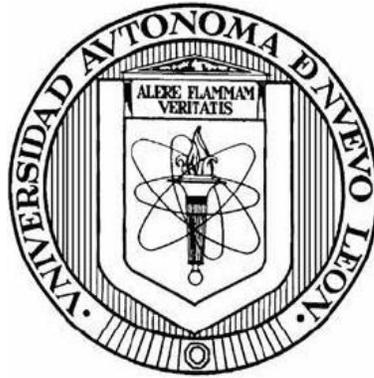


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



ESTUDIO DE BIOACTIVIDAD Y CUANTIFICACIÓN DE SULFORAFANO EN
GERMINADOS DE BRÓCOLI DESHIDRATADOS POR CALOR Y
LIOFILIZACIÓN EN DIFERENTES ETAPAS DE GERMINACIÓN.

Por

Q.B.P. GABRIELA ITZEL VILLANUEVA VIELMA

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN
MANEJO Y APROVECHAMIENTO INTEGRAL DE RECURSOS BIÓTICOS

2025

**ESTUDIO DE BIOACTIVIDAD Y CUANTIFICACIÓN DE SULFORAFANO EN
GERMINADOS DE BRÓCOLI DESHIDRATADOS POR CALOR Y
LIOFILIZACIÓN EN DIFERENTES ETAPAS DE GERMINACIÓN**

Comité de Tesis

Dr. Juan Gabriel Báez González

Presidente

Dr. Aldo Rodrigo González Luna

Secretario

Dra. Claudia T. Gallardo Rivera

Vocal 1

M.C. Karla Guadalupe García Alanís

Vocal 2

Dra. Catalina Rivas Morales

Vocal 3

Dra. Katiushka Arevalo Niño
Subdirector Posgrado



SUBDIRECCIÓN
DE POSGRADO

**ESTUDIO DE BIOACTIVIDAD Y CUANTIFICACIÓN DE SULFORAFANO EN
GERMINADOS DE BRÓCOLI DESHIDRATADOS POR CALOR Y
LIOFILIZACIÓN EN DIFERENTES ETAPAS DE GERMINACIÓN**

Dirección de Tesis



Dr. Juan Gabriel Báez González

Director de Tesis



Dr. José Rodríguez Rodríguez

Director externo de Tesis

DERECHOS RESERVADOS©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores.

Financiamiento

Este trabajo fue financiado por el Programa de Apoyo a la Ciencia, Tecnología e Innovación, ProActi 76-CA-2023.

AGRADECIMIENTOS

Gracias primeramente a Dios, que siempre me ha acompañado en mi camino y nunca me ha dejado sola, por permitirme tener y disfrutar a mi familia. Gracias a mi mamá, mi pilar en el camino, por darme la vida, convertirme en lo que soy ahora y siempre apoyarme, aunque eso conllevara dejar mi hogar. Gracias a mi hermana, por siempre confiar en mí aunque yo no lo haga, eres es la razón por la que siempre busco ser mejor persona y el mejor ejemplo a seguir. Gracias a mis tíos Gera y Linda, por abrirme las puertas de su casa para poder estudiar donde siempre anhelé y por siempre alentarme en mis estudios. A mis abuelitos por su amor y apoyo incondicional, por siempre estar presentes y festejar mis logros. Gracias a mi papá, igualmente por su amor incondicional, por nunca dejarme de ver como su niña y al mismo tiempo apoyarme y alentarme en mis decisiones.

Gracias a mi asesor de tesis el Dr. Báez, por darme la oportunidad de trabajar con él, por su dedicación, su motivación, por siempre confiar en mí y más que nada por su paciencia, hizo que lo difícil siempre fuera fácil. Gracias a mi comité de tesis por su tiempo, dedicación, confianza y por impulsarme a crecer académica y profesionalmente; su formación y compromiso son un ejemplo para todos.

Gracias a la Facultad de Ciencias Biológicas por brindarme las herramientas adecuadas para poder desempeñarme; por darme a personas extraordinarias como lo son mis mejores amigos, quienes siempre han sido de apoyo en mi camino y con quienes viví los momentos más felices y difíciles; sé que no continuamos todos en el camino, pero tenemos a nuestro ángel que nos acompañará siempre. Gracias a todas las personas que me apoyaron de manera práctica en mi proyecto, estudiantes de servicio, voluntarios, las chicas de verano científico que me brindaron su tiempo y conocimiento; especialmente a mi novio Luis quien me ayudó no sólo en la parte experimental si no de forma moral y emocional para poder terminar lo que veía imposible y siempre darme aliento para poder continuar, gracias por ayudarme siempre a encontrar la salida y hacerme ver quien realmente soy.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Agradezco a CONACyT y ProActi por el apoyo económico brindado durante la realización de este proyecto.

Agradezco al Tecnológico de Monterrey y a la FASPyN de la UANL por brindarme sus puertas para realizar el proyecto. A la empresa “Frescos del Valle” por el material vegetal brindado y por darme la oportunidad de poder aportar en su investigación.

No. CVU: 1275194

DEDICATORIAS

A Dios y a mi mamá.

Dedico esta tesis a mi mami porque sin ella en equipo con Dios nada sería posible. Tus oraciones, bendiciones, esfuerzo, dedicación y amor me han llevado por un buen camino con el que he logrado cumplir mis sueños. Una tesis no es suficiente para poderte agradecer todo lo que has luchado y hecho por mí y por mi hermana, pero quiero que sepas que todos mis logros siempre serán por y para ti.

“Llegas a mí para sanarme, para enseñarme cómo vivir

Quitás mis miedos, solo te importa hacerme feliz

Como nunca nadie lo hacía

¿Cómo he de pagarte por tanto amarme?”

- ¿Cómo Pagarte?, Carlos Rivera

¡GRACIAS! Te amo hasta el infinito y más allá (titapa).

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla No.	Título	Página
1	Componentes funcionales en brócoli.	7
2	Simbología de tiempos de germinación y métodos de secado	17
3	VARIABLES del diseño experimental del proyecto.	17
4	Medidas morfológicas de la semilla de brócoli según su forma (mm).	23
5	Medidas morfológicas por etapa de germinados recibidos (mm).	24
6	Tiempos de secado de cada etapa de germinación por los diferentes métodos de deshidratación.	27
7	Comparación de la actividad de agua (aw) del polvo de todas las etapas de germinación.	27
8	Comparación del contenido de agua (%) de todas las etapas de germinación.	29
9	Comparación del contenido de agua (%) del polvo de todas las etapas de germinación.	29
10	Comparación del contenido de cenizas (%) de todas las etapas de germinación.	30
11	Comparación del contenido de grasa (%) de todas las etapas de germinación.	31
12	Comparación del contenido de proteína (%) de todas las etapas de germinación.	33
13	Comparación del contenido de fibra cruda (%) de todas las etapas de germinación.	34
14	Comparación del contenido de carbohidratos (%) de todas las etapas de germinación.	35
15	Análisis bromatológico de los polvos de germinado de brócoli con los diferentes tratamientos de secado en cada etapa de germinación.	36

16	Comparación de la Concentración Efectiva Media (EC50) de la actividad antioxidante por DPPH de todas las etapas de germinación.	38
17	Comparación de la Concentración Efectiva Media (EC50) de la actividad antioxidante por ABTS de todas las etapas de germinación.	38
18	Comparación de $\mu\text{mol ET/g}$ de la actividad antioxidante por DPPH de todas las etapas de germinación.	40
19	Comparación de $\mu\text{mol EqTrolox/g}$ de la actividad antioxidante por ABTS de todas las etapas de germinación.	40
20	Cantidad de sulforafano en mg/g de extracto de todas las etapas de germinación.	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No.	Título	Página
1	Conversión de glucorafanina a sulforafano.	7
2	Formas y tamaños de semillas. a) Semilla esférica. b) Semilla Ovalada. c) Tamaños de semillas (mayor a menor).	23
3	Morfoanatomía de cada etapa de germinación. a) Germinado T ₁ fresco. b) Germinado T ₁ -ST. c) Germinado T ₁ -SC. d) Germinado T ₂ fresco. e) Germinado T ₂ -ST. f) Germinado T ₂ -SC. g) Germinado T ₃ fresco. h) Germinado T ₃ -ST. i) Germinado T ₃ -SC.	24
4	Curvas de secado por método tradicional (refrigerado) y con pretratamiento de congelación por cada etapa de germinación del brócoli.	26
5	Polvos de germinados de brócoli deshidratados según su método de secado. a) Germinado T ₁ -ST. b) Germinado T ₁ -ST. c) Germinado T ₁ -L. d) Germinado T ₂ -ST. e) Germinado T ₂ -SC. f) Germinado T ₂ -L. g) Germinado T ₃ -ST. h) Germinado T ₃ -SC. i) Germinado T ₃ -L.	28
6	Cantidad de sulforafano en mg/g de cada etapa de germinación deshidratado por distintos métodos.	43

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	v
AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES	vi
DEDICATORIAS	vii
ÍNDICE DE TABLAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT	xv
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES.....	3
1. Germinados como alimentos funcionales.....	3
1.1 Fases de germinación.....	4
1.2 Condiciones de germinación.....	4
2. Generalidades del germinado de brócoli	5
2.1. Botánica y taxonomía del germinado de brócoli	5
2.2 Importancia de consumir germinados de brócoli.....	6
2.3 Compuestos presentes en el germinado de brócoli	6
2.4 Biodisponibilidad y bioactividad del germinado de brócoli.....	7
2.5 Glucosinolatos e isotiocianatos.....	7
2.6 Sulforafano (1-isotiocianato-4-(metilsulfinil)-butano).....	8
2.7 Cantidad de sulforafano presente en germinados y brócoli maduro.....	9
3. Métodos de deshidratación	9
3.1 Velocidades de secado	10
3.2 Pretratamientos previos al secado con calor	11
4. Métodos de identificación de compuestos presentes en germinado de brócoli.....	11
4.1 Condiciones para cuantificación de sulforafano en germinado y brócoli maduro	11
5. Aplicaciones de los germinados en polvo	12
5.1 Mercado internacional	12
5.2 Germinados en polvo comerciales.....	13

JUSTIFICACIÓN	14
HIPÓTESIS.....	15
OBJETIVO DEL TRABAJO.....	16
MATERIAL Y MÉTODOS.....	17
1. Materia vegetal	17
2. Diseño experimental.....	17
3. Estándar y reactivos.....	18
4. Recepción y morfología física.....	18
5. Preparación de las muestras.....	18
5.1 Deshidratado por secado por calor.....	18
5.2 Curvas de secado por calos para muestras refrigeradas y congeladas	18
5.3 Deshidratado por liofilización.	19
6. Composición química (Análisis bromatológico).....	19
7. Determinación de actividad antioxidante	19
7.1 Métodos de extracción	19
7.2 Ensayo por método DPPH.	20
7.3 Ensayo por ABTS	21
7.4 Determinación de EC50.....	21
8. Cuantificación de sulforafano.....	22
8.1 Conversión de glucorafanina a sulforafano	22
8.2 Extracción de sulforafano con diclorometano	22
8.3 Cuantificación por HPLC	22
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
1. Morfoanatomía de los germinados.....	23
2. Curvas de secado	25
3. Composición química (Análisis bromatológico AOAC)	28
4. Actividad antioxidante	37
5. Cuantificación de sulforafano.....	40
CONCLUSIONES	44
BIBLIOGRAFÍA	45

