

# ***MICRO-HORTALIZAS DE RÚCULA Y RABANITOS COMO ALTERNATIVA NOVEDOSA DE ALIMENTOS SALUDABLES***



Tesina para obtener el título de grado de Licenciado en Bromatología

**Alumno:** Roberto Felipe Bafumo

**Directora:** Lic. Daniela Andrea Ramirez

**Co-Directora:** Dra. Alejandra Camargo

Facultad De Ciencias Agrarias- Universidad Nacional De Cuyo

Año: 2022

## Resumen

En los últimos tiempos hay una mayor conciencia de las personas hacia el consumo de alimentos saludables, con una mayor ingesta de frutas, verduras, carnes blancas y una menor ingesta de alimentos procesados. Sumado al consumo de alimentos saludables también resulta importante atender problemas como la sustentabilidad de los alimentos que consumimos, tratando de minimizar recursos limitados, como el agua en la producción de los mismos.

El presente trabajo tiene como finalidad estudiar micro-hortalizas o *microgreens* de rábano y rúcula desde su cultivo hasta su composición nutricional, incluyendo compuestos secundarios beneficiosos para la salud como isotiocianatos y compuestos fenólicos.

En lo que respecta al cultivo de los mismos se buscó optimizarlos siguiendo lineamientos de desarrollo sostenible, como el uso de sustratos sustentables, como la fibra de coco, o añadiendo las cantidades de agua suficientes. Finalmente, después de la cosecha se evaluó la curva de crecimiento de los microgreens de rúcula y rábano.

En lo referido a la composición nutricional se hicieron los análisis en el laboratorio de Ensayos fisicoquímicos del departamento de Servicios Analíticos Cuyo de INTI (Instituto Nacional de Tecnología Industrial), donde se realizó humedad, hidratos de carbono, proteínas, grasa total, fibra total y valor calórico.

En los resultados de isotiocianatos y compuestos fenólicos se obtuvieron resultados satisfactorios, empleando técnicas analíticas modernas, con una mayor sensibilidad que las técnicas tradicionales usadas para estos compuestos, y que a su vez emplean un menor uso de solventes orgánicos perjudiciales para el medio ambiente.

En función de los análisis estadísticos se comprobó que las micro-hortalizas de rábano y rúcula son una buena alternativa novedosa si se quiere consumir alimentos saludables, con la ventaja de que pueden ser cultivados bajo condiciones hogareñas.

**Palabras clave:** Microgreens-Brásicas-Alimentos funcionales- Sustentabilidad- HPLC-UV, DLLME

## AGRADECIMIENTOS

A mi familia por su paciencia y apoyo brindado.

A mis amigos por acompañarme y estar siempre.

A mis compañeros/as de la facultad por cada momento compartido.

A mi directora de tesis, Lic. Daniela Ramirez, por ayudarme en cada paso, brindándome valiosos consejos, tenderme su ayuda cuando la necesite y darme su apoyo.

A mi Codirectora, la Doctora Alejandra Camargo por abrirme las puertas del laboratorio desde el primer instante y la confianza depositada para llevar a cabo la presente tesis.

A la Ing Agr. Florencia Allogia por compartir parte de su beca doctoral, por su ayuda, organización y apoyo.

A mis compañeras de trabajo de la EEA INTA MZA, Licenciadas Rosanna Navarro y Eugenia Turaglio por su ayuda, apoyo y paciencia.

A la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo por la formación recibida.

# ÍNDICE

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
1.1	IMPORTANCIA DEL CONSUMO DE FRUTAS Y VERDURAS EN LA DIETA	1
1.2	IMPORTANCIA DE CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LOS ALIMENTOS	2
1.2.1	<i>Alimentos funcionales</i>	3
1.3	BRÁSICAS	5
1.3.1	<i>Importancia económica y funcional</i>	5
1.3.2	<i>Efectos biológicos asociados al consumo de brásicas</i>	5
1.3.3	<i>El Caso Particular De La Rúcula y Rábano</i>	7
1.3.4	<i>Compuestos funcionales presentes en brásicas</i>	11
1.4	PROBLEMÁTICA A ENFRENTAR EN EL SIGLO XXI CON RESPECTO A LA ALIMENTACIÓN	24
1.5	MICROGREENS	24
1.5.1	<i>Antecedentes de cultivo en microgreens de brásicas</i>	25
1.5.2	<i>Sustentabilidad de los microgreens</i>	27
1.6	FUNDAMENTACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	27
<b>2</b>	<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b>	<b>29</b>
2.1	HIPÓTESIS GENERAL	29
2.2	OBJETIVO GENERAL:	29
2.3	OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	29
<b>3</b>	<b>CULTIVO DE MICROGREENS</b>	<b>30</b>
3.1	INTRODUCCIÓN	30
3.1.1	<i>Ventajas del cultivo de microgreens</i>	30
3.1.2	<i>Parámetros implicados en la producción de microgreens</i>	31
3.2	METODOLOGÍA EMPLEADA	32
3.2.1	<i>OPTIMIZACIÓN DEL CULTIVO DE MICROGREENS DE RABANO Y RÚCULA</i>	32
3.2.2	<i>EVALUACIÓN DE LA CURVA DE CRECIMIENTO</i>	37
3.3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
3.3.1	<i>Optimización del cultivo de microgreens de rabanito y rúcula</i>	40
3.3.2	<i>Evaluación de la curva de crecimiento</i>	54
3.4	CONCLUSIONES PARCIALES	60
3.4.1	<i>Rábano</i>	60
3.4.2	<i>Rúcula</i>	60
<b>4</b>	<b>ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN NUTRICIONAL Y FITOQUÍMICA</b>	<b>61</b>
4.1	INTRODUCCIÓN	61
4.2	MATERIALES Y MÉTODOS	62
4.2.1	<i>Composición nutricional</i>	62
4.2.2	<i>Isotiocianatos</i>	62
4.2.3	<i>Compuestos fenólicos</i>	64
4.3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	66
4.3.1	<i>Composición Nutricional</i>	66
4.3.2	<i>Isotiocianatos</i>	68
4.3.3	<i>Compuestos fenólicos</i>	73
4.4	CONCLUSIONES PARCIALES	74
<b>5</b>	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>75</b>

<b>6</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>76</b>
<b>7</b>	<b>ANEXO 1.....</b>	<b>85</b>
7.1	ANÁLISIS DE LA VARIANZA PARA EL PESO FRESCO.....	87
7.2	ANÁLISIS DE LA VARIANZA PARA EL ALTO DE PLANTA.....	87
7.3	ANÁLISIS DE SUPUESTOS .....	88
7.3.1	<i>Peso Fresco</i> .....	88
7.3.2	<i>Alto De Planta</i> .....	90
7.4	SALIDA DE MODELOS NO RECOMENDADOS POR EL SOFTWARE .....	91
7.4.1	<i>Peso fresco</i> .....	91
7.4.2	<i>Alto de planta</i> .....	93
<b>8</b>	<b>ANEXO 2.....</b>	<b>95</b>
8.1	ANÁLISIS DE LA VARIANZA PARA EL PESO FRESCO.....	96
8.2	ANÁLISIS DE LA VARIANZA PARA LA ALTURA DE PLANTA.....	96
8.3	ANÁLISIS DE LA VARIANZA PARA EL ÁREA FOLIAR .....	96
8.4	ANÁLISIS DE SUPUESTOS .....	97
8.4.1	<i>Peso Fresco</i> .....	97
8.4.2	<i>Alto De Planta</i> .....	98
8.4.3	<i>Área Foliar</i> .....	100
8.5	SALIDA DE MODELOS NO RECOMENDADOS POR EL SOFTWARE .....	101
8.5.1	<i>Peso fresco</i> .....	101
8.6	ALTO DE PLANTA.....	103
8.6.1	<i>Modelo 2FI</i> .....	103
8.6.2	<i>Modelo cuadrático</i> .....	103
8.6.3	<i>Área foliar</i> .....	104

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Sustancias nutraceuticas según su fuente alimentaria (Flórez et al., 2010). -----	4
Tabla 2. Revisión de estudios de casos de control del consumo de brásicas con respecto al riesgo de cáncer (Los números son números de estudios con al menos 1 especie de brásica estudiada). Fuente: (Van Poppel et al., 2000).-----	6
Tabla 3. Lista de plantas brásicas con actividad farmacológica. Fuente: (Shankar et al., 2019) -----	6
Tabla 4. Composición nutricional de la rúcula en g%g de parte comestible. Fuente: (USDA, 2019). -	8
Tabla 5. Composición nutricional del rabanito en g%g de parte comestible. Fuente: (USDA, 2019)10	
Tabla 6. Contenido de vitaminas en 5 especies de brásicas en mg%g de peso fresco. Fuente: (Singh et al., 2007). Las letras diferentes indican diferencias significativas dentro de las columnas según la prueba de Duncan con un $P \leq 0,05$ . -----	12
Tabla 7. Glucosinolatos, indoles y vitaminas reportados en rábano, rúcula y repollo. Fuente: Propia -----	15
Tabla 8. Isotiocianatos reportados en distintas especies de brásicas. Fuente: Propia -----	17
Tabla 9. Núcleo estructural de los principales grupos de compuestos fenólicos. Fuente: (Romero, 2016).-----	20
Tabla 10. Compuestos fenólicos reportados en rábano y rúcula. Fuente: Propia. -----	23
Tabla 11. Dispositivo D-Optimal para optimizar el cultivo de microgreens de rábano. Fuente: Design Expert. -----	34
Tabla 12. Dispositivo tipo 3 level factorial para la optimización del cultivo de microgreens de rúcula. Fuente: Design Expert. -----	36
Tabla 13. Condiciones elegidas como óptimas para nuestro cultivo de microgreens de rabanito. Fuente: Design expert. -----	44
Tabla 14. Mejores combinaciones de los factores estudiados para las condiciones elegidas previamente en microgreens de rabanito. Fuente: Design expert. -----	45
Tabla 15. Condiciones elegidas como óptimas para nuestro cultivo de microgreens de rúcula. Fuente: Design expert. -----	52
Tabla 16. Mejores combinaciones de los factores estudiados para las condiciones elegidas previamente en microgreens de rúcula. Fuente: Design expert -----	52
Tabla 17. Datos del ensayo en rúcula, expresando los resultados en valor medio +/- . -----	54
Tabla 18. Datos del ensayo en rabanito, expresando los resultados en valor medio +/- . -----	54
Tabla 19. Determinaciones y métodos realizados en INTI para el análisis de microgreens de rúcula y rábano-----	62
Tabla 20. Composición nutricional de microgreens de rábano y rúcula. Los resultados se muestran en g % g. -----	66
Tabla 21. Contenido de isotiocianatos y fenólicos en microgreens de rábano. Los resultados se expresan en mg/kg de material vegetal seco. Fuente: Infostat. -----	69
Tabla 22. Contenido de isotiocianatos y compuestos fenólicos en microgreens de rúcula. Los resultados se expresan en mg/kg de material vegetal seco. Fuente: Infostat.-----	69
Tabla 23. Diseño creado por el software Design expert® para determinar condiciones óptimas de cultivo en microgreens de rabanito. -----	85
Tabla 24. Diseño inicial de 3 niveles factoriales bajo un estudio de tipo de superficie respuesta llevado a cabo aleatoriamente por el software Design expert. -----	95

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Proceso de Biosíntesis de glucosinolatos. Fuente: (Adaptación Fahey et al., 2001). .....	13
Figura 2. Degradación de glucosinolatos mediante la enzima mirosinasa que cataliza la formación de aglicona (Rincón, 2014). .....	14
Figura 3. Un resumen de los potenciales efectos benéficos para la salud de los polifenoles. Fuente: Adaptación (Del Rio et al., 2013). .....	18
Figura 4. Principales tipos de flavonoides. Fuente: (Cozzano, 2015). .....	21
Figura 5. Partes de un microgreens de brócoli (Adaptación de Choe et al., 2018). .....	25
Figura 6. Método de producción de microgreens más común. Fuente: (Zhang et al., 2020). .....	32
Figura 7. Microgreens de rúcula a los ocho días de la siembra. ....	39
Figura 8. Microgreens de rabanitos a los ocho días de la siembra. ....	39
Figura 9. Distribución del peso fresco medio obtenido en microgreens de rabanito según el tipo de sustrato. Fuente: Infostat. ....	40
Figura 10. Distribución de la altura media de planta de microgreens de rabanito según el tipo de sustrato. Fuente: Infostat. ....	40
Figura 11. Gráfico de puntos de la altura media de planta en microgreens de rabanito según la densidad de siembra aplicada. Fuente: Infostat. ....	41
Figura 12. Gráfico de puntos del peso fresco medio de planta en microgreens de rabanito según la densidad de siembra aplicada Fuente: Infostat. ....	42
Figura 13. Gráfico de puntos del peso fresco medio obtenido en microgreens de rabanito según la activación por remojo realizada. Fuente: Infostat. ....	42
Figura 14. Gráfico de puntos de la altura media de planta obtenida en microgreens de rabanito según la activación por remojo realizada. Fuente: Infostat. ....	43
Figura 15. Efecto de los sustratos según la densidad de siembra en la altura de planta en microgreens de rabanito. Fuente: Design expert. ....	43
Figura 16. Gráfico de superficie respuesta obtenido para el cultivo de microgreens de rábano según la densidad de siembra, tiempo de activación por remojo y con Mezcla Cocomix como sustrato. Fuente: Design Expert. ....	45
Figura 17. Microgreens de rúcula con un 13% de riego al día 7 .....	46
Figura 18. Gráfica de barras del peso fresco medio (g) de microgreens de rúcula según el sustrato. Fuente: Infostat. ....	47
Figura 19. Gráfica de barras del valor medio de la altura de planta (cm) de microgreens de rúcula según cada sustrato. Fuente: Infostat. ....	47
Figura 20. Gráfica de barras del valor medio del área foliar en cm <sup>2</sup> de microgreens de rúcula según el sustrato. Fuente: Infostat. ....	48
Figura 21. Distribución del peso fresco medio (g) obtenido en microgreens de rúcula según la densidad (g/cm <sup>2</sup> ). Fuente: Infostat. ....	48
Figura 22. Distribución de la altura media de planta (cm) obtenida en microgreens de rúcula según la densidad (g/cm <sup>2</sup> ). Fuente: Infostat. ....	49
Figura 23. Distribución del área foliar media (cm <sup>2</sup> ) según la densidad de siembra. Fuente: Infostat. ....	49
Figura 24. Distribución del peso fresco medio (g) de microgreens de rúcula según el riego (%). Fuente: Infostat. ....	50

Figura 25. Distribución de la altura media de la planta (cm) de microgreens de rúcula según el riego (%). Fuente: Infostat.....	50
Figura 26. Distribución del área foliar media (cm <sup>2</sup> ) de microgreens de rúcula según el riego aplicado. Fuente: Infostat. ....	51
Figura 27. Gráfico de superficie respuesta obtenido para el cultivo de microgreens de rúcula según la densidad de siembra, porcentaje de riego, deseabilidad y con Mezcla Cocomix como sustrato. Fuente: Design Expert. ....	53
Figura 28. Gráfico de dispersión del alto de planta de microgreens del rábano con respecto a los días. Fuente: Origin. ....	54
Figura 29. Gráfico de dispersión de la relación del alto de tallo de microgreens de rábano con relación a los días transcurridos. Fuente: Origin.....	55
Figura 30. Gráfico de dispersión de la relación del área foliar de microgreens de rábano con respecto a los días. Fuente: Origin.....	56
Figura 31. Gráfico de dispersión de la relación del peso fresco por planta en cm de microgreens de rábano con respecto a los días. Fuente: Origin.....	56
Figura 32. Gráfico de dispersión del alto de planta en cm de microgreens de rúcula según los días. Fuente: Origin.....	57
Figura 33. Gráfico de dispersión del alto de tallo de microgreens de rúculas con respecto a los días. Fuente. Origin.....	57
Figura 34. Gráfico de dispersión del área foliar de microgreens de rúcula con respecto a los días. Fuente: Origin.....	58
Figura 35. Gráfico de dispersión de peso fresco por planta de microgreens de rúcula según los días de crecimiento. Fuente: Origin. ....	59
Figura 36. Cromatograma obtenido en microgreens de rábano a una longitud de onda de 240 nm para determinar ITCs Fuente: Propia .....	70
Figura 37.. Cromatograma obtenido en microgreens de rúcula a una longitud de onda de 240 para determinar ITCs. Fuente: Propia. ....	70
Figura 38. Barrido espectral del compuesto sativina. Fuente: (Fechner et al., 2018). ....	71
Figura 39. Barrido espectral de sativina obtenido. Fuente: Propia.....	72

## 1 Introducción

### 1.1 Importancia Del Consumo De Frutas y Verduras En La Dieta

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda consumir por lo menos 400 g diarios de frutas y verduras para obtener sus beneficios para la salud y nutricionales (FAO, 2020). Se estima que la ingesta insuficiente de frutas y verduras es la causa de alrededor del 14% de las muertes por cáncer gastrointestinal en todo el mundo, del 11% de las muertes por cardiopatías isquémicas y del 9% de las muertes por accidentes cerebrovasculares (Afshin et al., 2019).

Una dieta equilibrada es aquella que aporta todos y cada uno de los nutrientes necesarios, en las cantidades adecuadas, atendiendo al estado fisiológico particular de cada individuo. El conocimiento del valor nutritivo de los diferentes grupos de alimentos es imprescindible para poder establecer pautas dietéticas adecuada (Anchía & Hernández, 2000).

Las hortalizas son una parte muy importante de la dieta. Casi todas son ricas en caroteno y vitamina C además contienen importantes cantidades de calcio, hierro y otros minerales. Por lo general, suministran sólo un poco de energía y muy poca proteína. Una gran proporción de su contenido consiste en residuo no digerible, que agrega volumen o fibra a las heces (FAO, 2002).

Las dietas ricas en verduras y frutas se han relacionado con tasas más bajas de cáncer y enfermedades coronarias. Se informa que los fenoles, flavonoides, isoflavonas, terpenos, glucosinolatos y otros compuestos de origen vegetal, que están presentes en la dieta diaria de personas que consumen frutas y verduras, tienen propiedades antioxidantes y anticancerígenas y un amplio espectro de actividades de bloqueo de tumores (Drewnowski & Gomez-Carneros, 2000).

Además de los beneficios del consumo de frutas y hortalizas nombrados previamente como hay otros grandes beneficios, entre los cuales se destaca:

- Crecimiento y desarrollo de niños: Las frutas y verduras son ricas en precursores de vitamina A, hierro, calcio y ácido fólico, lo que ayuda a fortalecer el sistema inmunológico
- Una vida más larga
- Mejor salud mental: Comer entre 7-8 porciones de frutas y verduras está relacionado con un menor riesgo de depresión y ansiedad
- Menor riesgo de obesidad
- La ingesta adecuada de frutas y verduras puede reducir la gravedad de algunas enfermedades infecciosas

Entre la amplia variedad de frutas y verduras que se producen en el mundo, se destacan las verduras del género *Brásica* de la familia *Brassicaceae*, debido a que requieren un cultivo muy exigente en cuanto a nutrientes, tienen un gran aporte nutritivo y además poseen actividad antioxidante y anticancerígena.

## 1.2 Importancia de caracterización fisicoquímica de los alimentos

*“El conocimiento de la composición química de los alimentos es el primer elemento esencial en el tratamiento alimentario de las enfermedades o en cualquier estudio cuantitativo de la nutrición humana”* (Mccance & Widdowson, 1946).

Esta frase resume en gran medida la importancia del conocimiento de la composición química de los alimentos. El desconocimiento del perfil nutricional y funcional de los mismos, conlleva a la falta de sustento científico para hacer recomendaciones valederas de consumo. En el contexto actual, este hecho es de sustancial importancia ya que las personas buscan mejorar su salud, su bienestar y poder vivir más modificando sus hábitos de consumo, por lo que resulta imperativo conocer la composición de los alimentos y establecer dosis adecuadas de ingesta para lograr verificar los efectos biológicos aseverados.

Los datos de composición de alimentos se utilizan en estudios de investigación sobre los efectos de la alimentación en la salud, la reproducción, el crecimiento y el desarrollo. También se usan para preparar regímenes de alimentación con una composición específica de nutrientes en la práctica clínica, en la formulación de los tipos de raciones y en la preparación de los suministros de alimentos de urgencia. Los datos sobre la composición también se utilizan a nivel nacional e internacional en la evaluación del valor nutricional de los productos alimenticios consumidos por las personas y las poblaciones (Greenfield & Southgate, 2006).

El reconocimiento de la intervención de la alimentación en la aparición de numerosas enfermedades ha dado lugar a un aumento del número y el alcance de los estudios sobre la relación entre la alimentación, la salud y enfermedad, los cuales han prestado particular atención sobre todo a los datos relativos a los nutrientes y compuestos bioactivos (Greenfield & Southgate, 2006).

En octubre de 1945 la Organización de las Naciones Unidas creó su primer organismo especializado: La ONUAA (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). La ONUAA recurrió en un principio a datos sobre composición de alimentos en la fase inicial para la elaboración de las primeras encuestas alimentarias mundiales. Entonces como ocurre ahora, el apoyo a la planificación y producción agrícolas dependía del conocimiento del contenido de los alimentos, en lo que respecta a los nutrientes necesarios para mantener la salud. La información sobre los componentes de los alimentos ha sido siempre importante para el control de la calidad de los alimentos frescos y elaborados.

En el decenio de 1990, el aumento de las aplicaciones de la información sobre composición de alimentos, así como la necesidad de datos más abundantes y precisos para formular políticas y hacer frente a las preocupaciones sanitarias han puesto de relieve la importancia de redoblar los esfuerzos para promover actividades y programas relacionados con la composición de alimentos. En la actualidad, tienden a aumentar en todo el mundo las oportunidades para llevar a cabo actividades sobre composición de alimentos, asociadas con una aplicación más amplia de estos datos. Sus usos de los datos incluyen, además de las aplicaciones tradicionales y todavía cruciales, la evaluación de la suficiencia de las dietas y la investigación de la relación entre dietas y salud. Abarcan ámbitos como el comercio mundial, el etiquetado de los alimentos, la elaboración de productos alimenticios y la información a los consumidores (Morón, Zacarías, & De Pablo, 1997).

### 1.2.1 *Alimentos funcionales*

Gracias a los avances en el conocimiento de la composición química de los alimentos surgieron los alimentos funcionales o FOSHU.

Los FOSHU (Food With Specific Health Uses) o alimentos funcionales, se caracterizan por tener efectos benéficos específicos en la salud del consumidor como resultado de sus ingredientes (prebióticos, probióticos, antioxidantes, ácidos grasos omega-3, ácido fólico, fitoesteroles, fitoestrógenos, entre otros), o porque se le han removido aquellos componentes del alimento que pueden tener un efecto perjudicial en la salud, como por ejemplo la remoción de componentes alérgenos, irritantes, hipercalóricos, entre otros (Valenzuela B. et al., 2014). . El efecto positivo de estas modificaciones alimentarias, de adición o de remoción, debe ser evaluado previamente con criterios técnicos y respaldo científico y la autorización de los productos con características de FOSHU incluye la revisión de mensajes saludables según el efecto benéfico en la salud establecido a partir de su consumo (Valenzuela B. et al., 2014).

El desarrollo de alimentos funcionales en la última década ha gozado de un gran interés por parte de los sectores comercial, académico y gubernamental. Productos alimenticios con declaraciones de propiedades saludables que da fe de la capacidad funcional para promover la salud que se extiende más allá de la provisión de nutrientes esenciales. aceptado por los consumidores y probablemente resulte en una disminución de la morbilidad y mortalidad, y mejor calidad de vida en la población en general. (Jones & Jew, 2007)

Un compuesto nutracéutico se puede definir como un suplemento dietético, presentado en una matriz no alimenticia (píldoras, cápsulas, polvo, etc.), de una sustancia natural bioactiva concentrada, presente usualmente en los alimentos y que, tomada en dosis superior a la existente en esos alimentos, presumiblemente, tiene un efecto favorable sobre la salud mayor que el que podría tener el alimento normal. Por tanto, se diferencian de los medicamentos, ya que estos suelen ser productos de síntesis y no tienen en su mayoría un origen biológico natural (Tojo Sierra et al., 2001).

Dentro de la amplia gama de compuestos bioactivos que puede tener un alimento funcional o un nutracéutico están los fitoquímicos. Los fitoquímicos son compuestos secundarios sin funcionalidad de nutrir que están presentes en frutas y hortalizas (Gasaly et al., 2020).

En la **tabla 1** se hace un breve resumen de compuestos nutracéuticos agrupados por sus fuentes alimentarias. De acuerdo a lo explicado anteriormente los nutracéuticos de la primera columna son fitoquímicos.

Tabla 1. Sustancias nutraceuticas según su fuente alimentaria (Flórez et al., 2010).

Plantas	Animal	Microbiana
$\beta$ -glucano	Ácido linoleico conjugado (CLA)	Saccharomyces boulardii (levadura).
Ácido ascórbico	Ácido Eicosapentaenoico (EPA)	Bifidobacterium bifidum.
g-tocotrienol	Ácido Docosahexaenoico (DHA)	B. longum; B. infantis.
Quercetina	Esfingolípidos	Lactobacillus acidophilus (LC1).
Luteolina	Colina	L. acidophilus (NCFB 1748).
Celulosa	Lecitina	Streptococcus salvarius (subs. Thermophilus).
Luteína	Calcio	
Ácido gálico	Coenzima Q10	
Alcohol perillí-lico	Selenio	
Indol-3-carbonol	Zinc	
Pectina	Creatina	
Daidzeína	Minerales	
Glutati3n		
Potasio		
Alicina		
d-limoneno		
Genisteína		
Licopeno		
hemicelulosa		
Lignina		
Capsaicina		
Geraniol		
$\beta$ -ionona		
$\beta$ -tocoferol		
$\beta$ -caroteno		
Selenio		
Zeaxantina		
Minerales		

Cabe señalar que se espera que los productos a base de fitoquímicos sean sustancialmente más seguros, con efectos secundarios menores que los medicamentos farmacéuticos; sin embargo, todavía hay una falta de legislaciones estandarizadas sobre sus recomendaciones de producción, fabricación y consumo.

Lo anterior se relaciona con el hecho de que el contenido cuali-cuantitativo de fitoquímicos en frutas y verduras varía según la temporada, clima, regiones, entre otros factores (Tiwari & Cummins, 2013). En este sentido, es imprescindible un análisis analítico exhaustivo para caracterizar adecuadamente cada producto natural. Las metodologías analíticas también ayudan a comprender mejor los efectos beneficiosos para la salud de los compuestos bioactivos.

Por otro lado, entre las verduras que se destacan por su alto contenido de fitoquímicos son las de la familia *Brassicaceae*. Las verduras *Brassica* contienen glucosinolatos con productos de degradación como isotiocianatos específicos e indoles. que poseen muchos beneficios fisiológicos para la salud, incluyendo propiedades anticancerígenas Además tienen un rico contenido en polifenoles y muchas especies poseen altas concentraciones de Vitamina C.

## 1.3 BRÁSICAS

### 1.3.1 *Importancia económica y funcional*

Las *Brassicaceae* (*Cruciferae*), es un grupo monofilético de aproximadamente 338 géneros y unas 3709 especies (Al-Shehbaz et al., 2006). Las hortalizas de la familia *Brassicaceae* se siembran y consumen ampliamente en todo el mundo, sus especies representan una multitud de órganos comestibles como raíces, bulbos, cabezas y hojas (El-Nakhel et al., 2021). Esta familia incluye especies que poseen un especial interés científico, económico y agronómico, incluyendo especies modelo de estudio biológico (*Arabidopsis thaliana* y varias especies del género *Brásica*), así como aquellas que son ampliamente cultivadas (brócoli, canola, coliflor, colza y diversos rábanos) (Vargas-Rincón et al., 2014).

Durante las últimas 3 décadas, la producción de Brásicas ha crecido constantemente convirtiéndose en una fuente importante de aceite y proteína de origen vegetal para la nutrición animal y humana, respectivamente. La colza (canola) se ubica actualmente como la tercera fuente de aceite vegetal (después de la soja y la palma) y la tercera fuente principal de harina de aceite (después de la soja y el algodón) (Jahangir et al., 2009).

Diversos cultivos de crucíferas o brásicas son ampliamente reconocidos por su contribución a la nutrición humana y por otros beneficios para la salud (Singh et al., 2007).

Los principales componentes nutricionales de las verduras crucíferas son las proteínas, los carbohidratos y las vitaminas (ácido ascórbico, ácido fólico, tocoferoles y provitamina A). Hierro, calcio, selenio, cobre, manganeso y zinc son los elementos minerales esenciales en estos vegetales (Manchali et al., 2012).

Aunque las plantas hortícolas brasicáceas son excelentes fuentes de fibra, vitaminas y minerales, la mayor parte de la investigación se ha concentrado en el contenido de metabolitos secundarios, principalmente glucosinolatos (Björkman et al., 2011).

En las verduras crucíferas, los compuestos que contienen nitrógeno constituyen una clase principal de metabolitos secundarios, mientras que los glucosinolatos (GSL) y el sulfóxido de S-metilcistina (SMCSO) son los principales compuestos de azufre (Manchali et al., 2012). Además estas especies también son ricas y poseen perfiles únicos de compuestos fenólicos, carotenoides y otros grupos de compuestos menos estudiados como fitoalexinas, terpenos, fitoesteroides y tocoferoles (Ramirez et al., 2020).

### 1.3.2 *Efectos biológicos asociados al consumo de brásicas*

Hay diversos estudios que le otorgan a estos vegetales un moderado poder funcional, beneficioso para la salud. En una revisión sistemática, investigadores observaron que el riesgo de padecer cáncer de pulmón se reduce en un 22% con el consumo de crucíferas (Tram et al., 2009). El papel protector potencial de las verduras crucíferas y los componentes activos presentes en estas verduras, como los isotiocianatos y el indol-3-carbinol, se ha estudiado ampliamente en modelos experimentales de carcinogénesis *in vitro* e *in vivo* (Šamec & Salopek-Sondi, 2018).

En la **tabla 2** se presentan los resultados de estudios en los que se estudió la posible relación entre el consumo de Brásicas y el riesgo de cáncer. Un dato llamativo es que el 62%

del total de los estudios encontraron un menor riesgo de cáncer con un alto consumo de al menos una especie de brásica (Van Poppel et al., 2000).

Tabla 2. Revisión de estudios de casos de control del consumo de brásicas con respecto al riesgo de cáncer (Los números son números de estudios con al menos 1 especie de brásica estudiada). Fuente: (Van Poppel et al., 2000).

Sitio de cáncer	Menor riesgo, significativo	Menor riesgo, no significativo	Sin efecto	Mayor riesgo, no significativo	Mayor riesgo, significativo
Pulmón	6	3	2	0	0
Estómago	4	3	4	1	1
Colon	8	2	5	3	0
Cavidad Oral	5	5	3	1	0
Recto	5	2	2	1	0
Próstata	0	1	1	1	0
Endometrio	0	1	1	1	0
Ovario	0	1	0	1	0

Además del efecto anticancerígeno relacionado al consumo de vegetales brásica, se ha estudiado otros potenciales efectos benéficos para la salud con respecto al consumo de estos vegetales. Existe evidencia de que las verduras crucíferas pueden desempeñar un papel en la prevención y el tratamiento de la inflamación, diversas dolencias gastrointestinales y digestivas y enfermedades crónicas (Šamec & Salopek-Sondi, 2018).

En la **tabla 3** se muestran algunos efectos farmacológicos en algunas especies de brásica.

Tabla 3. Lista de plantas brásicas con actividad farmacológica. Fuente: (Shankar et al., 2019)

Nombre botánico	Nombre común	Partes de la planta	Actividad farmacológica
<i>Brassica rupestris</i> L.	Mostaza marrón	Toda la planta	Anticancerígena y antioxidante
<i>Brassica napus</i> L.	Colza	Toda la planta	Anticancerígena, antioxidante, analgésica, diurética y Anticatarral antiinflamatorio de vejiga
<i>Brassica L. var. perviridis</i>	Espinaca mostaza	Toda la planta	Anticancerígena y antioxidante
<i>Brassica rapa</i> L. var. <i>pekinensi</i>	Repollo chino	Toda la planta	Anticancerígena y antioxidante
<i>Brassica oleracea</i>	Coliflor	Hojas	Actividad antibacteriana
<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>Capitata</i>	Repollo	Crudo y procesado	Antioxidante, antiinflamatorio y propiedades antibacterial
<i>Brassica rapa</i> L.	Grelo	Vegetal	Anticancerígeno, diurético, analgésico, antiinflamatorio

Continuación tabla 3. Lista de plantas brásicas con actividad farmacológica. Fuente: (Shankar et al., 2019)

Nombre botánico	Nombre común	Partes de la planta	Actividad farmacológica
<i>Raphanus sativus</i>	Rábano	Hojas y semillas Raíz	Actividad antimicrobiana Tratamiento para parásitos interiores
<i>Eruca sativa</i>	Rúcula	Hojas	Usado por su astringencia, diurético, digestivo, depurativo, laxante, tónico estomacal

Sin embargo es importante destacar que la variación en el contenido de fitoquímicos de las hortalizas Brásicas es causada por muchos factores: variedad, madurez en la cosecha, condición de crecimiento, estado del suelo y condición de almacenamiento postcosecha (Podsdek, 2007). Esto condiciona claramente su poder funcional, porque lo que son importantes las buenas prácticas agrícolas y los tratamientos post-cosecha que puedan tener los vegetales.

### 1.3.3 El Caso Particular De La Rúcula y Rábano

#### 1.3.3.1 Rúcula



La rúcula es originaria de Israel. Sin embargo, N.I. Vavilov consideraba las regiones del noroeste de la India, Tadjikistan, Uzbekistán, la provincia de Tien Shan Occidental y el suroeste de Asia los centros de origen y las regiones templadas de todo el mundo, incluyendo el norte de Europa y América del Norte, el segundo centro de origen. La especie *Eruca vesicaria* sinónimo *Brásica vesicaria* L. se considera originaria de la región del Mediterráneo occidental, Marruecos, Argelia, España y Portugal y estrechamente relacionada con *Eruca sativa*. (Rana & Kamboj, 2018).

Se cultiva por sus hojas que se comen en ensaladas y como verduras, por sus semillas condimentarias y de las que se extrae el aceite para usos culinarios e industriales. Las hojas, también se utilizan como condimento y la planta tiene utilización forrajera.

La popularidad de la rúcula tiene tanto que ver con sus beneficios para la salud como con su sabor. Es una verdura muy baja en calorías, que proporciona fitoquímicos, antioxidantes y vitaminas beneficiosas para la salud como la vitamina A, tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantoténico, piridoxina, vitamina C y vitamina K (Rana & Kamboj, 2018).

### 1.3.3.2.1 Descripción botánica y cultivo

Plantas anuales o bienales, alógamas y auto incompatibles. Tallos erectos y ramificados de hasta 1 m de altura. Raíz pivotante, gruesa y ramificada (Garg & Sharma, 2014).

Las hojas son carnosas, lirado-pinnatisectas, con lóbulo terminal y 2-5 cm en cada lado, irregularmente dentadas y con nervaduras pilosas en el envés. Las basales son pecioladas, de 20-30 x 14-18 cm, formando una roseta. Las caulinares son algo menos sésiles (Garg & Sharma, 2014).

Poseen flores con pedicelos de 0,5-5 mm en racimos, ascendentes con 15-20 flores. Sépalos erectos. Corola de 2-2,5 cm de diámetro. Pétalos ovados-cuneados de 1,5-2 cm de longitud, largamente unguiculados, blancos o blancos amarillentos con vénulas violáceas. Estigma hendido en 2 lóbulos conniventes (Garg & Sharma, 2014).

Como es de tan rápido crecimiento no requiere ninguna labor extra más que el riego. Casi no requiere ninguna limpieza del terreno, aunque si hubiera plantas espontáneas, deben extraerse ya que la hoja es muy pequeña y sufre alteraciones de coloración si sufre competencias (Del Pino, 2004).

El ciclo es muy corto, de 20 a 60 días, y la cosecha se realiza con raíz o por cortes sobre la base del tallo, sobre hojas de 10 a 15 cm. Tiene muy buena capacidad de rebrote, y se pueden realizar de 4 a 5 cortes con intervalos de 10 a 20 días (Del Pino, 2004).

Además de las ventajas mencionadas de esta especie es importante destacar que debido a que las raíces de la rúcula son relativamente poco profundas, también puede crecer en un recipiente (Mukherjee et al., 2019) y otra gran ventaja es amplia oferta de semillas orgánicas, es decir semillas sin tratar con fungicidas y otros compuestos tóxicos.

### 1.3.3.2.2 Composición nutricional

En la **tabla 4** se presenta la composición nutricional de la rúcula g%g de parte comestible.

Tabla 4. Composición nutricional de la rúcula en g%g de parte comestible. Fuente: (USDA, 2019).

Nutriente	Valor
Agua [g]	91,71
Energía [kcal]	25
Proteína [g]	2,58
Grasa total [g]	0,66
Carbohidratos, por diferencia [g]	3,65
Azúcares totales [g]	2,05
Fibra total [g]	1,6
Calcio, Ca [mg]	160
Hierro, Fe [mg]	1,46
Magnesio, Mg [mg]	47
Fósforo, P [mg]	52
Potasio, K [mg]	369
Sodio, Na [mg]	27
Zinc, Zn [mg]	0,47

Continuación Tabla 4. Composición nutricional de la rúcula en g%g de parte comestible. Fuente: (USDA, 2019).

Nutriente	Valor
Vitamina C, total ácido ascórbico [mg]	15
Tiamina [mg]	0,04
Niacina [mg]	0,31
Riboflavina [mg]	0,09
Vitamina B-6 [mg]	0,07
Ácido fólico [ug]	97
Vitamina B-12 [ug]	0
Vitamina A, RAE [ug]	119
Vitamina A, IU [IU]	2373
Vitamina E (alfa-tocoferol) [mg]	0,43

### 1.3.3.2 Rábano



El nombre científico es *Raphanus sativus* L. Es un vegetal anual de la familia *Cruciferae*. El género *Raphanus* se originó en las regiones desde el Mediterráneo hasta el Mar Negro y se clasificó en dos secciones de *Raphanis* DC. y *Hesperidopsis* Boiss (Matsuzawa, 2006).

Aunque parece que no existe un acuerdo sobre su origen, existen inscripciones botánicas en las pirámides egipcias que mencionan el rábano (2000 años A.C.) y Heródoto ya lo menciona hacia 2700 A.C. Posteriormente fue introducido en China hacia el año 500 A.C.

Se piensa que las variedades de rábanos de pequeño tamaño surgieron en el área mediterránea, mientras que los rábanos más grandes se pudieron originar en China o Japón.

Se poseen datos concretos que demuestran que este cultivo tuvo gran importancia en la cultura china y en las civilizaciones egipcia y griega.

Se aprovecha su raíz, de sabor ligeramente picante, y las hojas tiernas en ensalada. Si bien soporta cualquier temperatura, prefiere los climas templados o templados-frescos. No es muy exigente en suelo, aunque le favorecen los fértiles, profundos y frescos. (Goites, 2008).

#### **1.3.3.2.3 Descripción botánica y cultivo**

Es una planta anual de raíz pivotante que presenta formas diversas que se inserta en la base de un tubérculo hipocotíleo comestible. Puede ser redondo, oval o alargado y de colores diversos, rosa, rojo, amarillo o negro. Tienen un sabor ligeramente picante.

