicana*. Vol. 30 (4): 361 – 372pp.
- Rolny, N.S., Costa, L., Carrion, C., y J. J. Guiamet.** 2011. Is the electrolyte leakage assay an unequivocal test of membrane deterioration during leaf senescence? *Plant Physiol. Biochem.* 49, 1220–1227.
- Šamec, D., Urlić, B., y B. Salopek-Sondi.** 2019. Kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) as a superfood: Review of the scientific evidence behind the statement. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(15), 2411-2422.
- Sommantico, S.** 2018. Kale: la hortaliza que está en la mira de todos por sus propiedades nutritivas. Disponible en: <https://www.infocampo.com.ar/kale-la-hortaliza-que-esta-en-la-mira-de-todos-por-sus-propiedades-nutritivas/>. Último acceso 29 de noviembre de 2019.
- Tamashiro, S.** 2017. Kale, una hortaliza en auge que interesa a investigadores. Disponible en: <http://sobrelatierra.agro.uba.ar/kale-una-hortaliza-en-auge-que-interesa-a-investigadores/>. Último acceso: 29 de noviembre del 2019.
- Thavarajah.** 2019. Effect of cover crops on the yield and nutrient concentration of organic Kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). *Scientific reports*, 9(1), 1-8.
- Tian, Q., Rosselot, R. A., y S. J. Schwartz.** 2005. Quantitative determination of intact glucosinolates in broccoli, broccoli sprouts, Brussels sprouts, and cauliflower by high-performance liquid chromatography–electrospray ionization–tandem mass spectrometry. *Analytical Biochemistry*, 343(1), 93-99.
- Tropicos.org.** 2019. Missouri Botanical Garden. Disponible en: <http://www.tropicos.org/Name/100358311?langid=66>. Último acceso 10 de septiembre del 2019
- USDA.** 2019. Disponible en: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/168421/nutrients>. Último acceso 20 de noviembre del 2019.
- Valla, J.** 1979. *Morfología de las plantas superiores*. Ed. Hemisferio Sur.
- Viña S.Z., y M. C. Arango.** 2016. *Guía práctica. Curso de Bioquímica y Fitoquímica*. FCAYF, UNLP. Material editado por el Centro de Estudiantes de la Facultad de Cs. Agrarias y Forestales. 154 pp.
- Walsh, R. P., Bartlett, H., y F. Eperjesi.** 2015. Variation in carotenoid content of Kale and other vegetables: A review of pre-and post-harvest effects. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(44), 9677-9682.
- Yang, J., Zhu, Z., y J. Gerendás.** 2009. Interactive effects of phosphorus supply and light intensity on glucosinolates in pakchoi (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *communis*). *Plant and soil*, 323(1-2), 323-333.
- Yuan, G. Sun, B., Yuan, J., y Q. Wang.** 2010. Effect of 1-methylcyclopropene on shelf life visual quality antioxidant enzymes and health-promoting compound in broccoli florets. *Food Chem.* 118, 774-781.
- Zhan, L., Hu, J., Li, Y., y L. Pang.** 2012. Combination of light exposure and low temperature in preserving quality and extending shelf-life of fresh-cut broccoli (*Brassica oleracea* L.). *Postharvest Biology and Technology*, 72, 76-81.
- Zhan, L., Hu, J., Ai, Z., Pang, L., Li, Y., y M. Zhu.** 2013. Light exposure during storage preserving soluble sugar and l-ascorbic acid content of minimally processed romaine lettuce (*Lactuca sativa* L. var *longifolia*). *Food Chem.* 136, 273-278.