LISTA DE ABREVIATURAS

T₀: Semilla	ST: Secado tradicional
T₁: 2 días de germinación	SC: Secado con pre-tratamiento de congelación
T₂: 4 días de germinación	L: Liofilización
T₃: 6 días de germinación	d: Días

RESUMEN

Los germinados son brotes en crecimiento que concentran altos niveles de nutrientes, vitaminas y minerales, con contenidos entre 20 y 50 veces superiores a los del vegetal maduro. El interés en los beneficios del brócoli para la salud ha impulsado su consumo y producción, posicionando al germinado de brócoli como un alimento de interés tanto nutricional como económico. En este proyecto, en colaboración con la empresa Frescos del Valle (Monterrey, Nuevo León), se evaluó la bioactividad de sus germinados de brócoli y se exploraron alternativas óptimas para su producción, incluyendo el método de deshidratación más adecuado y la etapa de crecimiento con mayor bioactividad, debido a que el método de liofilización, aunque es el más utilizado actualmente es un proceso costoso para la empresa. Se analizaron dos métodos de deshidratación, secado por calor y liofilización, y un tercero donde se añadió pre-tratamiento de congelación al secado con calor en cuatro etapas de germinación (semilla sin germinar, y germinados a los 2, 4 y 6 días). Para determinar la bioactividad de los germinados, se realizaron análisis bromatológicos (AOAC), medición de actividad antioxidante (ABTS y DPPH) y cuantificación de sulforafano por HPLC. Los resultados mostraron que el secado por calor con pretratamiento de congelación (SC) permitió una alta actividad antioxidante (6.27 $\mu\text{mol EqTrolox/g}$) sin diferencias significativas entre etapas de germinación, además de una mayor cantidad de proteína (33.76%) y minerales en T₃-SC. En cuanto al sulforafano, el germinado liofilizado (T₁-L) presentó el mayor contenido (17.18 mg/g); sin embargo, el T₃-SC (14.47 \pm 0.50 mg/g) mostró valores competitivos con suplementos comerciales. Por lo tanto, el secado con calor y pretratamiento de congelación representa una alternativa viable para la producción de germinados en polvo a nivel industrial.

ABSTRACT

Sprouts are growing shoots that concentrate high levels of nutrients, vitamins, and minerals, with contents between 20 and 50 times higher than those of the mature vegetable. Interest in the health benefits of broccoli has driven its consumption and production, positioning broccoli sprouts as a food of both nutritional and economic interest. In this project, in collaboration with the company Frescos del Valle (Monterrey, Nuevo León), the bioactivity of their broccoli sprouts was evaluated, and optimal production alternatives were explored, including the most suitable dehydration method and the growth stage with the highest bioactivity. Although freeze-drying is currently the most widely used method, it is a costly process for the company. Three dehydration methods were analyzed: heat drying, freeze-drying, and a third method in which a freezing pretreatment was added to heat drying. These methods were tested on four germination stages (ungerminated seed and sprouts at 2, 4, and 6 days). To determine their bioactivity, bromatological analyses (AOAC), antioxidant activity measurements (ABTS and DPPH), and sulforaphane quantification by HPLC were performed. The results showed that heat drying with freezing pretreatment (SC) allowed for high antioxidant activity (6.27 μmol Trolox Eq/g) without significant differences between germination stages, as well as a higher protein content (33.76%) and mineral levels in T3-SC. Regarding sulforaphane content, the freeze-dried sprout (T1-L) had the highest concentration (17.18 mg/g); however, T3-SC (14.47 ± 0.50 mg/g) showed competitive values compared to commercial supplements. Therefore, heat drying with freezing pretreatment represents a viable alternative for the industrial production of powdered broccoli sprouts.

INTRODUCCIÓN

Los germinados son brotes de semillas en etapa de crecimiento que concentran un valor elevado de nutrientes, vitaminas y minerales con un contenido entre 20 y 50 veces mayor que el vegetal maduro (Arrieta, 2021). Su cultivo tiene la ventaja de requerir cortos periodos de tiempo con pequeñas infraestructuras, a través del uso de cultivos hidropónicos, lo que conlleva a favorecer la competitividad para los productores (Chacón, 2011). Algunos germinados son reconocidos por presentar actividad antioxidante, así como compuestos fenólicos, que al consumirlos aportan beneficios a la salud, como es el caso del germinado de brócoli, que ha abierto un área de investigación para su aplicación industrial (Arrieta, 2021).

Las plantas del género *Brassica*, pertenecientes del orden *Brassicales* y familia *Cruciferae* o *Brassicaceae* (crucíferas) donde se encuentran la especie del germinado de brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*), representan una fuente de fitoquímicos tales como compuestos fenólicos, carotenoides y glucósidos de azufre, donde los glucosinolatos son conocidos como compuestos con alto potencial anticancerígeno y antioxidante. Los glucosinolatos son tioglucósidos que tienen un grupo ciano y un grupo sulfato. Cuando el tejido de estas plantas es procesado por corte, cocción, congelamiento o masticación, los glucosinolatos son expuestos a la enzima mirosinasa (enzima presente en cada hortaliza), la cual los hidroliza a isotiocianatos, sustancias con compuestos bioactivos, tales como el sulforafano (Conzatti *et. al.* 2015), donde el germinado de brócoli ocupa el primer lugar en ser la fuente principal del compuesto, mejor conocido como isotiocianato sulforafano (1-isotiocianato-4-(metilsulfinil)-butano (Campas-Bayoili *et. al.* 2009). En el germinado de brócoli se ha estudiado que puede encontrarse una cantidad de 10 a 100 veces mayor del compuesto que en el brócoli maduro (Huamani, 2021).

Los fitocompuestos presentes en el germinado de brócoli y otras hortalizas, son de especial interés para el área industrial y farmacéutica, ya que su investigación como compuestos bioactivos ha impulsado su aplicación para el desarrollo de fármacos o suplementos como tratamiento de diversas enfermedades (Ortiz *et al.* 2019).

En Estados Unidos, Europa y Australia, han estudiado sobre los beneficios de consumir el germinado de brócoli en polvo y el impacto a nivel de salud, industrial y económico. Australia en los últimos años inició estudios para evaluar su actividad contra el cáncer consumiendo cápsulas y pastillas del germinado en polvo debido a su alto contenido de sulforafano (Chacón, 2011), lo que incentiva a México a aportar en este tipo de investigaciones.

Para cuantificar sulforafano, en el germinado en polvo, se requiere de un proceso de deshidratación que permita que el germinado preserve y confiera sus características dependiendo su aplicación industrial, ya sea como ingrediente funcional o como un potencial nutraceutico (Mahn *et al.* 2017). Algunos procesos como cocción, congelación, deshidratación, condiciones de almacenamiento, prácticas de cultivo y preparación del brócoli, pueden afectar potencialmente en la cantidad de compuestos tales como polifenoles y glucosinolatos, cambiando así la proporción de formación del sulforafano en el germinado de brócoli (Campas-Bayoili *et al.* 2009; Mahn *et al.* 2016). El método de cuantificación del sulforafano se realiza por métodos cromatográficos, siendo los más comunes la cromatografía de gases y la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), donde el HPLC es el más sensible y tiene la ventaja de separar especies no volátiles o termolábiles (Campas-Bayoili *et al.* 2009).

Se ha reportado que la deshidratación con aire caliente puede presentar disminución en compuestos bioactivos y el método de liofilización aún no ha sido estudiado en su totalidad. Por lo anterior, la finalidad de esta investigación fue evaluar la cantidad de sulforafano y efecto de los compuestos bioactivos de acuerdo a sus condiciones de cultivo en cada etapa de germinación desde la inicial hasta la final, considerando ambos tipos de deshidratación, por secado térmico y liofilización.

ANTECEDENTES

1. Germinados como alimentos funcionales

El término de “alimento funcional” se propuso en Japón por primera vez en los 80’s y se remonta a las primeras prácticas de fortificación con vitaminas y minerales o a la inclusión de componentes en alimentos procesados para fortificar alguna deficiencia en cierta población, ya que expertos han encontrado que las enfermedades tales como obesidad, hipertensión, cáncer, entre otros, están relacionados con la dieta o alimentación (Alvídrez-Morales *et al.* 2002).

De acuerdo al marco legislativo de Japón, un alimento funcional debe cumplir las siguientes condiciones: 1. Estar constituido por ingredientes naturales, 2. Debe ser consumido como parte de la dieta diaria, y 3. El alimento al consumirse debe presentar una función específica en el cuerpo humano, tales como: mejorar los mecanismos de defensa biológica y prevención o recuperación de enfermedades (Cortés *et al.* 2005).

Actualmente existen diversas enfermedades que se desarrollan en consecuencia de la mala alimentación, aunado al alto contenido de conservadores o sustancias dañinas que pueden llegar a tener los alimentos. Muchas veces estas acciones se justifican debido al estilo de vida de las personas, por tal motivo, se ha buscado el desarrollo de alimentos funcionales de fácil acceso para el humano (Arrieta, 2021).

Los germinados son una opción de alimento para el ser humano gracias a su fácil digestión y producción debido a que se puede cultivar de manera orgánica en hogares. Algunos de ellos aportan numerosos beneficios a la salud ya que son 30 veces más nutritivos que cualquier hortaliza (Arrieta, 2021), como es el caso del germinado de brócoli. Además, se conocen como alimentos frescos, delicados y de buen sabor; según sus variedades, estos pueden aportar diversas vitaminas, minerales y fibras. Son llamados “alimentos funcionales” por su gran cantidad de nutrientes beneficiosos para el ser humano, además de ser considerados como un alimento de fácil manejo, bajo costo, con fácil cultivo a nivel industrial y artesanal, y con alto rendimiento (Arrieta, 2021).

1.1 Fases de germinación

La germinación es el proceso por el cual se inicia el crecimiento embrionario de una semilla después de una etapa de reposo. Esto se hace posible cuando la semilla se coloca a condiciones óptimas y determinantes con aporte de agua, oxígeno y temperatura, donde el agua pasa a través de la envoltura y llega al embrión (Arrieta, 2021).

Durante el proceso de germinación, existen modificaciones en la composición química de las semillas, tales como incremento de agua, aminoácidos, entre otros (Arrieta, 2021), y puede ser influenciada por factores internos tales como la cantidad y calidad del tejido de reserva, la viabilidad del embrión o de sus tipos de dormancia; y por factores externos como los que se encargan de regular el proceso de grosor de la testa, la temperatura, el tipo de luz, humedad etc. (Suárez & Melgarejo, 2010).

El proceso de germinación puede dividirse en tres fases: 1) Imbibición; 2) Movilización de nutrientes y 3) Absorción de agua y germinación.

La fase de imbibición es donde ocurre la primera absorción de agua realizada por la semilla, es una absorción rápida que se da por la diferencia del potencial hídrico entre la semilla y la solución de imbibición; sin este primer paso, el proceso no puede darse. La segunda fase es cuando existe una activación del metabolismo e inicia la movilización de los nutrientes, el cual se le conoce también como la fase de estabilización y en la fase final, ocurre nuevamente una absorción de agua, junto con la elongación del embrión, la ruptura de la testa para así tener la germinación; aquí se produce el cambio morfológico visible (Suárez & Melgarejo, 2010).