Sus hojas son oblongadas, recortadas en los bordes y ásperas al tacto. En la floración emite un tallo que puede alcanzar hasta 1,5m. Las flores son de color blanco o violeta y se agrupan en racimos. Sus frutos son lamentoides y las semillas son irregularmente redondeadas, de color marrón rojizo. En un gramo pueden contabilizarse de 80-120 semillas. Tienen una capacidad germinativa de cuatro años (Gupta et al., 2020).

La siembra de este cultivo en climas templados se puede realizar en cualquier época si se utiliza una variedad determinada llamada de "todos los meses" (Gupta et al., 2020).

En general se pueden distinguir dos ciclos de cultivo:

- Cultivares de verano-otoño. La siembra se realiza a mediados de primavera, finales de verano.
- Cultivares de invierno. La siembra se realiza entre finales de verano y principios de otoño.

Esta especie ha sido usada popularmente para tratar enfermedades hepáticas y respiratorias. La actividad antibiótica de su extractos y su persistencia en el tiempo validaron su eficacia en la enfermedad microbiana como medicamento (Gutiérrez & Perez, 2004).

Al igual que en la rúcula una de las grandes ventajas de su cultivo es la amplia oferta de semillas orgánicas, promoviendo la sustentabilidad y la producción del mismo en huertas orgánicas y de tipo hogareñas.

#### **1.3.3.2.4 Composición nutricional**

En la **tabla 5** se presenta la composición nutricional del rábano en g%g de parte comestible.

Tabla 5. Composición nutricional del rabanito en g%g de parte comestible. Fuente: (USDA, 2019)

Nutriente	Valor
Agua [g]	95,3
Energía [kcal]	16
Proteína [g]	0,68
Grasa total [g]	0,1
Carbohidratos, por diferencia [g]	3,4
Azúcares totales [g]	1,86
Fibra total [g]	1,6
Calcio, Ca [mg]	25
Hierro, Fe [mg]	0,34

Continuación Tabla 5. Composición nutricional del rabanito en g%g de parte comestible. Fuente: (USDA, 2019)

Nutriente	Valor
Magnesio, Mg [mg]	10
Fósforo, P [mg]	20
Potasio, K [mg]	233
Sodio, Na [mg]	39
Zinc, Zn [mg]	0,28
Vitamina C, ácido ascórbico total [mg]	14,8
Tiamina [mg]	0,012
Niacina [mg]	0,25
Riboflavina [mg]	0,039
Vitamina B-6 [mg]	0,071
Fólico, DFE [ug]	25
Vitamina B-12 [ug]	0
Vitamina A, RAE [ug]	0
Vitamina A, IU [IU]	7
Vitamina E (alfa-tocoferol) [mg]	0

### 1.3.4 Compuestos funcionales presentes en brásicas

#### 1.3.4.1 Vitaminas y carotenoides

Los vegetales de Brásica contienen altos niveles de vitaminas incluidos carotenos, tocoferoles, vitamina C y ácido fólico (Jahangir et al., 2009).

La vitamina A se refiere a un grupo de moléculas liposolubles y de pigmentación brillante que incluye el retinol, retina, ácido retinoico (RA) y varios carotenoides provitamina A. Entre los 700 carotenoides conocidos, sólo 50 tienen actividad provitamina A con b-caroteno, b-criptoxantina y a-caroteno siendo las principales moléculas provitamina A (Shojadoost et al., 2021).

Según Jahangir y col. (2009) en algunas especies de Brassica, el contenido de carotenoides es 2 veces mayor que en la espinaca. En tanto que otros autores citados por este autor identificaron dieciséis carotenoides en *B. chinensis*, *B. parachinensis* y *B. pekinensis*, de los cuales la luteína y el  $\beta$ -caroteno fueron los más abundantes.

La vitamina C es la vitamina con mayor presencia en las brásicas, La función biológica del ácido L-ascórbico puede definirse como un cofactor enzimático, un eliminador de radicales y un donante / aceptor en el transporte de electrones en la membrana plasmática (Podsedeck, 2007).

El contenido de Vitamina C en brásicas varía de manera considerable conforme a varios factores relacionados con la cosecha y postcosecha. En brócoli Dergal (2006) reporta un

contenido de 300 mg%g de peso fresco de vitamina C, siendo que las necesidades diarias de esta vitamina son de 60 mg diarios.

Por otro lado, se denomina vitamina E a un grupo de ocho compuestos liposolubles que incluyen cuatro tocoferoles y cuatro tocotrienoles. Estos tocoferoles y tocotrienoles existen como homólogos  $\alpha$  (alfa),  $\beta$  (beta),  $\gamma$  (gamma) y  $\delta$  (delta). El efecto de la vitamina E como antioxidante ha sido bien establecido contra los efectos perjudiciales de los radicales libres en el mantenimiento de la integridad celular durante el metabolismo celular normal y las inflamaciones (Shojadoost et al., 2021).

Los carotenoides son pigmentos accesorios que se encuentran en estructuras fotosintéticas, localizándose en la membrana de los tilacoides y en la de envoltura de los cloroplastos. Los principales carotenoides de cloroplastos de plantas superiores y microalgas son  $\alpha$  y  $\beta$ -caroteno, luteína, violaxantina, zeaxantina y neoxantina (Villatoro P, 2011).

Estos compuestos han mostrado actividad como antioxidantes biológicos, protegiendo las células y los tejidos de los efectos perjudiciales de radicales libres y del oxígeno singlete. Su comportamiento antioxidante depende de la concentración y localización en las células diana, así como de otros factores (Van Den Berg et al., 2000).

En la **tabla 6** se presenta el contenido de vitaminas en mg%g de peso fresco de 5 especies de brásicas.

Tabla 6. Contenido de vitaminas en 5 especies de brásicas en mg%g de peso fresco. Fuente: (Singh et al., 2007). Las letras diferentes indican diferencias significativas dentro de las columnas según la prueba de Duncan con un  $P \leq 0,05$ .

brassica oleracea subespecies	Vitamina C	$\beta$ -caroteno	Luteína	$\gamma$ -tocoferol
Col china	9.71d	0.01c	0.02d	0.08c
Coliflor	19.3b	0.08bc	0.13c	0.15b
Repollo	9.66d	0.05c	0.14c	0.08c
Repollitos de brusela	15.8c	0.14b	0.43b	0.15b
Brócoli	52.9a	0.81a	0.68a	0.47a
CD at 5%	3.35	0.06	0.05	0.02
s.d.	17.0	0.31	0.25	0.15

#### 1.3.4.2 Glucosinolatos e Isotiocianatos

Las primeras observaciones sobre las propiedades únicas de los glucosinolatos y los isotiocianatos se registraron a principios del siglo XVII como resultado de los esfuerzos por comprender el origen químico del fuerte sabor de las semillas de mostaza (Fahey et al., 2001).

Los GLS constituyen un grupo bien definido de metabolitos vegetales secundarios en plantas crucíferas (Prakash & Gupta, 2012). La planta comestible del género *Brassica* (familia *Brassicaceae*) contiene un importante grupo de compuesto promotores de la salud conocidos como glucosinolatos (GLS). Sus diversos metabolitos, como los isotiocianatos (ITC), muestran diversos efectos biológicos, entre ellos acción anticancerígena, y estos fitoquímicos, junto con otros componentes como los flavonoides, las vitaminas y los nutrientes minerales, podrían ser los principales agentes eficaces en cuanto a la bioactividad asociada al consumo de las crucíferas (Prakash & Gupta, 2012).

### 1.3.3.2.5 Estructura y síntesis de glucosinolatos.

Los GLS son N-hidroxisulfatos de  $\beta$ -tioglucósido [también conocidos como ésteres de (Z) - (ocis) -N- hidroximosulfato o S-glucopiranosil tiohidroximatos], con una cadena lateral (R) y un resto de  $\beta$ -D-glucopiranososa unida a un átomo de azufre. Una oxima sulfatada tioglucosilada es una característica estructural importante de todos los GLS conocidos, que se distinguen principalmente por variaciones en el esqueleto de carbono derivado de aminoácidos conocido como 'cadena lateral' (Prakash & Gupta, 2012).

El paso inicial en la biosíntesis de los glucosinolatos procede, como en el de los glucósidos cianogénicos, por N-hidroxilación de un aminoácido precursor, seguido de descarboxilación para formar una aldoxima. En resumen, el modelo ampliamente aceptado para la biosíntesis de glucosinolatos implica tres pasos principales: (a) alargamiento de la cadena lateral; (b) biosíntesis de glucona; y (c) modificación de la cadena lateral (Fahey et al., 2001). En la **figura 1** se resume visualmente lo explicado anteriormente.

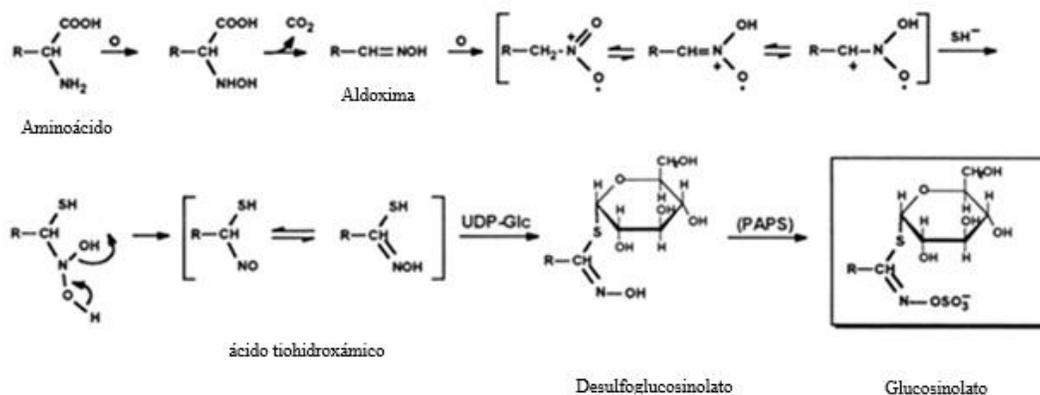


Figura 1. Proceso de Biosíntesis de glucosinolatos. Fuente: (Adaptación Fahey et al., 2001).

Los glucosinolatos son compuestos estables, localizados en las vacuolas de las células vegetales y están separados físicamente de la enzima mirosinasa en plantas intactas (Fahey et al., 2001). Los GLS se hidrolizan cuando la planta sufre daños estructurales, de rasgado, rotura, o por acción de los insectos, mediante la liberación en la rotura del tejido, de una enzima llamada mirosinasa (MYR), la cual cataliza la reacción de hidrólisis de los GLS, en ITCs, nitrilos y tiocyanatos mediante la eliminación del azúcar (Almeida, 2020), como muestra la **figura 2**, estos compuestos bioactivos, son sustancias de sabor amargo (que repelen al agente agresor, animal o insecto) con propiedades antiparasitarias, e insecticidas (Almeida, 2020).

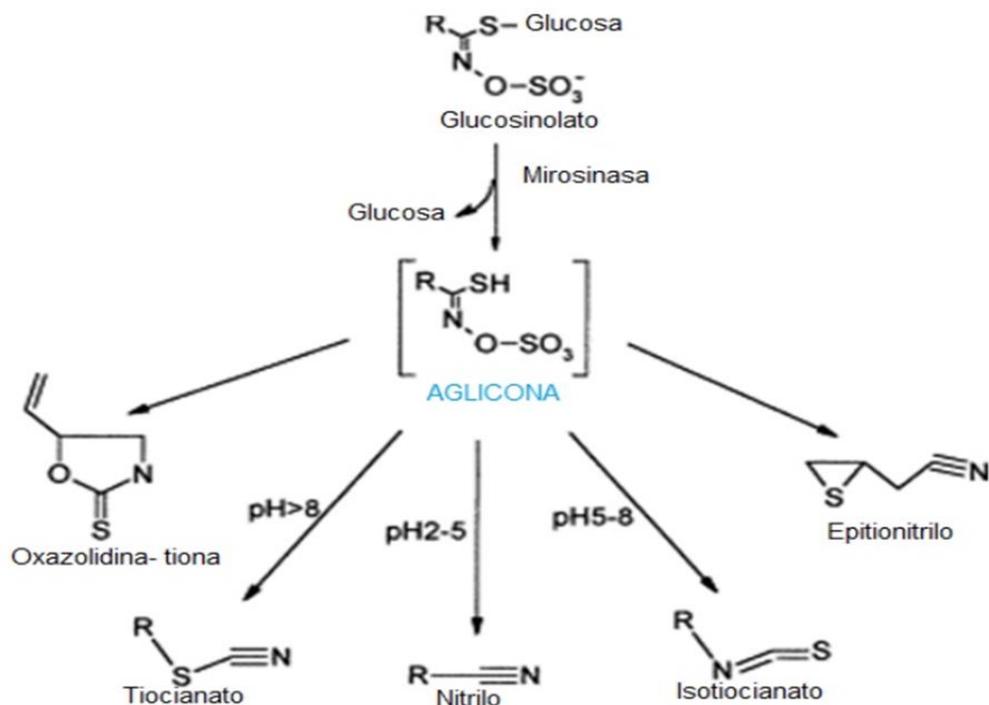


Figura 2. Degradación de glucosinolatos mediante la enzima mirosinasa que cataliza la formación de aglicona (Rincón, 2014).

En la **tabla 7** se presentan los principales glucosinolatos, vitaminas e indoles presentes en rabanito, rúcula y repollo.

Tabla 7. Glucosinolatos, indoles y vitaminas reportados en rábano, rúcula y repollo. Fuente: Propia

COMPUESTO	RÁBANO	RÚCULA	REPOLLO
Glucorafanina	X <sup>pr</sup>	X <sup>ño</sup>	
Glucosativina		X <sup>ño</sup>	
Glucobrasicina	X <sup>pr</sup>	X <sup>ño</sup>	
Glucoerucina	X <sup>prq</sup>	X <sup>o</sup>	
Gluconapina	X <sup>q</sup>	X <sup>o</sup>	
Glucoiberiverina		X <sup>o</sup>	
Progoitrin	X <sup>q</sup>	X <sup>o</sup>	
Gluconapoleiferina	X <sup>p</sup>	X <sup>o</sup>	
Glucobrásicanapina		X <sup>o</sup>	
4-hidroxi glucobrasicina	X <sup>prq</sup>	X <sup>o</sup>	
4-metoxi glucobrasicina	X <sup>prq</sup>	X <sup>o</sup>	
Neoglucobrasicina		X <sup>o</sup>	
Gluconasturtiina		X <sup>o</sup>	
Glucorafasatina	X <sup>prq</sup>		
Glucorafenina	X <sup>rq</sup>		
Gluconapina (3-butenilo)	X <sup>q</sup>	X <sup>o</sup>	
4- Mercaptobutil-GLS		X <sup>st</sup>	
Indol-3-Carbinol	X <sup>kl</sup>		X <sup>l</sup>
Indol-3 Acetonitrilo			X <sup>l</sup>
Diindolilmetano			X <sup>l</sup>
Ácido ascórbico	X <sup>m</sup>		
Luteína	X <sup>m</sup>		
Clorofila a	X <sup>m</sup>		
Clorofila b	X <sup>m</sup>		

<sup>a</sup> (Gamba et al., 2021)

<sup>b</sup> (Wermter et al., 2020)

<sup>c</sup> (Wieczorek & Jelen, 2019)

<sup>d</sup> (Hansch & Schreiner, 2017)

<sup>e</sup> (Vieites-Outes et al., 2016)

<sup>f</sup> (Fechner et al., 2018)

<sup>g</sup> (Bell & Wagstaff, 2014)

<sup>h</sup> (Corleto et al., 2018)

<sup>i</sup> (Matera et al., 2012)

<sup>j</sup> (Park et al., 2020)

<sup>k</sup> (Cecilia M. Fusari et al., 2020)

<sup>l</sup> (Kapusta-Duch & Kusznierevicz, 2021)

<sup>m</sup> (Ghoora, Haldipur, et al., 2020)

<sup>n</sup> (Cámara-Martos et al., 2021)

<sup>o</sup> (Toledo-Martín et al., 2017)

<sup>p</sup> (Chorol et al., 2021)

<sup>q</sup> (Yi et al., 2016)

<sup>r</sup> (Lee et al., 2021)

<sup>s</sup> (Taranto et al., 2016)

<sup>t</sup> (Bennett et al., 2002)

### 1.3.4.3 Isotiocianatos

Según Prakash y Gupta (2012) un menor riesgo de cáncer está relacionado con una dieta rica en hortalizas Brásicas y esto a su vez está ampliamente asociadas a la absorción de ITC tras la ingestión de GLS.

Los compuestos de ITCs mayormente estudiados y analizados son el Sulforafano, fenetil Isotiocianato, Alil isotiocianato e Indol 3 Carbinol, pero muchas otros ITC que están presentes en cantidades menores también pueden contribuir a las propiedades anticancerígenas de *Brassicaceae* (Song et al. 2007).

En los últimos años, la prevención del cáncer mediante el consumo productos naturales ha recibido una atención considerable. Los resultados de estudios que se han llevado a cabo en los últimos años apuntan claramente hacia una correlación positiva entre la prevención del cáncer de muchos órganos diana, y el consumo de brasicáceas o sus fitoquímicos bioactivos. Los estudios han informado que los ITCs afectan muchos pasos del desarrollo del cáncer, incluida la modulación de las enzimas de desintoxicación de las fases I y II. Funcionan como un antioxidante directo o indirecto por inducción enzimática de fase II modulando así la actividad celular (Prakash & Gupta, 2012). Esto ha centrado la atención en estudios en los que se evalúa el potencial de los isotiocianatos como inductores de enzimas de fase 2, pero con potenciales funciones anti proliferativas, reguladoras redox e inhibidoras de enzimas de fase 1 también (Fahey et al., 2001; Rincón, 2014; Nilsson et al., 2006).

En la **tabla 8** se presentan los principales isotiocianatos reportados en brásicas por diversos autores. En el rabanito se han reportado sulforafeno, Alil isotiocianato, Rapasatina y erucina, sin embargo el isotiocianato en mayor proporción es el sulforafeno, llegando al 84% del total de ITCs, algo similar sucede en brócoli donde el 90 % de los ITC son Sulforafano (Baenas et al., 2017). En tanto que en rúcula se ha reportado Sulforafano, sulforafeno, rapasatina, alil ITC y sativina, siendo la sativina el ITC mayoritario en las hojas comestibles, lamentablemente la estructura de este compuesto ha sido dilucidada hace 2 años y todavía no hay estándares analíticos en el mercado para su cuantificación (Fechner et al., 2018).

Tabla 8. Isotiocianatos reportados en distintas especies de brásicas. Fuente: Propia

Especie	Rapasa- tina	Eru- cina	Sulfora- feno	Alil ITC	Sulfora- fano	Ibe- rin	ITC de 2- metilbutilo	ITC de isobutilo	ITC de ci- clopentilo	ITC de n-he- xilo	ITC 2- fenile- tilo	Sati- vina
<b>Rábano</b>	X <sup>ai</sup>	X <sup>a</sup>	X <sup>abi</sup>	X <sup>K</sup>	X <sup>K</sup>							
<b>Repollo blanco</b>		X <sup>d</sup>	X <sup>b</sup>	X <sup>b</sup>	X <sup>b</sup>	X <sup>bd</sup>						
<b>Repollo rojo</b>			X <sup>bd</sup>	X <sup>b</sup>	X <sup>b</sup>	X <sup>b</sup>					X <sup>d</sup>	
<b>Brócoli</b>				X <sup>d</sup>	X <sup>cd</sup>		X <sup>c</sup>	X <sup>c</sup>	X <sup>c</sup>	X <sup>c</sup>		
<b>Coliflor</b>				X <sup>c</sup>			X <sup>c</sup>	X <sup>c</sup>				
<b>Nabo verde</b>		X <sup>e</sup>		X <sup>e</sup>	X <sup>e</sup>			X <sup>e</sup>			X <sup>e</sup>	
<b>Rúcula</b>		X <sup>fg</sup>	X <sup>f</sup>	X <sup>K</sup>	X <sup>K</sup>							X <sup>f</sup>

<sup>a</sup> (Gamba et al., 2021)

<sup>b</sup> (Wermter et al., 2020)

<sup>c</sup> (Wieczorek & Jelen, 2019)

<sup>d</sup> (Hanschen & Schreiner, 2017)

<sup>e</sup> (Vieites-Outes et al., 2016)

<sup>f</sup> (Fechner et al., 2018)

<sup>g</sup> (Bell & Wagstaff, 2014)

<sup>h</sup> (Corieto et al., 2018)

<sup>i</sup> (Matera et al., 2012)

<sup>j</sup> (Park et al., 2020)

<sup>k</sup> (Cecilia M. Fusari et al., 2020)

<sup>l</sup> (Kapusta-Duch & Kuzniewicz, 2021)

<sup>m</sup> (Ghoora, Haldipur, et al., 2020)

<sup>n</sup> (Cámara-Martos et al., 2021)

<sup>o</sup> (Toledo-Martín et al., 2017)

<sup>p</sup> (Chorol et al., 2021)

<sup>q</sup> (Yi et al., 2016)

<sup>r</sup> (Lee et al., 2021)

<sup>s</sup> (Taranto et al., 2016)

<sup>t</sup> (Bennett et al., 2002)

### 1.3.4.4 Compuestos Fenólicos

El término compuestos fenólicos engloba a todas aquellas sustancias que poseen varias funciones fenol (nombre común del hidroxibenceno), unidas a estructuras aromáticas o alifáticas. Los compuestos fenólicos tienen su origen en el mundo vegetal. Son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a la ingestión de éstas (Creus, 2004). Algunos son indispensables para las funciones fisiológicas vegetales, otros participan en funciones de defensa ante situaciones de estrés y estímulos diversos (hídrico, luminoso, entre otros).

Se ha propuesto que estos compuestos tienen actividad antioxidante en el sistema de defensa de la planta y que adicionalmente sirven de apoyo al sistema de desintoxicación dependiente de ascorbato (Vargas-Rincón et al., 2014).

Según Tomás-Barberan y col.(2000) durante los últimos años, los estudios epidemiológicos han asociado cada vez más la incidencia de enfermedades crónicas, como enfermedades cardiovasculares y cáncer, con la dieta. Está ampliamente aceptado que las dietas ricas en frutas y hortalizas o sus derivados juegan un papel positivo en la protección contra ataques cardíacos, accidentes cerebrovasculares y cáncer.

En la **figura 3** se presentan algunos potenciales efectos benéficos para la salud de los compuestos fenólicos.

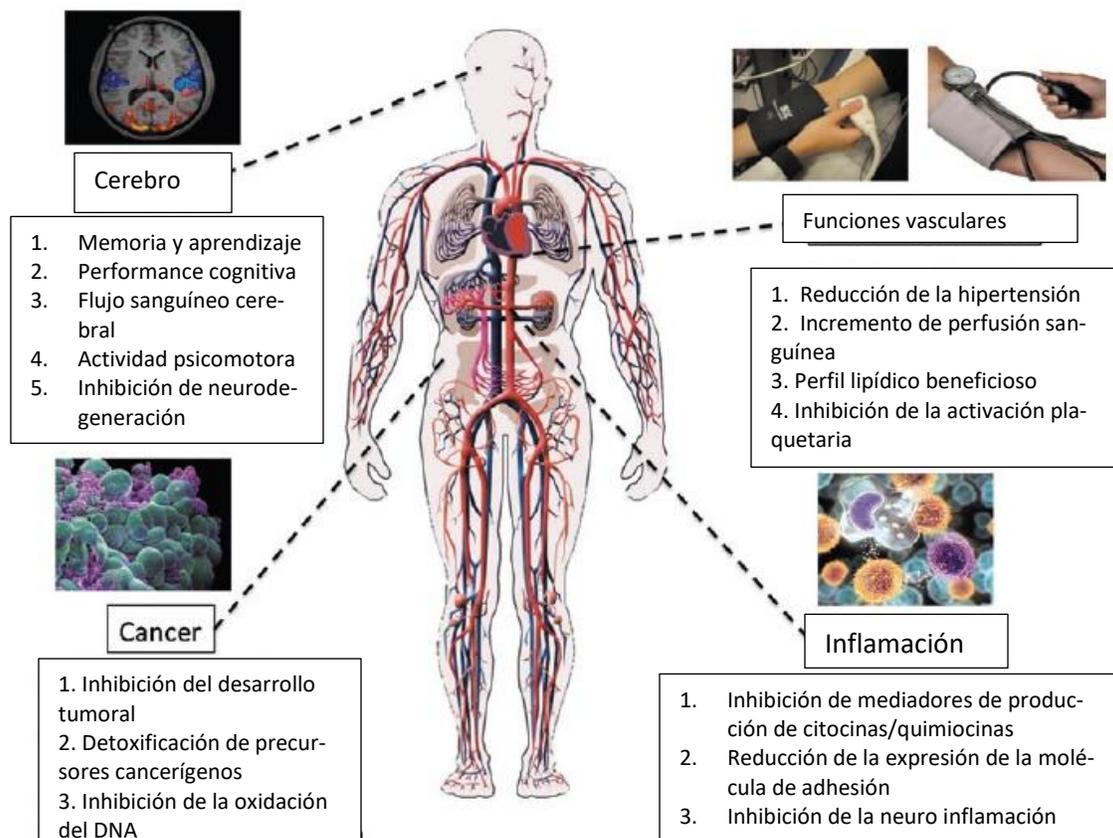


Figura 3. Un resumen de los potenciales efectos benéficos para la salud de los polifenoles. Fuente: Adaptación (Del Rio et al., 2013).

Los antioxidantes fenólicos funcionan como terminadores de radicales y quelantes de iones metálicos que son capaces de catalizar la peroxidación lipídica. Los antioxidantes fenólicos interfieren con la oxidación de lípidos y otras moléculas mediante la rápida donación de un átomo de hidrógeno o electrones a radicales libres (Bravo, 1998).

En la naturaleza existe una amplia variedad de compuestos que presentan una estructura molecular caracterizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos. Estos compuestos podemos denominarlos **polifenoles** (Quiñones et al., 2012).

La biosíntesis de los polifenoles como producto del metabolismo secundario de las plantas tiene lugar a través de dos importantes rutas primarias: la ruta del ácido shíquimico y la ruta de los poliacetatos (Bravo, 1998).

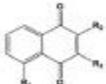
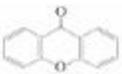
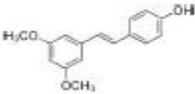
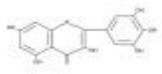
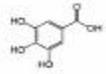
La concentración de polifenoles en cualquier alimento también es muy variable, porque depende de muchos factores tales como la variedad o el grado de maduración del vegetal (Creus, 2004). El contenido de polifenoles en alimentos está condicionado a factores tanto intrínsecos al propio vegetal (de origen genético) y a factores extrínsecos, como factores agroambientales y al manejo postcosecha (Barberan, 2015).

Existen dos grandes grupos de compuestos fenólicos: los ácidos fenólicos (benzoico y cinámicos) y los flavonoides (flavonoides, antocianinas y taninos). Los ácidos fenólicos tienen un solo anillo, mientras que los flavonoides tienen dos anillos fenólicos unidos por un anillo heterocíclico. Los pigmentos fenólicos reaccionan fácilmente con un ácido orgánico o un azúcar, como los flavonoides y las antocianinas, o entre sí para formar polímeros, como los taninos (Dergal, 2006).

Entre los compuestos fenólicos de bajo peso molecular más comunes e importantes se encuentran los derivados fenólicos simples y los flavonoides. Los fenoles simples ( $C_6$ ), como el propio fenol, cresol, timol, resorcinol, orcinol, entre otros están muy extendidos entre diferentes especies de plantas, incluidas la hidroquinona y sus derivados (por ejemplo, arbutina, sesamol) y floriglucinol (Bravo, 1998).

En la **tabla 9** se visualizan los principales grupos de compuestos fenólicos.

Tabla 9. Núcleo estructural de los principales grupos de compuestos fenólicos. Fuente: (Romero, 2016).

Clasificación	Estructura química	Número de carbonos	Ejemplos
Ácidos fenólicos		$C_6 - C_1$	*Ácido hidrobenzoico *Vanílico *Gálico *Hidroxicinámico *Ferúlico *Cafeico
Naftoquinonas		$C_6 - C_4$	*Lawsona *Juglona *Alcanan *Lomatiol *Diospirina
Xantonas		$C_6 - C_1 - C_6$	*Gentiósida *Mangiferina *Garcinona *Euxantona
Estilbenos		$C_6 - C_2 - C_6$	*Pinosilvina *Piceatanol *Rapontienina *Astringina
Flavonoides		$C_6 - C_3 - C_6$	*Betacaroteno *Caroteno *Catequina *Resveratol *Queretrina *Hesperidina *Luteína
Taninos		$(C_6 - C_3)_n$	*Antocianidinas

A continuación, se hará una breve descripción de los principales tipos de compuestos fenólicos presentes en alimentos.

#### 1.3.3.2.6 Ácido Hidroxicinámico.

Los ácidos hidroxicinámicos (ácidos p-cumárico, cafeico, ferúlico y sináptico, entre otros) son compuestos fenólicos que se encuentran ampliamente distribuidos en alimentos de origen vegetal. Su estructura química le permite apagar radicales libres, actuando como antioxidantes, propiedad que condiciona su actividad oncoprotectora y anticancerígena (Mardones, 2012).

#### 1.3.3.2.7 Flavonoides.

Los flavonoides pueden tener estructuras simples o muy complejas, debidas a la polimerización, como en el caso de los taninos condensados, que alcanzan pesos superiores a 30,000 Da (Dergal, 2006).

Los flavonoides son una subclase de polifenoles, que se caracterizan por poseer estructuras  $C_6-C_3-C_6$  y dos o más anillos aromáticos, y por tener cada uno, al menos, un hidroxilo aromático, y conectar con un puente de carbono (Chueca, 2005).

Por la posición trivalente del oxígeno, al aumentar el grado de oxidación se producen más dobles ligaduras, y en consecuencia mayor deslocalización de electrones hace que existan pigmentos incoloros cuando el anillo C está saturado como en el caso de los flavonoles, o produciendo varias clases de coloraciones, desde los amarillos (como las flavonas, flavonoles y chalconas) hasta las antocianinas rojas y azules (Dergal, 2006).

En la **figura 4** se presentan los principales tipos de flavonoides y su estructura química.

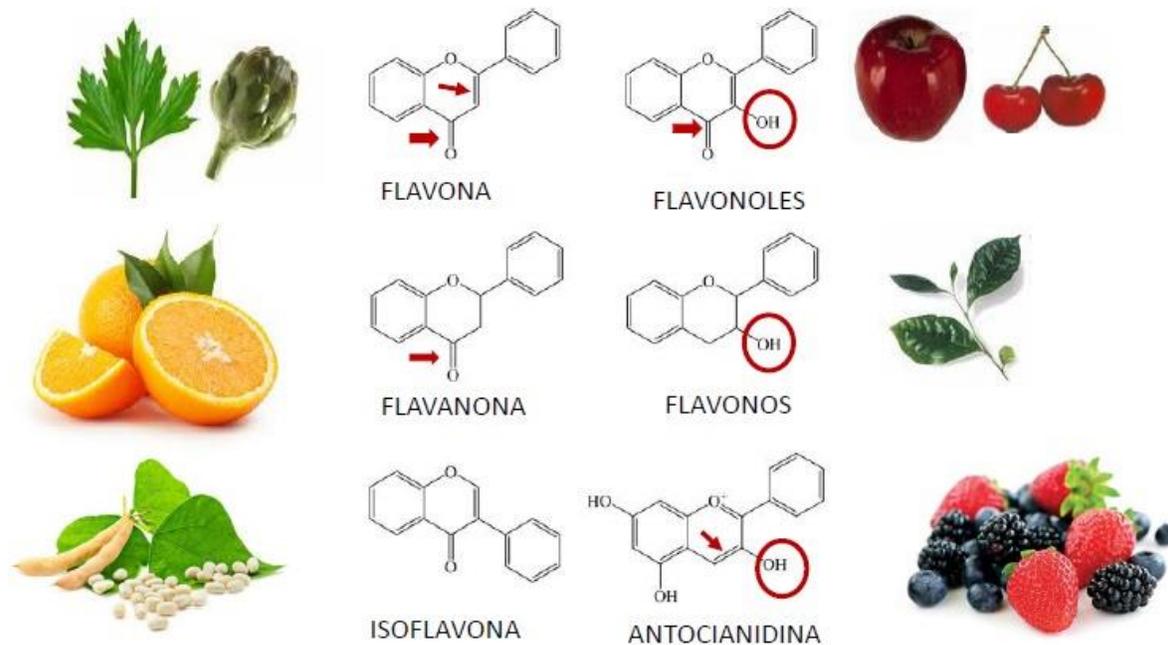


Figura 4. Principales tipos de flavonoides. Fuente: (Cozzano, 2015).

Los flavonoides actúan fundamentalmente capturando radicales libres para generar el radical flavínico, mucho menos reactivo, ya que en él los electrones desapareados están más deslocalizados (Martín Gordo, 2018).

A continuación, se hará un breve resumen de los tipos de flavonoides reportados en alimentos.

### ➤ Flavonoles

Los flavonoles, es el grupo más importante de flavonoides, debido a que es el grupo ampliamente más distribuido en los vegetales (Dergal, 2006). La biosíntesis de flavonoles es un proceso fotosintético. Por ello, estos compuestos se localizan principalmente en el tejido externo y aéreo de la planta (Quiñones et al., 2012).

Dada su capacidad de formar complejos y capturar radicales la quercetina es uno de los flavonoles más importantes y con una potente actividad antioxidante (Bravo, 1998).

La miricitina es otro tipo de flavonol con una actividad antioxidante y terapéutica potencial, principalmente como agente antitrombótico y antiinflamatorio (Klan C. Ong and Hoon-Eng Khoo, 1997).

### ➤ **Antocianinas**

Las antocianinas son las formas catiónicas de flavilo. Todas las antocianinas están hidroxiladas en las posiciones 3,5, y 7, pero difieren en la sustitución del anillo B.

Las antocianinas representan los principales pigmentos solubles en agua visibles al ojo humano. Por el fenómeno de deslocalización de electrones, a medida que aumenta el número de sustituyentes de la fracción, la antocianidina aumenta y el catión flavilo absorbe a mayores longitudes de onda (Dergal, 2006).

Según Aguilera-Otíz y col.(2011) a las antocianinas se les atribuyen efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos, estos efectos parecen verse relacionados con su capacidad antioxidante.

### ➤ **Flavanoles.**

Son una clase de flavonoides que tienen como columna vertebral a la 3-hidroxiflavona. Los flavanoles están presentes en una amplia variedad de frutas y verduras.

La catequina y la epicatequina son dos tipos de flavanoles presentes en diversos alimentos, como té verde, peras, nueces y cacao (Dergal, 2006).

En la **Tabla 10** se presentan los compuestos fenólicos más conocidos reportados en rúcula y rabanito, de estos compuestos se destacan la quercetina y el campferol como los mayoritarios.

Tabla 10. Compuestos fenólicos reportados en rábano y rúcula. Fuente: Propia.

Especie	Catequina	Flavonol	Miricetina	Epicatequina	Quercetina	Ácido vanílico	Ácido Cumárico	Ácido si-nápico	Campferol
Rábano	X <sup>aj</sup>	X <sup>a</sup>	X <sup>a</sup>	X <sup>aj</sup>	X <sup>aj</sup>	X <sup>a</sup>	X <sup>aik</sup>	X <sup>ai</sup>	X <sup>i</sup>
Rúcula	X <sup>k</sup>		X <sup>gh</sup>		X <sup>ghk</sup>			X <sup>g</sup>	X <sup>gh</sup>
Especie	Isohametina	Rutina	Ácido ferúlico	Cafeico	Ácido Clorogénico	Ácido benzoico	Tyrosol	Ácido gálico	
Rábano			X <sup>i</sup>	X <sup>ij</sup>	X <sup>j</sup>	X <sup>j</sup>		X <sup>k</sup>	
Rúcula	X <sup>gh</sup>	X <sup>g</sup>	X <sup>g</sup>	X <sup>k</sup>			X <sup>k</sup>	X <sup>k</sup>	

<sup>a</sup> (Gamba et al., 2021)

<sup>b</sup> (Wermter et al., 2020)

<sup>c</sup> (Wieczorek & Jelen, 2019)

<sup>d</sup> (Hansch & Schreiner, 2017)

<sup>e</sup> (Vieites-Outes et al., 2016)

<sup>f</sup> (Fechner et al., 2018)

<sup>g</sup> (Bell & Wagstaff, 2014)

<sup>h</sup> (Corleto et al., 2018)

<sup>i</sup> (Matera et al., 2012)

<sup>j</sup> (Park et al., 2020)

<sup>k</sup> (Cecilia M. Fusari et al., 2020)

<sup>l</sup> (Kapusta-Duch & Kusznierevicz, 2021)

<sup>m</sup> (Ghoora, Haldipur, et al., 2020)

<sup>n</sup> (Cámara-Martos et al., 2021)

<sup>o</sup> (Toledo-Martín et al., 2017)

<sup>p</sup> (Chorol et al., 2021)

<sup>q</sup> (Yi et al., 2016)

<sup>r</sup> (Lee et al., 2021)

<sup>s</sup> (Taranto et al., 2016)

<sup>t</sup> (Bennett et al., 2002)

#### 1.4 Problemática a enfrentar en el siglo XXI con respecto a la alimentación

El mundo está produciendo más frutas y verduras, pero todavía no es suficiente. La producción de frutas y hortalizas es fundamental para los medios de vida de muchos pequeños agricultores. Pero puede dañar el medio ambiente, incluyendo el suelo, el agua y la biodiversidad cuando las prácticas agronómicas no son las adecuadas. Los productos químicos utilizados para garantizar la productividad y proteger el cultivo de las plagas pueden contaminar el medio ambiente. Los altos niveles de pérdida y desperdicio de alimentos son el resultado de una mala manipulación y del carácter perecedero de los productos frescos, lo que reduce la eficiencia y la sostenibilidad del sistema con posibles efectos negativos en el medio ambiente y en la base de recursos naturales. Para asegurar que las frutas y verduras contribuyan más a la nutrición y la salud es necesario adoptar enfoques más amplios y holísticos. El suministro de productos frescos debe ser más eficiente, inclusivo y resistente (FAO, 2020).

El cambio climático y la falta de agua para el cultivo dificultarán la producción suficiente para cumplir con las ingestas diarias recomendadas por la OMS (Mason-D'Croze et al., 2019). En países productores como Estados Unidos se destina el 50% de las tierras para la producción de alimentos y hasta un 80% de agua dulce (Weber, 2017)

Como alternativa sustentable y saludable frente a las problemáticas de un adecuado consumo de verduras y a la necesidad de producción de mayor cantidad de alimentos surgen los *microgreens* o *micro-hortalizas*

#### 1.5 Microgreens

Las *microgreens* son plántulas comestibles jóvenes y tiernas, producidas a partir de semillas de varias especies de hortalizas, cultivos herbáceos, hierbas aromáticas y plantas silvestres. Según la especie utilizada, pueden ser recolectadas después de tan solo 7-21 días desde la germinación, cuando los cotiledones están completamente extendidos y se han formado las primeras hojas. La porción comestible está representada por el tallo, los cotiledones y a menudo, las primeras hojas verdaderas en su fase inicial, excluyendo las raíces (Di Gioia & Santamaria, 2015).