1.2 Condiciones de germinación

Existen diferentes condiciones de germinación dependiendo el estudio a realizar, donde factores extrínsecos como la radiación, temperatura, contaminación del aire, insectos, microorganismos y nutrientes pueden modificar la composición de la planta.

Hinojosa y colaboradores (2019) mencionan que uno de los factores ambientales más importantes es la luz, ya que es la que regula el crecimiento y desarrollo de la planta en su etapa de diferenciación morfológica. Su estudio se basó en identificar el perfil fitoquímico del germinado de brócoli después de un estrés lumínico en un dispositivo

germinador rotatorio de tipo tambor, esto para observar si existían cambios en los niveles de nutrientes. Las 3 condiciones de fotoperiodo que se consideraron agregar fueron luz blanca junto con luz roja y verde, respectivamente; además, todas contaron con el mismo tiempo de radiación de luz y oscuridad, donde la luz roja obtuvo mejores rendimientos, con aumento de fenoles y flavonoides, con un tiempo de germinación de 6 días.

Por otro lado, el estudio realizado por Baenas *et al.* (2018), quienes se encargaron de estudiar el efecto antiproliferativo del germinado, así como sus bioactivos, esto con la finalidad de demostrar su mayor bioactividad en estado de germinación que en alimento completo. Se utilizaron cámaras de cultivo controladas con ciclos de luz y oscuridad, tubos fluorescentes y lámparas de haluro metálico. Además, otra de las condiciones aplicadas fueron fases de hidratación y aireación de las semillas con un tiempo de germinación de 8 días.

2. Generalidades del germinado de brócoli

Las plantas (comestibles) en etapa de germinado, son de los pocos alimentos que pueden consumirse en fase de desarrollo. El germinado de brócoli cobra importancia debido a su composición química y balance dietético que contiene. Su semilla en los primeros días de germinación logra alcanzar valores nutritivos de 10 a 100 veces más que en fase adulta; contiene flavonoides, ácidos hidroxycinámicos, vitaminas, ácido fólico (B9), riboflavina (B2), calcio, hierro, potasio y sulforafano (Hinojosa *et al.* 2019).

Dicho germinado puede contener 100 veces más de glucorafanina que en las flores de brócoli, llevando a pensar que la cantidad de sulforafano aumenta de igual forma; sin embargo, el contenido sulforafano, dependiendo sus condiciones de crecimiento, ha sido estudiado (Mahn *et al.* 2022).

2.1. Botánica y taxonomía del germinado de brócoli

Brassica oleracea var. *itálica* es originario de las costas del Mediterráneo y Asia occidental, lo que ahora es Grecia, Turquía y Siria. Su nombre común “brócoli” proviene del término italiano <broco> que significa brote, esto debido a su parte comestible y más preciada de la planta (Jaramillo & Díaz, 2005).

El germinado de brócoli pertenece a las Brassicáceas (crucíferas), familia con alrededor de 375 géneros y más de 3,000 especies donde se pueden encontrar la coliflor, el repollo, la col, entre otras variedades. Es una planta anual con una altura de aproximadamente 60 a 90 cm la cual necesita de vernalización para poder producir el vástago floral. Su parte comestible se puede describir como una masa densa con yemas florales de color verde grisáceo alcanzando un diámetro de hasta 20 a 35 cm (Jaramillo & Díaz, 2005).

2.2 Importancia de consumir germinados de brócoli

Chacón (2011) reporta que el consumo de germinados de brócoli puede influir en reducir el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón, mama, ovarios, vejiga, próstata y páncreas, además ayuda a disminuir la posibilidad de presentar diabetes, enfermedades cardiovasculares y respiratorias, y de reforzar el sistema inmunológico. Se ha reportado que un germinado de brócoli puede contener de 10 a 100 veces más producción de sulforafano que el brócoli maduro.

El sulforafano es considerado un compuesto prometedor debido a que se ha encontrado que contiene propiedades que previenen, retrasan o revierten el desarrollo de lesiones preneoplásicas y mejoran las tasas de supervivencia, actuando sobre células cancerosas como un agente terapéutico (Conzatti *et al.* 2015).

2.3 Compuestos presentes en el germinado de brócoli

Las crucíferas, a las que se le considera como hortalizas se caracterizan por ser una fuente concentrada de nutrientes tales como vitaminas, minerales, fibras, además de contener sustancias de tipo quimioprotectoras llamadas glucosinolatos y flavonoides, siendo su característica principal el sintetizar compuestos ricos en azufre (glucosinolatos). En total se han identificado alrededor de 100 compuestos diferentes que se pueden encontrar a lo largo de la planta con distinta concentración dependiendo su tipo de tejido (Campas-Bayoili *et al.* 2009).

El brócoli es una de las hortalizas más utilizadas debido a sus propiedades, sin embargo, contiene también sustancias fitoquímicas no nutritivas como los compuestos azufrados (Navas, 2004).

2.4 Biodisponibilidad y bioactividad del germinado de brócoli.

Actualmente las hortalizas del género *Brassica* han tenido alta demanda debido a su gran número de estudios epidemiológicos que se han realizado estos últimos años, donde se menciona contienen importantes cantidades de compuestos bioactivos o funcionales. Conocer la biodisponibilidad y bioactividad de estos compuestos ayuda a conocer sus propiedades saludables y así optimizar la alimentación y establecer recomendaciones nutricionales. Fernández (2015) evaluó la bioactividad de los compuestos funcionales biodisponibles, los cuales son vitamina C, carotenoides, clorofilas, compuestos fenólicos y glucosinolatos, por medio de la determinación de actividad antioxidante. Algunos compuestos identificados se muestran en la Tabla 1:

Tabla 1. Componentes funcionales en germinado de brócoli.

Componente	Beneficios a la salud
Vitamina C - Ác. Ascórbico - Ác. Dehidroascórbico	Reduce los niveles de proteína C reactiva. (marcador de inflamación e indicador de enfermedades cardiovasculares)
Carotenoides - β -caroteno - Luteína	β -caroteno: Precursor de la vitamina A. Su poca ingesta se ha visto relacionada con tasas más altas de cáncer y enfermedades cardiovasculares. Luteína: Evita la producción de cataratas y reduce la degeneración de la mácula ocular.
Clorofilas - Clorofila A y B	Actividad antimutagénica y antioxidante.
Compuestos fenólicos - Ácidos fenólicos y flavonoles (ác. gálico, ácido clorogénico, ácido sinápico) - Flavonoides (quercetina y kaempferol)	Actividad antioxidante (mayor que vitaminas y carotenoides), efecto protector capilar e inhibidor en diversas etapas de tumores.
Glucosinolatos - Alifáticos, indólicos y aromáticos	Alta capacidad antioxidante.

(Fernández, 2015)

2.5 Glucosinolatos e isotiocianatos.

Los glucosinolatos son el resultado del enlace de un azúcar reductor y el azufre de una aglucona, molécula que no tiene carácter de hidrato de carbono. Estos son sintetizados y almacenados en las plantas como precursores de los isotiocianatos. Se hidrolizan cuando

un tejido de la hortaliza llega a romperse por consecuencia de un daño mecánico, aquí es donde la enzima mirosinasa o tioglucosidasa, al ponerse en contacto con el sustrato, liberan moléculas de glucosa, bisulfato y aglucona, lo que va a generar isotiocianatos, nitrilos, metil nitrilos, metilisotiocianatos y tiocianatos. Un glucosinolato intacto tiene bioactividad limitada, sin embargo, al hidrolizarse a isotiocianatos, su bioactividad aumenta (Campas-Bayoili *et al.* 2009). Entre las características de los isotiocianatos se encuentra su capacidad de inhibir tumores, proporcionar protección contra agentes químicos inductores de cáncer, además también se ha determinado que son protectores de cánceres inducidos por hormonas. En el germinado de brócoli específicamente se ha aislado el 1-isotiocianato-4-(metilsulfinil)-butano, también conocido como sulforafano, el cual es un potente inhibidor de tumores mamarios y estomacales (Navas, 2004).

2.6 Sulforafano (1-isotiocianato-4-(metilsulfinil)-butano)

El germinado de brócoli es la fuente principal del isotiocianato sulforafano, precursor de la glucorafanina, el cual constituye más del 80% de los glucosinolatos totales presentes en esta hortaliza (Campas-Bayoili *et al.* 2009). La glucorafanina se hidroliza y produce el sulforafano, a mayor cantidad de glucorafanina presente en el brócoli, mayor será la cantidad de sulforafano que se puede obtener (Navas, 2004).

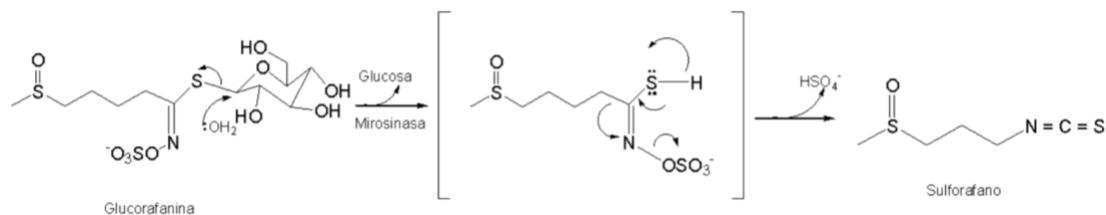


Figura 1. Conversión de glucorafanina a sulforafano. (Campas *et al.* 2009)

Los metabolitos del sulforafano tienen distintas propiedades de importancia médica, ya que pueden producir efectos anticancerígenos como la inhibición del ciclo celular y apoptosis, e inducir actividades enzimáticas de detoxificación. Incluso se han relacionado con acciones antiinflamatorias y antioxidantes en la célula, permitiendo reducir y prevenir el desarrollo de enfermedades inflamatorias crónicas (Baenas *et al.* 2018).

Esto quiere decir que su función consiste en actuar como un químico-protector-deliberado actuando de forma indirecta, estimulando las defensas anticancerígenas en el cuerpo, previniendo la generación de tumores (Navas, 2004).

Hay estudios que mencionan que el consumir alrededor de 720 g de brócoli fresco durante la semana puede reducir hasta un 50% de riesgo de cáncer de forma natural. Sin embargo, la cantidad de sulforafano varía de unos brotes a otros y se ha demostrado que es difícil encontrar cantidades elevadas del compuesto en todos sus brotes (Navas, 2004).

2.7 Cantidad de sulforafano presente en germinados y brócoli maduro

Tříska y colaboradores (2021) cuantificaron sulforafano en germinado previamente liofilizado y posteriormente deshidratado por secado con calor a 60°C y 100°C, donde los de 60°C obtuvieron una cantidad alrededor de 1.4 mg/g peso seco y al usar 100°C contenido de sulforafano aumentó 3.5 veces, teniendo como resultado 5.3 mg/g peso seco; por lo tanto, entre más aumentaba la temperatura, aumentaba la cantidad de sulforafano.