Las micro-hortalizas, difundidas inicialmente en América del Norte y más tarde en el norte de Europa, Asia y Oceanía, son cada vez más utilizadas por los cocineros en la alta cocina para la preparación de platos gourmet, y se dirigen a los consumidores que cada vez son más exigentes y sobre todo *health conscious*, es decir, atentos a su propia salud, a la dieta y a la calidad de los alimentos.

A menudo se utilizan principalmente para cumplir con una decoración estética de los platos, sin embargo las micro-hortalizas también tienen un excelente perfil nutricional y son una de las novedades más interesantes en el mercado de frutas y hortalizas frescas, hasta el punto de ser considerados verdaderos "alimentos funcionales" o "súper alimentos" (Treadwell et al., 2010; Di Gioia & Santamaria, 2015) porque, además del aporte de nutrientes, pueden proporcionar componentes bioactivos, capaces de mejorar algunas funciones del orga-

nismo y/o reducir el riesgo de enfermedades (Di Gioia & Santamaria, 2015). En comparación con las semillas y plantas adultas de la misma especie, los microgreens acumulan mayores cantidades de fitoquímicos, en promedio, 10 veces más (Marchioni et al., 2021).

En la **figura 5** se muestran las partes de un microgreen de brócoli, estas son 3, el tallo central, los cotiledones y las hojas verdaderas, o vestigios de ellas.

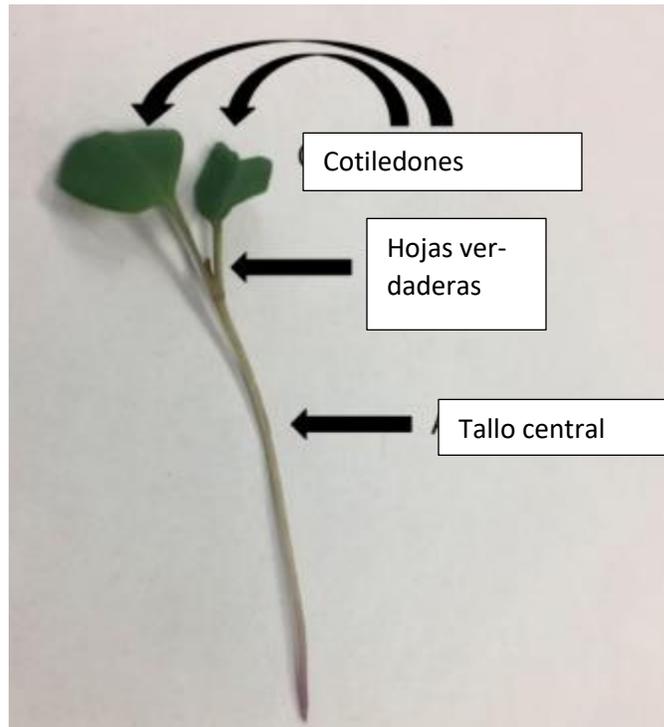


Figura 5. Partes de un microgreens de brócoli (Adaptación de Choe et al., 2018).

Actualmente solo algunos países cuentan con normativas de calidad aplicada a brotes y microgreens. En el caso de Argentina, el Código Alimentario Argentino (CAA) no los contempla, mientras que en otros países como los que integran la Unión Europea, el Codex Alimentarius de la FAO y diferentes organismos, están regularizando a este tipo de alimento, las materias primas y la producción como alimento funcional (Castagnino et al., 2020).

### 1.5.1 Antecedentes de cultivo en microgreens de brásicas

Durante las últimas dos décadas, los cultivos de *Brassicaceae* han sido objeto de una intensa investigación basada en sus beneficios para la salud humana (Lin & Harnly, 2010). Al mismo tiempo, las *Brassicaceae* ofrecen algunos de las más comunes verduras consumidas en todo el mundo, que se pueden cultivar como microgreens.

Casi cualquier semilla vegetal se puede utilizar para el crecimiento de micro-hortalizas, pero la mayoría de las especies de microgreens comerciales son hierbas o vegetales de la familia *Brassicaceae* (brócoli, coliflor, coles de Bruselas, repollo, rábano, nabo y colinabo). Como

los vegetales más consumidos en todo el mundo, los vegetales *Brassicaceae* se ven favorecidos por sus atributos beneficiosos para la salud dietética al reducir la incidencia de cánceres, enfermedades cardiovasculares y otras enfermedades degenerativas (Xiao et al., 2019).

Por otro lado, los microgreens han sido objeto de estudio en estos últimos años principalmente por su potencial de alimento funcional pero también las ventajas consignadas anteriormente. Sin embargo, es necesario profundizar aún más los conocimientos que tenemos sobre estos nuevos alimentos, para conocer si verdaderamente tienen un potencial funcional mayor su contraparte madura, ya que las hortalizas tienen un perfilado nutricional y un conjunto de metabolitos secundarios que han sido cuantificados a lo largo de los años.

Es muy probable que los microgreens de brásicas sean los más estudiados por su importancia funcional, debido a la acumulación de fitoquímicos buenos para la salud (Li et al., 2021), sin embargo entre los más difundidos y estudiados son el brócoli, el repollo, la espinaca y otras variedades más bien exóticas.

De esta manera al considerarse un cultivo rico en nutrientes representa una alternativa viable para llenar los desafíos nutricionales actuales.

Con el desarrollo de la industria agrícola urbana, existe un interés creciente en la producción comercial de alto valor, sin embargo actualmente no hay suficiente evidencia disponible para que los productores tomen decisiones informadas sobre qué métodos de producción funcionarían mejor para su situación (Thuong & Minh, 2020)

Las densidades de siembra, sustratos y tratamientos pre siembra difieren entre autores y especies, sin embargo en ninguna publicación hasta ahora se ha realizado un diseño experimental para conocer la óptima combinación de los factores para optimizar el cultivo de cada tipo de microgreen (Bulgari et al., 2017; Li et al., 2021; Nolan, 2018).

En el estudio de Thuong y Minh (2020) si bien se analizó para microgreens de rábano la relación entre densidad de siembra y sustratos, los sustratos son distintos a los que se analizarán en este estudio y otro dato más importante es que el agua de riego en dicho estudio contiene una solución fertilizante, algo que podría ser más utilizado en una pyme de microgreens, pero difícilmente a escala hogareña.

Otro factor que afecta el rendimiento y la calidad es la luz, una elevada intensidad de luz reduce el contenido de carotenoides en algunas especies de brásicas (Craver et al., 2017), con respecto al rendimiento, si se utiliza una lámpara LED de luz blanca con respecto a lámparas usadas generalmente en horticultura se obtienen mayores rendimientos en microgreens de lechuga (Battafarano & Urrestarazu, 2018), en brásicas esto es variable según la variedad y si la iluminación es artificial o natural, microgreens de rábano tienen un mayor rendimiento en canales sombreados que soleados, en cambio los microgreens de albahaca mejoran su rendimiento en canales soleados (Nolan, 2018).

Con respecto a la composición físico-química y fitoquímica de los microgreens de brásicas se ha avanzado más en el estudio de estas variables, sin embargo, muchos de esos estudios involucran especies que no son consumidas en la región, ya sea por razones culturales o por una mayor dificultad de conseguir semillas orgánicas de dichas especies.

En un estudio realizado por Xiao y col. (2016) se determinó la composición mineral de 30 variedades de la familia *brassicaceae*, Kyriacou, El-Nakhel, Soteriou y col. (2021) analizaron la variación ontogénica y fitoquímica de 2 especies de brásicas, también se han estudiado

contenidos de vitaminas en los microgreens, polifenoles totales y glucosinolatos totales (Ghoora, Haldipur, et al., 2020; Xiao et al., 2012; Xiao et al., 2019).

Sin embargo solamente hay unos pocos artículos Kyriacou y col. (2019); Marchioni y col. (2021) en los que se han analizados el perfil de compuestos fenólicos y el de isotiocianatos en microgreens de rábano y rúcula, pero además en dichos estudios las técnicas analíticas que se emplearon no son técnicas validadas para los analitos en estudio.

Con respecto a técnicas utilizadas para cuantificar compuestos fenólicos también es importante usar técnicas analíticas específicas para esos analitos debido a que mejoran parámetros de interés como la sensibilidad, precisión y exactitud, con el fin de poder conocer el perfil de fenólicos verdaderos de una muestra.

En tanto Di Gioia y Santamaria (2015) consignaron que, si bien no hay datos sobre el contenido de fibra, proteínas e hidratos de Carbono, una investigación de ellos les permitió saber que el contenido de fibras y proteínas es menor en microgreens que en sus homólogas maduras.

Todos estos estudios nos sirven como pie de apoyo para seguir ampliando nuestro conocimiento sobre estos nuevos alimentos, y a su vez para poder comparar y estandarizar el contenido nutritivo y evaluar la variación del potencial funcional.

### **1.5.2 Sustentabilidad de los microgreens.**

Los microgreens son ideales para la producción en interiores y son parte del movimiento global hacia una agricultura más sustentable (Turner et al., 2020). La agricultura de microgreens en interiores también puede ser más sostenible que la producción de cultivos tradicionales (Weber, 2017, citado en Nolan, 2018).

Los microgreens pueden ser un cultivo emergente importante, porque se necesitan menos recursos para producir una cantidad nutricional equivalente a la de los vegetales maduros, en un estudio experimental se determinó que para producir una determinada proporción nutricional los microgreens de brócoli requieren 158 a 236 veces menos agua que brócolis maduros (Weber, 2017).

Además, estos cultivos pueden contribuir a la conservación y mejora de muchas variedades locales con riesgo de erosión genética o extinción a través de su cultivo para producir esta nueva categoría de productos. La protección y mejora de la biodiversidad así como de la agrobiodiversidad, es uno de los mayores desafíos de nuestro tiempo (Di Gioia & Santamaria, 2015). Es por esta razón que los encontramos propicios como objetos para el estudio de esta tesis.

## **1.6 Fundamentación del problema de investigación**

En base a lo expuesto anteriormente, una de las premisas más importantes de todos los países y estados del mundo es fomentar la producción de alimentos saludables que colaboren con la prevención de enfermedades no transmisibles, y que a su vez permitan economizar recursos valiosos. En esta línea, las micro-hortalizas responden con los criterios tanto de sustentabilidad como de aporte nutricional y fitoquímico. Particularmente, se resaltan aquellas de la familia *Brassicaceae*, por su conveniente forma de cultivo, fácil y rápida

germinación y crecimiento, y a su vez ofrece un rango amplio de sabores y colores. Notablemente, las micro-hortalizas de esta familia además de su interesante atractivo como ingrediente culinario, están asociadas con numerosas propiedades biológicas benéficas para el ser humano. Sin embargo, aún resta dilucidar los principales grupos de compuestos asociados a dichas bioactividades y que son los responsables de aportar el potencial funcional a dichas micro-hortalizas. En este sentido el conocimiento aportado por un estudio que analice desde las variables implicadas en la producción, así como también un análisis cuali-cuantitativo de las micro-hortalizas de brásicas contribuiría a sentar las bases para definir el potencial de explotación de estos nuevos cultivos como una alternativa sustentable y con capacidad de aportar productos con alto valor agregado.

## 2 Hipótesis Y Objetivos

### 2.1 Hipótesis General

*“ES POSIBLE LOGRAR LA PRODUCCIÓN DE MICROHORTALIZAS DE BRÁSICACEAE Y QUE RESULTEN EN FUENTES NOVEDOSAS DE COMPUESTOS BIOACTIVOS”.*

### 2.2 Objetivo General:

- Producir a escala experimental micro-hortalizas de vegetales de la familia *Brassicaceae* y evaluarlas en relación a su potencial funcional según su contenido de compuestos bioactivos.

### 2.3 Objetivos Específicos:

1. Desarrollar y evaluar las condiciones óptimas de cultivo de micro-hortalizas de la familia *Brassicaceae* siguiendo lineamientos de sustentabilidad.
2. Evaluar el rendimiento productivo de los vegetales cultivados, analizando variables tales como densidad de siembra y pruebas de tratamiento de semillas.
3. Determinar la composición nutricional de las micro-hortalizas
4. Determinar el perfilado de compuestos bioactivos y ponderar su potencial funcional empleando técnicas analíticas instrumentales.

### 3 Cultivo De Microgreens

#### 3.1 Introducci3n

Una de las caracterfsticas m1s atractivas de los microgreens es la posibilidad de cultivarlos a peque1a escala, incluso en condiciones hogare1as. Cultivar peque1as cantidades en casa es relativamente f1cil; sin embargo, crecer y comercializar microgreens de alta calidad es mucho m1s difcil, entre otras cosas por los precios y la disponibilidad de semillas hortfcolas (Treadwell et al., 2020).

##### 3.1.1 *Ventajas del cultivo de microgreens*

Entre las ventajas que podemos encontrar al cultivo y consumo de microgreens segun Cas-tagnino y Marina (2020) est1n:

- Sabor rico, a su vez son saludables y org1nicos: las micro-hortalizas pueden ser producidas de manera org1nica, sin ningun agroqufmico y otorgan sabor y color a las preparaciones.
- F1cil y r1pidos de cultivar, ya que el tiempo necesario desde la siembra al consumo es de solo 1 a 3 semanas, dependiendo de la especie y de la variedad a cultivar; y con la ventaja adicional que, en muchos casos, pueden realizarse diversos cortes.
- T1cnica accesible inclusive en zonas urbanas y para aquellas familias que no disponen de espacio para la jardinerfa y realizaci3n de huerta.
- Mfnimo requerimiento de tiempo y esfuerzo: ya que se requiere pocos minutos diarios de para el riego, cuidados y/o cortes.
- Requisitos simples: Tan solo se requiere acceso a buena luminosidad (natural o artificial), bandejas / recipientes poco profundos, agua para riego y un medio de cultivo que puede ser, preferiblemente, sustrato mezcla de turba y vermiculita, o compost.
- Sin limitantes de clima: Pueden producirse las cuatro estaciones, si se dispone de un ambiente adecuado.
- Elevado rendimiento en relaci3n al espacio disponible: debido a la densidad de 4 - 5 semillas/cm<sup>2</sup>.
- Ideales para crear un mini jardfn comestible: Es posible cultivar microgreens aun en casas sin jardfn: en el interior de una cocina / living soleado; en un mini invernadero, al aire libre en su balc3n, en un porche cubierto.
- Costo mfnimo: ya que pueden reutilizarse recipientes o bandejas disponibles en el hogar.
- Ideales para incorporar a la dieta: Se trata de alimentos ricos en vitaminas, minerales y fitonutrientes, de textura delicada, f1cilmente digeribles, que brindan mltiples beneficios nutricionales para la salud. Aportan sabor, color, textura, enzimas vivas y nutrientes, a los platos.

- Admiten diversidad de preparaciones: Pueden consumirse como guarnición, en ensaladas, sándwiches, sopas, etc.

### **3.1.2 Parámetros implicados en la producción de microgreens**

Para una correcta producción de microgreens es necesario en primer lugar definir las condiciones propicias para su siembra, cultivo y manipulación postcosecha.

El cultivo de microgreens se suele llevar a cabo en bandejas de material plástico, de tamaño variable y con una altura de entre 3 y 5 cm (Gioia et al., 2015). Un buen sustrato de cultivo debe asegurar una porosidad mayor al 85% del volumen total, una buena capacidad de retención de agua (55-70%) y una buena aireación (20-30%) (Di Gioia y Santamaria, 2015).

Los sustratos más utilizados son:

- Turba
- Vermiculita
- Perlita
- Fibra de coco o cocomix

Los sustratos deben tener una serie de parámetros fisicoquímicos para aumentar el rendimiento y obtener la producción deseada. El pH tiene que oscilar entre 5,5-6,5, la conductividad debe ser menor a 500 Us/cm y debe haber ausencia de metales pesados (Gioia et al., 2015).

El riego por aspersión se usa generalmente solo durante la etapa de germinación en estos sistemas de medios. Después de la germinación, las bandejas deben ser sub irrigadas para evitar el exceso de humedad en el dosel de la planta (Treadwell et al., 2020).

Las bandejas de microgreens se deben mantener en la oscuridad hasta que germinen (esto es variable según la especie) y posteriormente, cuando emergen ser trasladadas a un lugar soleado (Castagnino et al., 2020).

En la **figura 6** se presenta el método de producción de microgreens más común en lo que respecta a iluminación.

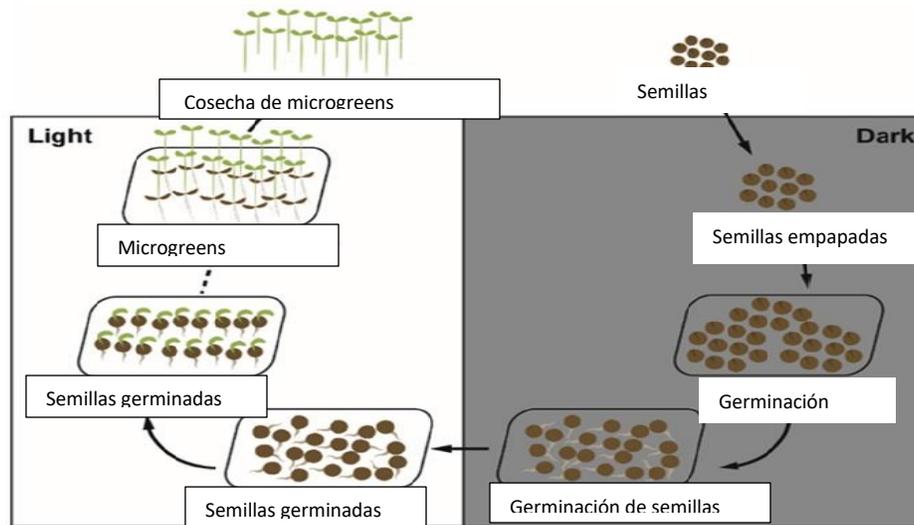


Figura 6. Método de producción de microgreens más común. Fuente: (Zhang et al., 2020).

Otro aspecto importante es la densidad de siembra, muchos productores tratan de aumentar la densidad de siembra, pero esto provoca un alargamiento de los tallos, reduciendo la calidad (Di Gioia y Santamaria, 2015). De esta forma que este parámetro de siembra resulta fundamental a considerarse cuando se cultivan los microgreens.

Teniendo en cuenta estos antecedentes, en la primera etapa del desarrollo de esta Tesis, se comenzó con la selección y optimización de las variables relacionadas con el desarrollo y cultivo de micro-hortalizas de brásicas preponderando la sustentabilidad del proceso de producción. Luego de cosechadas, se procedió a estudiar el rendimiento productivo.

Cuando se desean optimizar las variables, los métodos multivariados tienen la ventaja de poder evaluar la interacción entre las variables. Otra de las ventajas del análisis multivariado es la capacidad de obtener una visión general más realista y precisa que cuando se analiza una sola variable. Además, en comparación con las técnicas univariadas, las técnicas de análisis multivariado dan como resultado una potente y confiable prueba de significación. Por estas razones nosotros usamos un diseño multivariado.

## 3.2 Metodología empleada

### 3.2.1 OPTIMIZACIÓN DEL CULTIVO DE MICROGREENS DE RABANO Y RÚCULA

Para la optimización del cultivo de los microgreens se aplicó una metodología de superficie respuesta bajo un diseño *D-optimal* en el caso del rábano y en la rúcula bajo un diseño de *3-level factorial*, ambos en el software estadístico Design expert.

La metodología de superficie de respuesta implica tres aspectos: diseño, modelo y técnica de optimización. El diseño y el modelo se piensan al mismo tiempo, y dependen del tipo de comportamiento que se espera en la respuesta.

El diseño implica que para optimizar un proceso se debe aplicar el diseño de experimentos, en particular aquellos que sirven para ajustar un modelo de regresión lineal múltiple.

El aspecto del modelo utiliza el análisis de regresión lineal múltiple, junto con sus elementos básicos que son: parámetros del modelo, modelo ajustado, significancia del modelo, prueba de falta de ajuste, residuos, predichos, intervalos de confianza para predichos y coeficiente de determinación

Por último, el aspecto de optimización está formado por algunas técnicas matemáticas que sirven para que, dado un modelo ajustado, explorarlo a fin de obtener información sobre el punto óptimo

La ventaja de este tipo de metodología es que nos permite conocer las interacciones entre las variables y a su vez maximizar los valores de las respuestas, para tener un resultado esperado a lo planeado.

### 3.2.1.1 Rábano

El tipo de cultivo que se utilizó es un cultivo sin suelo sobre un sustrato sólido, el crecimiento del cultivo y pueden intervenir o no en la nutrición de la planta. El sustrato brinda sostén y anclaje a la planta, además de mantener la humedad, drenaje, aireación y facilidad en la absorción de nutrientes para que la planta no tenga ningún problema en su desarrollo.

Para determinar las condiciones óptimas de cultivo se tuvieron en cuenta 3 variables con distintos niveles: tipo de sustrato, una variable categórica con 2 niveles Mezcla Cocomix y Turba Kekkila, densidad de siembra, una variable numérica cuyo valor más bajo fue de 0,02 g/cm<sup>2</sup> y su valor más alto fue de 0,06 g/cm<sup>2</sup>. Finalmente, la última variable fue el tiempo de activación por remojo de semillas cuyo menor valor fue de 3 horas y su mayor valor de 9 horas. Las respuestas evaluadas fueron el peso fresco en gramos y la altura de planta.

En la **tabla 11** se muestra el dispositivo del experimento creado por el software.

Tabla 11. Dispositivo D-Optimal para optimizar el cultivo de microgreens de rábano. Fuente: Design Expert.

Std	Run	Block	Factor 1 A:Densidad g/cm <sup>2</sup>	Factor 2 B:Activación horas	Factor 3 C:Sustrato	Response 1 Peso Fresco gramos	Response 2 Alto de tallo cm
11	1	Block 1	0.06	7.42	Mezcla Coco		
13	2	Block 1	0.04	9.00	Mezcla Coco		
12	3	Block 1	0.06	5.68	Turba Kekkila		
9	4	Block 1	0.02	3.00	Turba Kekkila		
16	5	Block 1	0.06	3.00	Mezcla Coco		
8	6	Block 1	0.04	5.86	Mezcla Coco		
1	7	Block 1	0.06	3.00	Turba Kekkila		
19	8	Block 1	0.06	8.39	Turba Kekkila		
5	9	Block 1	0.04	9.00	Turba Kekkila		
3	10	Block 1	0.02	9.00	Turba Kekkila		
14	11	Block 1	0.02	6.00	Turba Kekkila		
18	12	Block 1	0.02	9.00	Mezcla Coco		
4	13	Block 1	0.06	3.00	Mezcla Coco		
15	14	Block 1	0.02	3.00	Mezcla Coco		
2	15	Block 1	0.02	9.00	Mezcla Coco		
10	16	Block 1	0.04	4.80	Turba Kekkila		
7	17	Block 1	0.06	8.39	Turba Kekkila		
17	18	Block 1	0.02	3.00	Turba Kekkila		
6	19	Block 1	0.02	3.00	Mezcla Coco		

### 3.2.2.1.1. Materiales y Equipo De Laboratorio.

- Semillas orgánicas obtenidas en la empresa de Luján Agrícola. Poder germinativo 95,5%.
- Bandejas plásticas de 11x15 cm= 165 cm<sup>2</sup>
- Calibre SOMET
- Balanza analítica Denver Instrument APX-200

### 3.2.2.1.2 Variables y niveles del diseño experimental.

- I. Densidad de siembra evaluadas:
  - a. 0,06 gr/cm<sup>2</sup>
  - b. 0,04 gr/cm<sup>2</sup>
  - c. 0,02 gr/cm<sup>2</sup>
- II. Sustrato:
  - a. Mezcla Cocomix
  - b. Turba Kekkila
- III. Tipo de Siembra: Al voleo, sin tapar.
- IV. Riego: Los primeros dos días por aspersion, posteriormente por inmersión según requieran los microgreens.
- V. Lugar: Laboratorio de Cromatografía de Agroalimentos-IBAM-FCA
- VI. Cosecha: La cosecha fue llevada a cabo al desarrollo del primer par de hojas verdaderas.
- VII. Iluminación: Se llevó a cabo con luz ambiental, con un fotoperíodo aproximado de 16 horas de luz por 8 horas de oscuridad.

### **3.2.2.1.3 Metodología De Medición Y Pesada.**

Debido a la gran cantidad de micro-hortalizas en cada bandeja plástica, se eligió una región de área de la bandeja determinada al azar (colocando arriba un rectángulo de cartón) y se cosecharon todos los microgreens que estaban en esa área al ras del sustrato.

Para la respuesta a evaluar de altura de los tallos la medición se llevó a cabo por intervalos de 3 centímetros cada uno, con escalas graduadas con regla y controladas con calibre. En total fueron 6 escalas: 0 a 3 cm, 3 a 6cm, 6 a 9 cm, 9 a 12 cm, 12 a 15 cm, y mayor a 15 cm. Las mediciones se hicieron con regla y calibre.

Posterior a eso se determinó rápidamente peso fresco en balanza granataria para evitar la deshidratación de las micro-hortalizas.

### **3.2.2.1.4 Análisis Estadístico.**

Para el análisis estadístico se realizó un diseño de superficie respuesta tipo *D-optimal* en el software estadístico *Design expert v.DX7®*, en tanto empleando el software *Infostat* versión estudiantil 2020e se realizó un análisis de estadística descriptiva para hacer gráficas de barras y de dispersión. La salida estadística proporcionada por el software Design Expert se presenta en el **Anexo 1**, junto con el análisis de los supuestos referentes al Análisis de la Varianza (ANOVA).

### **3.2.1.2 Rúcula**

Como se dijo previamente, para determinar las condiciones óptimas de cultivo en microgreens de rúcula se realizó un diseño tipo *3 level factorial* bajo un modelo de superficie respuesta. Este tipo de diseño es diferente al usado para los microgreens de rábano cada factor número tiene 3 niveles, esto tiene sus ventajas y sus desventajas. Entre las ventajas se puede mencionar una mayor facilidad de llevar a cabo el experimento debido a que hay menos puntos modelo y una mayor repetición de cada factor, entre las desventajas es que al haber menos puntos modelos la optimización que se busca solamente se acorta a los niveles evaluados, por lo cual se puede obtener una menor deseabilidad.

Se tuvieron en cuenta 3 variables: Densidad, % de riego y sustrato, como se mencionó cada factor numérico tuvo 3 niveles y en este caso el factor categórico (sustrato) también tuvo 3 niveles o tipos de sustrato evaluados. Las respuestas evaluadas fueron el peso fresco por bandeja (g), el alto de planta (cm) y el área foliar (cm<sup>2</sup>).

Es importante recalcar que en rúcula las semillas no tienen una activación pre-siembra por remojo debido a que se forma un mucílago que dificulta su siembra.

En la **tabla 12** se presenta el dispositivo creado por el software Design Expert.

Tabla 12. Dispositivo tipo 3 level factorial para la optimización del cultivo de microgreens de rúcula. Fuente: Design Expert.

Std	Run	Block	Factor 1 A:Densidad g/cm2	Factor 2 B:Riego %	Factor 3 C:Sustrato	Response 1 Peso Fresco g/bandeja	Response 2 Alto Planta cm	Response 3 Área foliar m <sup>2</sup>
6	1	Block 1	0.04	11.00	Cocomix			
24	2	Block 1	0.02	11.00	Turba y Perlita			
8	3	Block 1	0.03	13.00	Cocomix			
11	4	Block 1	0.02	9.00	Turba			
12	5	Block 1	0.03	9.00	Turba			
16	6	Block 1	0.04	11.00	Turba			
13	7	Block 1	0.04	9.00	Turba			
5	8	Block 1	0.03	11.00	Cocomix			
29	9	Block 1	0.04	13.00	Turba y Perlita			
27	10	Block 1	0.02	13.00	Turba y Perlita			
23	11	Block 1	0.04	9.00	Turba y Perlita			
1	12	Block 1	0.02	9.00	Cocomix			
17	13	Block 1	0.02	13.00	Turba			
25	14	Block 1	0.03	11.00	Turba y Perlita			
10	15	Block 1	0.03	11.00	Cocomix			
19	16	Block 1	0.04	13.00	Turba			
28	17	Block 1	0.03	13.00	Turba y Perlita			
21	18	Block 1	0.02	9.00	Turba y Perlita			
3	19	Block 1	0.04	9.00	Cocomix			
9	20	Block 1	0.04	13.00	Cocomix			
14	21	Block 1	0.02	11.00	Turba			
30	22	Block 1	0.03	11.00	Turba y Perlita			
7	23	Block 1	0.02	13.00	Cocomix			
4	24	Block 1	0.02	11.00	Cocomix			
18	25	Block 1	0.03	13.00	Turba			
26	26	Block 1	0.04	11.00	Turba y Perlita			
15	27	Block 1	0.03	11.00	Turba			
2	28	Block 1	0.03	9.00	Cocomix			
20	29	Block 1	0.03	11.00	Turba			
22	30	Block 1	0.03	9.00	Turba y Perlita			

### 3.2.1.2.1 Materiales y Equipo De Laboratorio.

- Semillas orgánicas obtenidas en la empresa Luján Agrícola. Poder germinativo 98,5%.
- Bandejas plásticas N°101, perforadas en la base de 10,5x 9 cm= 94,5 cm<sup>2</sup>
- Calibre marca SOMET
- Balanza analítica Denver instrument APX-200

### 3.2.1.2.2 Variables y niveles del diseño experimental.

#### I. Densidad de siembra:

- 0,02 gr/cm<sup>2</sup>
- 0,03 gr/cm<sup>2</sup>
- 0,04 gr/cm<sup>2</sup>

#### II. Sustrato:

- Mezcla Cocomix
- Turba Kekkila
- Turba Kekkila y perlita (80%-20%)

- III. **Tipo de Siembra:** Al voleo, sin tapar.
- IV. **Riego:** Los primeros dos días por aspersión, posteriormente se aplicó un riego de volumen efectivo de contenedor (Tavan et al., 2021) para optimizar el recurso hídrico.
  - a. EVC 9%
  - b. EVC 11%
  - c. EVC 13%
- V. **Lugar:** Cámara de luces de la cátedra de Química orgánica de la facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo.
- VI. **Cosecha:** La cosecha fue llevada a cabo al desarrollo del primer par de hojas verdaderas.
- VII. **Iluminación:** Se llevó a cabo con luz LED, con un fotoperíodo aproximado de 16 horas de luz por 8 de oscuridad.

#### **3.2.1.2.3 Método De Medición.**

Para medir el peso fresco la metodología consistió en cosechar la totalidad de la bandeja y colocar todos los microgreens en balanza analítica en un vaso de precipitado, tapando con un vidrio de reloj para evitar la deshidratación de las plántulas. Inmediatamente después las muestras se congelaron en nitrógeno líquido, fueron llevadas a freezer de -80°C y después se liofilizaron para el análisis de compuestos bioactivos.

Para determinar la altura de planta y área foliar se usó el software ImageJ, la metodología consistió en seleccionar 10 microgreens al azar de cada una de las bandejas, y sacar una foto de cada plántula cortada, para después calcular con el software estas dos variables (Schindelin et al., 2015; Tajima & Kato, 2011).

#### **3.2.1.2.4 Análisis Estadístico.**

Para el análisis estadístico se realizó un diseño de superficie respuesta de tipo “3-level factorial” en el software estadístico Design expert®, en tanto en el software Infostat versión estudiantil 2020e se realizó un análisis de estadística descriptiva para la hacer gráficas de barras y de puntos. La salida estadística proporcionada por el software *Design Expert* está en el **Anexo 2**, junto con los supuestos del ANOVA.

### **3.2.2 EVALUACIÓN DE LA CURVA DE CRECIMIENTO**

Una vez determinadas las condiciones óptimas de cultivo para cada especie con los diseños experimentales correspondientes, se llevó a cabo un estudio para conocer la variación de variables como altura de tallo, densidad foliar y peso fresco/peso seco con respecto a los días

Este estudio se llevó a cabo a los 11 días del mes de agosto y la cosecha final se realizó el viernes 27 de agosto, siendo un total de 17 días desde la siembra a la cosecha, debido a la formación de las hojas verdaderas en los días 16 y 17, cumpliendo con la definición de microgreens brindada por (Di Gioia & Santamaria, 2015).

### 3.2.2.1 Condiciones de cultivo.

1. **Densidad de siembra:**
  - a. Rúcula: 0,03 g/cm<sup>2</sup>
  - b. Rabanito: 0,06 g/cm<sup>2</sup>
2. **Sustrato:** Cocomix
3. **Tipo de siembra:** Al voleo, sin tapar
4. **Riego:**
  - a. Hasta germinación: un riego diario con pulverizador (aspersión)
  - b. Luego de germinación: Según necesidad de los microgreens (generalmente entre 300 y 400 mL) (subirrigación)
5. **Lugar:** Cámara de luces de la cátedra de genética de la Facultad de Ciencias Agrarias- Universidad Nacional de Cuyo
6. **Iluminación:** 16 horas de luz por 8 horas de oscuridad

### 3.2.2.2 Estados De Crecimiento Evaluados

- 0- Sin germinar
- 1- Rotura de tegumento de semilla
- 2- Emisión de radícula
- 3- Emisión de hipocótilo
- 4- Formación de cotiledones
- 5- Cotiledones desplegados
- 6- Formación de primer par de hojas verdaderas
- 7- Primer par de hojas verdaderas desplegado

### 3.2.2.3 Método De Medición

Las unidades de muestra fueron 12 bandejas plásticas, 6 de rúcula y 6 de rabanito, estas fueron numeradas del 1 al 6. Las bandejas 2,4 y 6 de cada especie fueron utilizadas al final solamente para conocer el peso fresco por bandeja y conocer el porcentaje de humedad. En tanto que los microgreens de las bandejas impares (1,3 y 5) fueron las unidades de análisis para el área foliar, peso fresco, altura de planta y tallo.

La metodología de medición fue observar el crecimiento de los microgreens y anotar el estado de crecimiento actual. A partir de la presencia de cotiledones desplegados (estado de crecimiento 5) se procedió a cosechar día por medio 30 plántulas de 3 bandejas de cada especie, éstas fueron llevadas rápidamente al laboratorio para su pesada en balanza analítica y su medición con calibre.

La cuantificación del área foliar se llevó a cabo con el software Image J, para lo cual, una vez cuantificado el largo de los tallos, se cortaron las hojas y se sacó una foto de los tallos y las hojas.

La determinación de humedad se llevó a cabo pesando 10 gramos de cada bandeja par de ambas especies en un pesa filtro y rápidamente llevadas a estufa a 65 °C (Kyriacou, El-Nakhel, Pannico, et al., 2021) durante 3 días hasta peso constante.

#### 3.2.2.4 Análisis Estadístico

Los resultados se analizaron con estadística descriptiva, calculando estadígrafos como la media y la desviación estándar de cada bandeja, posteriormente se calculó la media de estos valores para conocer el promedio general con su desviación estándar. El software usado fue Infostat versión 2020e. Los gráficos de regresión no lineal fueron realizados en el software estadístico *Origin 6.0*.

En las **figuras 7 y 8** se muestran los microgreens de rúcula y rábano a 8 días de la siembra.



Figura 7. Microgreens de rúcula a los ocho días de la siembra.



Figura 8. Microgreens de rabanitos a los ocho días de la siembra.

### 3.3 Resultados y discusión

#### 3.3.1 Optimización del cultivo de microgreens de rabanito y rúcula

##### 3.3.1.1 Rabanito

Las figuras 9 y 10 muestran una mayor respuesta tanto al alto de planta como al peso fresco de los microgreens con el cocomix como sustrato que con la turba kekkila. El sustrato fue junto con la densidad de siembra los factores que afectaron las dos respuestas (alto de planta y peso fresco).

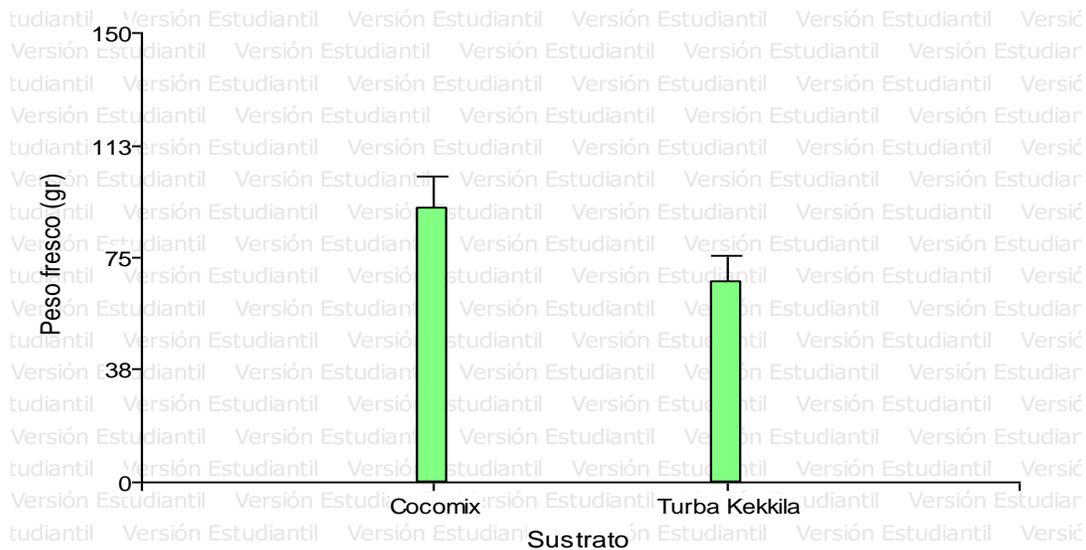


Figura 9. Distribución del peso fresco medio obtenido en microgreens de rabanito según el tipo de sustrato. Fuente: Infostat.

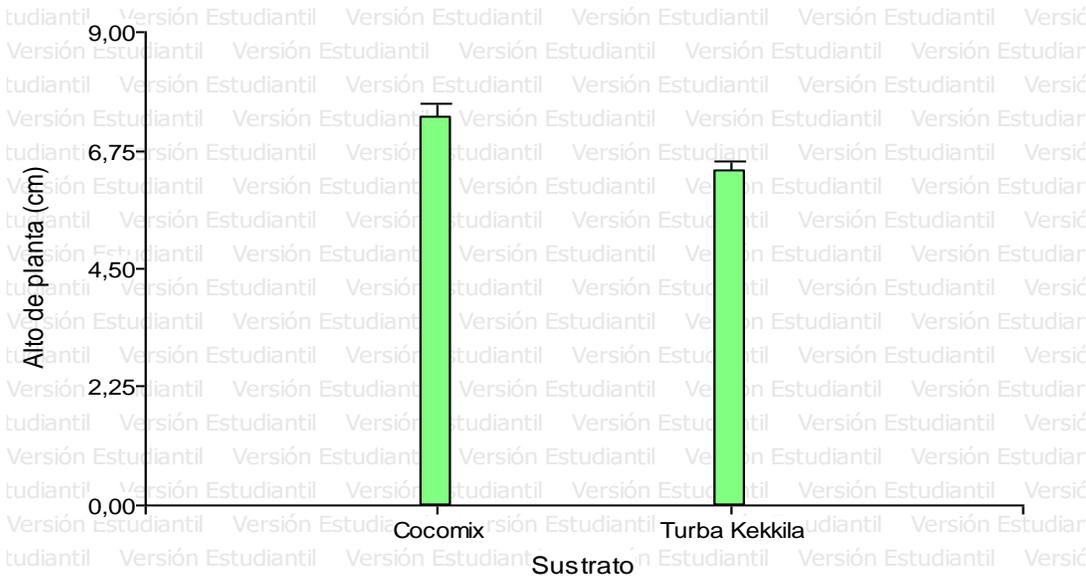


Figura 10. Distribución de la altura media de planta de microgreens de rabanito según el tipo de sustrato. Fuente: Infostat.