En el estudio realizado por Campas-Bayoili *et al.* en 2009, quienes cuantificaron sulforafano en cabeza entera, hojas, tallos e inflorescencias de brócoli fresco, obtuvieron los siguientes resultados (peso seco): inflorescencia: 0.499 mg/g, tallo: 0.214 mg/g, hoja: 0.383 mg/g y cabeza entera: 0.246 mg/g de sulforafano, concluyendo que el contenido de sulforafano varía según la fracción tomada del brócoli.

Baenas *et al.* (2017), se encargó de estudiar el efecto antiproliferativo de los germinados de brócoli como matriz vegetal para demostrar que el brócoli, debido a su alto contenido de glucorafanina y sulforafano, es un alimento completo de origen vegetal; por lo tanto, obtuvieron que en germinados liofilizados cultivados a condiciones específicas, contenían 0.951 mg/g peso seco de sulforafano y 15.69 mg/g peso seco de glucorafanina.

3. Métodos de deshidratación

La deshidratación de alimentos es una de las operaciones unitarias más importantes en el tema de la conservación. Este método presenta las ventajas de, en algunos casos, ser de bajo costo de procesamiento, facilitan el transporte y almacenamiento del producto, inclusive pueden mantener la estabilidad fisicoquímica y microbiológica del alimento (Medina, 2015).

Para la deshidratación y preservación del brócoli, puede ser procesado por congelación o por calor. El secado por calor es una de las técnicas ampliamente conocidas y utilizadas por su bajo costo de inversión, el cual consiste en hacer pasar un flujo de aire caliente a través del sólido húmedo para evaporar el agua del alimento. Este método a nivel industrial representa el 85% de las técnicas utilizadas por las mismas, sin embargo, una de las desventajas es que su operación es lenta y necesita de altas temperaturas, lo que puede afectar gravemente las propiedades fisicoquímicas y nutrimentales del alimento (Japa, 2022).

Por otro lado, la liofilización consiste en someter el producto o alimento a un vacío previamente congelado, que se encargará de sublimar el hielo para reducir la humedad hasta menos de 5%. Es uno de los mejores métodos de deshidratación ya que se conoce que logra reducir la pérdida de nutrientes y composición del alimento, que por calor o secado, pueden verse afectados (Japa, 2022). Una de sus desventajas es que puede representar un alto costo en la industria, debido a la necesidad de mantener la cadena de frío con temperaturas inferiores a -18°C (Mahn *et al.* 2016). La liofilización se ha convertido en un método atractivo debido a su conservación y retención de apariencia, sabor, color, textura, porosidad, calidad de nutrientes y actividad biológica de los productos; no obstante, durante el proceso, puede existir una disminución de antioxidantes debido a la degradación de algunos compuestos (Cedeño, 2017).

3.1 Velocidades de secado

El secado con aire es un método clásico de conservación de alimentos que permite una vida útil prolongada, incluso con el desarrollo de nuevas técnicas de secado, esto debido a que este método de deshidratación sigue siendo el más simple y económico. En la producción de alimentos deshidratados, la velocidad de secado es importante para evitar un secado excesivo que deteriore el alimento y que además reduzca el requerimiento de energía. Por lo tanto, estudios han informado sobre las propiedades de secado de varios productos como tomate, kiwi, higos y zanahorias, además de informar el efecto de pretratamientos en la velocidad de secado de las verduras (Ando *et al.* 2016).

3.2 Pretratamientos previos al secado con calor

Existen estudios donde han aplicado distintos tipos de pretratamiento en el secado por calor para agilizar la producción y disminuir la energía consumida durante el proceso, algunos de ellos son el escaldado, la congelación, blanqueamiento, o la mezcla de estos, los cuales se han reportados que ayudan a incrementar la velocidad de secado. Un ejemplo es el reportado por Dandamrongrak *et al.* (2003), en el cual aplicaron el blanqueamiento, refrigerado, congelado y la mezcla de blanqueado con congelamiento para deshidratar plátano, donde pudieron observar que el congelamiento previo y la mezcla con blanqueamiento, tuvieron una mayor velocidad de secado que los demás tratamientos.

4. Métodos de identificación de compuestos presentes en germinado de brócoli

Dependiendo el compuesto que se quiera identificar, existen diferentes tipos de métodos de detección, identificación y cuantificación los cuales se dividen en métodos espectrofotómetros y cromatográficos. Fernández (2015), quien se encargó de determinar compuestos funcionales, utilizó un cromatógrafo de líquidos (HPLC) para determinar el contenido de ácido ascórbico y carotenoides. Por otro lado, utilizó un espectrofotómetro UV-vis y espectrómetro de masas para la determinación de clorofila, compuestos fenólicos y glucosinolatos. Sin embargo, después de una revisión bibliográfica, se logró observar que la cromatografía líquida de alto rendimiento o alta resolución (HPLC) y la cromatografía de gases (CG), son los más utilizados para identificar los compuestos bioactivos, ya que son capaces de cuantificar cada uno de ellos.

4.1 Condiciones para cuantificación de sulforafano en germinado y brócoli maduro

Para el estudio realizado por Tříska y colaboradores en 2021, quienes buscaron los factores que se ven influenciados por el contenido de sulforafano en extractos de germinados de brócoli, cuantificaron el sulforafano con HPLC con las siguientes condiciones: Detector de diodos serie Agilent 1100, columna Luna C18 de 150 mm × 2 mm, 3 µm, con fase móvil de agua-acetonitrilo-ácido fosfórico. La fase móvil A utilizó 5% de acetonitrilo + 0.1% de ácido fosfórico y la fase móvil B utilizó 80% de acetonitrilo – 0.1% de ácido fosfórico. El gradiente se incrementó del 0% a 45% de B durante 30 min; la velocidad de flujo fue de 0.250 mL/min, temperatura de columna de 25 °C, volumen de

inyección de 5 μ L, longitud de onda de 245 nm para la detección con rango de escaneo de 190-600 nm.

Por otro lado, Campas-Bayoili *et al.* en 2009, de igual forma cuantificaron sulforafano en diferentes partes del brócoli maduro mediante extractos previamente purificados en columna SPE, después cada extracto se leyó en un sistema de HPLC con las condiciones de fase móvil acetonitrilo:agua en proporción 30:70 (v/v), velocidad del flujo constante a 0.6 mL/min y temperatura de la columna de 36°C, detección en espectrofotómetro UV a 202 nm; columna analítica de 250 mm x 4.6 mm d.i. con un tamaño de partícula de 5 μ m, gradiente isocrático, con tiempo total entre inyecciones de 20 min.

Mahn y colaboradores (2022) determinaron el contenido de sulforafano en germinados de brócoli mediante HPLC-DAD equipado con columna C18 (tamaño de partícula de 5 μ m, 250 x 4.6 mm); disolvente de acetonitrilo al 20% en agua, la solución se cambió linealmente durante 10 min para alcanzar el 60% de acetonitrilo y se mantuvo a 100% durante 5 min para purgar la columna. La temperatura de la columna fue de 30°C con inyecciones de 1 mL/min y detección a 254 nm.

5. Aplicaciones de los germinados en polvo

5.1 Mercado internacional

Informes realizados por Transparency Market Research, indicó que el mercado internacional de nutracéuticos llegó a los 142.1 mil millones de dólares americanos durante el 2011 y se proyecta alcanzar los 204.8 mil millones para el 2017, con crecimiento anual de 6.3%.

El informe titulado “Mercado de los productos nutracéuticos: tamaño del mercado global, segmento, análisis país y proyecciones (2007-2017)” indica que, durante el año 2011, el mercado de alimentos y bebidas llegó a tener una participación ascendente a los 93 mil millones de dólares americanos, con crecimiento del 6% durante el 2007 y 2011. En 2011, el Norte de América tuvo la participación más grande en el mercado internacional para productos nutracéuticos con una cuota de 56.4 mil millones de dólares americanos esto debido al interés de los consumidores de los Estados Unidos en salud; lo que lleva a pensar que los suplementos alimenticios están liderando un mercado a nivel global, donde el porcentaje de segmento más significativo serían los alimentos y bebidas funcionales.

Los principales factores que han llevado a la importancia del mercado de nutracéuticos son:

- Mayor ingreso económico
- Incremento en problemas de salud (diabetes, cáncer, etc.)
- Comercio online
- Desarrollo de alimentos funcionales

El constante aumento de productos nutracéuticos ayuda a mejorar la salud, un ejemplo con los probióticos, prebióticos y otros productos indicados para cierto tipo de enfermedades (Chacaliaza *et al.* 2020).

5.2 Germinados en polvo comerciales

1. HerbaDiet (germinado en polvo): Este suplemento por cada 800 mg de muestra contiene 6% de glucosinolatos, donde el 0.3% de ellos es sulforafano.
2. Maple life sciences (extracto de germinado en polvo): Suplemento que, por cada 400 mg de muestra, contiene el mínimo de 0.4% de sulforafano.
3. Koyah (germinado de brócoli en polvo): Promete alrededor de 10 a 15 mg de sulforafano por cada 5 g.

JUSTIFICACIÓN

Los beneficios del consumo de germinado de brócoli han detonado un gran interés por parte del área de salud pública para fomentar su cultivo con fines nutricionales y económicos. Los germinados tienen un alto contenido de agua haciendo que su vida de anaquel sea reducida, es por esto que el mercado ha optado por alargar su conservación aplicando tecnologías de deshidratación para así eliminar el agua libre y ligada presente. Aunque las propiedades de los germinados aún no son tan conocidas en el país, existen lugares como Estados Unidos y algunos países de Europa, donde ya forman parte de su alimentación y han sido incorporados en su dieta. Incluso países como Australia, desarrolló cápsulas y pastillas de germinados de brócoli liofilizados como nutraceuticos, los cuales se encuentran en pruebas clínicas *in vivo* con cápsulas de polvo de germinados de brócoli para evaluar su actividad antioxidante y su efecto contra el cáncer; sin embargo, la inversión de estos productos para la industria conlleva un gasto excesivo de energía y costo, teniendo así una baja producción. Viendo esto, se creó la idea en que México puede entrar como potencia aportando en su investigación y producción de la misma forma, apoyando a la ciencia, economía y emprendimiento del país proponiendo nuevas tecnologías para el desarrollo de los mismos.

La mayor ventaja general de los germinados es que su cultivo requiere de poco tiempo y de una pequeña infraestructura; no requieren de grandes extensiones de tierra cultivables ya que su cultivo es de forma hidropónica, cultivos en los que se especializa la empresa “Frescos del Valle” con quien se colabora en este proyecto. En la Facultad de Ciencias Biológicas, se realizó el análisis de compuestos bioactivos, cuantificando la cantidad de sulforafano que contiene sus germinados en cada día de germinación, para observar en qué día existe su máxima producción. Por lo cual, el objetivo de este trabajo fue evaluar en el germinado en polvo, el efecto del método de deshidratación más adecuado sobre la producción de los compuestos bioactivos y contenido de sulforafano en función del tiempo de germinación.

HIPÓTESIS

La cantidad de sulforafano y sus compuestos bioactivos en los germinados de brócoli en polvo obtenidos por secado por calor y liofilización, aumentan con el tiempo de germinación.

OBJETIVO DEL TRABAJO

Evaluar el efecto de secado por calor y liofilización en la concentración de sulforafano y compuestos bioactivos presentes en germinados de brócoli en polvo en función del tiempo de germinación.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Caracterizar morfoanatómicamente los cambios de la semilla de brócoli durante su germinación.
2. Comparar los tiempos de deshidratación de los germinados por los métodos de secado tradicional, secado con pretratamiento de congelación y liofilización.
3. Evaluar el contenido de macronutrientes de los germinados en polvo por medio de un análisis proximal.
4. Comparar la actividad antioxidante en extractos metanólicos de los germinados de brócoli en polvo.
5. Cuantificar la concentración de sulforafano en cada etapa de los germinados en polvo para observar el efecto del método de deshidratación.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Materia vegetal

Los germinados de brócoli fueron donados por la empresa “Frescos del Valle” de Monterrey, Nuevo León. Considerando un tiempo total de 6 d de germinación, las muestras se tomaron por 3 tiempos de germinación añadiendo a la semilla (0, 2, 4 y 6 días). Para la cuantificación del sulforafano se adquirió un brócoli maduro de la cadena comercial HEB®.

2. Diseño experimental

Diseño completamente al azar donde se tomaron 2 variables independientes y 3 variables dependientes.

Tabla 2. Simbología de tiempos de germinación y métodos de secado

T ₀	Semilla	ST	Secado tradicional
T ₁	2 d de germinación	SC	Secado con pre-tratamiento de congelación
T ₂	4 d de germinación	L	Liofilización
T ₃	6 d de germinación		

Tabla 3. Variables del diseño experimental del proyecto

Variables independientes	Variables dependientes	Análisis de varianza
Factor A: Etapa de germinación (T ₀ , T ₁ , T ₂ , T ₃). Factor B: Método de deshidratación (ST, SC, L).	Actividad antioxidante	- ANOVA bifactorial - Tukey
	Análisis bromatológicos	- ANOVA bifactorial - t student: Humedad
	Cantidad de sulforafano	- ANOVA bifactorial - Tukey

Los datos obtenidos fueron analizados mediante ANOVA para los mencionados en la tabla y *t* student para los tiempos de secado según el procedimiento utilizando el software IBM SPSS Statistics 25® a un nivel de confianza del 95%.

3. Estándar y reactivos

El estándar de sulforafano (D,L-Sulforphane) fue adquirido de EMD Chemicals Inc. (Darmstadt, Germany). El DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) y ABTS ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) de Sigma-Aldrich (Misuri, EUA). El acetonitrilo y metanol grado HPLC y diclorometano fueron adquiridos de CTR Scientific (Monterrey, Nuevo León México).

4. Recepción y morfología física

Para la medición de los germinados y semillas se siguió la metodología de Padilla *et al.* (2012) con ciertas modificaciones. Se recibieron los germinados según la etapa indicada (T₀, T₁, T₂, T₃) y en cada una se midieron alrededor de 300 germinados para determinar las medidas de raíz, tallo aéreo, hipocótilo, largo y ancho de hojas y se enumeró la cantidad de hojas que presentaba. Para la semilla se midieron 300, las cuales fueron separadas según su forma ya sea que fueran esféricas u ovaladas. Para las esféricas se midió el diámetro y para las ovaladas se tomó en largo y el ancho.

5. Preparación de las muestras

5.1 Deshidratado por secado por calor

Se realizó la metodología descrita por Dandamrongrak *et al.* (2003) con ciertas modificaciones. Los germinados fueron conservados y empaquetados en recipientes de plástico a temperatura de 4°C (refrigeración) y -20 °C (congelación), después se deshidrataron por separado, en un equipo de marca “Hamilton Beach” versión 32100A (Richmond, Virginia, EUA) a 50 °C, hasta obtener un peso constante. Se compararon los tiempos de deshidratación y cada muestra fue pulverizada en Nutribullet por 3 min, haciendo pausas entre cada minuto. A cada una se le determinó la actividad de agua (Aw). Las muestras en polvo se almacenaron a -20 °C en bolsas al vacío.

La deshidratación del brócoli entero para la cuantificación del sulforafano se realizó mediante el mismo procedimiento del germinado refrigerado. Se utilizó la cabeza entera de la hortaliza.

5.2 Curvas de secado por calos para muestras refrigeradas y congeladas

Se realizó la metodología descrita por Dandamrongrak *et al.* (2003) con ciertas modificaciones. Se colocaron 5 g de los germinados refrigerados y congelados (por

triplicado) en charolas de aluminio de 5 cm de diámetro, previamente pesadas. Cada muestra se colocó en el equipo de marca “Hamilton Beach” versión 32100A (Richmond, Virginia, EUA) a 50 °C para su deshidratación. A partir que el secado inició, cada 5 min se pesaron las 3 charolas hasta tener un tiempo total de 120 min. Se compararon los tiempos de deshidratación de ambas condiciones y se realizaron las curvas de secado mediante la siguiente fórmula:

$$X \text{ (humedad)} = \text{g agua} / \text{g sólidos secos}$$

5.3 Deshidratado por liofilización.

Se realizó la metodología descrita por Mahn *et al.* (2016) con ciertas modificaciones. Las corridas se realizaron en un liofilizador comercial marca Labconco modelo FreeZone 4.5 L (Kansas City, Missouri, EUA). La temperatura del condensador se fijó a -50°C y la presión interna de la cámara a 20 Pa. Las muestras del germinado de brócoli congelado fueron puestas dentro de recipientes de vidrio de 375 mL. Las muestras se retiraron hasta que se encontraron secas completamente. Cada muestra fue pulverizada en Nutribullet por 3 min, haciendo pausas entre cada minuto. A cada una se le determinó la actividad de agua (A_w). Las muestras T₀, T₁, T₂, T₃ en polvo se almacenaron a -20 °C en bolsas al vacío.

6. Composición química (Análisis bromatológico)

Los análisis se realizaron sobre T₀, T₁, T₂, T₃ deshidratados por liofilización y secado por calor usando la metodología oficial de la AOAC (Association of Official Agricultural Chemists). La humedad, la ceniza y la fibra cruda se evaluaron gravimétricamente (AOAC 14.006, AOAC 925.15 y AOAC 962.09, respectivamente). Se utilizó el método Goldfish (AOAC 920.36C) para determinar el contenido de grasa. La proteína se midió mediante el método de Dumas (AOAC 990.03) y los carbohidratos totales se determinaron por diferencia utilizando la siguiente ecuación:

$$HC (\%)_{ss} = [100 - (\text{proteína} + \text{lípidos} + \text{ceniza} + \text{fibra cruda})]$$

7. Determinación de actividad antioxidante

7.1 Métodos de extracción

Se pesaron 3 g de muestra seca y pulverizada, se adicionaron 30 mL de metanol, después las muestras se sonicaron a 5 °C durante 30 min y se centrifugaron a 10,000 rpm por 10

min. Las muestras se filtraron (papel filtro Whatman No. 1, poro 0.7 μm) y los filtrados obtenidos de cada muestra se concentraron en un rotavapor a 40 °C. El extracto de cada muestra se diluyó en metanol a una concentración final de 0.04 g/mL (Hinojosa-Dávalos *et al.* 2019).

7.2 Ensayo por método DPPH.

Para el ensayo de DPPH se utilizó la metodología de Guzmán *et al* (2019) con ciertas modificaciones. Las muestras se midieron en términos de capacidad de donación de hidrógeno o eliminación de radicales utilizando el radical libre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil). La absorbancia de las muestras se midió a 517 nm.

- 7.2.1 Preparación del reactivo DPPH

Se pesaron 0.0039 g del reactivo DPPH y se aforó a 100 mL con etanol absoluto. Se midió la absorbancia de la solución a 517 nm, ajustando su absorbancia a 1.

- 7.2.2 Curva de calibración trolox DPPH

Para la solución stock, se pesaron 25 mg de Trolox (PM = 250.29 g/mol) y se aforó a 100 mL con etanol absoluto (250 ppm). Para la curva se elaboraron diluciones protegidas de la luz en tubos de ensayo. A partir de la solución stock de Trolox, se prepararon concentraciones de 1, 2, 3, 4, 5, 6 7 y 8 ppm y se agregó etanol absoluto. Posteriormente, a cada celda se le agregaron 2.25 mL del DPPH. Se dejó reposar por 90 min a oscuridad. La densidad óptica se leyó en el espectrofotómetro UV Genesys 5 (Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, EUA) a 517 nm.

- 7.2.3 Capacidad antioxidante de las muestras

Se tomaron 750 μL del extracto. Después se agregaron 2.25 mL de DPPH a cada uno. Cada concentración se realizó por triplicado. Después de haber preparado las concentraciones, se dejaron en agitación con vortex para posteriormente tomar las lecturas correspondientes en espectrofotómetro UV Genesys 5 (Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, EUA) a 517 nm después de 90 min. Todo este procedimiento se realizó en oscuridad. Al final los resultados se pasaron a $\mu\text{mol EqTrolox/g}$ mediante la curva de calibración de Trolox.

7.3 Ensayo por ABTS

Para el ensayo de ABTS se realizó la metodología de Guzmán *et al* (2019) con ciertas modificaciones. Se basa en la formación del radical ABTS⁺ por reacción de ABTS (7mM) con persulfato de potasio 2.45 mM.

- 7.3.1 Preparación del reactivo de ABTS

Para el ABTS (7mM), se disolvieron 0,038 g de sal amónica cristalizada de ABTS en 10 mL de agua destilada. Para la solución de persulfato potásico 2.45 mM, se disolvieron 0.0066 g del reactivo en 10 mL de agua destilada. Para la preparación de radical ABTS⁺, se mezclaron partes iguales de la solución de ABTS 7mM y la de persulfato potásico 2.45mM. La mezcla se mantuvo en oscuridad a temperatura ambiente durante 16 h para la formación del radical. La solución de ABTS (2.5 mL) se diluyó con etanol (100 mL apox.) para obtener una absorbancia de 0.7 a 730 nm.

- 7.3.2 Curva de calibración trolox ABTS

Para la solución stock se disolvieron 0.01 gr de Trolox en 5 mL de etanol absoluto y 5 mL de agua destilada. A partir de esta solución se hicieron diluciones a concentraciones de 25, 50, 75, 100, 125, 150 μ M. Posteriormente, a cada celda se le agregaron 2.7 mL del ABTS. Se dejaron reposar por 7 min en oscuridad (tiempo máximo de degradación) y se tomaron las lecturas en espectrofotómetro UV Genesys 5 (Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, EUA) a 730 nm.

- 7.3.3 Capacidad antioxidante de la emulsión ABTS

Se tomaron 300 μ L del extracto. Después se les añadirá 2.7 mL de ABTS. Cada concentración se deberá realizar por triplicado. Posteriormente, se tomarán las lecturas correspondientes en un espectrofotómetro UV Genesys 5 (Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, EUA) a 730 nm después de 7 min. Todo este procedimiento se deberá realizar en oscuridad. Al final los resultados se pasaron a μ mol EqTrolox/g mediante la curva de calibración de Trolox.

7.4 Determinación de EC50

A partir de una muestra de 2000 ppm, se realizaron diluciones de 33.333, 66.666, 133.3333 y 266.666 ppm de extracto para DPPH y 6.666, 16.666, 33.333 y 133.333 para ABTS y se les realizó la Capacidad Antioxidante correspondiente como se mencionó con

anterioridad a cada extracto. A las absorbancias obtenidas se les determinó el % de atrapamiento mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{atrapamiento} = \frac{(\text{Absorbancia control} - \text{Absorbancia de la muestra})}{\text{Absorbancia control}} \times 100$$

Con los resultados de las diluciones se determinó la ecuación de la recta, donde el valor de “y” se sustituyó por 50% de atrapamiento. Todo se realizó por triplicado.