Para el peso fresco los microgreens crecidos con sustrato cocomix alcanzaron un valor medio de 91,56 gramos, en tanto que los microgreens con turba kekkila tuvieron un valor medio de 67,10 gramos. Respecto a la altura de planta, los microgreens con cocomix tuvieron una media de 7,37 cm mientras que sus homólogos con turba kekkila fueron de 6,35 cm.

En las **figuras 11 y 13** se presentan las respuestas del alto de planta y peso fresco con la densidad de siembra, en ambas figuras se aprecia que en el caso de la altura de planta, los microgreens alcanzaron una mayor altura con una densidad de 0,02 g/cm<sup>2</sup>, aunque hubo una diferencia estadística significativa entre la densidad de siembra y el alto de planta, ésta no es tan notoria como en el peso fresco, donde los microgreens con una mayor densidad de siembra alcanzaron un valor medio mucho más elevado (111,46 g) que los que tuvieron una densidad de 0,04 y 0,02 g/cm<sup>2</sup> (74,75 y 52 gramos).

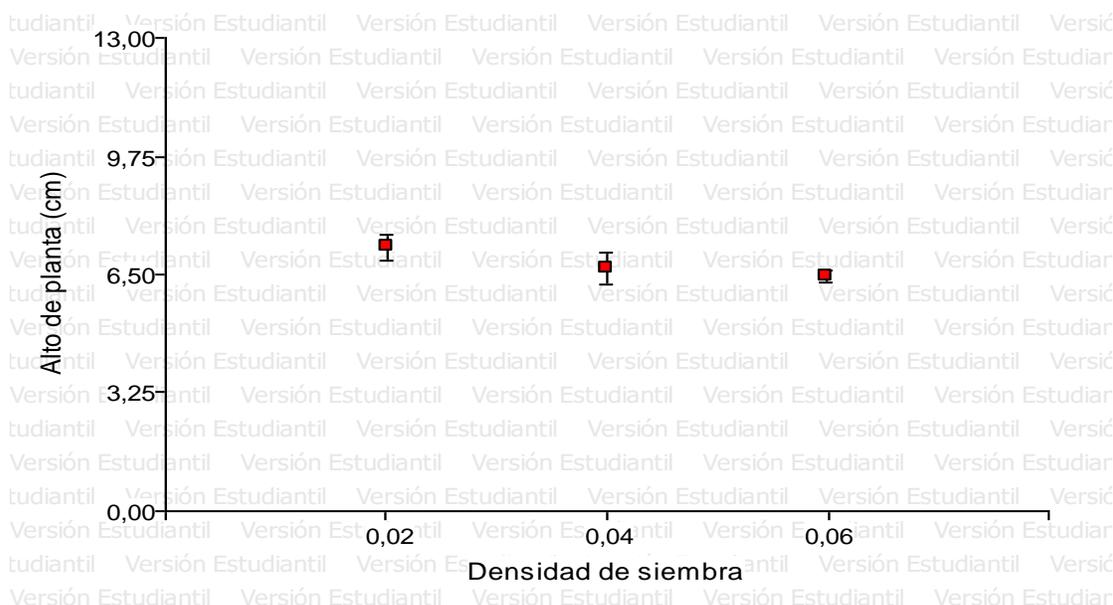


Figura 11. Gráfico de puntos de la altura media de planta en microgreens de rabanito según la densidad de siembra aplicada. Fuente: Infostat.

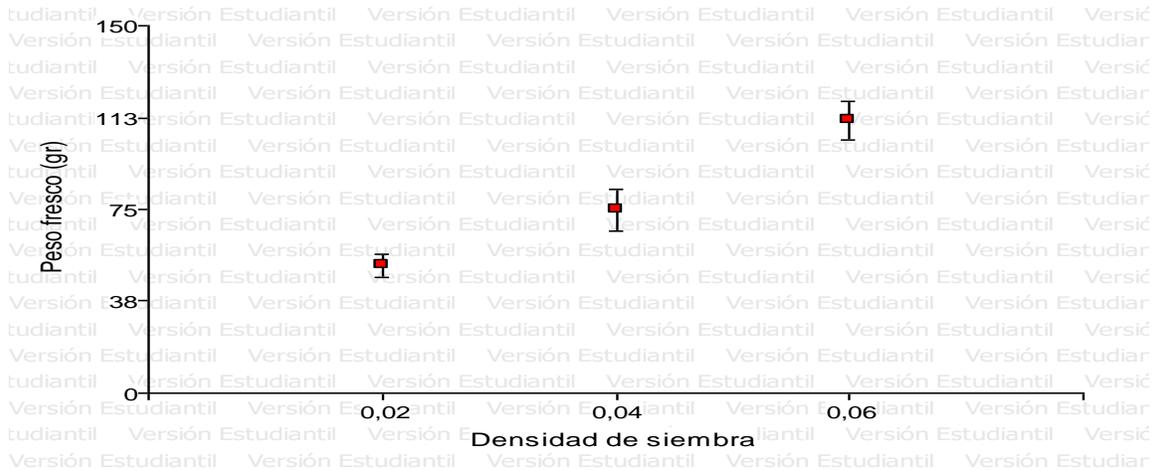


Figura 12. Gráfico de puntos del peso fresco medio de planta en microgreens de rabanito según la densidad de siembra aplicada Fuente: Infostat.

El tiempo de activación por remojo de las semillas fue un factor que no siguió un patrón en ninguna de las dos respuestas, en las **figuras 13 y 14** se observa que los microgreens tuvieron una respuesta semejante, independientemente del tiempo de remojo.

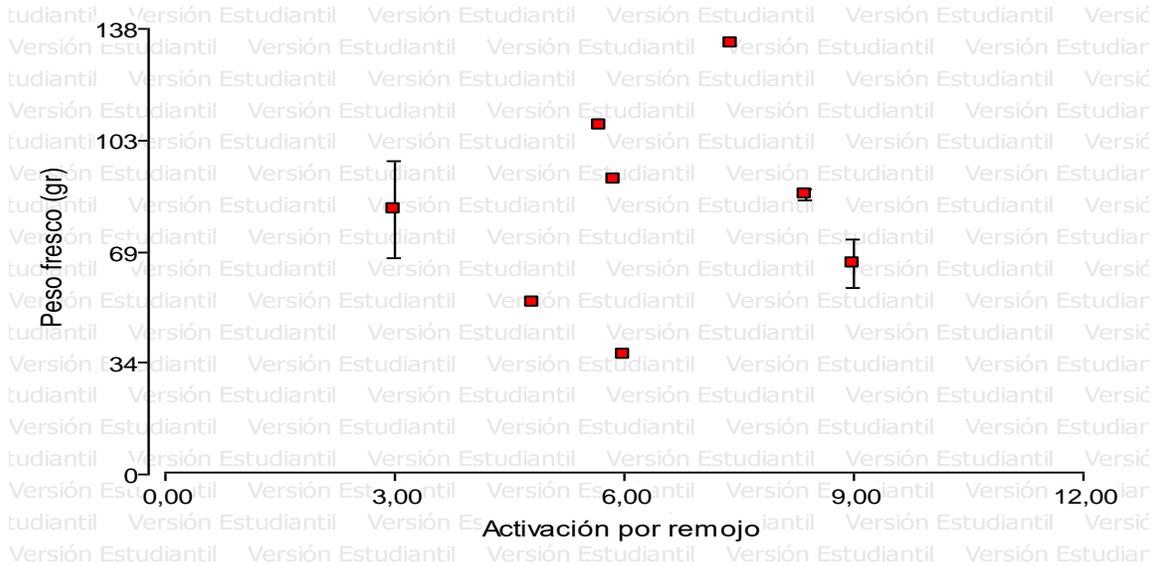


Figura 13. Gráfico de puntos del peso fresco medio obtenido en microgreens de rabanito según la activación por remojo realizada. Fuente: Infostat.

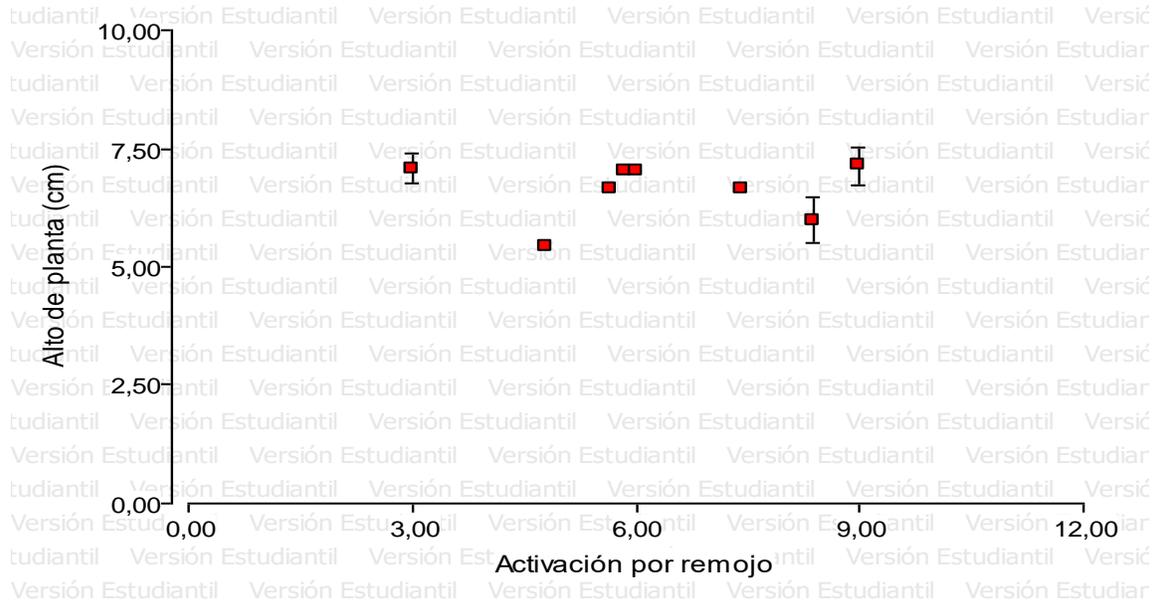


Figura 14. Gráfico de puntos de la altura media de planta obtenida en microgreens de rabanito según la activación por remojo realizada. Fuente: Infostat.

Con los datos analizados en el software Design Expert se eligió el modelo recomendado por el software, este modelo es el modelo lineal, en este modelo se observa que excepto entre el sustrato y la densidad de siembra las otras interacciones no son significativas. En el **Anexo 1** se presenta la salida del modelo elegido y la salida de los modelos no recomendados por el software.

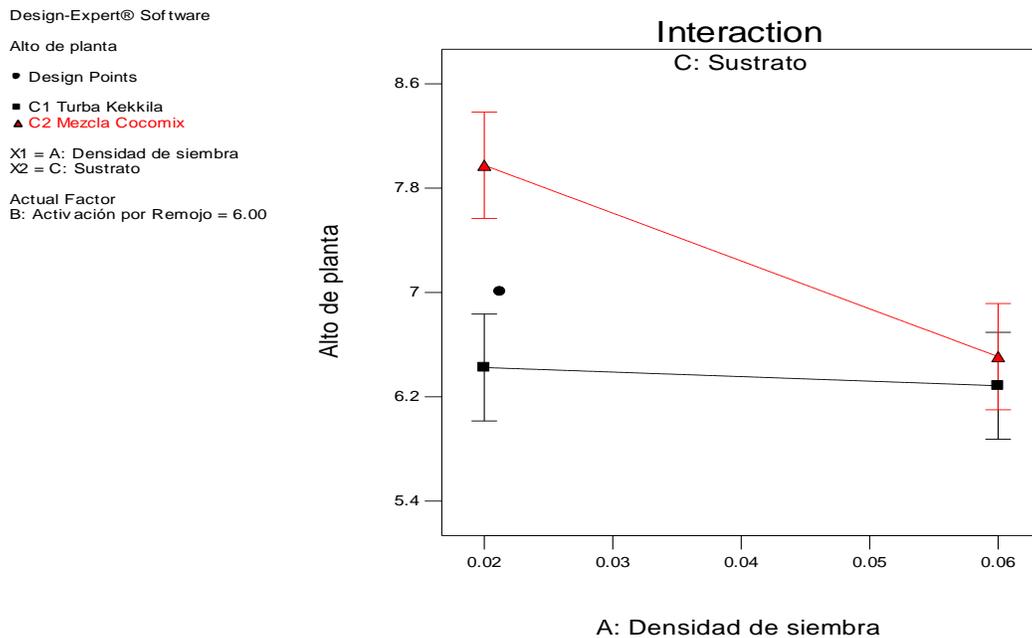


Figura 15. Efecto de los sustratos según la densidad de siembra en la altura de planta en microgreens de rabanito. Fuente: Design expert.

La única interacción significativa entre las mismas (la cual se pudo observar analizando los p-valores  $< 0,05$ , en el modelado obtenido por el software Design Expert), fue la interacción entre densidad de siembra y tipo de sustrato, con respecto a la altura de planta (p-valor 0,042).

En la **figura 15** se observa como a una densidad de siembra de  $0,02 \text{ g/cm}^2$  hay una diferencia en el valor medio de la altura de planta entre los dos sustratos, pudiendo observarse un valor mayor de altura empleando cocomix. Sin embargo, a medida que aumentó la densidad de siembra esta diferencia se redujo, hasta casi igualarse en el otro extremo de densidad de siembra ( $0,06 \text{ g/cm}^2$ ).

Una vez hecho los análisis descriptivos e inferenciales, el diseño fue optimizado en el software Design Expert ®.

En la **tabla 13** se presentan las condiciones elegidas como óptimas para nuestro cultivo, en el caso de la densidad de siembra el límite inferior y superior elegido fue  $0,02 \text{ g/cm}^2$  y  $0,06 \text{ g/cm}^2$  respectivamente. En la activación por remojo de las semillas los límites fueron 0 horas y 9 horas, en tanto que para los sustratos las opciones fueron Turba Kekkila y Cocomix.

La respuesta que se buscó maximizar fue el peso fresco, mientras que la altura de planta estuvo en rango.

Tabla 13. Condiciones elegidas como óptimas para nuestro cultivo de microgreens de rabanito. Fuente: Design expert.

Constraints						
Name	Goal	Lower Limit	Upper Limit	Lower Weight	Upper Weight	Importance
Densidad de sie	is in range	0.02	0.06	1	1	3
Activación por F	is in range	0	9	1	1	3
Sustrato	is in range	Turba Kekkila Mezcla Cocomix		1	1	3
Peso Fresco	maximize	37	138	1	1	3
Alto de planta	is in range	5	10	1	1	3

Las 5 mejores combinaciones propuestas por el software de la **tabla 14** tienen en común el sustrato y la densidad de siembra en tanto que el tiempo de activación es variable.

Tabla 14. Mejores combinaciones de los factores estudiados para las condiciones elegidas previamente en microgreens de rabanito. Fuente: Design expert.

Number	Densidad de si	Activación por	Sustrato	Peso Fresco	Alto de planta	Desirability	
1	<u>0.06</u>	<u>0.00</u>	<u>Mezcla Cocomix</u>	<u>134.586</u>	<u>6.79603</u>	<u>0.966</u>	<u>Selected</u>
2	0.06	0.02	Mezcla Cocomix	134.578	6.79523	0.966	
3	0.06	0.56	Mezcla Cocomix	134.332	6.76928	0.964	
4	0.06	0.67	Mezcla Cocomix	134.281	6.76387	0.963	
5	0.06	3.92	Mezcla Cocomix	132.798	6.60745	0.948	

Harrington (1965) desarrolla el concepto de una función de deseabilidad como una solución para combinar las respuestas de múltiples factores en una función. Las respuestas de cada factor,  $X_i$ ,  $i = 1, 2, \dots, k$ , se transforman en una medida ordinal adimensional  $d_i$ , donde  $0 \leq d_i \leq 1$ . Un valor de 0 designa la respuesta como indeseable y un valor de 1 indica una respuesta deseable.

La combinación elegida para la optimización del cultivo fue la primera, que tiene una densidad de siembra de  $0,06 \text{ g/cm}^2$ , no tiene un tiempo de activación por remojo y el sustrato es el cocomix. Se eligió esta combinación porque tiene la deseabilidad más alta, que es de 0,966.

Design-Expert® Software

Desirability



X1 = A: Densidad de siembra  
X2 = B: Activación por Remojo

Actual Factor  
C: Sustrato = Mezcla Cocomix

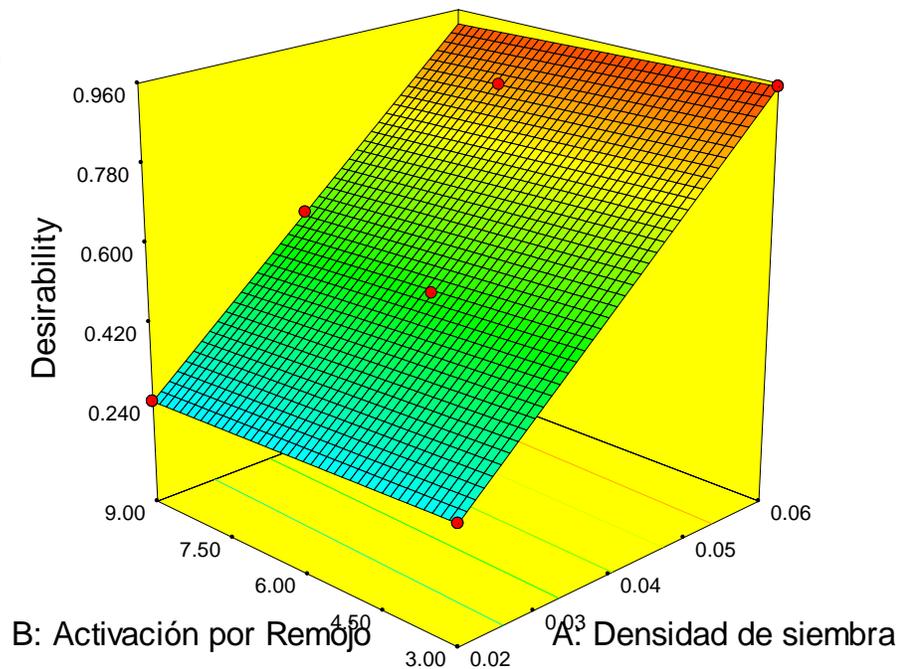


Figura 16. Gráfico de superficie respuesta obtenido para el cultivo de microgreens de rábano según la densidad de siembra, tiempo de activación por remojo y con Mezcla Cocomix como sustrato. Fuente: Design Expert.

En la **figura 16** se puede observar el gráfico de superficie respuesta del cultivo de microgreens de rábano, se aprecia en la imagen que la deseabilidad es mayor a una densidad de siembra de 0,06 y al menor tiempo de remojo de semillas posible, Estos resultados concuerdan con los reportados por Nolan (2018) en relación a la densidad de siembra y a su influencia en el peso fresco de distintas especies de microgreens, en este caso el rabanito parece ser la especie más afectada por la densidad de siembra, sin embargo el coeficiente de correlación múltiple  $R^2$  obtenido por los autores es de apenas 0,175.

Con respecto a la altura de planta y el tiempo de remojo se obtuvieron resultados similares a los reportados por Li y col. (2021), respecto a la altura de los microgreens de rabanito sin tratamiento similar a los reportados en este trabajo y además indican que el tiempo de remojo pareció no influir en el peso fresco.

El presente estudio no concuerda con los obtenidos por Thuong y Minh (2020) en el cual no se encontró diferencia significativa entre cocomix y dos tipos de turba con respecto a la altura de los microgreens.

### 3.3.1.2 Rúcula

En la **figura 17** se muestran los microgreens de rúcula con un riego de 13% el día 7, puede notarse claramente que al menos hasta el día 7 hubo una alta variabilidad según los factores densidad de siembra y sustrato en el crecimiento de los microgreens.



Figura 17. Microgreens de rúcula con un 13% de riego al día 7

Analizando los resultados respecto de la estadística descriptiva de las condiciones de cultivo, en las **figuras 18 y 19** podemos observar que el sustrato que mejor resultados obtuvo en cuanto a la altura de planta y al peso fresco fue el cocomix, después la turba y finalmente la turba con perlita. Estos resultados muestran correlación con los observados en rabanito. En tanto en la **figura 20** se aprecia que no hubo una diferencia significativa en el área foliar de los microgreens según el tipo de sustrato.

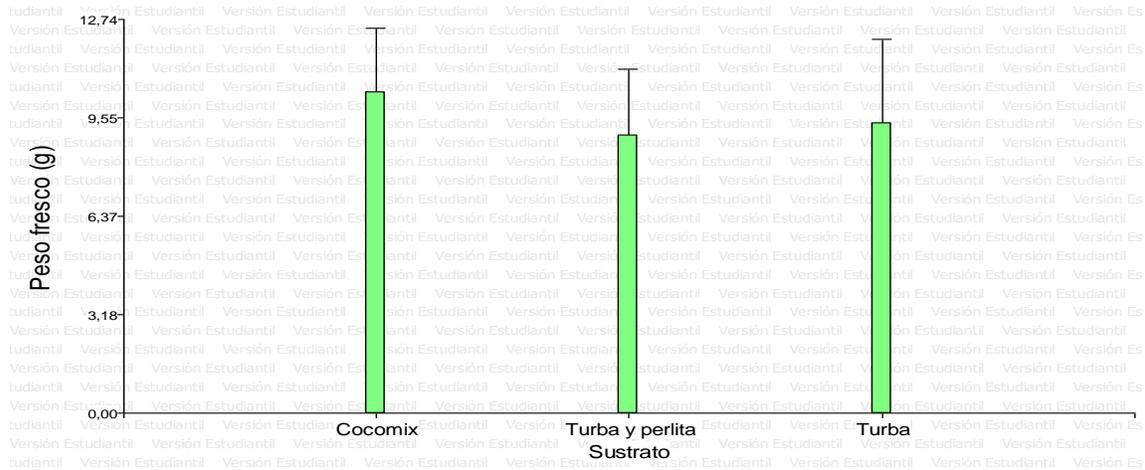


Figura 18.. Gráfica de barras del peso fresco medio (g) de microgreens de rúcula según el sustrato. Fuente: Infostat.

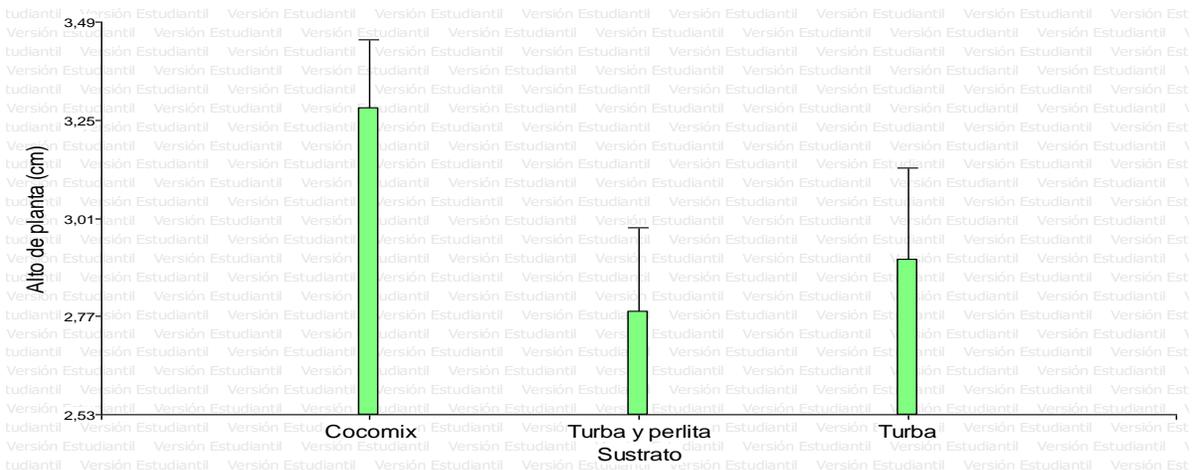


Figura 19. Gráfica de barras del valor medio de la altura de planta (cm) de microgreens de rúcula según cada sustrato. Fuente: Infostat.

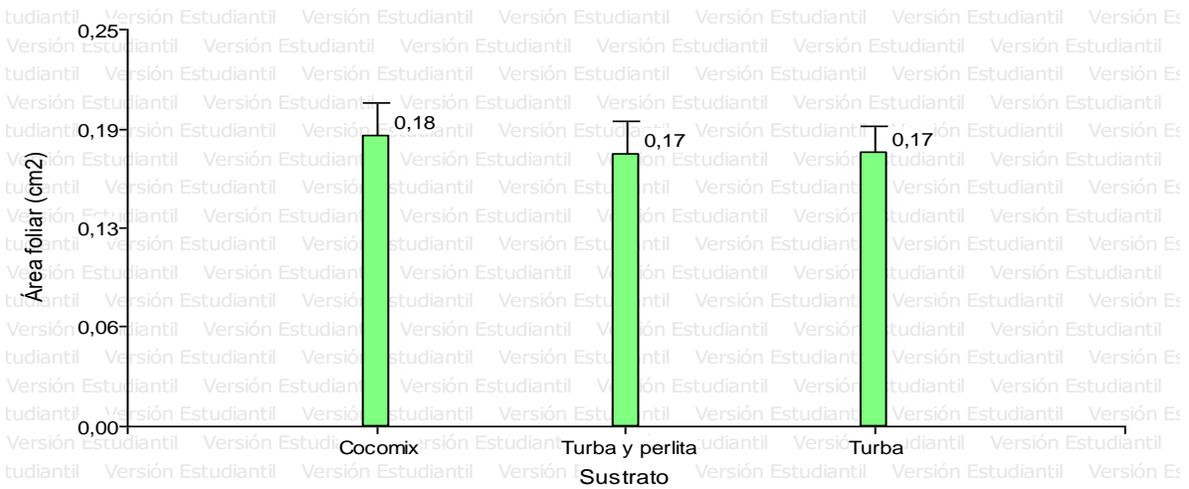


Figura 20. Gráfica de barras del valor medio del área foliar en cm<sup>2</sup> de microgreens de rúcula según el sustrato. Fuente: Infostat.

Las **figuras 21 y 22** muestran que la densidad de siembra no tuvo una influencia significativa sobre las respuestas **peso fresco y alto de planta**, es decir que si bien se observa que la densidad de 0,04 g/cm<sup>2</sup> tuvo el mayor valor medio en peso fresco no hay una diferencia estadística con las otras dos densidades. En la altura de planta tampoco se observó la influencia de la densidad de siembra y respecto al área foliar se apreció lo mismo. Esta interpretación está respaldada con la salida estadística en el anexo 2. En relación a la variable **área foliar**, se observan valores similares en los factores evaluados, sin embargo, en la **figura 23**, se observa una tendencia de disminución del área foliar acorde la densidad aumenta.

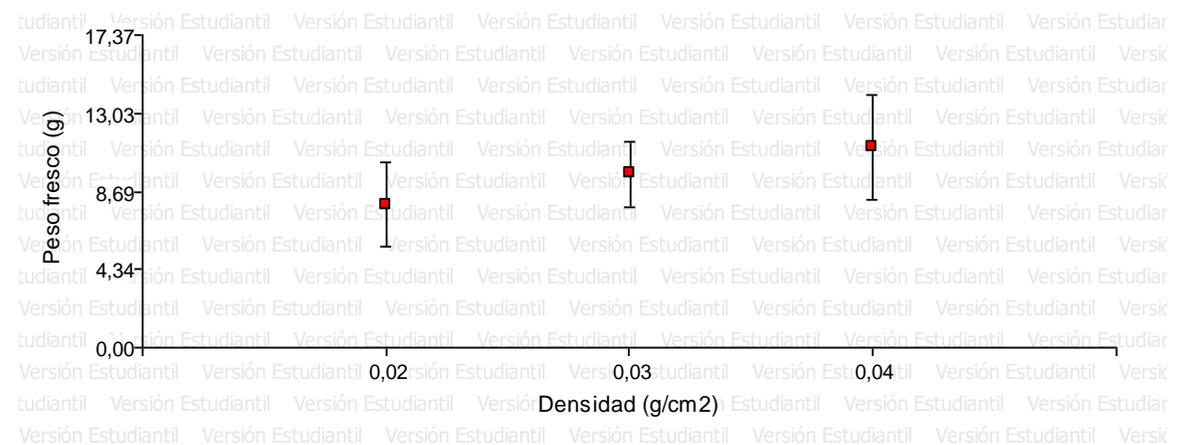


Figura 21. Distribución del peso fresco medio (g) obtenido en microgreens de rúcula según la densidad (g/cm<sup>2</sup>). Fuente: Infostat.

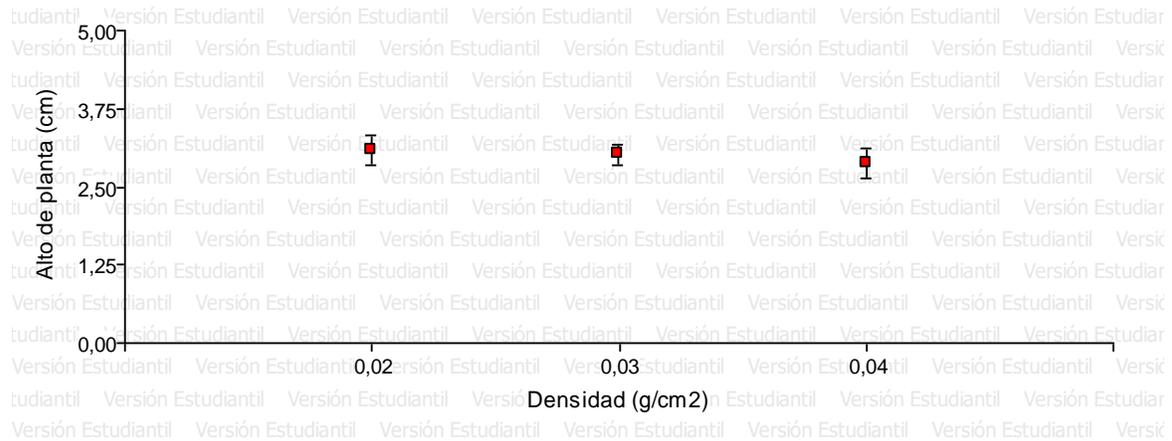


Figura 22. Distribución de la altura media de planta (cm) obtenida en microgreens de rúcula según la densidad (g/cm<sup>2</sup>). Fuente: Infostat.

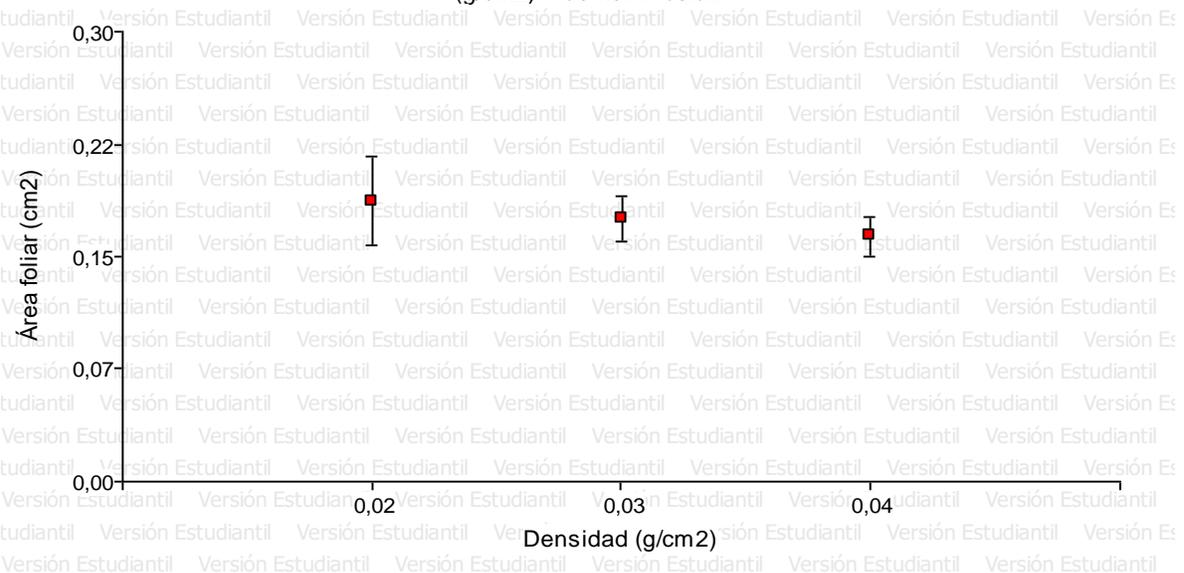


Figura 23. Distribución del área foliar media (cm<sup>2</sup>) según la densidad de siembra. Fuente: Infostat.

El riego fue el factor que más influencia tuvo de los 3 factores estudiados, en las respuestas de peso fresco, alto de planta y área foliar hubo discrepancias en el peso fresco, área foliar y alto de planta en función de los volúmenes de riego

En las figuras 24 y 25 se aprecia que las variables peso fresco y altura de planta tuvieron una mayor respuesta frente a un riego de 13%, en tanto que, en el área foliar, respuesta representada en la figura 26 el riego de 11% y 13 % tuvieron valores semejantes, con medias de 0,201 y 0,197 cm<sup>2</sup>, en tanto el riego de 9% indujo una menor respuesta en el área foliar de 0,128 cm<sup>2</sup>.

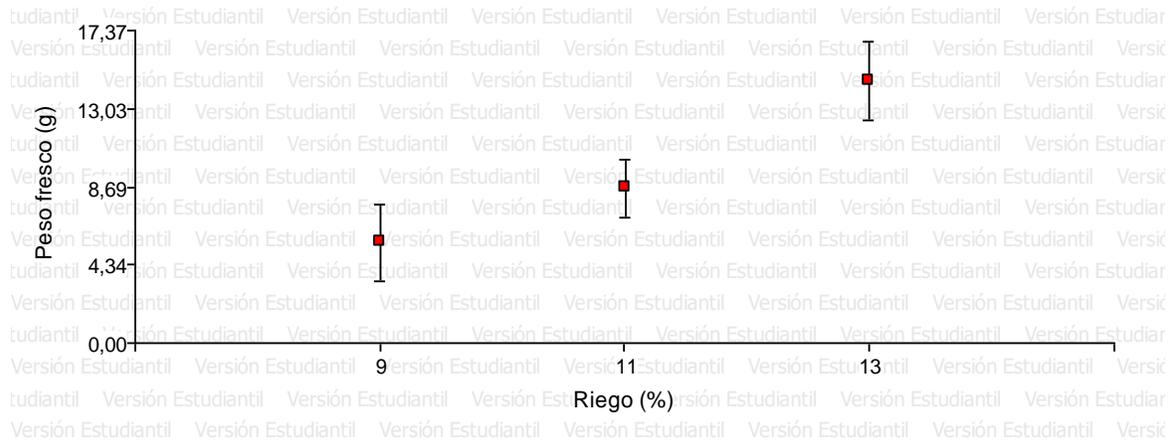


Figura 24. Distribución del peso fresco medio (g) de microgreens de rúcula según el riego (%). Fuente: Infostat.

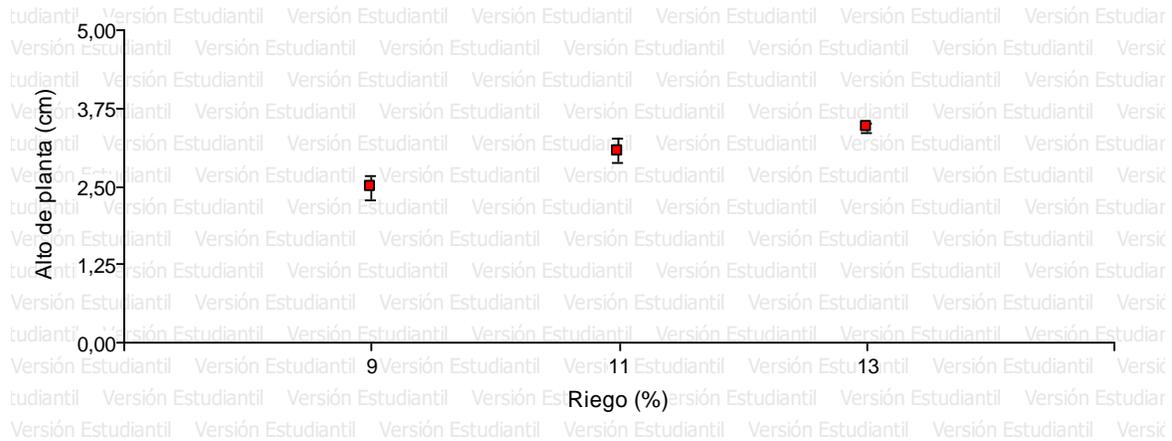


Figura 25. Distribución de la altura media de la planta (cm) de microgreens de rúcula según el riego (%). Fuente: Infostat.

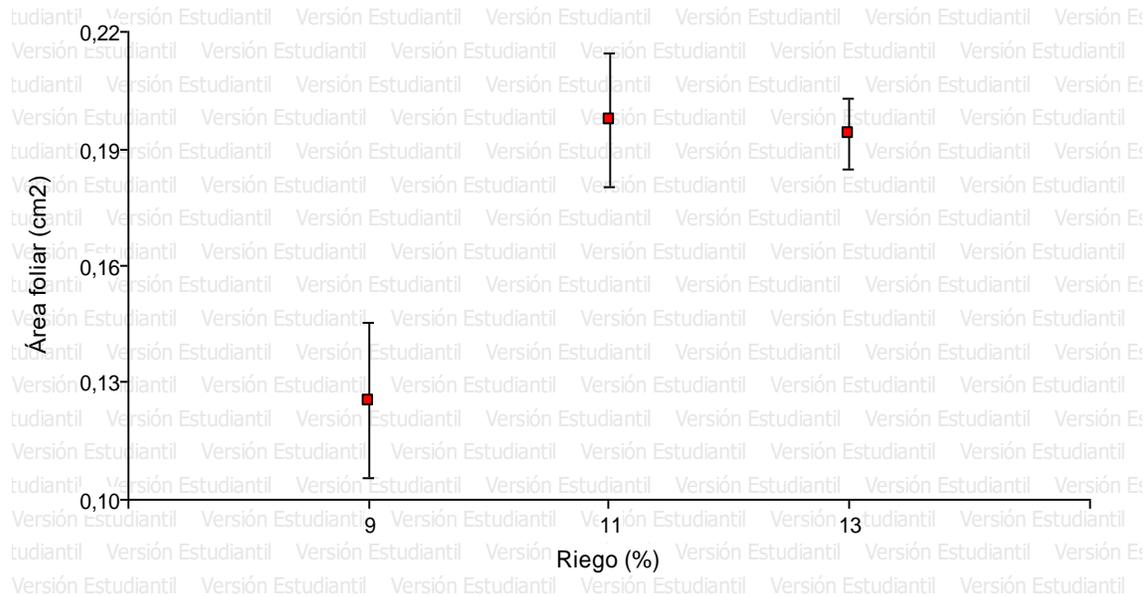


Figura 26. Distribución del área foliar media (cm<sup>2</sup>) de microgreens de rúcula según el riego aplicado. Fuente: Infostat.