8. Cuantificación de sulforafano

8.1 Conversión de glucorafanina a sulforafano

Se tomó la metodología descrita por Campas-Bayoili *et al.* (2009) con ciertas modificaciones. Se pesó para cada muestra 1 g del germinado en polvo y se colocó cada una en vasos de precipitado de 50 mL, donde se le adicionó 4 mL de agua ácida y se incubaron a 45 °C en baño de agua durante 2.5 h. Al final de la incubación, se aseguró la eliminación del agua de al menos un 70% aproximadamente.

8.2 Extracción de sulforafano con diclorometano

Se tomó la metodología descrita por Campas-Bayoili *et al.* (2009) con ciertas modificaciones. El sulforafano se extrajo del residuo utilizando 20 mL de diclorometano por sonificación durante 1 min; después se dejó reposar 1 h a 25 °C. El extracto se filtró en papel Whatman No. 41, realizando 2 lavados con 3 mL de diclorometano. La solución colectada se dejó secar en baño seco a 45 °C (aproximadamente por 2 h). El residuo se aforó con 5 mL de acetonitrilo y se sonicó por 5 min. El extracto se filtró a través de una membrana de celulosa de 0.45 µm y se pasó a viales de 2 mL.

8.3 Cuantificación por HPLC

Para la cuantificación de sulforafano se utilizó la metodología descrita por Campas-Bayoili *et al.* (2009) con ciertas modificaciones. Se inyectaron 20 µL de cada muestra en un cromatógrafo (detector HPLC-PDA Perkin-Elmer Altus A10 y módulo de disolvente y muestra Perkin-Elmer Altus A10, Waltham, MA, EUA) equipado con una columna Zorbax Eclipse C18 (46 x 120 mm) y un detector PDA-UV (x nm). La fase móvil consistió en una mezcla 50:50 de metanol/agua a un caudal de 1 mL/min y la temperatura de la columna durante el análisis fue de 25 °C. La detección se realizó con un espectrofotómetro UV a 202 nm. Se utilizó un gradiente isocrático.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Morfoanatomía de los germinados

La morfología de la semilla varió en dos formas diferentes, de 300 semillas, 29 tuvieron forma ovalada, el resto presentó forma esférica, donde el diámetro osciló entre 1.199 a 2.005 mm, obteniendo un promedio de 1.63 mm. La Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural de México (s.f.) menciona que las semillas de brócoli pueden llegar a tener forma de munición y sus medidas varían entre los 2 y 3 mm; al compararlo con los resultados, la forma resultó similar, sin embargo, el tamaño resultó ser menor al reportado a excepción de las que llegaron a medir 2 mm.

Tabla 4. Medidas morfológicas de la semilla de brócoli según su forma

Forma	Medidas de la semilla (mm)	
	Diámetro	Ancho
Esféricas	1.63 ± 0.15	
Ovaladas	1.95 ± 0.23	1.49 ± 1.95

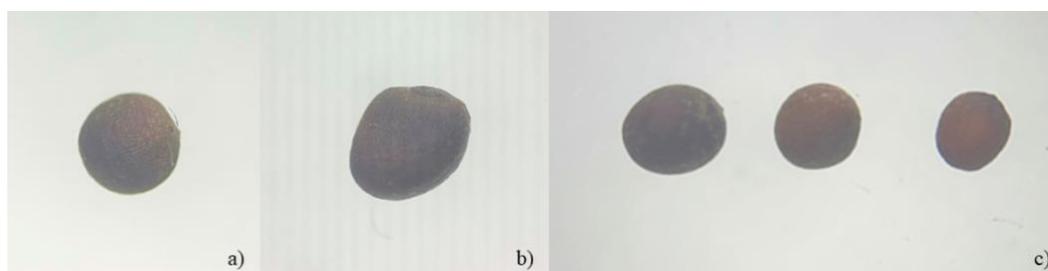


Figura 2. Formas y tamaños de semillas. a) Semilla esférica. b) Semilla Ovalada. c) Tamaños de semillas (mayor a menor tamaño).

En las medidas morfológicas de los germinados se logró apreciar cómo cada parámetro analizado, aumentó de manera ascendente dependiendo el día de germinación; en la raíz inició con un promedio de largo de 3.77 mm, procediendo con 23.10 mm y finalizando con 30.32 mm a los 6 d, mediciones que se confirman con lo reportado por Gu y colaboradores (2012) quienes iniciaron con un valor de 3 mm de raíz al día 1 y finalizaron con 31 mm a los 5 d de germinación, esto es debido a que una semilla en germinación activa proporciona nutrientes bioquímicos y bioenergía a través del metabolismo

respiratorio fitofisiológico, causando el crecimiento del germinado y la elongación de raíces (Gu *et al.* 2012).

De lado del largo del germinado o tallo aéreo, se obtuvieron valores de 6.30, 16.40 y 38.36 mm para 2, 4 y 6 d respectivamente, donde los mismos autores mencionados anteriormente, obtuvieron valores similares de 6 y 20 mm a los 2 y 5 d respectivamente.

Tabla 5. Medidas morfológicas por etapa de germinados recibidos (mm).

Etapa	Medidas morfológicas (mm)					
	Raíz	Hipocotilo	Tallo aéreo	Largo de hoja	Ancho de hoja	No. de hojas
T1	3.77 ± 0.21	4.51 ± 0.71	6.30 ± 0.64	3.59 ± 0.31	3.12 ± 0.13	4.00 ± 0
T2	23.10 ± 0.05	12.12 ± 0.08	16.40 ± 0.10	2.66 ± 0.36	2.29 ± 0.17	4.00 ± 0
T3	30.32 ± 0.08	34.61 ± 0.29	38.36 ± 0.18	4.13 ± 0.28	3.58 ± 0.45	4.00 ± 0

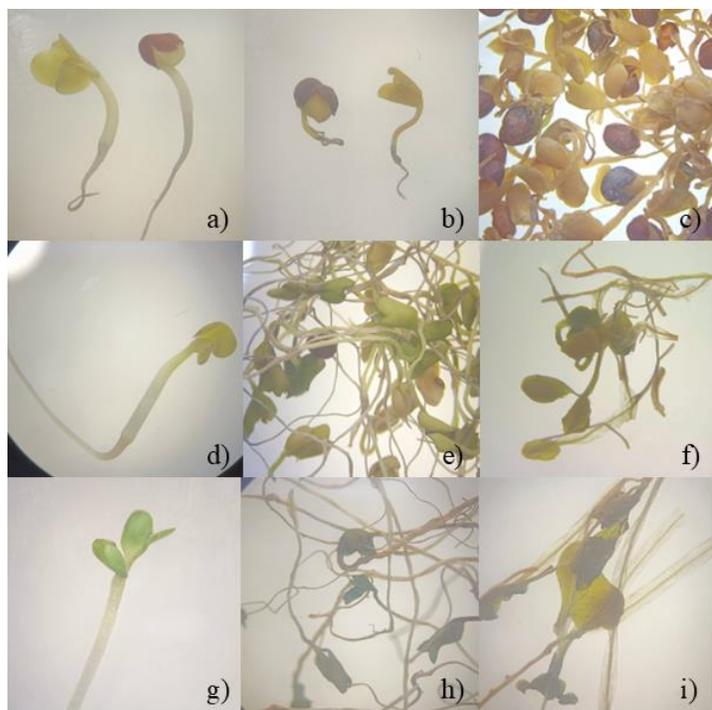
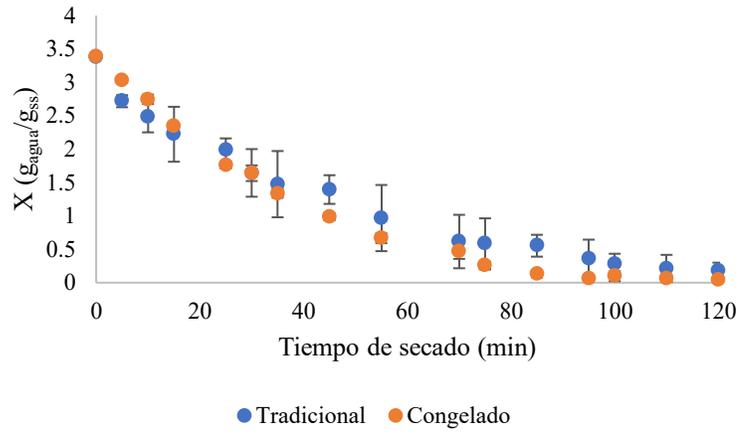


Figura 3. Morfoanatomía de cada etapa de germinación. a) Germinado T₁ fresco. b) Germinado T₁-ST. c) Germinado T₁-SC. d) Germinado T₂ fresco. e) Germinado T₂-ST. f) Germinado T₂-SC. g) Germinado T₃ fresco. h) Germinado T₃-ST. i) Germinado T₃-SC.

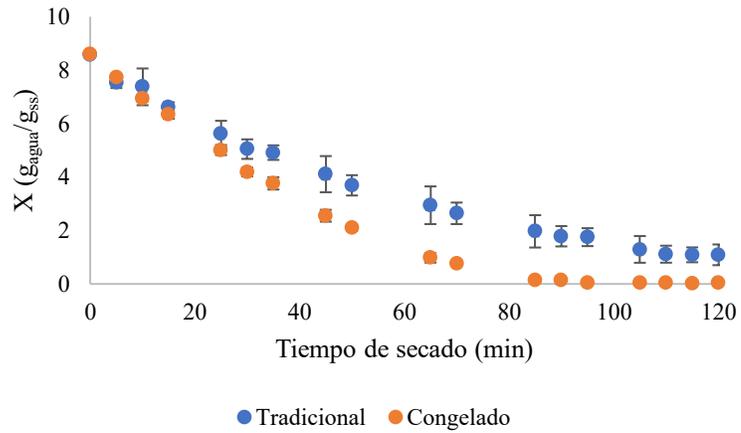
2. Curvas de secado

Al determinar la humedad de los pesos del germinado de brócoli tomados cada 5 min de ambos tratamientos, se logró observar que las muestras con pretratamiento previo de congelación obtuvieron una disminución de humedad en menor tiempo de secado que las muestras con tratamiento tradicional en las tres etapas de germinación. En la Figura 1 se logra apreciar la comparación de las curvas de pérdida de humedad en base seca $X(g_{\text{agua}}/g_{\text{ss}})$ de las tres etapas con respecto al tiempo, donde la gráfica A), aunque presente poca variación en la X final en ambos tratamientos en comparación a las demás etapas, el pretratamiento de congelación llega a peso constante en un menor tiempo. El resultado más notorio es en la gráfica B), donde los resultados del germinado con pretratamiento desde el minuto 10 comenzó a descender con mayor velocidad que el método tradicional, obteniendo así a las 2 h una humedad final de 0.07 ($g_{\text{agua}}/g_{\text{ss}}$), cuando al mismo tiempo con el método tradicional únicamente llegó a 1.31 ($g_{\text{agua}}/g_{\text{ss}}$) sin deshidratarse por completo. Dandamrongrak *et al.* (2003) menciona que un tratamiento de congelación antes del secado aumenta la velocidad de secado de varios productos agrícolas, comprobando los resultados obtenidos. De igual forma Ando y colaboradores (2016) quienes trabajaron secado de plátano con distintos pretratamientos para producción industrial, observaron que, al hacer la curva de secado, las muestras con pretratamiento de congelación presentaron menor tiempo de secado y mayor pérdida de humedad, lo que avala los resultados obtenidos que al congelar un alimento previo al secado acelera el tiempo de deshidratación, lo que ayuda a aumentar producción en las industrias. Una de las razones por las que este fenómeno es posible, es gracias a los cristales formados durante la congelación, los cuales ayudan a facilitar la migración del agua (Ando *et al.*, 2016); Mosquera *et al.* (2012) menciona que, de igual forma, este comportamiento se debe al mayor tamaño del cristal de hielo formado en la congelación, lo que causa la modificación de la permeabilidad de las membranas celulares, extrayendo así mayor humedad, además, la congelación influye en el tamaño del poro del alimento, lo que significa que las moléculas de agua pueden salir con mayor flujo de masa durante la deshidratación del mismo.

A) T_1 : 2 DÍAS



B) T_2 : 4 DÍAS



C) T_3 : 6 DÍAS

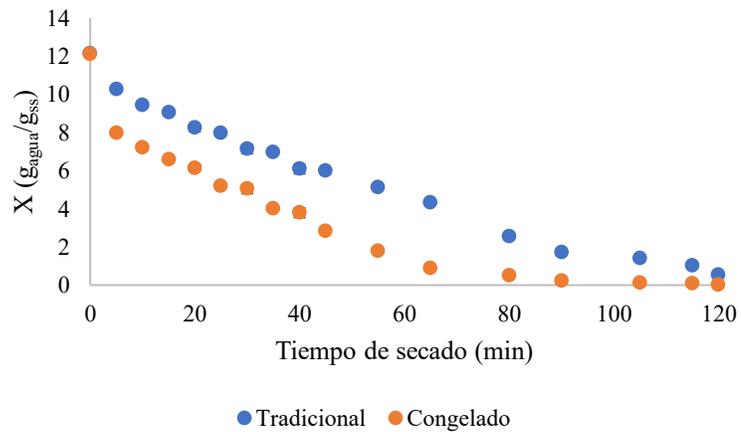


Figura 4. Curvas de secado por método tradicional (refrigerado) y con pretratamiento de congelación por cada etapa de germinación del brócoli.

Tabla 6. Tiempos de secado de cada etapa de germinación por los diferentes métodos de deshidratación.

Etapa	Tiempo de secado (min)		
	ST	SC	L
T1	142.50 ± 3.53 ^A	117.50 ± 3.53 ^A	1022.00 ± 165.46 ^B
T2	147.50 ± 3.53 ^A	90.00 ± 7.07 ^A	1507.50 ± 275.06 ^B
T3	137.50 ± 3.53 ^A	97.5 ± 3.53 ^A	1740.00 ± 169.71 ^B

Distintas letras indican diferencias significativas (*pvalue* < 0.05). Mayúsculas: Diferencia entre tratamientos por cada etapa.

La actividad de agua (*aw*) es un factor determinante en la estabilidad y calidad de los alimentos, ya que valores elevados pueden favorecer el crecimiento microbiano y, en consecuencia, su deterioro (Osorio *et al.*, 2024). Tras la deshidratación de los germinados, se determinó la *aw* de cada uno de los polvos obtenidos con el propósito de evaluar cualitativamente su estabilidad. Los resultados de la Tabla 7 mostraron valores inferiores al 0.5, lo que, de acuerdo con Osorio *et al.* (2024), es característico de los alimentos deshidratados, mientras que valores superiores a este umbral aumentan la susceptibilidad al deterioro por microorganismos.

Tabla 7. Actividad de agua (*aw*) del polvo de las diferentes etapas de germinación.

Método de secado	Actividad de agua (<i>aw</i>)			
	T1	T2	T3	T0
ST	0.17 ± 0.00 ^{Ba}	0.21 ± 0.00 ^{Ab}	0.46 ± 0.00 ^{Cc}	0.42 ± 0.00
SC	0.17 ± 0.00 ^{Aa}	0.22 ± 0.00 ^{Bb}	0.45 ± 0.00 ^{Bc}	
L	0.19 ± 0.00 ^{Ca}	0.23 ± 0.00 ^{Cb}	0.30 ± 0.00 ^{Ac}	

Distintas letras indican diferencias significativas (*pvalue* < 0.05). Mayúsculas: Diferencia entre tratamientos por cada etapa (c/columna). Minúsculas: Diferencia entre etapas por cada tratamiento (c/fila).

Algo importante de recalcar es el cambio de color que se obtuvieron en los polvos, T₁ se mantuvo marrón debido a la presencia de semilla, sin embargo, T₂ y T₃ los cuales eran inicialmente verdes, cambiaron a tonalidades marrones. La degradación de la clorofila durante el procesamiento térmico provoca cambios de color en el producto que pueden variar de verde brillante a marrón oliva, como se observa en la Figura 5, debido a la formación de feofitina por sustitución del átomo central de magnesio de la molécula de clorofila por hidrógeno (Sanjuán *et al.* 2000).

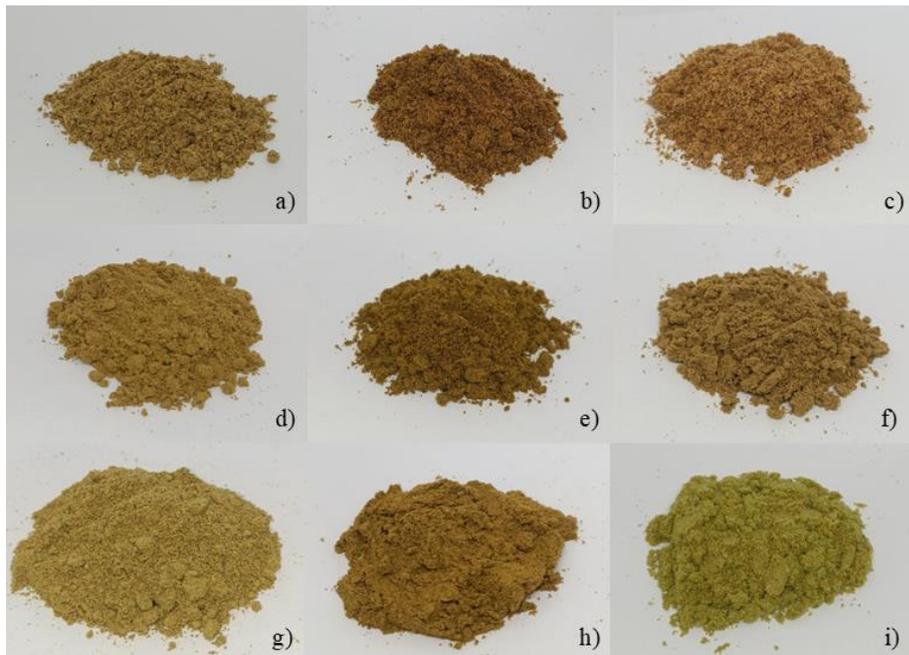


Figura 5. Polvos de germinados de brócoli deshidratados según su método de secado. a) Germinado T₁-ST. b) Germinado T₁-ST. c) Germinado T₁-L. d) Germinado T₂-ST. e) Germinado T₂-SC. f) Germinado T₂-L. g) Germinado T₃-ST. h) Germinado T₃-SC. i) Germinado T₃-L.

3. Composición química (Análisis bromatológico AOAC)

En la Tabla 8 se observa que, el contenido de agua (%) de los germinados, dependiendo de la etapa, el contenido de agua aumenta, empezando con 3.21% en la semilla sin germinación, procediendo a 75.67% para el día 2, 82.62 para el día 4 y 92.96 para el sexto día en los germinados refrigerados, donde para el germinado previamente congelado ocurrió el mismo suceso solo que con mayor cantidad de humedad; esto es debido a las fases de germinación donde en la primera fase (fase de imbibición) ocurre la primera absorción de agua realizada por la semilla, en la segunda fase es cuando existe una

activación del metabolismo e inicia la movilización de los nutrientes, y en la fase final, ocurre nuevamente una absorción de agua (Suárez & Melgarejo, 2010), explicando así el resultado de cómo aumenta el porcentaje de agua. Existe diferencia significativa entre las tres etapas y en el caso de T₂ y T₃ existe diferencia significativa entre la muestra refrigerada y la congelada.

Tabla 8. Contenido de agua (%) de las diferentes etapas de germinación.

Método de conservación	Contenido de agua (%)			
	T1	T2	T3	T0
Refrigerado	75.67 ± 0.43 ^{Aa}	82.62 ± 0.94 ^{Ab}	92.96 ± 0.043 ^{Ac}	3.21 ± 0.13
Congelado	74.91 ± 0.89 ^{Aa}	92.74 ± 0.53 ^{Bb}	96.65 ± 0.28 ^{Bc}	

Distintas letras indican diferencias significativas (*pvalue* < 0.05). Mayúsculas: Diferencia entre tratamientos por cada etapa (c/columna). Minúsculas: Diferencia entre etapas por cada tratamiento (c/fila).

Para la humedad del polvo deshidratado por los distintos métodos, se tiene porcentajes que varían entre 2.35 a 3.41% o 4.29% en el caso de la semilla, como se puede observar en la Tabla 9. Gascón *et al.* (2013) menciona que un valor menor de 5% de humedad en alimentos se consideran escasamente perecederos, esto debido a que la deshidratación aumenta la estabilidad fisicoquímica y microbiológica del alimento (Medina, 2015); donde todos los porcentajes que se obtuvieron entran en el rango mencionado.

Tabla 9. Contenido de agua (%) del polvo de las diferentes etapas de germinación.

Método de secado	Contenido de agua (%)			
	T1	T2	T3	T0
ST	3.41 ± 0.09 ^{Cc}	2.95 ± 0.04 ^{Ab}	2.35 ± 0.21 ^{Aa}	4.29 ± 0.13
SC	2.54 ± 0.06 ^{Aa}	3.19 ± 0.04 ^{Bb}	2.44 ± 0.36 ^{Aa}	
L20	2.90 ± 0.07 ^{Ba}	2.91 ± 0.08 ^{Aa}	2.82 ± 0.26 ^{Aa}	

Distintas letras indican diferencias significativas (*pvalue* < 0.05). Mayúsculas: Diferencia entre tratamientos por cada etapa (c/columna). Minúsculas: Diferencia entre etapas por cada tratamiento (c/fila).

El parámetro de cenizas en un análisis proximal de alimentos indica la cantidad minerales disponibles que existen en el alimento (Poblete *et al.* 2020). Al analizar el comportamiento de los minerales en cada tratamiento a lo largo de las etapas, se observa un aumento en función del día de germinación. Sin embargo, en el caso del liofilizado, se produjo una pérdida de minerales en la etapa final. Un estudio realizado por Weber (2017) comparó la concentración de minerales en germinados de brócoli y observó que contiene concentraciones más altas de minerales esenciales como lo son Mg, Cu, Zn, Mn y Fe en comparación al brócoli maduro.