Con los datos analizados en el software Designe Expert se eligió el modelo recomendado por el software, este modelo es el modelo lineal, en este modelo se observa que excepto entre el sustrato y la densidad de siembra las otras interacciones no son significativas. En el **Anexo 2** se presenta la salida del modelo elegido y la salida de los modelos no recomendados por el software.

Una vez hecho los análisis descriptivos e inferenciales al igual que en los microgreens de rabanito el diseño fue optimizado en el software Design Expert®.

La optimización fue multivariada, considerando las 3 variables, densidad de siembra, porcentaje de riego y tipo de sustrato, todas actuando simultáneamente para después analizar la función deseabilidad.

Como muestra la **tabla 15**, los factores Densidad de siembra, riego y sustrato se mantuvieron en rango, es decir con los límites inferiores y superiores analizados en el presente estudio.

En las respuestas peso fresco y altura de planta se buscó maximizar los resultados, para aumentar el rendimiento de los microgreens y hacer más viable su producción, con una mayor importancia del peso fresco.

Tabla 15. Condiciones elegidas como óptimas para nuestro cultivo de microgreens de rúcula. Fuente: Design expert.

Constraints						
Name	Goal	Lower Limit	Upper Limit	Lower Weight	Upper Weight	Importance
Densidad	is in range	0.02	0.04	1	1	3
Riego	is in range	9	13	1	1	3
Sustrato	is in range	Cocomix	Turba y Perlita	1	1	3
Peso Fresco	maximize	0.1731	28.8728	1	1	3
Alto Planta medio	maximize	1.573	4.2836	1	1	4
Área foliar medio	is in range	0.0384	0.311	1	1	3

Tabla 16. Mejores combinaciones de los factores estudiados para las condiciones elegidas previamente en microgreens de rúcula. Fuente: Design expert

Solutions for 3 combinations of categoric factor levels

Number	Densidad	Riego	Sustrato	Peso Fresco	Alto Planta medio	Área foliar medio	Desirability	
1	<u>0.04</u>	<u>13.00</u>	<u>Cocomix</u>	<u>18.0095</u>	<u>3.6962</u>	<u>0.2152</u>	<u>0.778</u>	<u>Selected</u>
2	0.04	13.00	Cocomix	17.8460	3.7033	0.2152	0.778	
3	0.04	13.00	Cocomix	17.6856	3.7103	0.2152	0.778	
4	0.03	13.00	Cocomix	16.5330	3.7618	0.2152	0.776	
5	0.03	13.00	Cocomix	15.3485	3.8165	0.2152	0.773	

En la **tabla 16** se observan las mejores 5 combinaciones de los 3 factores (densidad de siembra, porcentaje de riego y tipo de sustrato) en función de la deseabilidad. Estas 5 combinaciones brindadas por el software tienen el sustrato Cocomix, el riego de 13% y las primeras 3 una densidad de siembra de 0,04 mientras que las combinaciones 4 y 5 tienen una densidad de siembra de 0,03.

La combinación elegida es la primera, debido a que posee la deseabilidad más alta, de 0,778.

Design-Expert® Software

Desirability



X1 = A: Densidad

X2 = B: Riego

Actual Factor

C: Sustrato = Cocomix

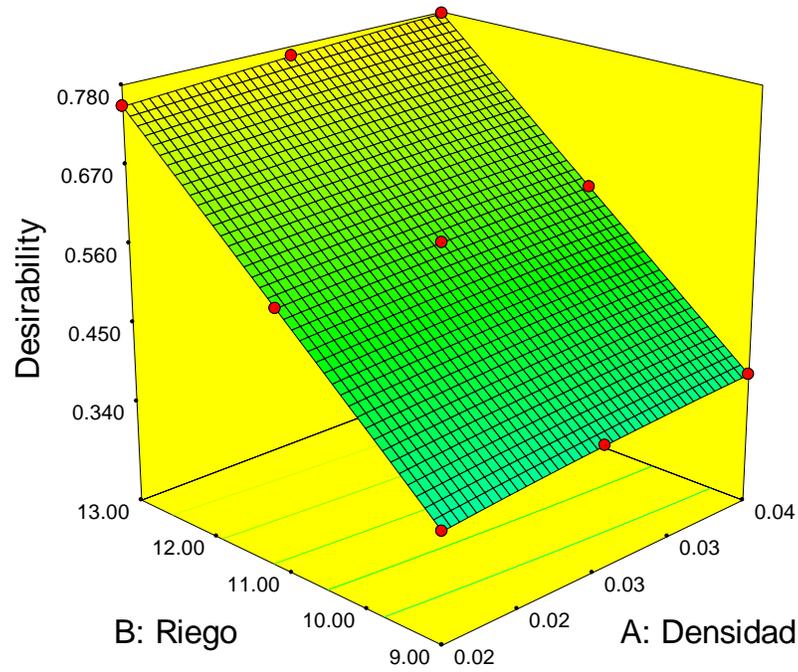


Figura 27. Gráfico de superficie respuesta obtenido para el cultivo de microgreens de rúcula según la densidad de siembra, porcentaje de riego, deseabilidad y con Mezcla Cocomix como sustrato. Fuente: Design Expert.

En la **figura 27** se observa la gráfica de superficie respuesta del cultivo de microgreens de rúcula, se aprecia que a deseabilidad más alta tiene lugar a una densidad de siembra de 0,04 g/cm<sup>2</sup> y con un porcentaje de riego de 13.

Los resultados obtenidos en el presente estudio concuerdan con los de Murphy y Pill (2010), los autores concluyeron que un aumento en la tasa de siembra resulta en un aumento lineal del número de brotes y peso fresco por unidad de área, sin embargo se menciona además una disminución del peso fresco por brote, esto sugiere una creciente competencia de los microgreens por los recursos, lo que lleva a cabo una reducción de la lámina foliar, esta afirmación también coincide con el presente, debido a que como se mencionó se observa una tendencia a una disminución del área foliar con un aumento de la densidad de siembra.

Nuestros resultados coinciden con los de Nolan (2018) en relación al peso fresco y la densidad de siembra, los autores de dicho estudio encontraron una correlación muy baja entre estas variables, por lo que afirman que la temperatura y la estación pueden ser factores que influyan más en el peso fresco que la densidad de siembra. Cabe aclarar que los autores realizaron su ensayo con densidades de siembra menores a las del presente estudio, aunque, los resultados arrojan datos que inducen a la misma interpretación.

### 3.3.2 Evaluación de la curva de crecimiento

Tabla 17. Datos del ensayo en rúcula, expresando los resultados en valor medio +/-.

Día	Alto de planta (cm)	Alto de tallo (cm)	Área Foliar (cm <sup>2</sup> )	Peso fresco (gr)	%MS
6	1,94 ± 0,28	1,55 ± 0,22	0,15 ± 0,02	0,009	
8	2,9 ± 0,26	2,36 ± 0,22	0,30 ± 0,02	0,017	
10	3,79 ± 0,26	3,41 ± 0,22	0,40 ± 0,06	0,022	
12	4,27 ± 0,17	3,47 ± 0,08	0,51 ± 0,12	0,028	
15	4,53 ± 0,12	3,66 ± 0,15	0,51 ± 0,02	0,028	
17	6,21 ± 0,50	4,98 ± 0,39	0,88 ± 0,12	0,036	4,80%

Tabla 18. Datos del ensayo en rabanito, expresando los resultados en valor medio +/-.

Día	Alto de planta (cm)	Alto de tallo (cm)	Área Foliar (cm <sup>2</sup> )	Peso fresco (gr)	%MS
7	2,22 ± 0,28	1,16 ± 0,21	0,80 ± 0,10	0,048	
9	5,75 ± 0,59	4,16 ± 0,73	1,47 ± 0,09	0,106	
11	6,58 ± 0,32	5,12 ± 0,14	1,52 ± 0,17	0,117	
13	7,64 ± 0,50	5,93 ± 0,37	1,46 ± 0,66	0,142	
15	6,88 ± 0,39	5,23 ± 0,22	1,71 ± 0,41	0,127	
17	8,37 ± 0,07	6,75 ± 0,02	1,81 ± 0,52	0,131	5,48%

En las **tablas 17 y 18** se presentan los resultados del ensayo, a continuación, para facilitar la interpretación y visualización de los mismos se mostrarán gráficos de dispersión realizados en *Origin 6.0* en los cuales se compara cada una de las variables respuestas de ambas variedades en relación a los días transcurridos.

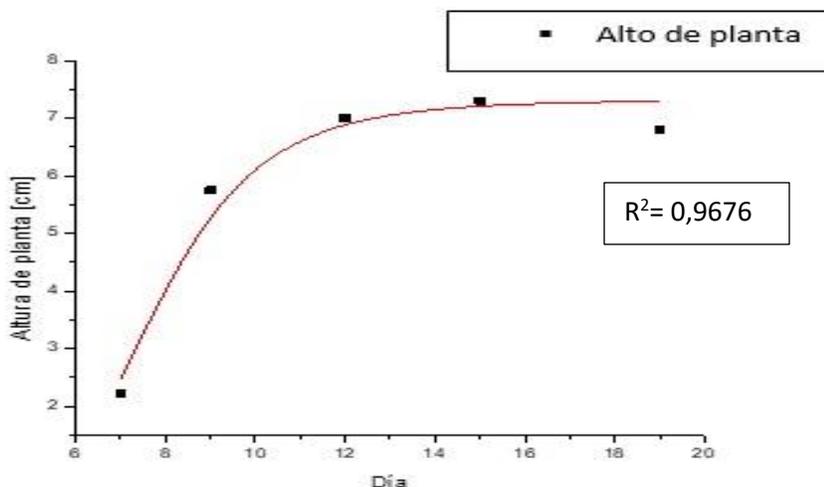


Figura 28. Gráfico de dispersión del alto de planta de microgreens del rábano con respecto a los días. Fuente: Origin.

La **figura 28** muestra un aumento exponencial del alto de planta en los primeros días, pero a partir del día 12 el aumento comienza a ralentizarse, finalmente el día de la cosecha el valor obtenido fue menor al esperado, pero no hay evidencia suficiente para decir si comienza el declive del área foliar o fue solamente una variación aislada.

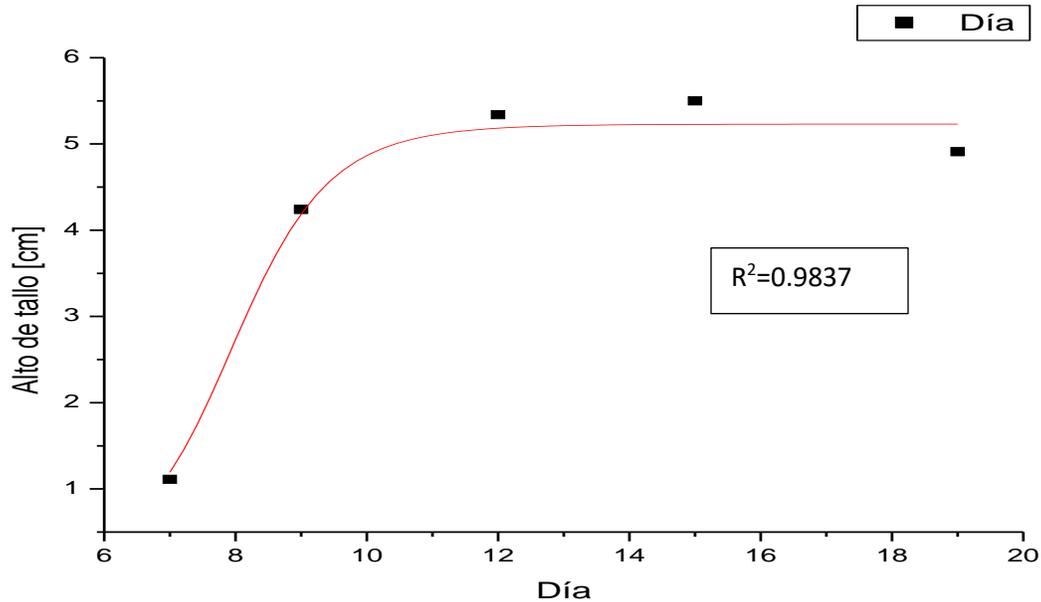


Figura 29. Gráfico de dispersión de la relación del alto de tallo de microgreens de rábano con relación a los días transcurridos. Fuente: Origin.

En la **figura 29** podemos observar que el alto de tallo parece tener un comportamiento semejante al alto de planta, los primeros días se aprecia un crecimiento exponencial y después se ralentiza.

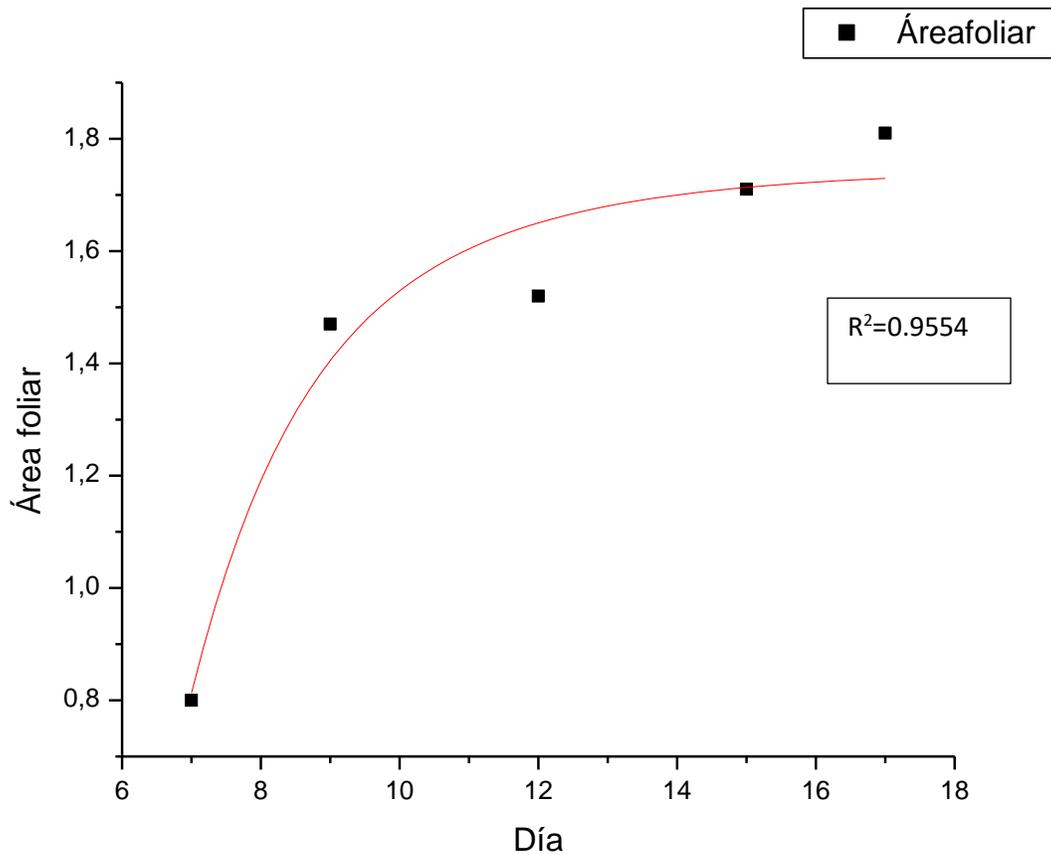


Figura 30. Gráfico de dispersión de la relación del área foliar de microgreens de rábano con respecto a los días. Fuente: Origin.

En la **figura 30** observamos como el área foliar tiene un crecimiento pronunciado los primeros del día 7 al 9 y después el crecimiento se ralentiza, pero es constante, incluso hasta el día 18.

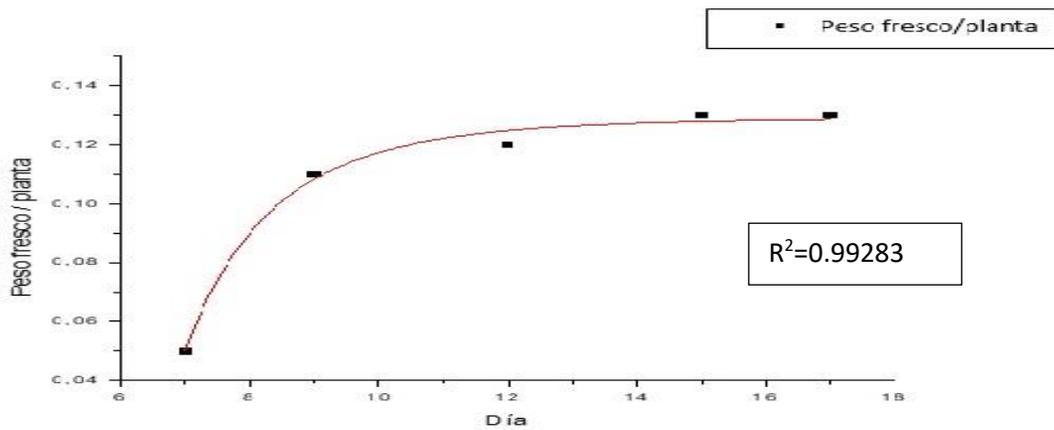


Figura 31. Gráfico de dispersión de la relación del peso fresco por planta en cm de microgreens de rábano con respecto a los días. Fuente: Origin.

El peso fresco en microgreens de rábano aumenta a lo largo de la curva de crecimiento, como muestra la **figura 31**. Como sucedió en las variables de alto de planta, alto de tallo y área foliar este crecimiento es más pronunciado entre los días 7 y 9.

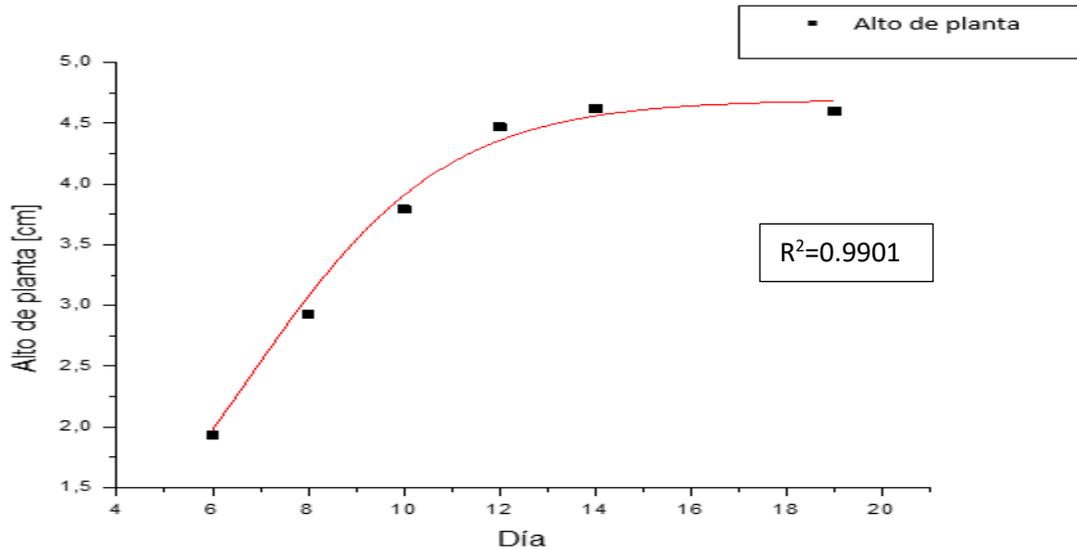


Figura 32. Gráfico de dispersión del alto de planta en cm de microgreens de rúcula según los días. Fuente: Origin.

La **figura 32** muestra el aumento del alto de planta de microgreens de rúcula conforme pasan los días. La tendencia para ser menos pronunciada en los primeros días que en el crecimiento del rábano, sin embargo, a partir del día 10 ese crecimiento comienza a minimizarse para hasta casi ser nulo entre los días 12-14, el día 19 hubo un ligero descenso de la altura de planta.

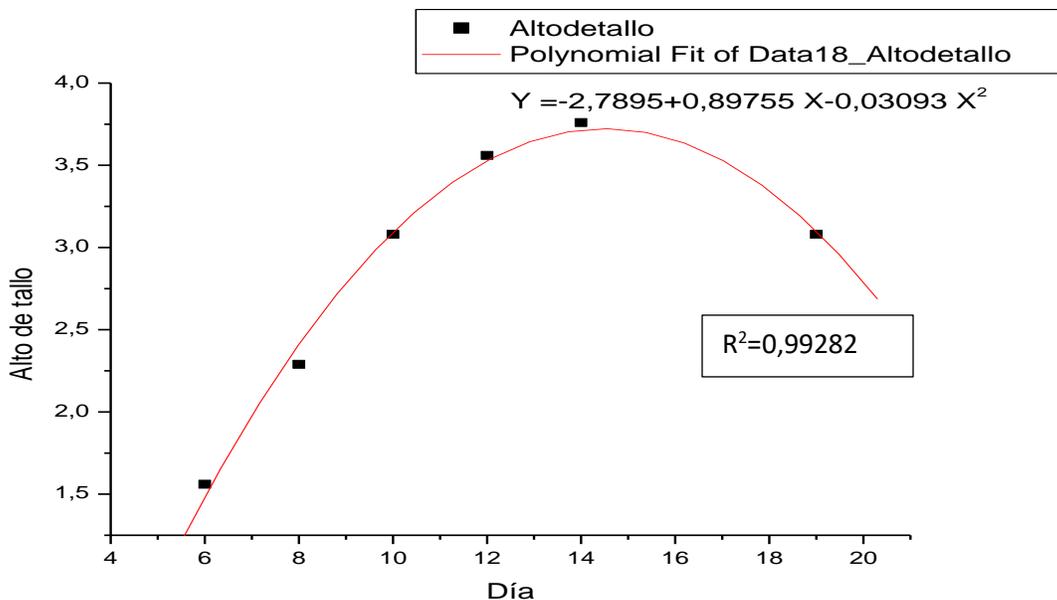


Figura 33. Gráfico de dispersión del alto de tallo de microgreens de rúculas con respecto a los días. Fuente: Origin.

La **figura 33** resulta muy interesante de discutir, debido a que se aprecia como el alto de tallo tiene un crecimiento pronunciado entre los días 5-12, hasta alcanzar su altura máxima el día 14 para finalmente reducir su altura casi 0,5 centímetros el día 19. Esto podría deberse a que la altura del tallo es demasiada y comienza a decaer la planta por su propio peso

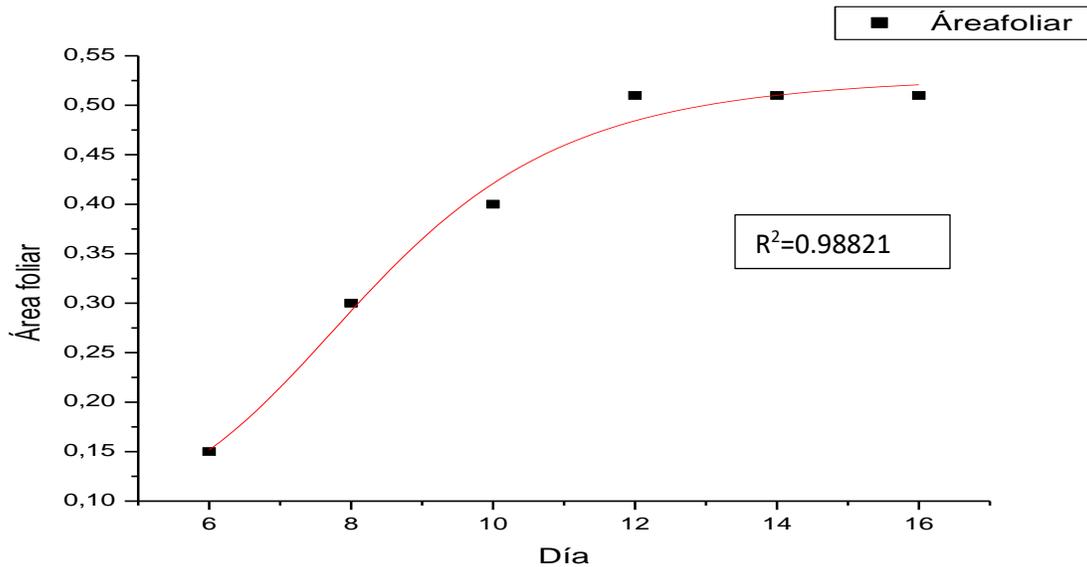


Figura 34. Gráfico de dispersión del área foliar de microgreens de rúcula con respecto a los días. Fuente: Origin.

La **figura 34** representa el área foliar de microgreens de rúcula con respecto a los días, en ella se puede observar un aumento de la misma con una ligera forma sigmoide, este aumento no es pronunciado como en el de los otros factores evaluados.

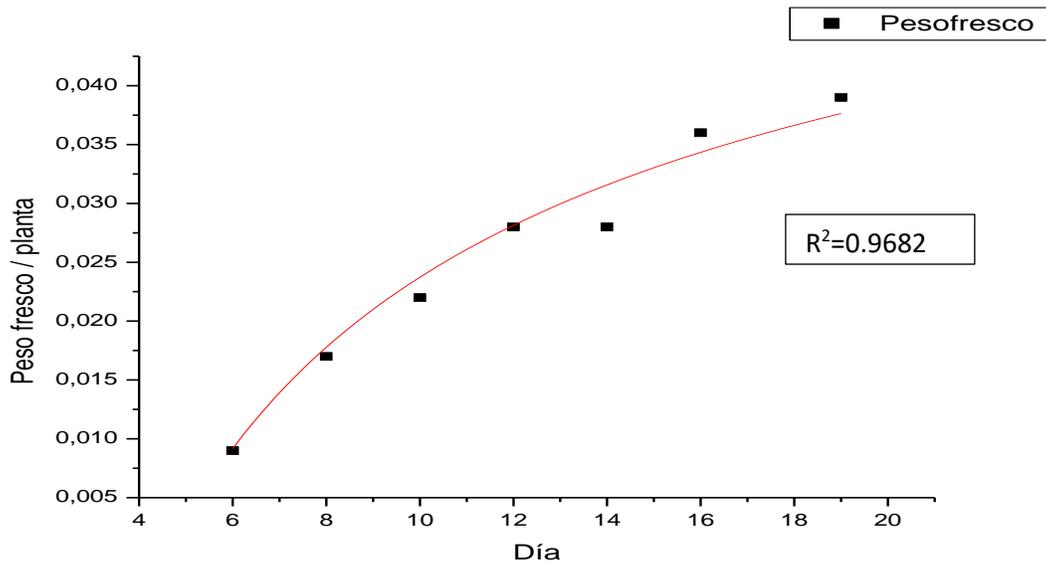


Figura 35. Gráfico de dispersión de peso fresco por planta de microgreens de rúcula según los días de crecimiento. Fuente: Origin.

En la **figura 35** podemos observar aumento del peso fresco por planta conforme pasan los días de crecimiento de los microgreens de rúcula.

Cada especie tuvo distintos comportamientos frente a las variables evaluadas. Los microgreens de rábano tuvieron una mayor área foliar, altura de tallo, altura de planta y peso fresco que los microgreens de rúcula.

Esto puede deberse a una competencia por los nutrientes de los microgreens, esta afirmación es también sugerida por Murphy & Pill (2010) en su estudio.

El porcentaje de materia seca en rúcula coincide con el obtenido por los autores Bulgari y col.(2021) empleando el sustrato fibra de coco o cocomix, lo interesante de dicho estudio es que los autores utilizaron un software de luces LED de precisión, un fotoperíodo de 12/12 (distinto al del presente estudio) y además usaron una solución nutritiva, por lo que se supone que estas variables no son tan importantes para el porcentaje de materia seca.

En tanto que el porcentaje de materia seca en rabanito concuerda con el obtenido por Wojdyło y col. (2020), en ese estudio los microgreens tuvieron un 5% de materia seca, en dicho estudio se compara además el porcentaje de los microgreens con los brotes, siendo el de los brotes de rabanitos de 16,5%. Sin embargo los resultados obtenidos son menores a los expuestos por Xiao y col. (2016) y Ghoora, Babu y col. (2020) de 6,8% y 6,56% respectivamente, esto puede deberse a un tiempo de cosecha menor que el del presente estudio. En el caso de Xiao y col. (2016) las variedades de rabanito se cosecharon a los 9,8,7 y 5 días, en tanto que en el estudio Ghoora, Babu y col. (2020) el rabanito se cosechó entre los días 7-8.

Con respecto a la altura de planta, en rabanito el resultado final obtenido de 8,37 cm es semejante al obtenido por Thuong y Minh, (2020) en cada sustrato evaluado.

### 3.4 Conclusiones parciales

En esta etapa se pudo determinar las condiciones óptimas de cultivo de microgreens de rúcula y rábano. Se vio que en la mejor relación densidad de siembra- sustrato- tiempo de remojo para el rábano fue de:  $0,06 \text{ g/cm}^2$  – Mezcla Cocomix – 0 horas de remojo de las semillas, en tanto que para la rúcula la mejor relación densidad de siembra- sustrato- porcentaje de riego fue de:  $0,04 \text{ g/cm}^2$  – Mezcla Cocomix- 13%.

Los microgreens de rábano tuvieron mayor rendimiento que los microgreens de rúcula en toda la curva de crecimiento, siendo el peso fresco final de  $0,130 \text{ g/microgreen}$  de rábano y de  $0,036 \text{ g/microgreen}$  de rúcula. Los microgreens de rábano obtuvieron además una mayor altura de tallo, altura de planta y área foliar que los microgreens de rúcula.

A los 15 días de siembra parece ser el momento óptimo para la cosecha de los microgreens de rúcula, debido a que a partir de ahí esas la altura de tallo tiene un fuerte declive y los otros factores como la altura de planta, área foliar y peso fresco tienen un crecimiento ralentizado.

En los microgreens de rábano la situación es similar, a los 15 días parece ser el momento óptimo de cosecha debido a que a partir de ahí exceptuando el área foliar a partir de ahí el crecimiento comienza a ralentizarse o decaer.

#### 3.4.1 Rábano

- ✓ El sustrato con el que se obtuvieron los mejores resultados con respecto al peso fresco de microgreens y a la altura de los tallos fue el Cocomix.
- ✓ El tratamiento de remojo de las semillas antes de la siembra en el rábano parece no influir en el crecimiento de los tallos, por lo cual no afecta el rendimiento y podría ser una variable prescindible.
- ✓ La densidad de siembra no tuvo una influencia significativa en la altura de los tallos de rabanito, por lo que a densidades más altas no habría una competencia por falta de nutrientes entre los microgreens.

#### 3.4.2 Rúcula

- ✓ El sustrato que mejores resultados aporta si buscamos maximizar el peso fresco y la altura de la planta es el cocomix.
- ✓ A diferencia del rabanito la densidad de siembra no tiene una influencia significativa en el peso fresco, la altura de planta y el área foliar (este último no estudiado en rabanito).
- ✓ El riego es un factor fundamental a tener en cuenta para la producción de rúcula, riegos de 9 y 11% nos ofrecen resultados significativamente menores que un riego de 13%.

## 4 Análisis De La Composición Nutricional Y Fitoquímica

### 4.1 Introducción

La caracterización físico-química de un alimento funcional como los microgreens resulta primordial, ya que se trata de alimentos novedosos, de los cuales hay pocos estudios que den cuenta de los compuestos bioactivos presentes en los mismos. En este sentido es importante usar metodologías analíticas validadas para asegurar la confiabilidad de los resultados.

Con respecto al perfilado nutricional también resulta imprescindible tener datos propios de la región en torno a los microgreens de rábano y rúcula con variedades comercializadas por productores de la zona, al mismo tiempo que a nivel local, en el sector gastronómico se ha empezado a difundir el uso de microgreens, ya sea como ensaladas o decoraciones en los platos.

Otro motivo de interés en cuanto al perfilado nutricional es el poder hacer recomendaciones en cuanto a su consumo, con la finalidad de que puedan ser incluidos en dietas nutricionales con datos fehacientes y representativos.

En bibliografía vemos que hay distintos huecos sobre este tema, como lo son el perfilado nutricional, en el cual solamente se ha encontrado una publicación de rábano, donde la variedad utilizada fue *Raphanus sativus L. var. Imp. Chieti Hibiscus* Ghoola, Babu, et al., (2020).

Como se mencionó en el capítulo 1, si bien hay estudios sobre composición mineral, fitoquímica de microgreens y actividad antioxidante, (Kyriacou, El-Nakhel, Pannico, y col. (2021); Ghoola, Haldipur y col. (2020); Xiao y col. (2012); Kamal y col. (2019); Mir y col. (2017)) los estudios se han centrado más en glucosinolatos, contenido de vitaminas, carotenoides y polifenoles totales. Cabe destacar que los compuestos bioactivos son los productos de degradación de los glucosinolatos, no los glucosinolatos *per se*.

La creciente demanda de métodos analíticos más rápidos, más rentables y menos contaminantes es también un importante incentivo para mejorar los procedimientos convencionales de tratamiento de muestra, y por ello durante los últimos años se ha aumentado exponencialmente la investigación en este campo (Jimeno, 2015). En el caso de la técnica micro extracción líquido-líquido dispersiva (*dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME*), esta es una técnica que puede ser utilizada para la determinación de isotiocianatos ofrece importantes ventajas respecto a los métodos de extracción convencionales, ya que permite llevar a cabo la preparación de la muestra de una manera rápida y simple, con bajo coste, sin necesidad de utilizar grandes cantidades de disolventes orgánicos, y con posibilidad de combinarla con la mayoría de los métodos analíticos (Jimeno, 2015).

El contenido de isotiocianatos del cual solamente se tiene referencia en microgreens de rúcula es de Marchioni y col. (2021), pero en dicho estudio no se informa la técnica utilizada, algo que diferencia a nuestra investigación, porque en este caso sí se realizó la técnica de microextracción dispersiva líquido-líquido que es una técnica específica para la cualificación de isotiocianatos, y que ha sido validada por el laboratorio donde se realizó esta Tesis (Fusari y col. (2019)).

La composición de algunos compuestos secundarios en microgreens se ve influenciada por el tipo de luz, la intensidad y su fotoperíodo. Por ejemplo el contenido fenólico disminuye

en brotes de acelga y brócoli cuando se cultivan en una cámara de crecimiento bajo un fotoperíodo, en cambio en brotes de lombarda en idénticas condiciones el contenido fenólico aumenta (Zhang et al., 2020).

Por lo mencionado previamente es importante conocer la variación de compuestos fenólicos en variedades comercializadas en nuestra región, y poder dilucidar más sobre el contenido fenólico de microgreens de rúcula y rábano, empleando técnicas analíticas validadas para conocer el contenido de polifenoles (Fontana et al., 2016) que aumenten la exactitud y sensibilidad debido a su mayor especificidad.

En base a lo descrito en esta introducción desarrollamos el presente capítulo.

## 4.2 Materiales Y Métodos

### 4.2.1 Composición nutricional

Para el análisis de la composición nutricional fueron sembrados microgreens de rúcula y rábano en 3 bandejas cada uno. El sustrato usado fue cocomix y la densidad de siembra elegida fue la utilizada en la curva de crecimiento del **punto 3.2.2**, es decir 0,03 g/cm<sup>2</sup> para rúcula y 0,06 g/cm<sup>2</sup> para el rábano. El lugar donde se llevó a cabo el cultivo y crecimiento de los microgreens fue en la cámara de luces de la cátedra de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo.

Los microgreens fueron cosechados en la aparición del primer vestigio de hojas verdaderas, se pesaron y fueron llevados rápidamente al Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI), para su análisis de composición nutricional.

En la **tabla 19** se muestran las determinaciones efectuadas con el correspondiente método.

Tabla 19. Determinaciones y métodos realizados en INTI para el análisis de microgreens de rúcula y rábano

Determinación	Método
Humedad	Estufa de vacío 70° C
Hidratos de carbono totales	Por diferencia
Proteínas	Kjeldahl, N X 5,75
Grasas totales	Twisselmann
Fibra bruta	Referencia AOAC
Cenizas	Calcinación a 550° C

### 4.2.2 Isotiocianatos

#### 4.2.2.1 Estándares analíticos

Sulforafano (SF, 90%), Alil ITC (AITC) 95% v/v e Indol-3-carbinol (I3C) > 96% v/v se obtuvieron de Sigma-Aldrich (St. Luis, MO, USA). Erucina (E) > 98% p/p, Fenetil ITC (FITC) > 98% v/v, S-Sulforafeno (SE) > 98%, Benzil ITC (B) > 97% p/p, fueron comprados a LKT Laboratories Inc. (St. Paul, MN, USA).

Todas las soluciones estándar se diluyeron en metanol (MeOH) y se almacenaron a -20 ° C. Las soluciones de trabajo se prepararon en las mismas condiciones.

#### 4.2.2.2 Reactivos

- Acetonitrilo Baker grado HPLC
- Cloroformo Sintorgan p.a
- Metanol Baker grado HPLC
- Agua mili Q

#### 4.2.2.3 Material y equipos de laboratorio

- Mortero
- Centrífuga Bioser de 5000 rpm
- Balanza analítica Denver APX-200
- Lavadora ultrasonido de 40 kHz 600 W. Test LAB- modelo tb 04
- Tubos falcon de 50 y 15 mL
- Frascos de 10 mL color caramelo
- Ependorff de 1 mL
- Nitrógeno gaseoso
- Jeringas
- Filtros de 0,22 micras de nylon
- Cromatógrafo HPLC Shimatzu LC 20 A con detector de arreglo de Diodos (DAD)
- Columna ODS Waters RP-C18 de 150 mm x 4.6 mm x 5 mm

#### 4.2.2.4 Muestras de microgreens

Las muestras de microgreens de rúcula y rábano del punto **3.2.1** fueron sometidas a un proceso de liofilización que constó de 3 pasos. En la liofilización el agua se elimina por sublimación (pasar de estado sólido a gaseoso, sin pasar por el estado líquido) y no por evaporación. Primero se congelaron las muestras en nitrógeno líquido, esto permitió una congelación rápida con el fin de minimizar la ruptura celular y de los tejidos. Una vez congeladas las muestras fueron llevadas a un liofilizador por 72 horas. En el liofilizador se realiza una reducción de la presión, por debajo del punto triple (<4,579 mmHg) y por último se aumenta levemente la temperatura.

#### 4.2.2.5 Preparación de muestra

Los microgreens de rúcula y rabanito liofilizados fueron preparados según el método desarrollado en el laboratorio de Cromatografía para Agroalimentos IBAM-FCA ( Fusari y col. (2019)) con la modificación de que las muestras al estar liofilizadas fueron reconstituidas a su humedad natural. El método consiste en una microextracción líquido-líquido dispersiva (DLLME) y un posterior análisis cromatográfico.

El primer paso fue la molienda de los microgreens con un mortero hasta que la muestra quede porfirizada, una vez hecho esto se pesaron 0,5 g de muestra molida en un tubo falcon de 15 mL. Al tubo falcon con la muestra se le agregó la cantidad de agua necesaria para reconstituirla a su estado natural.

Una vez la muestra molida y reconstituida fue pesada y llevada a una lavadora ultrasonido por 30 min para realizar una extracción asistida por ultrasonido. Posteriormente se trasvasó a un frasco de vidrio de color caramelo con un buzo magnético en su interior. Para el proceso de hidrólisis los frascos fueron llevados a un termostizador a 37°C durante 2 horas para favorecer la actividad de la mirosinasa, cuyo rango de actividad óptimo es de más de 30°C llegando a tener una actividad cercana a 0 cerca de los 50°C (Ludikhuyze et al., 2000).

Luego transcurridas las dos horas, el material vegetal fue transferido cuantitativamente a un tubo falcon de 15 mL para ser centrifugado a 3000 rpm durante 10 minutos. Se trasvasó el líquido sobrenadante a un tubo falcon de 15 mL y se le agregó una solución de Acetonitrilo y Cloroformo (59%-41%). Este paso es conocido como micro extracción líquido-líquido dispersiva. Con el agregado de acetonitrilo que es el disolvente dispersante en agua y el cloroformo que es el disolvente de extracción se forma una nube (Durán, 2015).

Posteriormente la fase extractante (cloroformo) que decantó, es recuperada con una jeringa y separada en un tubo Eppendorf de 1 ml. Finalmente los últimos pasos de la preparación de muestra son la evaporación de dicha fase extractante bajo una corriente de N<sub>2</sub> gaseoso y el almacenamiento del tubo en freezer de -20°C hasta el día de su análisis cromatográfico.

Para el análisis cromatográfico se agregaron 500 µL de MeOH (Metanol) grado HPLC a cada tubo Eppendorf, posteriormente se filtró cada muestra mediante un filtro de 0,22 µm y finalmente se inyectaron 20 µL al cromatógrafo. En total fueron 3 muestras extractos de microgreens de rábano y 3 muestras de microgreens de rúcula, cada muestra fue inyectada por duplicado.

#### 4.2.2.6 Condiciones cromatográficas

La fase estacionaria utilizada fue una columna ODS Waters RP-C18 de 150 mm x 4.6 mm x 5 mm. La elución de los analitos se realizó con una fase móvil resultante de diferentes proporciones de MeOH (A) y agua (B) siguiendo un programa de gradiente lineal que consta de 0 min 50% A, 20 min 80% A y 30 min 80% A. El caudal fue de 0,6 mL/ min y el tiempo de la corrida fue de 30 min. Ambos disolventes contenían 0,1% de ácido fórmico. El sistema se acondiciono utilizando las condiciones de partida durante 10 minutos antes de la inyección de la siguiente muestra. Antes de su uso, las fases móviles se filtraron a través de un filtro de 0,45 µm. La longitud de onda del detector se estableció en 241 nm. El volumen de inyección fue de 20 µL y la temperatura del horno se fijó en 25 °C. La identificación de picos en las muestras se llevó a cabo comparando los tiempos de retención y los espectros UV de los estándares de referencia, y la cuantificación fue llevada a cabo mediante curvas de calibración externa.

Para la separación de los analitos el modo cromatográfico elegido fue cromatografía en fase reversa.

#### 4.2.3 *Compuestos fenólicos*

##### 4.2.3.1 Estándares analíticos

Ácido gálico (99% p/v), ácido cafeico (99% p/v), epicatequin galato (≥99% p/v), (+)-catequina (≥99% p/v), (-)-epicatequina (≥95% p/v), ácido p-cumárico (98% p/v), ácido ferúlico

(≥99% p/v), epicatequina (≥99% p/v), (≥97% p/v), Miricetina (≥96% p/v) se obtuvieron de Sigma Aldrich Co. El campferol (≥98% p/v) se compró a Alfa Aesar (Tewksbury, MA, USA).

#### 4.2.3.2 Reactivos

- Acetonitrilo grado HPLC Sintorgan
- Agua miliQ
- Ácido fórmico grado HPLC Sintorgan
- Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro
- NaCl

#### 4.2.3.3 Material y equipos de laboratorio

- Mortero
- Centrifuga Bioser de 5000 rpm
- Balanza analítica Denver APX-200
- Lavadora ultrasonido de 40 kHz 600 W. Test LAB- modelo tb 04 Tubos falcon de 15 mL
- Frascos de 10 mL color caramelo
- Pipetas
- Ependorff de 1 mL
- Filtros
- Jeringas
- Vortex
- Cromatógrafo HPLC Shimatzu LC 20 A con detector de arreglo de Diodos (DAD)
- Columna ODS Waters RP-C18 de 250 mm x 4.6 mm x 5 mm

#### 4.2.3.4 Preparación de muestras y procedimiento de extracción de los compuestos fenólicos

La preparación y extracción de las muestras fue llevada a cabo según los métodos de Kyriacou y col. (2019) y Fontana y col.(2016) con modificaciones. Para cada muestra fueron pesados 100 mg de los microgreens liofilizados del punto 4.1 en balanza analítica, posteriormente la muestra fue molida en mortero y se le agregó 5mL de una mezcla de ACN/H<sub>2</sub>O (60/40 v%v). La muestra fue ultrasonificada a temperatura ambiente durante 15 minutos y posteriormente fue centrifugada a 3500 rpm durante 15 min.

El sobrenadante extraído de cada muestra fue de 4 mL, éste posteriormente fue filtrado a través de un filtro de papel de 0.45 µm. Una vez filtrada la muestra, se le agregaron 40 µL de ácido fórmico (1%) para tener un pH menor al pKa de los polifenoles y así favorecer su forma molecular.

Los 4 mL acidificados de muestra fueron sometidos a un proceso de limpieza o *clean-up* y separación de fases, este proceso se llevó a cabo mediante la adición de 0,7 g de NaCl y 1,9 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y una posterior centrifugación durante 10 minutos a 3500 rpm.

Después de la separación de fases fueron extraídos 1000  $\mu\text{L}$  de sobrenadante y se adicionaron 50 mg de sorbente de octadecilsilano para favorecer la eliminación de compuestos no polares. La mezcla fue homogenizada en Vortex durante 30 segundos y después fue sometida a un proceso de centrifugación a 3500 rpm durante 10 minutos.

El último paso de “*clean-up*” fue el de la adición de Carbón Vegetal al sobrenadante extraído de la última centrifugación. Una vez añadido el Carbón se procedió a centrifugar durante 15 minutos a 14000 rpm con la finalidad de extraer pigmentos de la muestra y así disminuir interferencias que dificulten la interpretación del cromatograma.

Por último, el sobrenadante fue trasvasado a un Eppendorf de 1,5 mL y se almacenó en freezer de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta el día del análisis cromatográfico.

#### 4.2.3.5 Corrida cromatográfica

La muestra fue descongelada el día de la corrida. Luego se inyectaron 10  $\mu\text{L}$  muestra al cromatógrafo HPLC, el tipo de cromatografía empleado fue cromatografía de fase reversa con una columna de C18 de 250 mm. La fase móvil estuvo constituida por Agua MiliQ (A) y ACN (B), el flujo fue de  $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  y el gradiente empleado fue: 0–2.7 min, 5% B; 2.7–11 min, 30% B; 11–14 min, 95% B; 14–15.5 min, 95% B; 15.5–17 min, 5% B; 17–20, 5% B. Las longitudes de onda usadas fueron de 240nm, 270 y 365nm. En 240 nm se cuantificaron el ácido cafeico, la catequina, el ácido clorogénico, el ácido ferúlico el caempferol, apigenina, quercetina y la isohamnetina; a 270 nm fueron cuantificados el ácido gálico y el ácido cumárico; mientras que a 320nm se cuantificó la rutina y el epicatequin-galato.

### 4.3 Resultados y discusión

#### 4.3.1 Composición Nutricional

En cuanto a la composición nutricional resultó importante tener una primera caracterización físico-química de los microgreens a nivel regional, para ir conociendo más sobre este nuevo alimento y que puedan empezar a ser recomendados para su consumo. El conocimiento del valor nutritivo de los diferentes grupos de alimentos es imprescindible para poder establecer pautas dietéticas adecuada (Anchía & Hernández, 2000).

Los análisis fueron efectuados en el Laboratorio de Ensayos Físicoquímicos y Laboratorio de Metales, Envases, Inmunoensayos y productos apícolas del Instituto Nacional de Tecnología Industrial, Sede Mendoza. En la **tabla 20** se muestran los resultados para los microgreens de rábano y rúcula en g % g fresco.

Tabla 20. Composición nutricional de microgreens de rábano y rúcula. Los resultados se muestran en g % g.

Análisis	Microgreens de rábano	Microgreens de rúcula
Humedad	94,4	94,5
Hidratos de carbono totales	1,3	2,0
Proteínas	2,2	1,9
Grasas totales	<0,1	0,1
Fibra Bruta	1,2	0,8
Cenizas	0,9	0,7

Como se esperaba los valores obtenidos de ambas muestras son diferentes entre sí. El valor calórico en los microgreens de rábano es de 14 Kcal %g o de 59 KJ %g, en tanto que los microgreens de rúcula tienen un valor calórico de 17 Kcal % g o de 69 KJ %g.

La humedad obtenida en los microgreens de rábano se asemeja a la humedad obtenida en el punto **3.2.2**, mientras que en los microgreens de rúcula en esta ocasión la humedad obtenida fue menor, esto puede ser debido a una deshidratación por parte del material vegetal en el trayecto al laboratorio donde se hicieron los análisis o porque fueron cosechadas en distintos días después de la siembra.

Los resultados obtenidos en los **microgreens de rábano** respecto a humedad, proteínas, fibra total y cenizas son superiores a los obtenidos por Ghoora, Babu, y col. (2020), esto puede ser debido a que si bien se analizó la misma especie en ambos estudios, la variedad es distinta, además en la técnica de humedad los autores citados usaron una temperatura de 105° C, mientras que en este caso se usó una estufa de vacío a 70° C.

Si se compara con la **tabla 5** de esta tesis, donde se presentó la composición nutricional de la raíz del rábano (parte comestible) se observa que la humedad de los microgreens es menor, en tanto que el contenido de proteínas es más de 3 veces superior en los microgreens que en la parte comestible. Los hidratos de carbono y la fibra son menores en los microgreens que en la raíz del rábano, mientras que las grasas totales son semejantes. Si se hace una suma total de los minerales reportados en la **tabla 5** se obtiene una suma total de 327,62 mg%g, un resultado inferior a los 900 mg%g obtenidos en la presente tesis.

En el estudio de Xiao y col. (2016) donde se analizaron macro y micro minerales en microgreens de 30 variedades de brásicas, de diferentes especies, la suma de los minerales del rábano rojo es de 512 mg/ 100 g de peso fresco, un valor que es superior al presentado en la **tabla 5**, pero es inferior a los 900 mg obtenidos en este estudio. Esto podría deberse a una diferencia de especie, semillas, técnicas analíticas o sustrato utilizado, pero se observa que también hay una tendencia de los microgreens a acumular un mayor contenido de minerales que sus contrapartes maduras.

En el caso de los **microgreens de rúcula**, no se ha encontrado bibliografía para comparar los resultados.

Si se compara con la **tabla 4** presentada en esta tesis, la composición nutricional de rúcula madura también es diferente de los microgreens de rúcula. La humedad en la rúcula madura es menor, por lo que es lógico que el contenido de proteínas, hidratos de carbono, grasas totales y fibra sean mayores, en tanto que si se realiza una sumatoria de los minerales presentados en dicha tabla se obtiene un valor de 653,93 mg%g de peso fresco, un valor similar al obtenido en los microgreens de rúcula.

Si se realiza la comparación con el estudio de Xiao y col. (2016) la sumatoria del contenido mineral reportado en microgreens de rúcula es de 550 mg%g de peso fresco, un valor inferior, aunque es semejante al obtenido en esta tesis.

### 4.3.2 *Isotiocianatos*

En nuestro caso quisimos medir los isotiocianatos, porque son estos compuestos los que tienen en sí la bioactividad asociada y que, si bien en general se miden los glucosinolatos, los isotiocianatos son los que le dan los atributos de sabor olor y efectos biológicos a los microgreens. Para medir los ITCs se utilizó una metodología del grupo de cromatografía para Agroalimentos del IBAM (CONICET-UNCUYO) que esta validada y que es específica para extraer, aislar y pre concentrar isotiocianatos. Esta metodología se basa en DLLME donde hay presente una nube formada por gotitas del extractante (cloroformo), que se dispersan a través de la muestra acuosa. Los solutos más hidrófobos, se enriquecen en el disolvente de extracción. Después de la extracción, la mezcla turbia se centrifuga, luego de esta etapa, se forman dos fases, la inferior (clorofórmica) contiene los analitos más lipofílicos, mientras que la superior (hidroalcohólica) contiene los analitos más hidrofílicos de la muestra inicial. La dispersión de las gotitas de cloroformo permitió que haya una mayor superficie para que se produzca la partición de los analitos hacia la fase extractante, lo que favorece su extracción y preconcentración en un pequeño volumen de extractante.

En la cromatografía de fase reversa es posible analizar muestras muy variadas, desde compuestos no polares hasta polares y aún iónicos (Zumbado Fernández, H., 2021). En este tipo de cromatografía la fase estacionaria es menos polar que la fase móvil. Los analitos se distribuyen a su afinidad por ambas fases, los compuestos con mayor afinidad por la fase estacionaria (apolares) se retienen más, por lo que su tiempo de retención es más mayor que el de los compuestos polares. La fase reversa sirvió para aprovechar la polaridad de los compuestos, lo que permitió obtener resultados novedosos en cuanto al perfil de isotiocianatos en los microgreens estudiados.

Con respecto al contenido de isotiocianatos vemos que el rabanito y la rúcula presentan un perfil diferente, en el rabanito el sulforafeno es el isotiocianato predominante mientras que en la rúcula este no se encuentra presente.

Los datos de los isotiocianatos y los compuestos fenólicos encontrados en los microgreens de rábano y rúcula son presentados en las **tablas 21 y 22**.

Tabla 21. Contenido de isotiocianatos y fenólicos en microgreens de rábano. Los resultados se expresan en mg/kg de material vegetal seco. Fuente: Infostat.

Compuesto	n	Media	D.E.	Mín	Máx
<i>Sulforafeno</i>	3	4476,51	621,85	3865,83	5108,96
<i>Alil ITC</i>	3	8,23	7,78	2,71	17,13
<i>Ácido Cafeico</i>	3	125,37	5,12	119,70	129,67
<i>Ácido Cumárico</i>	3	570,03	54,86	512,02	621,08
<i>Campferol</i>	3	2001,7	634,60	1635,06	2734,47
<i>Apigenina</i>	3	1297,24	35,58	1257,84	1327,02
<i>Rutina</i>	3	<LQ			
<i>Resveratrol</i>	3	<LQ			
<i>EPG</i>	3	<LQ			
$\Sigma$ ITC	3	4484,75	622,74	3868,54	5113,82
$\Sigma$ Fenólicos	3	3994,34	611,60	3600,84	4698,95

Límite de cuantificación de compuestos: ácido gálico = 0,1; procianidina B1 = 0,5; (+)-catequina = 0,25; ácido cafeico = 0,05; ácido p-cumárico = 0,05; ácido ferúlico = 0,05; trans-resveratrol = 0,1;; (-)-epicatequina = 0,25;; miricetina = 0,5; quercetina= 0,5; campferol=0,25; (-)galocatequingallato= 0,5 µg/mL, Sulforafano= 0,3 µg/g peso seco; sulforafeno= 0,3 µg/g peso seco; Indol 3 carbinol= 1,6 µg/g peso seco; Alil ITC= 2,7 µg/g peso fresco; erucina 7,4 µg/g peso fresco)

Tabla 22. Contenido de isotiocianatos y compuestos fenólicos en microgreens de rúcula. Los resultados se expresan en mg/kg de material vegetal seco. Fuente: Infostat.

Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx
<i>Sativina</i>	3	+			
<i>Sulforafano</i>	3	515,7	245,77	232,15	667,50
<i>Erucina</i>	3	59,83	30,80	32,30	93,09
<i>Cafeico</i>	3	159,83	73,79	111,84	244,8
<i>Campferol</i>	3	1662,26	26,32	1640,93	1691,67
<i>apigenina</i>	3	1209,57	25,04	1182,23	1231,4
<i>rutina</i>	3	1140,16	555,19	768,32	1778,34
<i>EPG</i>	3	<LQ			
$\Sigma$ ITC	3	575,53	271,02	264,45	760,59
$\Sigma$ Fenólicos	3	4171,83	490,05	3797,92	4726,6

Límite de cuantificación de compuestos: ácido gálico = 0,1; procianidina B1 = 0,5; (+)-catequina = 0,25; ácido cafeico = 0,05; ácido p-cumárico = 0,05; ácido ferúlico = 0,05; trans-resveratrol = 0,1;; (-)-epicatequina = 0,25;; miricetina = 0,5; quercetina= 0,5; caempferol=0,25; (-)galocatequingallato= 0,5 µg/mL, Sulforafano= 0,3 µg/g peso seco; sulforafeno= 0,3 µg/g peso seco; Indol 3 carbinol= 1,6 µg/g peso seco; Alil ITC= 2,7 µg/g peso fresco; erucina 7,4 µg/g peso fresco.

En las **figuras 36 y 37** se presentan un cromatograma obtenido del análisis de ITCs de los microgreens de rábano, y un cromatograma obtenido en microgreens de rúcula, ambos a una longitud de onda de 240 nm.

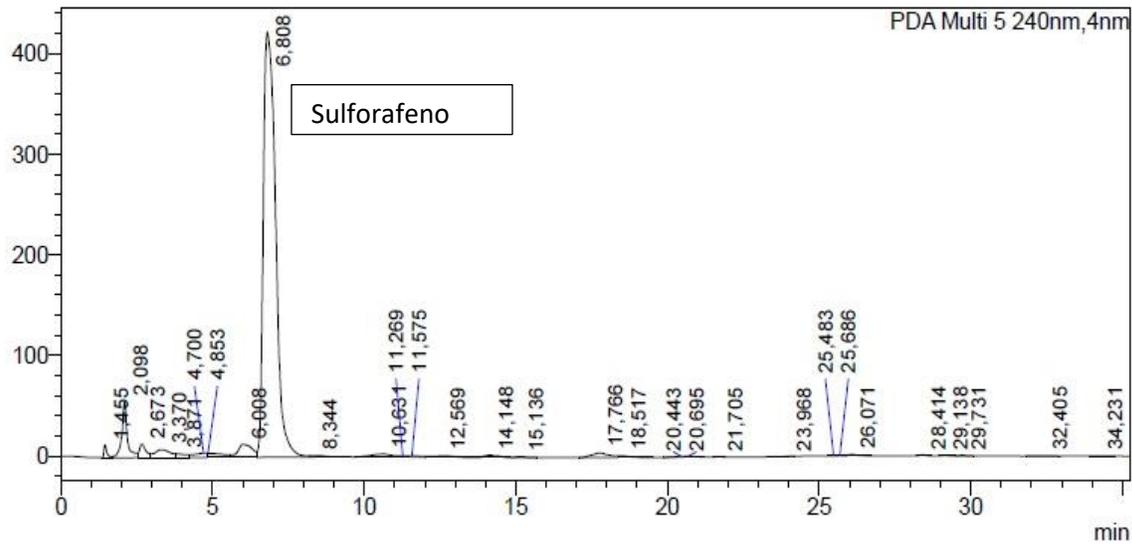


Figura 36. Cromatograma obtenido en microgreens de rábano a una longitud de onda de 240 nm para determinar ITCs Fuente: Propia

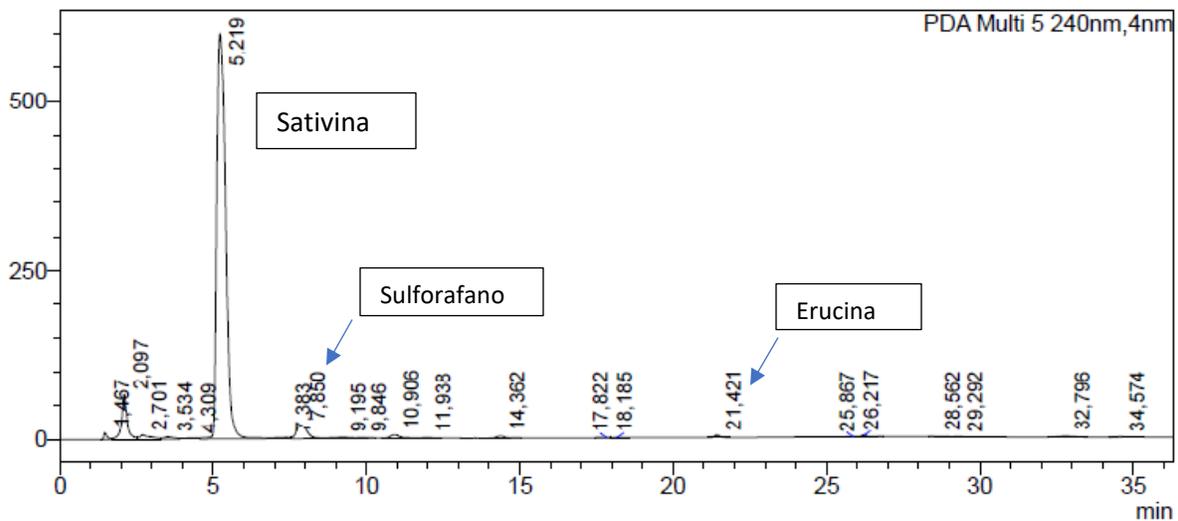


Figura 37.. Cromatograma obtenido en microgreens de rúcula a una longitud de onda de 240 para determinar ITCs. Fuente: Propia.

Como se observa en la tabla 21, en los **isotiocianatos de rábano** el sulforafeno se distingue del resto de los ITC como compuestos mayoritarios en los microgreens de rabanito. Es importante destacar que hasta la fecha no hay reportes de ITCs en microgreens de esta especie para poder discutir estos resultados, sin embargo en una publicación de Baenas y col. (2017) donde se analizó isotiocianatos en brotes de rabanito y brócoli se encontró que el 84% de los isotiocianatos en estas muestras eran sulforafeno, una proporción menor a la encontrada en la presente Tesis. El autor antes citado informa de una concentración de sulforafeno de 11,85 mg/100 g de peso fresco, haciendo el pasaje de unidades correspondiente en nuestras muestras, teniendo en cuenta la materia seca del liofilizado (6,5%) y la

humedad del rabanito fresco (93,4%) mediante una regla de 3 inversa: 311 mg/kg peso fresco de sulforafeno fue el encontrado en nuestra investigación.

Vemos entonces que el contenido de sulforafeno en nuestro análisis es 2,6 veces superior al informado por el autor Baenas y col. (2017). Por otro lado los autores de dicha publicación no reportaron Rapasatina, emitiendo como posible causa la alta inestabilidad de dicho isotiocianato, y esto mismo hipotetizamos que pudo haber ocurrido en nuestras muestras.

Con respecto al contenido de sulforafeno de la parte comestible del rabanito el contenido varía según los autores, Martínez-Zamora y col. (2021) reportan un valor de 2,65 g/kg este isotiocianato, notoriamente en nuestro estudio el valor en dichas unidades de este analito en las muestras de microgreens es de 4,47g/kg, casi un 60% más al reportado en la contraparte madura de esta especie, lo que indica un potencial funcional mayor de estos productos vegetales. Por otra parte, el contenido de Alil isotiocianato es menor al presentado por Fusari y col. (2020), las autoras de esa publicación informan una concentración de 80 µg/g producto seco de dicho componente, en tanto que en este caso los microgreens poseen 8,23 µg/g de producto seco.

**Los isotiocianatos en rúcula**, presentados en la **tabla 22**, merecen una discusión aparte. En estas muestras vimos la presencia mayoritaria de Sativina. Como se mencionó en la introducción, es un compuesto cuya estructura se ha dilucidado hace no más de 3 años, por lo que aún su cuantificación es compleja y no está al alcance de los tiempos de Tesis. El cromatograma evidenció un pico mayoritario, que no coincidía con los estándares de ITCs que tenemos disponibles. No obstante fue posible hacer un barrido espectral y se observó que tiene un pico máximo a los 280,59 nm, lo que concuerda con Fechner y col. (2018). En la **Figura 38** se presenta el barrido espectral de la sativina presentado por la autora y en la **figura 39** se presenta el barrido espectral obtenido en la presente tesis. Observando la preponderancia de este compuesto frente al resto de isotiocianatos encontrados, sería interesante en trabajos posteriores ahondar en la cuantificación y en estudios de bioactividad en relación a este analito.

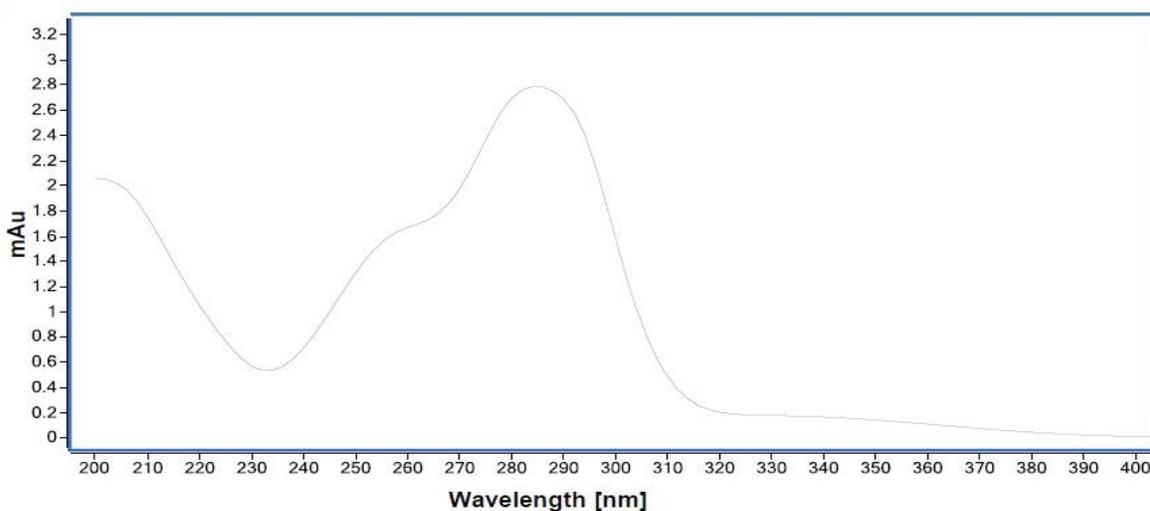


Figura 38. Barrido espectral del compuesto sativina. Fuente: (Fechner et al., 2018).

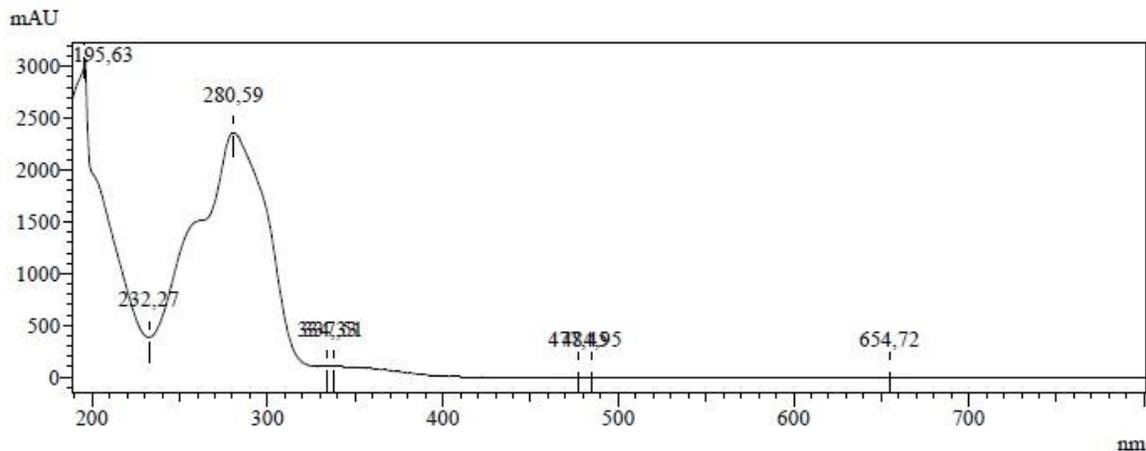


Figura 39. Barrido espectral de sativina obtenido. Fuente: Propia.

Respecto al resto de los isotiocianatos, se encontró una publicación reciente que informa de estos analitos en diferentes aceites esenciales de microgreens, incluidos los de rúcula Marchioni y col. (2021). Particularmente nuestros resultados se distinguen de los reportados por los autores previamente citados, debido a que en el presente trabajo de investigación encontramos Sativina, Sulforafano y erucina; el Sulforafano y la erucina en concentraciones de 515,7 y 59,83 mg/kg de producto seco, mientras que en el estudio citado no se reportaron isotiocianatos en microgreens de rúcula.

Vimos además que comparando el perfil de isotiocianatos de hojas de rúculas maduras con microgreens de rúcula, los isotiocianatos encontrados concuerdan con los mencionados por Fechner y col. (2018), donde reportaron sativina, sulforafano y erucina.

Por otra parte, en hojas maduras de rúcula Fusari y col. (2020) reportaron un contenido de sulforafano de 110  $\mu\text{g/g}$  de peso seco, nivel inferior al encontrado en el presente estudio, que es de 515,7 mg/kg (equivalente a 515,7  $\mu\text{g/g}$ ), lo que refuerza la idea de que en los microgreens los fitoquímicos se presentan en mayores concentraciones que en las contrapartes maduras de las plantas. Además, en dicho estudio citado anteriormente, no se reportó erucina en rúcula, y notoriamente nosotros sí pudimos cuantificarla en estas muestras; sin embargo, a diferencia de lo reportado no encontramos alil ITC, que pensamos podría encontrarse en mayores concentraciones en hojas maduras de rúcula.

Siguiendo la discusión con las variaciones entre microgreens y hojas de rúcula maduras, comparamos el presente estudio con los resultados obtenidos por Villatoro-Pulido y col. (2013) (donde se analizó la composición fitoquímica de la rúcula madura) en el cual se analizó la composición fitoquímica de la rúcula madura, y apreciamos variaciones en los isotiocianatos reportados y en la concentración de dichos isotiocianatos.

Las autoras encontraron sulforafano, erucina e iberina, algo que concuerda parcialmente con el presente estudio con la diferencia de que ese reporte no encontró sativina, y en nuestro caso no se pudo analizar la presencia de iberina por falta de estándar.

El contenido de sulforafeno reportado es de 0,15 a 5,90  $\mu\text{g/g}$  de peso seco, un resultado inferior al obtenido en esta Tesis donde se obtuvo una media de 515,7  $\mu\text{g/g}$  de peso seco.

### 4.3.3 *Compuestos fenólicos*

Resultó interesante medir el contenido de compuestos fenólicos por sus propiedades antioxidantes y sus potenciales efectos benéficos para la salud. El uso de cromatografía en gradiente ayudó a aumentar la separación de los compuestos fenólicos, esto es de vital importancia ya que los compuestos fenólicos además de ser muchos, tienen tiempos de retención muy cercanos por lo que es muy útil para mejorar la resolución de los analitos que coeluyen. Además, la ventaja de aumentar la longitud de la columna con respecto a la de los isotiocianatos (250mm-150mm) es que aumenta el número de platos teóricos aumentando la eficiencia de la separación.

Se adecuó la etapa de preparación de muestra agregando pasos de separación de fases y de *clean up* para mejorar el aislamiento de los compuestos fenólicos de otros interferentes, esta puesta a punto de la metodología nos permitió obtener perfiles novedosos de compuestos fenólicos frente a otros reportados.

EL perfil de compuestos fenólicos se asemeja más en presencia/ausencia de compuestos en cada especie de microgreens analizada, pero hay una clara distinción entre los valores cuantificados de cada analito.

Respecto a lo reportado sobre estos analitos en muestras de microgreens de rábanos, nuestros resultados difieren de los presentados por Kyriacou y col. (2019), en dicho estudio los autores presentaron un contenido de ácido cafeico de 5,00 ppm y ácido cumárico de 25,87 ppm, estos valores difieren a los 125 y 570 ppm, respectivamente para cada analito, obtenidos en el presente estudio, sin embargo esta diferencia puede ser explicada por los distintos pasos de preparación y extracción de muestra; en el trabajo citado se utilizó metanol como extractante y no realizó una etapa de *Clean Up*, que vemos en la presente Tesis cómo esta etapa ayuda a mejorar el aislamiento de los compuestos y hacer más eficiente la extracción.

En otro reporte Lugasi y Hóvári (2000) encontraron en raíces de 3 variedades de rábano (*horse*, *purple* y *black*) un contenido de Campferol de entre 10,5; 21,1 y 25,7 ppm, extrapolando esos resultados a nuestro análisis se obtuvo una concentración de Campferol de 139,30 ppm de peso fresco para nuestras muestras, considerando una humedad de 93,4%, una concentración muy superior a lo publicado en la bibliografía.

Un estudio de Pajak y col. (2014) donde se analizó el contenido de compuestos fenólicos en brotes de rábano permite evaluar una clara distinción entre los perfiles de estos fitoquímicos se obtuvieron valores referidos a peso seco de 96,1 ppm; 12,1 ppm; 1 ppm de ácido cafeico, ácido cumárico y campferol, respectivamente. En nuestro caso los valores encontrados de dichos compuestos para los microgreens de rabanitos fueron notablemente mayores (125,37 ppm para el cafeico, 570 ppm para el cumárico y 2001,7 ppm para el campferol). Vemos entonces una distinción en el perfil cuali-cuantitativo entre brotes y microgreens, pero también es necesario tener en cuenta la diferencia en el proceso de extracción, las diferentes condiciones cromatográficas, y no menos importante tener en cuenta que los

polifenoles son compuestos secundarios que dependen de muchos factores intrínsecos y extrínsecos, como las condiciones de cultivo, variedad, manejos postcosecha, madurez de la planta, entre otros.

Con respecto al contenido de compuestos fenólicos en microgreens de rúcula, el autor El-Nakhel y col. (2021) presentó recientes resultados del perfil de estos analitos en microgreens de rúcula coincidiendo parcialmente con los encontrados aquí. Sin embargo, en nuestras muestras no se detectó ácido ferúlico, compuesto que, si es reportado por los autores, el resto de compuestos fenólicos no se pueden comparar debido a que son compuestos fenólicos unidos a glúcidos y este tipo de analitos no fueron abordados en el presente estudio.

Por otro lado, vemos en el estudio de Fusari y col. (2020) donde analizaron rúcula madura, que se encontraron más compuestos fenólicos a los reportados en esta ocasión. En este trabajo citado se reportó ácido gálico, catequina, miricetina y resveratrol, entre otros. En los compuestos fenólicos que sí coincidimos en cuanto a la presencia de los mismos en ambas muestras analizadas, fueron el ácido cafeico, las autoras reportan 170  $\mu\text{g/g}$  peso seco, en este caso se obtuvo una media menor, de 159,83  $\mu\text{g/g}$ ; la concentración de campferol reportado en dicho estudio es de 9,8  $\mu\text{g/g}$  peso seco, un valor inferior a los 1662  $\mu\text{g/g}$  peso seco. Finalmente, en ambos casos no se detectaron ferúlico ni cumárico.

#### 4.4 Conclusiones parciales

Si recordamos los objetivos específicos planteados relacionados con la composición nutricional y fitoquímica:

3. Determinar la composición nutricional de las micro-hortalizas
4. Determinar el perfilado de compuestos bioactivos y ponderar su potencial funcional empleando técnicas analíticas instrumentales.

Podemos decir que fueron completados correctamente, empleando técnicas analíticas modernas como la micro extracción líquido-líquido dispersiva en el caso de los isotiocianatos y una reciente técnica validada para polifenoles, ambas empleando cromatografía líquida de alta performance (HPLC). Vimos que el empleo de las metodologías analíticas aquí empleadas nos permitió caracterizar de manera robusta y selectiva los perfiles nutricionales y fitoquímicos de las muestras de microgreens de rúcula y rabanito, incluso llegando a obtener niveles superiores a los reportados para los mismos analitos en matrices similares. Encontramos resultados notorios en cuanto la presencia de compuestos como la sativina en microgreens de rúcula y el sulforafeno en microgreens de rabanitos, dando cuenta del poder funcional potencial de estos microgreens.

Con respecto a la composición nutricional, que se realizó en un instituto de gran prestigio a nivel regional como el INTI, se observó que los microgreens de rábano parecen tener un mayor contenido de macronutrientes y cenizas que su contraparte madura, en cambio los microgreens de rúcula siguiendo la comparación con los datos brindados por USDA, parecen tener un mayor contenido de agua y un menor contenido de macronutrientes.

## 5 Conclusiones y recomendaciones

En este trabajo se produjo a escala experimental micro-hortalizas de vegetales de la familia *Brassicaceae*, estas micro-hortalizas también fueron evaluadas en relación a su composición nutricional y en relación a su potencial funcional según su contenido de compuestos bioactivos.

En lo que respecta a la producción de las micro-hortalizas se pudo corroborar una mejor performance del cultivo de las micro-hortalizas empleando el sustrato Cocomix, mejorando su rendimiento bajo luz LED y con riego diario o del poder. Lo más difícil de lograr cumplir fue estandarizar las condiciones de cultivo para el crecimiento de las microhortalizas, principalmente el tema del riego, porque una cantidad de agua limitada es perjudicial para el desarrollo de las plántulas y agua en exceso provoca pudriciones y alteraciones microbiológicas, como el crecimiento de mohos.

Con relación al perfil nutricional en los microgreens de rábano se observó también una tendencia a un mayor contenido de macronutrientes, en cambio en los microgreens de rúcula parecen tener una menor riqueza nutricional que su contraparte madura.

Lo más importante de esta producción fue la ponderación del contenido de compuestos bioactivos, porque se observó una tendencia a una mayor acumulación de fitoquímicos tanto en los microgreens de rabanito como los de rúcula. Una dificultad que se encontró en esta evaluación fue la de acoplar las técnicas de isotiocianatos y compuestos fenólicos usadas en vegetales maduros a microgreens.

Por todo lo expuesto previamente se acepta la hipótesis **“Es posible lograr la producción de micro-hortalizas de *Brásicaceae* y que resulten en fuentes novedosas de compuestos bioactivos”**

Este trabajo de investigación plantea distintos objetivos para futuras líneas de investigación:

- ❖ Evaluar el uso de soluciones nutritivas en microgreens
- ❖ Observar curva de degradación de pesticidas usando semillas curadas para determinar si se cosecha a una cierta cantidad de días (entre 14-21) el producto es seguro
- ❖ Adecuar técnicas analíticas para obtener una mayor exactitud y precisión en las determinaciones de fitoquímicos en microgreens
- ❖ Comparar composición nutricional de microgreens con plantas maduras, de una misma especie y región, bajo las mismas técnicas y los mismos analistas.
- ❖ Comparar los compuestos funcionales de microgreens y plantas maduras de una misma especie y variedad, bajo las mismas condiciones de cultivo, la misma técnica y el/la misma analista.
- ❖ Evaluar el contenido de anti nutrientes o compuestos que pueden ser perjudiciales para un determinado grupo etario, como por ejemplo los nitratos en niños menores de 3 años.

## 6 Bibliografía

- Aguilera-Otíz, M., Reza-Vargas, M. del C., Chew-Madinaveita, R. G., & Meza-Velázquez, J. A. (2011). Propiedades Funcionales De Las Antocianinas. *BIOTecnia*, 13(2), 16. <https://doi.org/10.18633/bt.v13i2.81>
- Al-Shehbaz, I. A., Beilstein, M. A., & Kellogg, E. A. (2006). Systematics and phylogeny of the Brassicaceae (Cruciferae): An overview. *Plant Systematics and Evolution*, 259(2–4), 89–120. <https://doi.org/10.1007/s00606-006-0415-z>
- Almeida, E. J. V. (2020). Trabajo de Fin de Grado [Universidad de Valladolid]. In *Sulfurafano: Estructura y propiedades*. [https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/19338/Estudio de las propiedades de flujo de solidos pulverulentos y granulados empleados en la elaboracion de formas farmaceuticas solidas de administracion oral..pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/19338/Estudio%20de%20las%20propiedades%20de%20flujo%20de%20solidos%20pulverulentos%20y%20granulados%20empleados%20en%20la%20elaboracion%20de%20formas%20farmaceuticas%20solidas%20de%20administracion%20oral..pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Baenas, N., Gómez-Jodar, I., Moreno, D. A., García-Viguera, C., & Periago, P. M. (2017). Broccoli and radish sprouts are safe and rich in bioactive phytochemicals. *Postharvest Biology and Technology*, 127, 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.01.010>
- Barberan, T. (2015). Los polifenoles de los alimentos y la salud. *Alimentacion, Nutricion y Salud*, 10(2), 41–53.
- Battafarano, F., & Urrestarazu, M. (2018). Efecto de la iluminación artificial LEDs sobre el crecimiento y contenido de nitratos en microgreens de lechuga. *Universidad de Almería, Departamento de Agronomía, Almería, España. ABSTRACT*, 17.
- Bell, L., & Wagstaff, C. (2014). Glucosinolates, myrosinase hydrolysis products, and flavonols found in rocket (*eruca sativa* and *diplotaxis tenuifolia*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(20), 4481–4492. <https://doi.org/10.1021/jf501096x>
- Bennett, R. N., Mellon, F. A., Botting, N. P., Eagles, J., Rosa, E. A. S., & Williamson, G. (2002). Identification of the major glucosinolate (4-mercaptopbutyl glucosinolate) in leaves of *Eruca sativa* L. (salad rocket). *Phytochemistry*, 61(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00203-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00203-0)
- Björkman, M., Klingen, I., Birch, A. N. E., Bones, A. M., Bruce, T. J. A., Johansen, T. J., Meadow, R., Mølmann, J., Seljåsen, R., Smart, L. E., & Stewart, D. (2011). Phytochemicals of Brassicaceae in plant protection and human health - Influences of climate, environment and agronomic practice. *Phytochemistry*, 72(7), 538–556. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.01.014>
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), 317–333. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x>
- Bulgari, R., Baldi, A., Ferrante, A., & Lenzi, A. (2017). Yield and quality of basil, Swiss chard, and rocket microgreens grown in a hydroponic system. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 45(2), 119–129. <https://doi.org/10.1080/01140671.2016.1259642>
- Bulgari, R., Negri, M., Santoro, P., & Ferrante, A. (2021). Quality evaluation of indoor-grown microgreens cultivated on three different substrates. *Horticulturae*, 7(5). <https://doi.org/10.3390/horticulturae7050096>
- Cámara-Martos, F., Obregón-Cano, S., Mesa-Plata, O., Cartea-González, M. E., & de Haro-Bailón, A.

- (2021). Quantification and in vitro bioaccessibility of glucosinolates and trace elements in Brassicaceae leafy vegetables. *Food Chemistry*, 339(August 2020), 127860. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127860>
- Castagnino, A. ., Marina, J. ., Benvenuti, S., & Castro, M. (2020). Microgreens and sprouts , two innovative functional foods for a healthy diet in Km 0 Microgreens y brotes , dos alimentos funcionales innovadores para una nutrición saludable , en el Km 0. *Horticultura Argentina*, 39(100), 55–95.
- Chorol, S., Angchok, D., & Stobdan, T. (2021). Irrigation timing as a glucosinolate alteration factor in radish (*Raphanus sativus* L.) (Gya Labuk and Tsentay Labuk) in the Indian Trans-Himalayan region of Ladakh. *Journal of Food Composition and Analysis*, 100(March), 103904. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103904>
- Chueca, A. S. (2005). *Flavonoides: compuestos bioactivos de los alimentos*. <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>.
- Corleto, K. A., Singh, J., Jayaprakasha, G. K., & Patil, B. S. (2018). Storage Stability of Dietary Nitrate and Phenolic Compounds in Beetroot (*Beta vulgaris*) and Arugula (*Eruca sativa*) Juices. *Journal of Food Science*, 83(5), 1237–1248. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14129>
- Cozzano, S. (2015). *Compuestos fenólicos en frutas y hortalizas: bioaccesibilidad y biodisponibilidad*. <http://www.audyn.org.uy/sitio/repo/arch/SONIACOZZANOCongresoiberoamericanodenutricion2015.pdf>
- Craver, J. K., Gerovac, J. R., Lopez, R. G., & Kopsell, D. A. (2017). Light intensity and light quality from sole-source light-emitting diodes impact phytochemical concentrations within brassica microgreens. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 142(1), 3–12. <https://doi.org/10.21273/JASHS03830-16>
- Creus, E. V. A. G. (2004). Compuestos fenólicos: Un análisis de sus beneficios para la salud. *Offarm: Farmacia y Sociedad*, 23(6), 80–84.
- Del Pino, M. (2012). El cultivo de Rucula. *Contacto Rural*, 1, 10–11. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/62543>
- Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P. E., Tognolini, M., Borges, G., & Crozier, A. (2013). Dietary (poly)phenolics in human health: Structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants and Redox Signaling*, 18(14), 1818–1892. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4581>
- Di Gioia, F., & Santamaria, P. (2015). *MicroGREENS: Nuovi alimenti freschi e funzionali per esplorare tutto il valore della biodiversità*. <http://www.gustailbiodiverso.com/wp-content/uploads/2015/11/Microgreens.pdf>
- Drewnowski, A., & Gomez-Carneros, C. (2000). Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: A review. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72(6), 1424–1435. <https://doi.org/10.1093/ajcn/72.6.1424>
- El-Nakhel, C., Pannico, A., Graziani, G., Kyriacou, M. C., Gaspari, A., Ritieni, A., de Pascale, S., &

- Rouphael, Y. (2021). Nutrient supplementation configures the bioactive profile and production characteristics of three Brassica L. microgreens species grown in peat-based media. *Agronomy*, *11*(2). <https://doi.org/10.3390/agronomy11020346>
- Fahey, J. W., Zalcmann, A. T., & Talalay, P. (2001). The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, *56*(1), 5–51. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00316-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00316-2)
- Fechner, J., Kaufmann, M., Herz, C., Eisenschmidt, D., Lamy, E., Kroh, L. W., & Hanschen, F. S. (2018). The major glucosinolate hydrolysis product in rocket (*Eruca sativa* L.), sativin, is 1,3-thiazepane-2-thione: Elucidation of structure, bioactivity, and stability compared to other rocket isothiocyanates. *Food Chemistry*, *261*(April), 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.023>
- Estrada-López, H. H., Saumett-España, H. G., Iglesias-Navas, M. A., Bahamón, M. J., Cáceres-Martelo, A. M., Restrepo Flórez, C. E., . . . Díaz Pérez, A. (2017). En H. H. Estrada-López, H. G. Saumett-España, M. A. Iglesias-Navas, M. J. Bahamón, A. M. Cáceres-Martelo, C. E. Restrepo Flórez, . . . A. Díaz Pérez, Productos de confitería nutracéutica. Una opción empresarial para cultivadores de frutas y hortalizas. Barranquilla: Universidad Simón Bolívar.
- Fontana, A. R., Antonioli, A., & Bottini, R. (2016). Development of a high-performance liquid chromatography method based on a core-shell column approach for the rapid determination of multiclass polyphenols in grape pomaces. *Food Chemistry*, *192*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.101>
- Fusari, C., Nazareno, M., Locatelli, D., Fontana, A., Beretta, V., & Camargo, A. (2020). Phytochemical profile and functionality of Brassicaceae species. *Food Bioscience*, *36*(March 2019). <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100606>
- Fusari, C., Ramirez, D., & Camargo, A. (2019). Simplified analytical methodology for glucosinolate hydrolysis products: A miniaturized extraction technique and multivariate optimization. *Analytical Methods*, *11*(3), 309–316. <https://doi.org/10.1039/c8ay02442a>
- Gamba, M., Asllanaj, E., Raguindin, P. F., Glisic, M., Franco, O. H., Minder, B., Bussler, W., Metzger, B., Kern, H., & Muka, T. (2021). Nutritional and phytochemical characterization of radish (*Raphanus sativus*): A systematic review. *Trends in Food Science and Technology*, *113*, 205–218. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.045>
- Garg, G., & Sharma, V. (2014). *Eruca sativa* (L.): Botanical description, crop improvement, and medicinal properties. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, *20*(2), 171–182. <https://doi.org/10.1080/10496475.2013.848254>
- Gasaly, N., Riveros, K., & Gotteland, M. (2020). Phytochemicals: A new class of prebiotics. *Revista Chilena de Nutrición*, *47*(2), 317–327. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182020000200317>
- Ghoola, M. D., Babu, D. R., & Srividya, N. (2020). Nutrient composition, oxalate content and nutritional ranking of ten culinary microgreens. *Journal of Food Composition and Analysis*, *91*(December 2019), 103495. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103495>
- Ghoola, M. D., Haldipur, A. C., & Srividya, N. (2020). Comparative evaluation of phytochemical content, antioxidant capacities and overall antioxidant potential of select culinary

- microgreens. *Journal of Agriculture and Food Research*, 2(March), 100046.  
<https://doi.org/10.1016/j.jafr.2020.100046>
- Gioia, F. Di, Mininni, C., & Santamaria, P. (2015). How to grow microgreens. *Microgreens, October*, 51–79.
- Goites, E. (2008). Manual de cultivos para la Huerta Orgánica Familiar. In *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria* (Vol. 3). [https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-manual\\_de\\_cultivos\\_para\\_la\\_huerta\\_organica\\_familiar\\_.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-manual_de_cultivos_para_la_huerta_organica_familiar_.pdf)
- Greenfield, H., & Southgate, D. A. . (2006). Datos de composición de alimentos. In B. B.A & C. U.R (Eds.), *Segunda Edición* (Segunda ed). FAO.
- Gupta, A., Sharma, R., & Sharma, S. (2020). Antioxidants in Vegetables and Nuts - Properties and Health Benefits. In *Antioxidants in vegetable and nuts - Properties and Health Benefits* (1st ed.). Springer Singapore;Springer. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-7470-2\\_22](https://doi.org/10.1007/978-981-15-7470-2_22)
- Gutiérrez, R. M. P., & Perez, R. L. (2004). Raphanus sativus (Radish): their chemistry and biology. *TheScientificWorldJournal*, 4(16), 811–837. <https://doi.org/10.1100/tsw.2004.131>
- Hanschen, F. S., & Schreiner, M. (2017). Isothiocyanates, nitriles, and epithionitriles from glucosinolates are affected by genotype and developmental stage in Brassica oleracea varieties. *Frontiers in Plant Science*, 8(June), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01095>
- Jahangir, M., Kim, H. K., Choi, Y. H., & Verpoorte, R. (2009). Health-Affecting Compounds in Brassicaceae. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8(Ferguson 1999), 31–43.
- Jimeno, M. B. (2015). *Análisis de contaminantes orgánicos en muestras biológicas humanas con técnicas cromatográficas*. UNIVERSIDAD NACIONAL DE EDUCACIÓN A DISTANCIA.
- Jones, P. J., & Jew, S. (2007). Functional food development: concept to reality. *Trends in Food Science and Technology*, 18(7), 387–390. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.03.008>
- Kamal, K. Y., El-Tantawy, A. A., Moneim, D. A., Salam, A. A., Qabil, N., Salwa, M. A. I. A. shormillesy, Attia, A., Ali, M. A. S., Herranz, R., El-Esawi, M. A., & Nassrallah, A. A. (2019). Evaluation of 21 Brassica microgreens growth and nutritional profile grown under diffrenet red, blue and green LEDs combination. *BioRxiv*, 705806. <https://doi.org/10.1101/705806>
- Kapusta-Duch, J., & Kusznierewicz, B. (2021). Young shoots of white and red headed cabbages like novel sources of glucosinolates as well as antioxidative substances. *Antioxidants*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/antiox10081277>
- Klan C. Ong and Hoon-Eng Khoo. (1997). Biological effects of Myrecetin. *Gen. Pharmac*, 29, 121–126. <https://doi.org/10.1080/00218839.1969.11100225>
- Kyriacou, M. C., El-Nakhel, C., Graziani, G., Pannico, A., Soteriou, G. A., Giordano, M., Ritieni, A., De Pascale, S., & Roupael, Y. (2019). Functional quality in novel food sources: Genotypic variation in the nutritive and phytochemical composition of thirteen microgreens species. *Food Chemistry*, 277(July 2018), 107–118. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.098>
- Kyriacou, M. C., El-Nakhel, C., Pannico, A., Graziani, G., Zarrelli, A., Soteriou, G. A., Kyratzis, A.,

- Antoniou, C., Pizzolongo, F., Romano, R., Ritieni, A., De Pascale, S., & Roupael, Y. (2021). Ontogenetic variation in the mineral, phytochemical and yield attributes of brassicaceous microgreens. *Foods*, *10*(5), 1–21. <https://doi.org/10.3390/foods10051032>
- Kyriacou, M. C., El-Nakhel, C., Soteriou, G. A., Graziani, G., Kyrtzis, A., Antoniou, C., Ritieni, A., De Pascale, S., & Roupael, Y. (2021). Preharvest nutrient deprivation reconfigures nitrate, mineral and phytochemical content of microgreens. *Foods*, *10*(6), 1–16. <https://doi.org/10.3390/foods10061333>
- Lee, S., Kim, J., & Lee, J. (2021). Differential glucosinolate profiles of radish leaves in response to postharvest drying treatment. *Horticulture Environment and Biotechnology*, *62*(4), 581–592. <https://doi.org/10.1007/s13580-021-00345-y>
- Li, T., Lalk, G. T., & Bi, G. (2021). Fertilization and pre-sowing seed soaking affect yield and mineral nutrients of ten microgreen species. *Horticulturae*, *7*(2), 1–16. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7020014>
- Lin, L. Z., & Harnly, J. M. (2010). Phenolic component profiles of mustard greens, Yu Choy, and 15 other Brassica vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(11), 6850–6857. <https://doi.org/10.1021/jf1004786>
- Ludikhuyze, L., Rodrigo, L., & Hendrickx, M. (2000). The activity of myrosinase from broccoli (*Brassica oleracea* L. cv. *Italica*): Influence of intrinsic and extrinsic factors. *Journal of Food Protection*, *63*(3), 400–403. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-63.3.400>
- Lugasi, A., & Hóvári, J. (2000). Flavonoid aglycons in foods of plant origin I. vegetables. *József Fodor National Center of Public Health*, *29*(4), 345–352.
- Manchali, S., Chidambara Murthy, K. N., & Patil, B. S. (2012). Crucial facts about health benefits of popular cruciferous vegetables. *Journal of Functional Foods*, *4*(1), 94–106. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2011.08.004>
- Marchioni, I., Martinelli, M., Ascrizzi, R., Gabbriellini, C., Flamini, G., Pistelli, L., & Pistelli, L. (2021). Small functional foods: Comparative phytochemical and nutritional analyses of five microgreens of the brassicaceae family. *Foods*, *10*(2), 1–15. <https://doi.org/10.3390/foods10020427>
- Mura Mardones, F. (2016). Estudio de la actividad antioxidante y potencial capacidad citotóxica en células leucémicas de la línea HL-60 de nuevos compuestos derivados de ácido hidroxicinámico. Disponible en <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/142474>
- Martín Gordo, D. A. (2018). Los Compuestos Fenólicos, Un Acercamiento A Su Biosíntesis, Síntesis Y Actividad Biológica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, *9*(1), 81–104. <https://doi.org/10.22490/21456453.1968>
- Martínez-Zamora, L., Castillejo, N., & Artés-Hernández, F. (2021). Postharvest UV-B and UV-C radiation enhanced the biosynthesis of glucosinolates and isothiocyanates in Brassicaceae sprouts. *Postharvest Biology and Technology*, *181*(February). <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2021.111650>
- Matera, R., Gabbanini, S., De Nicola, G. R., Iori, R., Petrillo, G., & Valgimigli, L. (2012). Identification

- and analysis of isothiocyanates and new acylated anthocyanins in the juice of *Raphanus sativus* cv. Sango sprouts. *Food Chemistry*, 133(2), 563–572.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.050>
- Matsuzawa, Y. K. K.-T. W. B. (2006). Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants. In *Laboratorium Penelitian dan Pengembangan FARMAKA TROPIS Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur* (Issue April).
- Mccance, A., & Widdowson, E. M. (1946). *The chemical Composition Of Foods* (Second Edi, Issue 235). His Majesty's stationery office.
- 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), 2730–2736.  
<https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1144557>
- Mukherjee, A., Tamta, M., & Koley, T. K. (2019). Arugula ( *Eruca vesicaria* subsp . *sativa* ( Miller ) Thell .): A healthy leafy vegetable. *Agri Culture and Fodd: E- Newsletter: E- Newsletter*, 1(11), 359–361. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.22117.35041>
- Murphy, C. J., & Pill, W. G. (2010). Cultural practices to speed the growth of microgreen arugula (roquette; *Eruca vesicaria* subsp. *sativa*). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 85(3), 171–176. <https://doi.org/10.1080/14620316.2010.11512650>
- Nolan, D. A. (2018). Effects of seed density and other factors on the yield of microgreens grown hydroponically on Burlap. *Virginia Tech*, 1–44.
- Pająk, P., Socha, R., Gałkowska, D., Rożnowski, J., & Fortuna, T. (2014). Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. *Food Chemistry*, 143, 300–306.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.064>
- Park, C. H., Park, S. Y., Park, Y. J., Kim, J. K., & Park, S. U. (2020). Metabolite Profiling and Comparative Analysis of Secondary Metabolites in Chinese Cabbage, Radish, and Hybrid xBrassicoraphanus. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(47), 13711–13719.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c04897>
- Podsdek, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT - Food Science and Technology*, 40(1), 1–11.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.07.023>
- Prakash, D., & Gupta, C. (2012). Glucosinolates: the phytochemicals of nutraceutical importance. *Journal of Complementary & Integrative Medicine*, 9(1). <https://doi.org/10.1515/1553-3840.1611>
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr. Hosp*, 27(1), 76–89.  
<https://doi.org/10.3305/nh.2012.27.1.5418>
- Ramirez, D., Abellán-Victorio, A., Beretta, V., Camargo, A., & Moreno, D. A. (2020). Functional ingredients from brassicaceae species: Overview and perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(6). <https://doi.org/10.3390/ijms21061998>
- Rana, M. K., & Kamboj, N. K. (2018). Vegetable Crops Science. In *Taylor & Francis Group* (6000

- Broke). <https://doi.org/10.1201/9781315116204-38>
- Rincón, A. (2014). Biosíntesis de los glucosinolatos e Importancia nutricional humana y funciones de protección a las plantas. *Alimentos Hoy*, 22(31), 64–80.
- Romero, G. (2016). *Evaluación del efecto del ultrasonido de potencia en las propiedades de equilibrio y transporte de masa en la extracción de compuestos fenólicos de cáscara de tamarindo (tamarindus indica L.) en soluciones etanol-agua* [Universidad Autónoma de Puebla]. <https://hdl.handle.net/20.500.12371/2449>
- Šamec, D., & Salopek-Sondi, B. (2018). Cruciferous (brassicaceae) vegetables. *Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements*, 195–202. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812491-8.00027-8>
- Schindelin, J., Rueden, C. T., Hiner, M. C., & Eliceiri, K. W. (2015). The ImageJ ecosystem: An open platform for biomedical image analysis. *Molecular Reproduction and Development*, 82(7–8), 518–529. <https://doi.org/10.1002/mrd.22489>
- Shankar, S., Segaran, G., Sundar, R. D. V., Settu, S., & Sathivelu, M. (2019). Brassicaceae - A classical review on its pharmacological activities. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 55(1), 107–113.
- Shojadoost, B., Yitbarek, A., Alizadeh, M., Kulkarni, R. R., Astill, J., Boodhoo, N., & Sharif, S. (2021). Centennial Review: Effects of vitamins A, D, E, and C on the chicken immune system. *Poultry Science*, 100(4), 100930. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.12.027>
- Singh, J., Upadhyay, A. K., Prasad, K., Bahadur, A., & Rai, M. (2007). Variability of carotenes, vitamin C, E and phenolics in Brassica vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(2), 106–112. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.08.002>
- Tajima, R., & Kato, Y. (2011). Comparison of threshold algorithms for automatic image processing of rice roots using freeware ImageJ. *Field Crops Research*, 121(3), 460–463. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.01.015>
- Taranto, F., Francese, G., Di Dato, F., D'Alessandro, A., Greco, B., Onofaro Sanajà, V., Pentangelo, A., Mennella, G., & Tripodi, P. (2016). Leaf Metabolic, Genetic, and Morphophysiological Profiles of Cultivated and Wild Rocket Salad (*Eruca* and *Diplotaxis* Spp.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(29), 5824–5836. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b01737>
- Tavan, M., Wee, B., Brodie, G., Fuentes, S., Pang, A., & Gupta, D. (2021). Optimizing Sensor-Based Irrigation Management in a Soilless Vertical Farm for Growing Microgreens. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4(January). <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.622720>
- Thuong, V. T., & Minh, H. G. (2020). Effects of growing substrates and seed density on yield and quality of radish (*Raphanus sativus*) microgreens. *Research on Crops*, 21(3), 579–586. <https://doi.org/10.31830/2348-7542.2020.091>
- Tiwari, U., & Cummins, E. (2013). Factors influencing levels of phytochemicals in selected fruit and vegetables during pre- and post-harvest food processing operations. *Food Research International*, 50(2), 497–506. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.09.007>
- Tojo Sierra, R., Leis Trabazo, R., & Tojo González, R. (2001). Alimentos funcionales o nutraceuticos.

In *Sociedad española de Cardiología* (Vol. 57, Issue 337).

- Toledo-Martín, E. M., Font, R., Obregón-Cano, S., De Haro-Bailón, A., Villatoro-Pulido, M., & Del Río-Celestino, M. (2017). Rapid and cost-effective quantification of glucosinolates and total phenolic content in rocket leaves by visible/near-infrared spectroscopy. *Molecules*, 22(5). <https://doi.org/10.3390/molecules22050851>
- Tomás-Barberan, F. A., Ferreres, F., & Gil, M. I. (2000). Antioxidant phenolic metabolites from fruit and vegetables and changes during postharvest storage and processing. *Studies in Natural Products Chemistry*, 23(C), 739–795. [https://doi.org/10.1016/S1572-5995\(00\)80141-6](https://doi.org/10.1016/S1572-5995(00)80141-6)
- Tram, K. L., Gallicchio, L., Lindsley, K., Shiels, M., Hammond, E., Tao, X., Chen, L., Robinson, K. A., Caulfield, L. E., Herman, J. G., Guallar, E., & Alberg, A. J. (2009). Cruciferous vegetable consumption and lung cancer risk: A systematic review. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 18(1), 184–195. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-08-0710>
- Treadwell, D., Hochmuth, R., Landrum, L., & Laughlin, W. (2020). Microgreens: A New Specialty Crop. *Edis*, 2020(5), 1–3. <https://doi.org/10.32473/edis-hs1164-2020>
- Turner, E. R., Luo, Y., & Buchanan, R. L. (2020). Microgreen nutrition, food safety, and shelf life: A review. *Journal of Food Science*, 85(4), 870–882. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15049>
- Valenzuela B., A., Sanhueza, J., Valenzuela, R., & Morales I., G. (2014). Alimentos funcionales, Nutraceuticos y foshu: ¿vamos hacia un nuevo concepto de alimentación? *Revista Chilena de Nutricion*, 41(2), 198–204. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182014000200011>
- Van Den Berg, H., Faulks, R., Granado, H. F., Hirschberg, J., Olmedilla, B., Sandmann, G., Southon, S., & Stahl, W. (2000). The potential for the improvement of carotenoid levels in foods and the likely systemic effects. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 880–912. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000515\)80:7<880::AID-JSFA646>3.0.CO;2-1](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<880::AID-JSFA646>3.0.CO;2-1)
- Van Poppel, G., Verhoeven, D. T. H., Verhagen, H., & Goldbohm, R. A. (2000). Brassica vegetables and cancer prevention: Epidemiology and mechanisms. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 472, 159–168.
- Vargas-Rincón, C., Sánchez-León, G., & Jiménez-Morales, P. (2014). La Producción de Metabolitos Secundarios en la Familia Brassicaceae. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 9(2), 282. <https://doi.org/10.18359/rfcb.388>
- Vieites-Outes, C., López-Hernández, J., & Lage-Yusty, M. A. (2016). Modificación de glucosinolatos en grelos (*Brassica rapa* subsp. *rapa* L.) sometidos a procesos térmicos culinarios. *CYTA - Journal of Food*, 14(4), 536–540. <https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1154609>
- Villatoro-Pulido, M., Priego-Capote, F., Álvarez-Sánchez, B., Saha, S., Philo, M., Obregón-Cano, S., De Haro-Bailón, A., Font, R., & Del Río-Celestino, M. (2013). An approach to the phytochemical profiling of rocket [*Eruca sativa* (Mill.) Thell]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(15), 3809–3819. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6286>
- Villatoro P, M. M. (2011). *Caracterización nutricional y agronómica, analisis de la actividad biológica y selección de Crucíferas para uso alimentario*.
- Weber, C. F. (2017). Broccoli Microgreens: A Mineral-Rich Crop That Can Diversify Food Systems.

- Frontiers in Nutrition*, 4(March), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2017.00007>
- Wermter, N. S., Rohn, S., & Hanschen, F. S. (2020). Seasonal Variation of Glucosinolate Hydrolysis Products in Commercial White and Red Cabbages (*Brassica oleracea* var. *capitata*). *Foods*, 9(11), 1682. <https://doi.org/10.3390/foods9111682>
- Wieczorek, M. N., & Jelen, H. H. (2019). Volatile compounds of selected raw and cooked Brassica vegetables. *Molecules*, 24(3). <https://doi.org/10.3390/molecules24030391>
- Wojdyło, A., Nowicka, P., Tkacz, K., & Turkiewicz, I. P. (2020). Sprouts vs. Microgreens as novel functional foods: Variation of nutritional and phytochemical profiles and their in vitro bioactive properties. *Molecules*, 25(20), 1–19. <https://doi.org/10.3390/molecules25204648>
- Xiao, Z., Codling, E. E., Luo, Y., Nou, X., Lester, G. E., & Wang, Q. (2016). Microgreens of Brassicaceae: Mineral composition and content of 30 varieties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 49, 87–93. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.04.006>
- Xiao, Z., Lester, G. E., Luo, Y., & Wang, Q. (2012). Assessment of vitamin and carotenoid concentrations of emerging food products: Edible microgreens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(31), 7644–7651. <https://doi.org/10.1021/jf300459b>
- Xiao, Z., Rausch, S. R., Luo, Y., Sun, J., Yu, L., Wang, Q., Chen, P., Yu, L., & Stommel, J. R. (2019). Microgreens of Brassicaceae: Genetic diversity of phytochemical concentrations and antioxidant capacity. *Lwt*, 101, 731–737. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.076>
- Yi, G., Lim, S., Chae, W. B., Park, J. E., Park, H. R., Lee, E. J., & Huh, J. H. (2016). Root Glucosinolate Profiles for Screening of Radish (*Raphanus sativus* L.) Genetic Resources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(1), 61–70. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04575>
- Zhang, X., Bian, Z., Yuan, X., Chen, X., & Lu, C. (2020). A review on the effects of light-emitting diode (LED) light on the nutrients of sprouts and microgreens. *Trends in Food Science and Technology*, 99(January 2019), 203–216. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.031>

## 7 Anexo 1

Tabla 23. Diseño creado por el software Design expert® para determinar condiciones óptimas de cultivo en microgreens de rabanito.

Bandeja N.º	Factor 1	Factor 3	Factor 3	Response 1	Response 2	Alto de tallo (cm)						Total
	A: Densidad de siembra (g/cm <sup>2</sup> )	B: Activación por remojo (Horas)	C: Sustrato	Peso fresco (gramos)	Alto de tallo (cm)	0 a 3	3 a 6	6 a 9	9 a 12	12 a 15	>15	
11	0,06	7,42	Mezcla Co-comix	133	6,64	66	117	166	101	8		458
13	0,04	9,00	Mezcla Co-comix	84	7,28	10	44	76	41	5		176
12	0,06	5,68	Turba Kekkila	108	6,65	13	53	99	20	3		188
9	0,02	3,00	Turba Kekkila	45	6,40	14	20	38	14	1		87
16	0,06	3,00	Mezcla Co-comix	138	6,67	25	72	100	42	6		245
8	0,04	5,86	Mezcla Co-comix	91	7,00	19	38	47	43	4		151
1	0,06	3,00	Turba Kekkila	104	6,56	26	63	112	38	1		240
19	0,06	8,39	Turba Kekkila	85	6,45	24	51	86	30	1		192
5	0,04	9,00	Turba Kekkila	71	6,93	19	39	74	42	1		175
3	0,02	9,00	Turba Kekkila	38	5,96	8	31	35	6			80
14	0,02	6,00	Turba Kekkila	37	7,01	15	11	27	24	2		79

Continuación Tabla 9. Diseño creado por el software Design expert® para determinar condiciones óptimas de cultivo en microgreens de rabanito.

Bandeja N.º	A: Densidad de siembra (g/cm <sup>2</sup> )	B: Activación por remojo (Horas)	C: Sustrato	Peso fresco (gramos)	Alto de tallo (cm)	0 a 3	3 a 6	6 a 9	9 a 12	12 a 15	>15	Total
18	0,02	9,00	Mezcla Co-comix	66	6,95	20	27	36	28	7	1	119
4	0,06	3,00	Mezcla Co-comix	124	6,71	24	42	71	39	2		178
15	0,02	3,00	Mezcla Co-comix	64	8,41	2	8	23	17	6		56
2	0,02	9,00	Mezcla Co-comix	67	8,51	3	14	24	26	10		77
10	0,04	4,80	Turba Kekkila	53	5,44	49	144	117	17			327
7	0,06	8,39	Turba Kekkila	88	5,51	43	84	82	19			228
17	0,02	3,00	Turba Kekkila	42	6,61	12	37	78	18			145
6	0,02	3,00	Mezcla Co-comix	57	8,19	5	17	29	32	8		91

## 7.1 Análisis De La Varianza Para El Peso Fresco

Response 1		Peso Fresco				
ANOVA for Response Surface Reduced 2FI Model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	16830.06	4	4207.51	54.84	< 0.0001	significant
A-Densidad de :	13890.83	1	13890.83	181.06	< 0.0001	
B-Activación po	24.08	1	24.08	0.31	0.5842	
C-Sustrato	4212.86	1	4212.86	54.91	< 0.0001	
AC	128.76	1	128.76	1.68	0.2161	
Residual	1074.05	14	76.72			
Lack of Fit	942.05	9	104.67	3.96	0.0718	not significant
Pure Error	132.00	5	26.40			
Cor Total	17904.11	18				

## 7.2 Análisis De La Varianza Para El Alto De Planta

Response 2		Alto de planta				
ANOVA for Response Surface Reduced 2FI Model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	8.33	4	2.08	7.05	0.0025	significant
A-Densidad de :	2.26	1	2.26	7.66	0.0151	
B-Activación po	0.27	1	0.27	0.91	0.3572	
C-Sustrato	3.63	1	3.63	12.30	0.0035	
AC	1.46	1	1.46	4.94	0.0432	
Residual	4.13	14	0.30			
Lack of Fit	2.42	9	0.27	0.78	0.6485	not significant
Pure Error	1.72	5	0.34			
Cor Total	12.46	18				

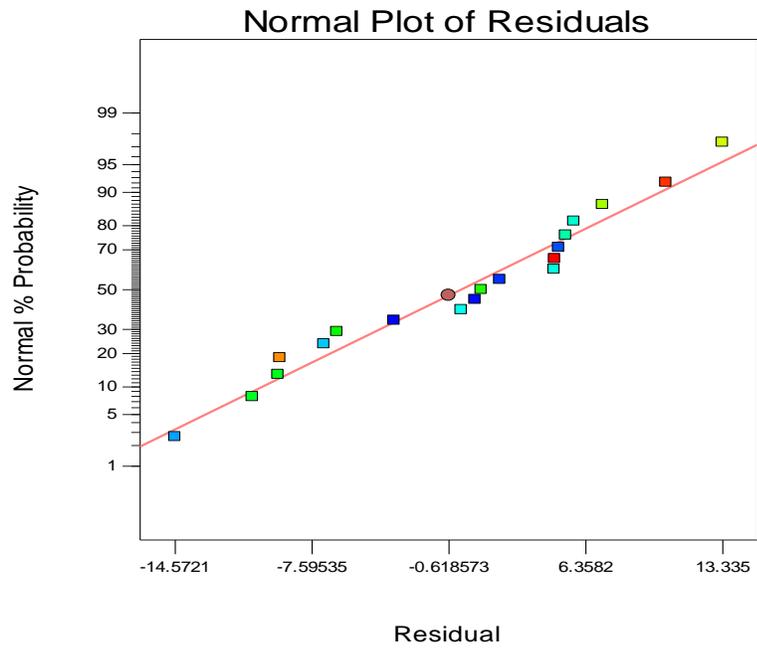
## 7.3 Análisis De Supuestos

### 7.3.1 *Peso Fresco*

#### 1.3.3.2 Normalidad.

Design-Expert® Software  
Peso Fresco

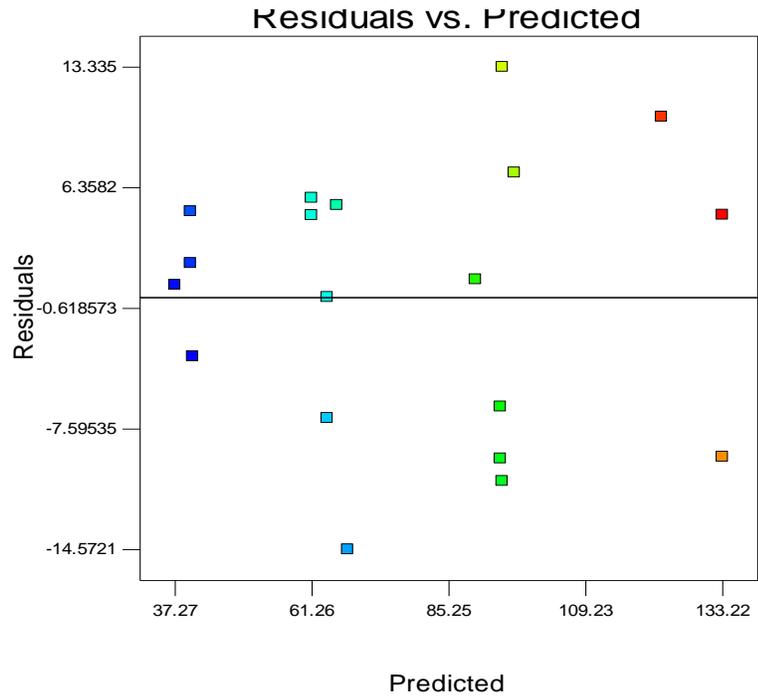
Color points by value of  
Peso Fresco:



### 7.3.1.1 Homocedasticidad.

Peso Fresco

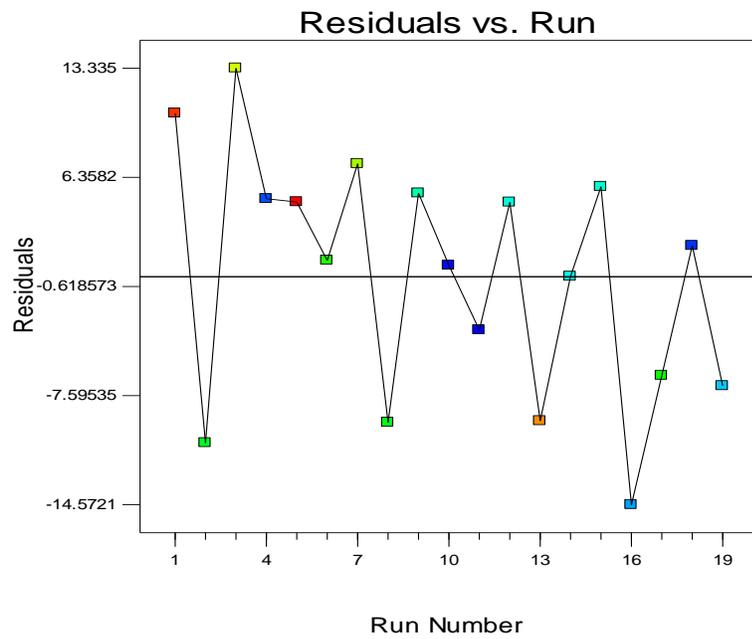
Color points by value of  
 Peso Fresco:



### 7.3.1.2 Independencia.

Design-Expert® Software  
 Peso Fresco

Color points by value of  
 Peso Fresco:

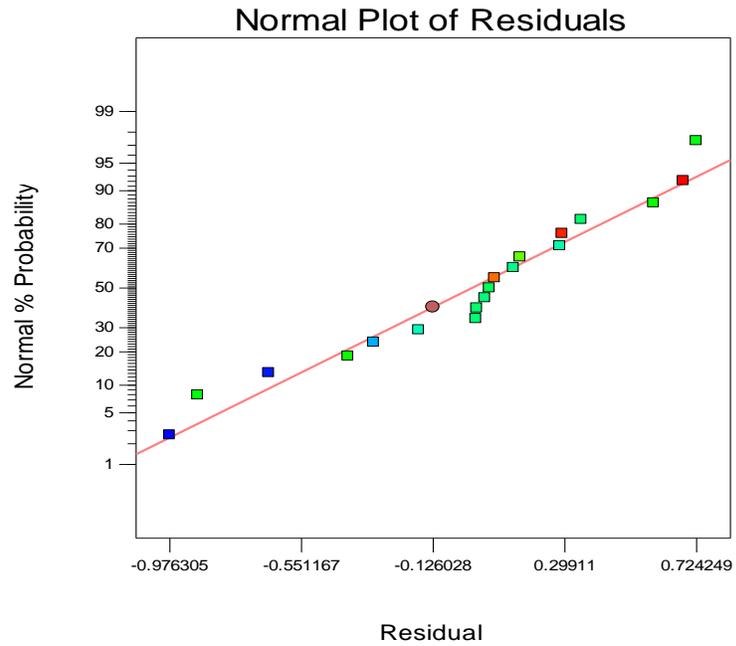


### 7.3.2 Alto De Planta

#### 7.3.2.1 Normalidad.

Design-Expert® Software  
 Alto de planta

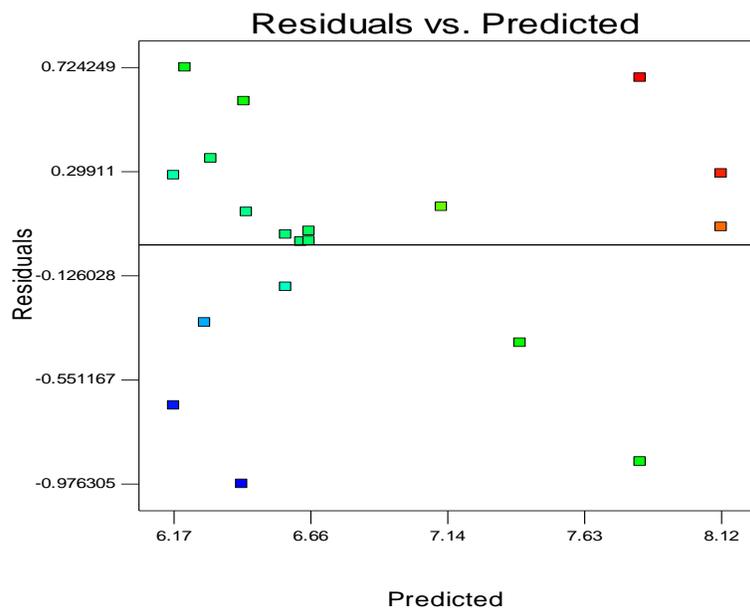
Color points by value of  
 Alto de planta:  
 8.51299  
 5.43578



#### 7.3.2.2 Homocedasticidad.

Design-Expert® Software  
 Alto de planta

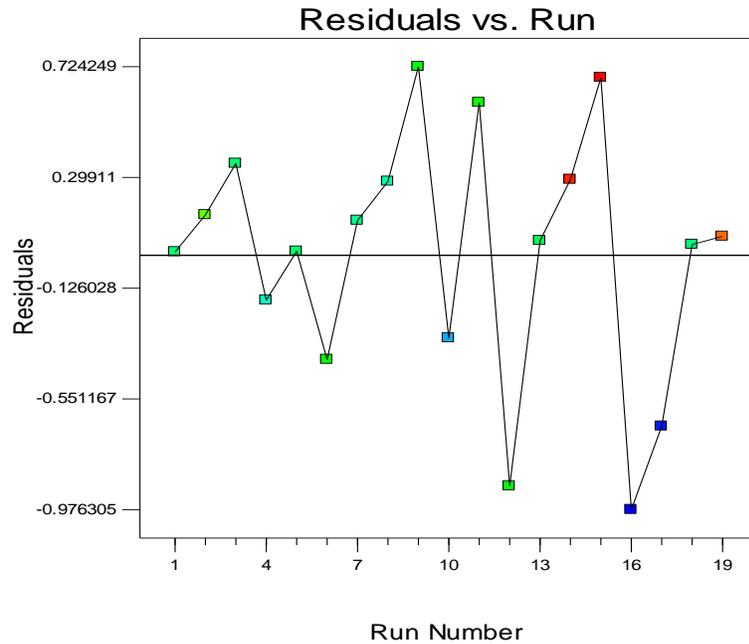
Color points by value of  
 Alto de planta:  
 8.51299  
 5.43578



### 7.3.2.3 Independencia.

Design-Expert® Software  
 Alto de planta

Color points by value of  
 Alto de planta:



## 7.4 Salida de modelos no recomendados por el software

### 7.4.1 Peso fresco

#### 7.4.1.1 Modelo 2FI

ANOVA for Response Surface 2FI Model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	16952.20	6	2825.37	35.62	< 0.0001	significant
A-Densidad de :	12234.72	1	12234.72	154.23	< 0.0001	
B-Activación po.	46.57	1	46.57	0.59	0.4583	
C-Sustrato	3676.23	1	3676.23	46.34	< 0.0001	
AB	40.55	1	40.55	0.51	0.4883	
AC	99.26	1	99.26	1.25	0.2852	
BC	62.29	1	62.29	0.79	0.3929	
Residual	951.90	12	79.33			
Lack of Fit	819.90	7	117.13	4.44	0.0601	not significant
Pure Error	132.00	5	26.40			
Cor Total	17904.11	18				

### 7.4.1.2 Modelo cuadrático

ANOVA for Response Surface Quadratic Model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	17042.35	8	2130.29	24.72	< 0.0001	significant
A-Densidad de :	11234.64	1	11234.64	130.37	< 0.0001	
B-Activación po.	10.56	1	10.56	0.12	0.7335	
C-Sustrato	3728.32	1	3728.32	43.26	< 0.0001	
AB	24.89	1	24.89	0.29	0.6027	
AC	134.19	1	134.19	1.56	0.2405	
BC	78.13	1	78.13	0.91	0.3634	
A <sup>2</sup>	89.13	1	89.13	1.03	0.3331	
B <sup>2</sup>	14.64	1	14.64	0.17	0.6889	
Residual	861.76	10	86.18			
Lack of Fit	729.76	5	145.95	5.53	0.0419	significant
Pure Error	132.00	5	26.40			
Cor Total	17904.11	18				

### 7.4.1.3 Modelo cúbico

ANOVA for Response Surface Cubic Model (Aliased)						
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	17772.11	13	1367.09	51.78	0.0002	significant
A-Densidad de :	2522.05	1	2522.05	95.53	0.0002	
B-Activación po.	269.05	1	269.05	10.19	0.0242	
C-Sustrato	908.39	1	908.39	34.41	0.0020	
AB	210.74	1	210.74	7.98	0.0369	
AC	9.80	1	9.80	0.37	0.5689	
BC	15.91	1	15.91	0.60	0.4727	
A <sup>2</sup>	355.26	1	355.26	13.46	0.0145	
B <sup>2</sup>	388.17	1	388.17	14.70	0.0122	
ABC	10.56	1	10.56	0.40	0.5549	
A <sup>2</sup> B	360.67	1	360.67	13.66	0.0141	
A <sup>2</sup> C	78.89	1	78.89	2.99	0.1444	
AB <sup>2</sup>	139.70	1	139.70	5.29	0.0697	
B <sup>2</sup> C	328.51	1	328.51	12.44	0.0168	
A <sup>3</sup>	0.000	0				
B <sup>3</sup>	0.000	0				
Pure Error	132.00	5	26.40			
Cor Total	17904.11	18				

## 7.4.2 Alto de planta

### 7.4.2.1 Modelo 2FI

**ANOVA for Response Surface 2FI Model**  
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	8.40	6	1.40	4.13	0.0176	significant
A-Densidad de :	2.13	1	2.13	6.27	0.0277	
B-Activación po	0.23	1	0.23	0.68	0.4265	
C-Sustrato	3.29	1	3.29	9.71	0.0089	
AB	7.756E-004	1	7.756E-004	2.288E-003	0.9626	
AC	1.39	1	1.39	4.11	0.0655	
BC	0.062	1	0.062	0.18	0.6768	
Residual	4.07	12	0.34			
Lack of Fit	2.35	7	0.34	0.98	0.5295	not significant
Pure Error	1.72	5	0.34			
Cor Total	12.46	18				

### 7.4.2.2 Modelo cuadrático

**ANOVA for Response Surface Quadratic Model**  
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	8.47	8	1.06	2.65	0.0752	not significant
A-Densidad de :	1.72	1	1.72	4.30	0.0650	
B-Activación po	0.13	1	0.13	0.33	0.5800	
C-Sustrato	3.14	1	3.14	7.87	0.0186	
AB	9.419E-003	1	9.419E-003	0.024	0.8810	
AC	1.21	1	1.21	3.03	0.1123	
BC	0.037	1	0.037	0.093	0.7668	
A <sup>2</sup>	0.022	1	0.022	0.055	0.8186	
B <sup>2</sup>	0.031	1	0.031	0.078	0.7859	
Residual	3.99	10	0.40			
Lack of Fit	2.27	5	0.45	1.32	0.3830	not significant
Pure Error	1.72	5	0.34			
Cor Total	12.46	18				

### 7.4.2.3 Modelo cúbico

**ANOVA for Response Surface Cubic Model (Aliased)**  
**Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]**

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	10.75	13	0.83	2.41	0.1704	not significant
A-Densidad de :	0.78	1	0.78	2.28	0.1918	
B-Activación po	1.69	1	1.69	4.93	0.0771	
C-Sustrato	0.25	1	0.25	0.73	0.4326	
AB	0.047	1	0.047	0.14	0.7262	
AC	1.42	1	1.42	4.14	0.0974	
BC	5.301E-003	1	5.301E-003	0.015	0.9060	
A <sup>2</sup>	1.03	1	1.03	3.00	0.1439	
B <sup>2</sup>	0.65	1	0.65	1.88	0.2285	
ABC	2.315E-003	1	2.315E-003	6.738E-003	0.9378	
A <sup>2</sup> B	1.95	1	1.95	5.69	0.0628	
A <sup>2</sup> C	0.11	1	0.11	0.33	0.5929	
AB <sup>2</sup>	0.031	1	0.031	0.091	0.7749	
B <sup>2</sup> C	0.032	1	0.032	0.092	0.7738	
A <sup>3</sup>	0.000	0				
B <sup>3</sup>	0.000	0				
Pure Error	1.72	5	0.34			
Cor Total	12.46	18				

## 8 Anexo 2

Tabla 24. Diseño inicial de 3 niveles factoriales bajo un estudio de tipo de superficie respuesta llevado a cabo aleatoriamente por el software Design expert.

Std	Run	Block	Factor 1 A: Densidad g/cm <sup>2</sup>	Factor 2 B: Riego %	Factor 3 C: Sus- trato	Response 1 Peso Fresco g/bandeja	Response 2 Alto Planta me cm	Response 3 Área fo- liar me cm <sup>2</sup>
6	1	Block 1	0.04	11.00	Cocomix	98.519	33.878	0.1743
24	2	Block 1	0.02	11.00	Turba Perlit y	135.150	35.199	0.2570
8	3	Block 1	0.03	13.00	Cocomix	185.150	34.177	0.1868
11	4	Block 1	0.02	9.00	Turba	42.794	26.127	0.1780
12	5	Block 1	0.03	9.00	Turba	0.9562	16.228	0.0806
16	6	Block 1	0.04	11.00	Turba	36.810	24.461	0.1240
13	7	Block 1	0.04	9.00	Turba	0.9010	15.730	0.1012
5	8	Block 1	0.03	11.00	Cocomix	79.936	36.488	0.2117
29	9	Block 1	0.04	13.00	Turba Perlit y	166.015	31.592	0.1894
27	10	Block 1	0.02	13.00	Turba Perlit y	97.710	32.025	0.2066
23	11	Block 1	0.04	9.00	Turba Perlit y	29.620	21.444	0.1163
1	12	Block 1	0.02	9.00	Cocomix	16.600	23.600	0.0897
17	13	Block 1	0.02	13.00	Turba	163.320	37.997	0.2608
19	16	Block 1	0.04	13.00	Turba	288.728	37.387	0.2036
28	17	Block 1	0.03	13.00	Turba Perlit y	128.960	35.763	0.1965
21	18	Block 1	0.02	9.00	Turba Perlit y	0.1731	21.355	0.0384
3	19	Block 1	0.04	9.00	Cocomix	132.590	32.663	0.2074
9	20	Block 1	0.04	13.00	Cocomix	159.178	34.049	0.1731
14	21	Block 1	0.02	11.00	Turba	15.590	27.329	0.1358
30	22	Block 1	0.03	11.00	Turba Perlit y	45.252	27.985	0.1961
7	23	Block 1	0.02	13.00	Cocomix	46.596	30.511	0.2072
4	24	Block 1	0.02	11.00	Cocomix	195.143	42.836	0.3110
18	25	Block 1	0.03	13.00	Turba	155.845	37.665	0.1989
26	26	Block 1	0.04	11.00	Turba Perlit y	81.330	26.521	0.1840
15	27	Block 1	0.03	11.00	Turba	73.353	25.617	0.1725
2	28	Block 1	0.03	9.00	Cocomix	16.717	26.186	0.0680
20	29	Block 1	0.03	11.00	Turba	88.123	26.162	0.2223
22	30	Block 1	0.03	9.00	Turba Perlit y	202.014	30.228	0.2262

## 8.1 Análisis De La Varianza Para El Peso Fresco

**ANOVA for Response Surface Linear Model**  
Analysis of variance table [Classical sum of squares - Type II]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	19.77	4	4.94	4.78	0.0053	significant
<i>A-Densidad</i>	1.51	1	1.51	1.46	0.2376	
<i>B-Riego</i>	17.51	1	17.51	16.95	0.0004	
<i>C-Sustrato</i>	0.74	2	0.37	0.36	0.7021	
Residual	25.82	25	1.03			
<i>Lack of Fit</i>	25.08	22	1.14	4.61	0.1163	not significant
<i>Pure Error</i>	0.74	3	0.25			
Cor Total	45.59	29				

## 8.2 Análisis De La Varianza Para La Altura De Planta

**ANOVA for Response Surface Linear Model**  
Analysis of variance table [Classical sum of squares - Type II]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	6.84	4	1.71	7.97	0.0003	significant
<i>A-Densidad</i>	0.21	1	0.21	0.96	0.3364	
<i>B-Riego</i>	5.29	1	5.29	24.69	< 0.0001	
<i>C-Sustrato</i>	1.34	2	0.67	3.12	0.0617	
Residual	5.36	25	0.21			
<i>Lack of Fit</i>	5.11	22	0.23	2.77	0.2187	not significant
<i>Pure Error</i>	0.25	3	0.084			
Cor Total	12.20	29				

## 8.3 Análisis De La Varianza Para El Área Foliar

**ANOVA for Response Surface Reduced Linear Model**  
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	0.031	2	0.016	5.67	0.0088	significant
<i>A-Densidad</i>	2.478E-003	1	2.478E-003	0.90	0.3500	
<i>B-Riego</i>	0.029	1	0.029	10.43	0.0032	
Residual	0.074	27	2.739E-003			
<i>Lack of Fit</i>	0.071	24	2.948E-003	2.77	0.2184	not significant
<i>Pure Error</i>	3.194E-003	3	1.065E-003			
Cor Total	0.10	29				

## 8.4 Análisis De Supuestos

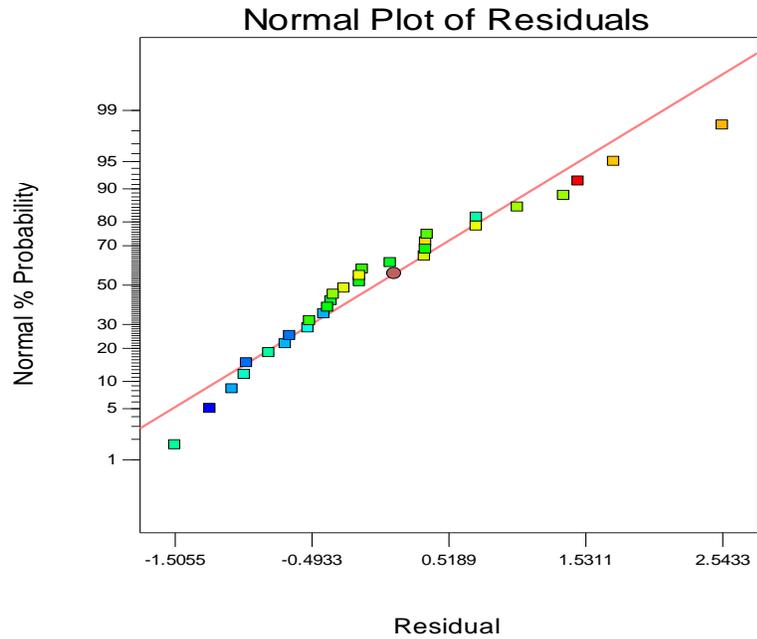
### 8.4.1 *Peso Fresco*

#### 8.4.1.1 Homogeneidad.

Design-Expert® Software  
 Sqrt(Peso Fresco)

Color points by value of  
 Sqrt(Peso Fresco):

■ 5.3733  
 ■ 0.4161

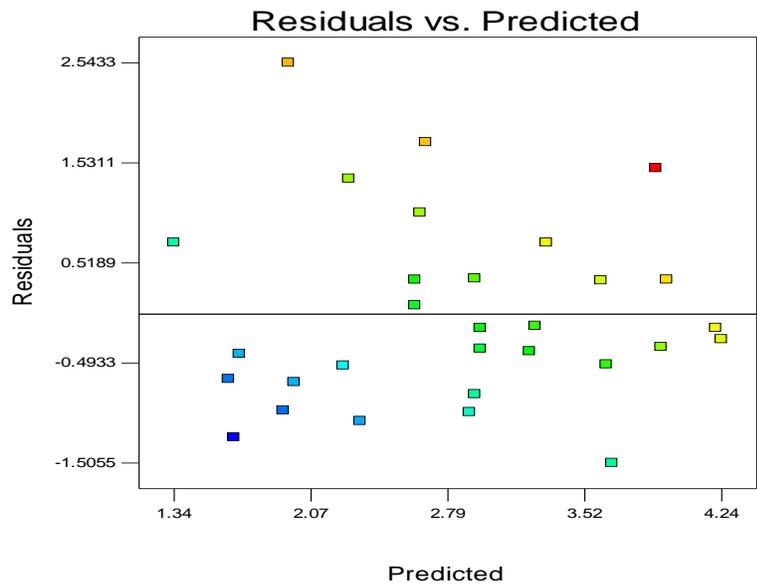


#### 8.4.1.2 Homocedasticidad.

Design-Expert® Software  
 Sqrt(Peso Fresco)

Color points by value of  
 Sqrt(Peso Fresco):

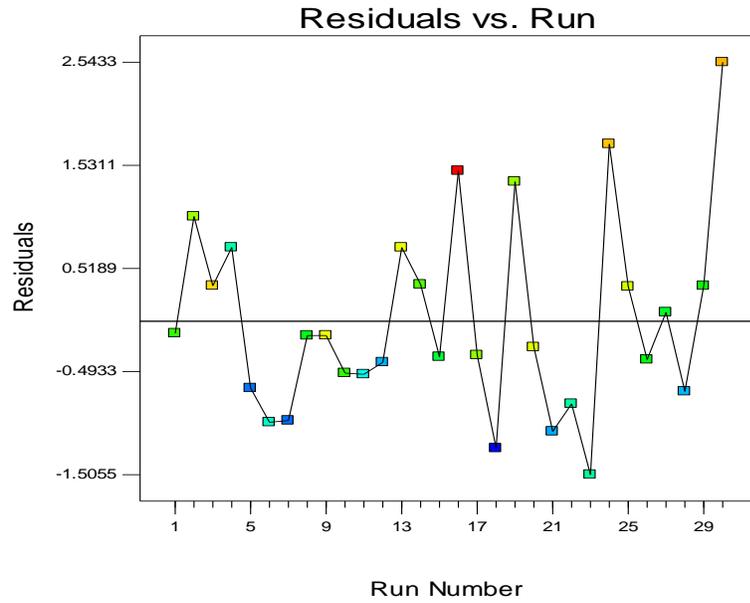
■ 5.3733  
 ■ 0.4161



### 8.4.1.3 Independencia.

Design-Expert® Software  
 Sqrt(Peso Fresco)

Color points by value of  
 Sqrt(Peso Fresco):

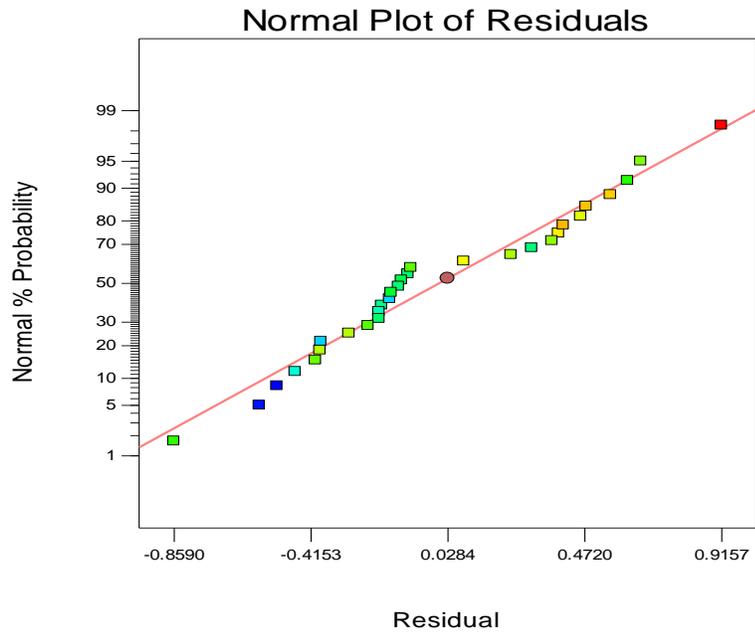


### 8.4.2 Alto De Planta

#### 8.4.2.1 Normalidad.

Design-Expert® Software  
 Alto Planta medio

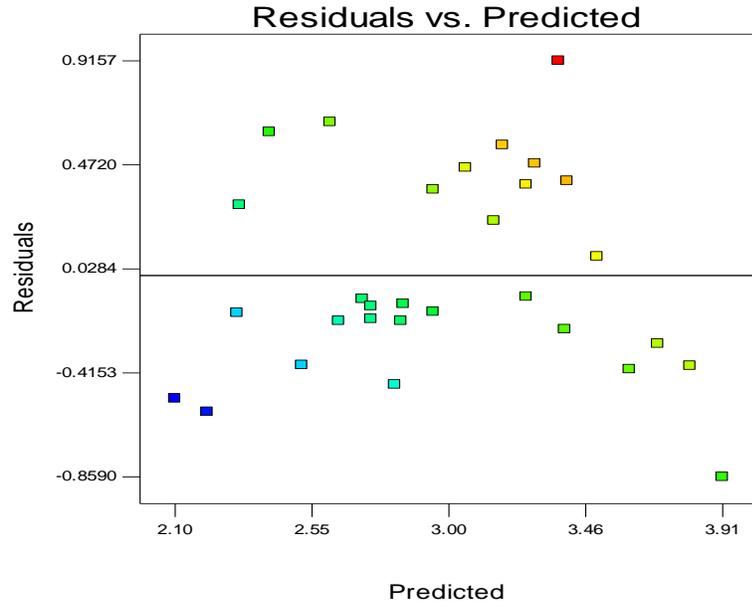
Color points by value of  
 Alto Planta medio:



### 8.4.2.2 Homocedasticidad.

Design-Expert® Software  
 Alto Planta medio

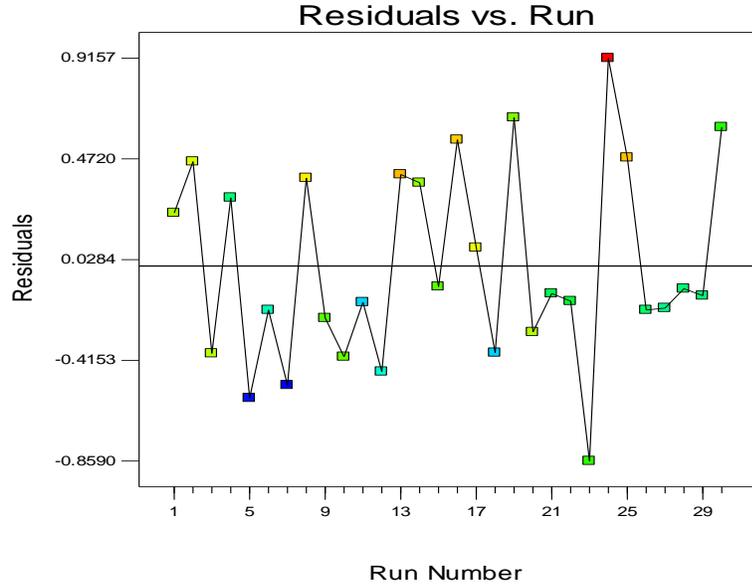
Color points by value of  
 Alto Planta medio:



### 8.4.2.3 Independencia.

Design-Expert® Software  
 Alto Planta medio

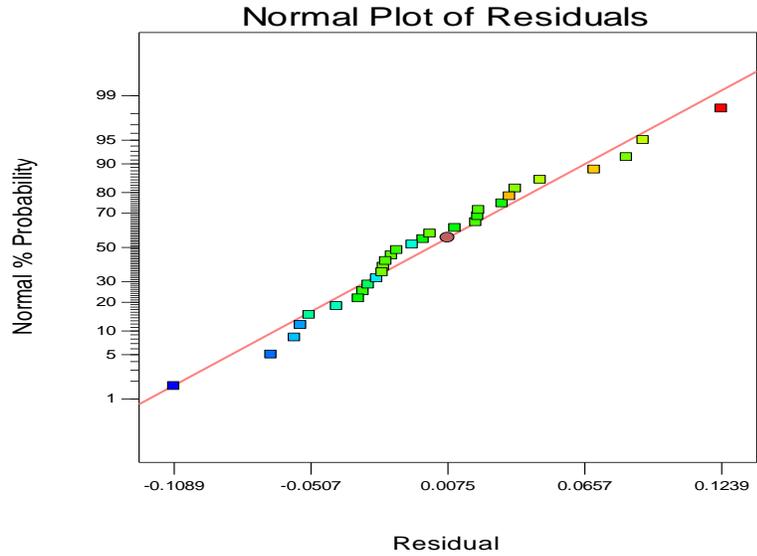
Color points by value of  
 Alto Planta medio:



### 8.4.3 Área Foliar

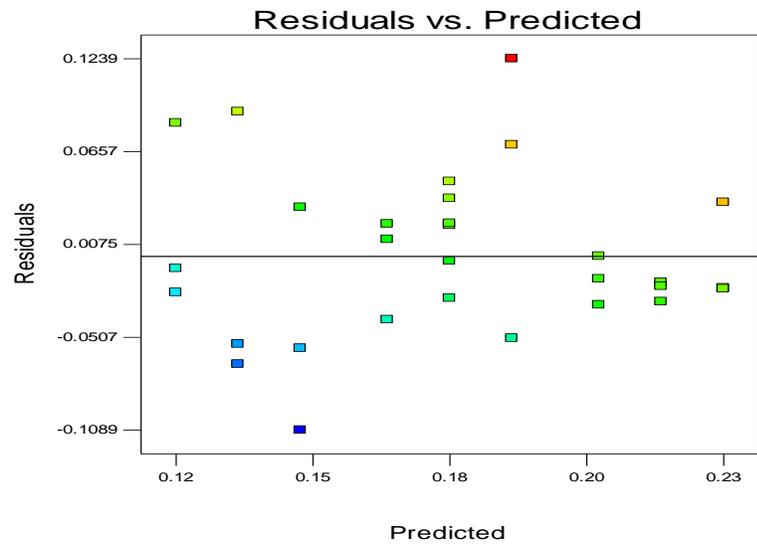
#### 8.4.3.1 Normalidad.

Design-Expert® Software  
 Área foliar media  
 Color points by value of  
 Área foliar media:  
 0.3110  
 0.0384



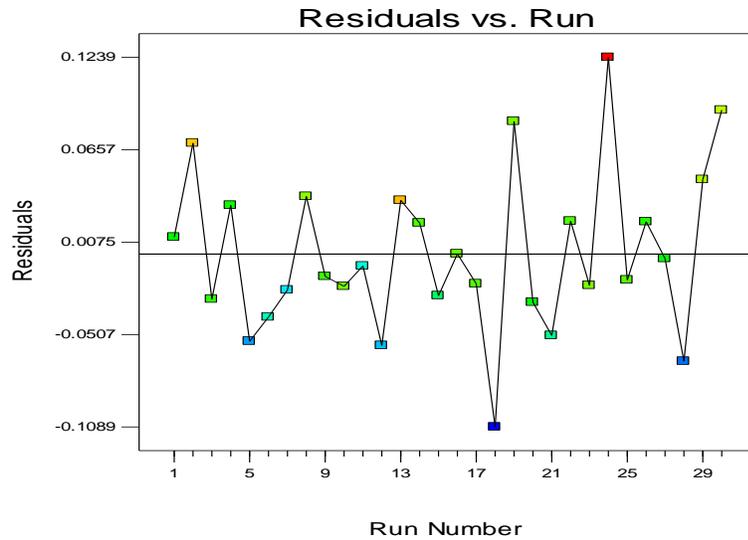
#### 8.4.3.2 Homocedasticidad.

Design-Expert® Software  
 Área foliar media  
 Color points by value of  
 Área foliar media:  
 0.3110  
 0.0384



### 8.4.3.3 Independencia.

Design-Expert® Software  
Area foliar media  
Color points by value of Area foliar media:  
0.3110  
0.0384



## 8.5 Salida de modelos no recomendados por el software

### 8.5.1 Peso fresco

#### 8.5.1.1 Modelo 2FI

ANOVA for Response Surface 2FI Model

Analysis of variance table [Classical sum of squares - Type II]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value	Prob > F
Model	23.31	9	2.59	2.33	0.0557	not significant
<i>A-Densidad</i>	1.51	1	1.51	1.36	0.2577	
<i>B-Riego</i>	17.51	1	17.51	15.72	0.0008	
<i>C-Sustrato</i>	0.74	2	0.37	0.33	0.7209	
<i>AB</i>	0.21	1	0.21	0.19	0.6716	
<i>AC</i>	0.36	2	0.18	0.16	0.8500	
<i>BC</i>	2.97	2	1.49	1.33	0.2858	
Residual	22.28	20	1.11			
<i>Lack of Fit</i>	21.54	17	1.27	5.13	0.1017	not significant
<i>Pure Error</i>	0.74	3	0.25			
Cor Total	45.59	29				

### 8.5.1.2 Modelo cuadrático

**ANOVA for Response Surface Quadratic Model**  
Analysis of variance table [Classical sum of squares - Type II]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	23.50	11	2.14	1.74	0.1432	not significant
<i>A-Densidad</i>	1.51	1	1.51	1.23	0.2816	
<i>B-Riego</i>	17.51	1	17.51	14.27	0.0014	
<i>C-Sustrato</i>	0.74	2	0.37	0.30	0.7431	
<i>AB</i>	0.21	1	0.21	0.17	0.6867	
<i>AC</i>	0.36	2	0.18	0.15	0.8629	
<i>BC</i>	2.97	2	1.49	1.21	0.3210	
<i>A<sup>2</sup></i>	0.17	1	0.17	0.14	0.7109	
<i>B<sup>2</sup></i>	0.033	1	0.033	0.027	0.8723	
Residual	22.09	18	1.23			
<i>Lack of Fit</i>	21.35	15	1.42	5.76	0.0874	not significant
<i>Pure Error</i>	0.74	3	0.25			
Cor Total	45.59	29				

### 8.5.1.3 Modelo cúbico

**ANOVA for Response Surface Cubic Model (Aliased)**  
Analysis of variance table [Classical sum of squares - Type II]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	30.85	19	1.62	1.10	0.4546	not significant
<i>A-Densidad</i>	1.51	1	1.51	1.03	0.3349	
<i>B-Riego</i>	17.51	1	17.51	11.89	0.0063	
<i>C-Sustrato</i>	0.74	2	0.37	0.25	0.7824	
<i>AB</i>	0.21	1	0.21	0.14	0.7161	
<i>AC</i>	0.36	2	0.18	0.12	0.8849	
<i>BC</i>	2.97	2	1.49	1.01	0.3989	
<i>A<sup>2</sup></i>	0.17	1	0.17	0.12	0.7382	
<i>B<sup>2</sup></i>	0.033	1	0.033	0.022	0.8847	
<i>ABC</i>	1.40	2	0.70	0.47	0.6360	
<i>A<sup>2</sup>B</i>	0.18	1	0.18	0.12	0.7359	
<i>A<sup>2</sup>C</i>	1.61	2	0.81	0.55	0.5947	
<i>AB<sup>2</sup></i>	2.52	1	2.52	1.71	0.2206	
<i>B<sup>2</sup>C</i>	1.84	2	0.92	0.62	0.5555	
<i>A<sup>3</sup></i>	0.000	0				
<i>B<sup>3</sup></i>	0.000	0				
Residual	14.74	10	1.47			
<i>Lack of Fit</i>	13.99	7	2.00	8.09	0.0568	not significant
<i>Pure Error</i>	0.74	3	0.25			

## 8.6 Alto de planta

### 8.6.1 Modelo 2FI

#### ANOVA for Response Surface 2FI Model

##### Analysis of variance table [Classical sum of squares - Type II]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	8.46	9	0.94	5.04	0.0013	significant
<i>A-Densidad</i>	0.21	1	0.21	1.10	0.3061	
<i>B-Riego</i>	5.29	1	5.29	28.35	< 0.0001	
<i>C-Sustrato</i>	1.34	2	0.67	3.58	0.0468	
<i>AB</i>	0.012	1	0.012	0.062	0.8052	
<i>AC</i>	0.27	2	0.14	0.73	0.4941	
<i>BC</i>	1.34	2	0.67	3.60	0.0464	
Residual	3.73	20	0.19			
<i>Lack of Fit</i>	3.48	17	0.20	2.44	0.2521	not significant
<i>Pure Error</i>	0.25	3	0.084			
Cor Total	12.20	29				

### 8.6.2 Modelo cuadrático

#### ANOVA for Response Surface Quadratic Model

##### Analysis of variance table [Classical sum of squares - Type II]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	8.70	11	0.79	4.07	0.0042	significant
<i>A-Densidad</i>	0.21	1	0.21	1.06	0.3170	
<i>B-Riego</i>	5.29	1	5.29	27.22	< 0.0001	
<i>C-Sustrato</i>	1.34	2	0.67	3.44	0.0543	
<i>AB</i>	0.012	1	0.012	0.060	0.8093	
<i>AC</i>	0.27	2	0.14	0.70	0.5090	
<i>BC</i>	1.34	2	0.67	3.45	0.0539	
<i>A<sup>2</sup></i>	9.177E-004	1	9.177E-004	4.720E-003	0.9460	
<i>B<sup>2</sup></i>	0.22	1	0.22	1.14	0.3003	
Residual	3.50	18	0.19			
<i>Lack of Fit</i>	3.25	15	0.22	2.58	0.2365	not significant
<i>Pure Error</i>	0.25	3	0.084			
Cor Total	12.20	29				

### 8.6.2.1 Modelo cúbico

**ANOVA for Response Surface Cubic Model (Aliased)**  
Analysis of variance table [Classical sum of squares - Type II]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	10.83	19	0.57	4.16	0.0127	significant
<i>A-Densidad</i>	0.21	1	0.21	1.50	0.2483	
<i>B-Riego</i>	5.29	1	5.29	38.62	< 0.0001	
<i>C-Sustrato</i>	1.34	2	0.67	4.88	0.0332	
AB	0.012	1	0.012	0.085	0.7765	
AC	0.27	2	0.14	0.99	0.4036	
BC	1.34	2	0.67	4.90	0.0329	
A <sup>2</sup>	9.177E-004	1	9.177E-004	6.696E-003	0.9364	
B <sup>2</sup>	0.22	1	0.22	1.61	0.2328	
ABC	0.30	2	0.15	1.11	0.3664	
A <sup>2</sup> B	0.015	1	0.015	0.11	0.7497	
A <sup>2</sup> C	0.41	2	0.21	1.51	0.2681	
AB <sup>2</sup>	0.50	1	0.50	3.62	0.0863	
B <sup>2</sup> C	0.90	2	0.45	3.27	0.0808	
A <sup>3</sup>	0.000	0				
B <sup>3</sup>	0.000	0				
Residual	1.37	10	0.14			
<i>Lack of Fit</i>	1.12	7	0.16	1.90	0.3213	not significant
<i>Pure Error</i>	0.25	3	0.084			
Cor Total	12.20	29				

### 8.6.3 Área foliar

#### 8.6.3.1 Modelo 2FI

**ANOVA for Response Surface 2FI Model**  
Analysis of variance table [Classical sum of squares - Type II]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	0.039	9	4.318E-003	1.31	0.2941	not significant
<i>A-Densidad</i>	2.478E-003	1	2.478E-003	0.75	0.3969	
<i>B-Riego</i>	0.029	1	0.029	8.64	0.0081	
<i>C-Sustrato</i>	9.059E-004	2	4.529E-004	0.14	0.8728	
AB	4.305E-003	1	4.305E-003	1.30	0.2673	
AC	1.560E-003	2	7.800E-004	0.24	0.7920	
BC	1.047E-003	2	5.233E-004	0.16	0.8547	
Residual	0.066	20	3.307E-003			
<i>Lack of Fit</i>	0.063	17	3.702E-003	3.48	0.1663	not significant
<i>Pure Error</i>	3.194E-003	3	1.065E-003			
Cor Total	0.10	29				

### 8.6.3.2 Modelo cuadrático

ANOVA for Response Surface Quadratic Model					
Analysis of variance table [Classical sum of squares - Type II]					
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F
Model	0.046	11	4.210E-003	1.29	0.3042 not significant
<i>A-Densidad</i>	2.478E-003	1	2.478E-003	0.76	0.3948
<i>B-Riego</i>	0.029	1	0.029	8.76	0.0084
<i>C-Sustrato</i>	9.059E-004	2	4.529E-004	0.14	0.8712
<i>AB</i>	4.305E-003	1	4.305E-003	1.32	0.2655
<i>AC</i>	1.560E-003	2	7.800E-004	0.24	0.7897
<i>BC</i>	1.047E-003	2	5.233E-004	0.16	0.8529
<i>A<sup>2</sup></i>	2.165E-004	1	2.165E-004	0.066	0.7995
<i>B<sup>2</sup></i>	7.449E-003	1	7.449E-003	2.28	0.1480
Residual	0.059	18	3.260E-003		
<i>Lack of Fit</i>	0.055	15	3.699E-003	3.47	0.1665 not significant
<i>Pure Error</i>	3.194E-003	3	1.065E-003		
Cor Total	0.10	29			

### 8.6.3.3 Modelo cúbico

#### ANOVA for Response Surface Cubic Model (Aliased)

#### Analysis of variance table [Classical sum of squares - Type II]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value	
Model	0.070	19	3.666E-003	1.04	0.4974	not significant
<i>A-Densidad</i>	2.478E-003	1	2.478E-003	0.70	0.4220	
<i>B-Riego</i>	0.029	1	0.029	8.08	0.0175	
<i>C-Sustrato</i>	9.059E-004	2	4.529E-004	0.13	0.8812	
<i>AB</i>	4.305E-003	1	4.305E-003	1.22	0.2956	
<i>AC</i>	1.560E-003	2	7.800E-004	0.22	0.8058	
<i>BC</i>	1.047E-003	2	5.233E-004	0.15	0.8643	
<i>A<sup>2</sup></i>	2.165E-004	1	2.165E-004	0.061	0.8095	
<i>B<sup>2</sup></i>	7.449E-003	1	7.449E-003	2.11	0.1773	
<i>ABC</i>	3.812E-003	2	1.906E-003	0.54	0.5993	
<i>A<sup>2</sup>B</i>	2.502E-004	1	2.502E-004	0.071	0.7956	
<i>A<sup>2</sup>C</i>	8.078E-003	2	4.039E-003	1.14	0.3574	
<i>AB<sup>2</sup></i>	5.708E-003	1	5.708E-003	1.61	0.2326	
<i>B<sup>2</sup>C</i>	6.253E-003	2	3.126E-003	0.88	0.4430	
<i>A<sup>3</sup></i>	0.000	0				
<i>B<sup>3</sup></i>	0.000	0				
Residual	0.035	10	3.535E-003			
<i>Lack of Fit</i>	0.032	7	4.594E-003	4.32	0.1285	not significant
<i>Pure Error</i>	3.194E-003	3	1.065E-003			
Cor Total	0.10	29				