La Tabla 10 muestra la cantidad de cenizas en cada etapa de germinación según el método de deshidratación aplicado, en la etapa T₁ no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos. En la etapa T₂, el germinado liofilizado presentó una menor cantidad de minerales en comparación con los deshidratados por calor, teniendo diferencia significativa entre sí. Finalmente, en la etapa T₃ se encontraron diferencias significativas entre los tres métodos de secado, siendo el secado con pretratamiento de congelación el que mostró la mayor cantidad de cenizas en el polvo de germinado de brócoli. El contenido de minerales puede verse influenciado debido a distintos factores, donde uno de ellos es la etapa de crecimiento, el contenido de cenizas aumenta según el tiempo de germinación (Alhajri & Saad, 2023), lo que ocurrió en los resultados obtenidos; a partir de esto se puede concluir que el germinado con mayor cantidad de minerales corresponde a la etapa T₃-SC.

Tabla 10. Contenido de cenizas (%) de las diferentes etapas de germinación.

Método de secado	Contenido de cenizas (%)			
	T1	T2	T3	T0
ST	4.75 ± 0.28 ^{Aa}	6.93 ± 0.0 ^{Bb}	7.17 ± 0.09 ^{Bb}	4.29 ± 0.13
SC	4.72 ± 0.11 ^{Aa}	6.80 ± 0.21 ^{Ab}	7.91 ± 0.15 ^{Cc}	
L20	4.63 ± 0.14 ^{Aa}	6.49 ± 0.08 ^{Ac}	5.17 ± 0.17 ^{Ab}	

Distintas letras indican diferencias significativas (*pvalue* < 0.05). Mayúsculas: Diferencia entre tratamientos por cada etapa (c/columna). Minúsculas: Diferencia entre etapas por cada tratamiento (c/fila).

En cuanto al contenido de grasa, en la Tabla 11 se observa una tendencia opuesta a la de las cenizas. Partiendo de la semilla, se evidencia una disminución de la grasa a medida que avanza el tiempo de germinación en la mayoría de los casos. Alhajri & Saad (2023) nos indican que dicho comportamiento es causado por una serie de mecanismos en el metabolismo de degradación de lípidos por demanda energética, lo que eleva la frecuencia respiratoria de la planta, además de que se obtuvieron resultados similares a los reportados por los autores. En la etapa T₁, el tratamiento ST presentó diferencias significativas respecto a SC y L20. En las etapas T₂ y T₃, el liofilizado mostró diferencias significativas en comparación con los demás tratamientos.

Desde la perspectiva de los métodos de secado, tanto en ST como en SC se observó una disminución de la cantidad de grasa a lo largo del tiempo de germinación. En el caso de L20, se evidenció un ligero aumento, aunque las diferencias fueron estadísticamente significativas, esto sucedió en el estudio de Zubia *et al.* (2023) donde compararon con análisis proximales de la planta bignai (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) deshidratada por calor y liofilización y lograron observar un aumento en cantidad de lípidos con la bignai liofilizada. Sin embargo, estos resultados podrían estar influenciados por los procesos fisiológicos que ocurren durante la germinación como se mencionó anteriormente.

Tabla 11. Contenido de grasa (%) de las diferentes etapas de germinación.

Método de secado	Contenido de grasa (%)			
	T1	T2	T3	T0
ST	31.05 ± 0.34 ^{Ac}	23.32 ± 0.28 ^{Bb}	19.62 ± 0.86 ^{Aa}	35.63 ± 0.30
SC	36.17 ± 0.37 ^{Bc}	22.94 ± 0.08 ^{ABb}	18.66 ± 0.51 ^{Aa}	
L20	36.07 ± 0.42 ^{Bc}	22.64 ± 0.17 ^{Aa}	24.90 ± 0.21 ^{Bb}	

Distintas letras indican diferencias significativas (*pvalue* < 0.05). Mayúsculas: Diferencia entre tratamientos por cada etapa (c/columna). Minúsculas: Diferencia entre etapas por cada tratamiento (c/fila).

Para la determinación de proteína se utilizó el método de Dumas, que a diferencia del método Kjeldahl, es un procedimiento rápido con el que con poca muestra, llega a un

resultado más preciso; este método se basa en una combustión oxidativa donde la muestra se quema con O₂ a 900-1200 °C; la mezcla de gases desprendidos son limpiados y los óxidos de nitrógeno se reducen a nitrógeno molecular para finalmente medir el contenido de nitrógeno con un detector de conductividad térmica (Sader *et al.* 2014).

Los resultados obtenidos se encuentran en la Tabla 12, los cuales demostraron que tienen una tendencia ascendente donde la etapa final, T₃, presentó la mayor cantidad de este macronutriente. Respecto a los tratamientos de secado, el secado con pretratamiento de congelación (SC) resultó ser el que contuvo la mayor cantidad de proteína. Alhajri & Saad (2023) mencionan que la cantidad de proteína reportada por sus resultados, el cual fue de 23.99%, aportó un nivel de proteína similar a los de las dietas ricas en proteínas, que, al compararlo con nuestros resultados, se obtuvieron valores superiores al reportado. Taiz & Zeiger (2006) indican que, durante cada fase de germinación, existe un aumento de actividad metabólica y se estimula la síntesis de proteínas; además, al ser el brócoli una planta dicotiledónea, las proteínas de reserva se hidrolizan enzimáticamente para producir aminoácidos y péptidos, utilizados para crear enzimas hidrolíticas, dando como resultado un aumento en la cantidad de proteína según su día de germinación. Tarasevičienė *et al.* (2009) reportaron en sus resultados, que después de 72 h de germinación del brócoli, lograron observar un aumento en la cantidad de proteínas, el cual lo relacionan de igual forma con la hidrólisis y síntesis de proteínas que ocurre durante la germinación.

Existe diferencias significativas entre cada una de las etapas y de igual forma entre tratamientos para la mayoría de los casos. En general, se puede concluir que el secado con pretratamiento de congelación preserva de manera efectiva la proteína en los germinados deshidratados.

Tabla 12. Contenido de proteína (%) de las diferentes etapas de germinación.

Método de secado	Contenido de proteína (%)			
	T1	T2	T3	T0
ST	25.90 ± 0.01 ^{Aa}	30.41 ± 0.11 ^{Ab}	31.55 ± 0.15 ^{Ac}	24.34 ± 0.27
SC	25.33 ± 0.27 ^{Aa}	31.32 ± 0.07 ^{Cb}	33.76 ± 0.02 ^{Cc}	
L20	25.22 ± 0.72 ^{Aa}	31.01 ± 0.03 ^{Bb}	32.77 ± 0.08 ^{Bc}	

Distintas letras indican diferencias significativas ($pvalue < 0.05$). Mayúsculas: Diferencia entre tratamientos por cada etapa (c/columna). Minúsculas: Diferencia entre etapas por cada tratamiento (c/fila).

Las crucíferas en general se caracterizan por ser una fuente concentrada de nutrientes, donde la fibra es una de ellas, además, el consumo de fibra está relacionado con disminuir el riesgo de enfermedades tales como arteriosclerosis, hemorroides, cáncer de colon y colitis (Campas-Bayoili *et al.* 2009 y Alhajri & Saad, 2023).

En la Tabla 13 se puede observar que el contenido de fibra cruda fue el componente proximal más afectado por el tratamiento de liofilización, ya que los valores correspondientes a L20 fueron inferiores en comparación con los obtenidos mediante el secado por calor. A diferencia de los otros componentes proximales, en este caso, el secado tradicional (ST) fue más eficaz en preservar la cantidad de fibra cruda. En acorde con Morris (2011), indica que el proceso de liofilización en alimentos puede llegar a afectar ligeramente cierto tipo de nutrientes, lo que puede justificar el resultado obtenido.

Al comparar la fibra cruda en función del tiempo de germinación, se observó que T₁ fue la etapa con mayor contenido en la mayoría de los casos, esto es debido a que mientras aumenta la etapa de germinación, la fibra disminuye, tal como reportan los resultados de Alhajri & Saad (2023). De igual forma, Tarasevičienė *et al.* (2009) observaron que la cantidad de fibra cruda disminuye desde el primero al quinto día de germinación, donde sus valores más altos de fibra cruda se obtuvieron en los primeros días de germinación.

Por otro lado, Gu y colaboradores (2012) observaron que, al analizar la fibra cruda del germinado de brócoli por 3 días, existe un incremento a los primeros dos días y al llegar al tercero la cantidad disminuyó incluso con un valor menor que la semilla, concluyendo que la fibra puede disminuir con el tiempo de germinación, tal como se obtuvo en los resultados de la Tabla 13.

Estos resultados permiten concluir que el secado tradicional es el método óptimo para conservar la cantidad de fibra cruda en los brotes germinados.

Tabla 13. Contenido de fibra cruda (%) de las diferentes etapas de germinación.

Método de secado	Contenido de fibra cruda (%)			
	T1	T2	T3	T0
ST	12.07 ± 0.62 ^{Cb}	8.05 ± 0.74 ^{Aa}	11.56 ± 0.88 ^{Cb}	7.40 ± 0.42
SC	10.14 ± 0.95 ^{Bb}	7.22 ± 0.40 ^{Aa}	9.89 ± 0.25 ^{Bb}	
L20	6.91 ± 0.11 ^{Aa}	6.32 ± 0.89 ^{Aab}	8.23 ± 0.49 ^{Ab}	

Distintas letras indican diferencias significativas ($pvalue < 0.05$). Mayúsculas: Diferencia entre tratamientos por cada etapa (c/columna). Minúsculas: Diferencia entre etapas por cada tratamiento (c/fila).

La mayor parte de la energía requerida para realizar las tareas diarias del ser humano proviene del consumo de carbohidratos, que se encuentran principalmente en las hortalizas (Alhajri & Saad, 2023). En este caso, en la Tabla 14 se observó que los carbohidratos variaron según el tiempo de germinación, lo que se puede atribuir al proceso de fotosíntesis que realizan las plántulas, ya que este proceso está relacionado con el aumento o disminución de carbohidratos (Alhajri & Saad, 2023).

Por otro lado, en comparación al tratamiento, el que obtuvo la mayor cantidad de carbohidratos fue el T₂-L20, que se determinó por medio de una diferencia de los anteriores análisis proximales.

Hernández & Moreno (2012) mencionan que, en cultivos hidropónicos, debido al rápido crecimiento de la semilla durante este proceso germinativo se activan enzimas que movilizan las reservas de almidón y proteínas de la semilla, transformándolas en principios nutritivos básicos (aminoácidos y azúcares) creando nuevos tejidos vegetales ricos en vitaminas totalmente asimilables y favorables para el metabolismo animal, lo que explica las variaciones que se encontraron en los resultados de los análisis proximales en cuanto a las comparaciones de las distintas etapas de germinación.

Tabla 14. Contenido de carbohidratos (%) de las diferentes etapas de germinación.

Método de secado	Contenido de carbohidratos (%)			
	T1	T2	T3	T0
ST	26.24 ± 0.28 ^{Ba}	31.29 ± 0.67 ^{Ab}	30.10 ± 1.28 ^{Ab}	28.34 ± 0.53
SC	23.63 ± 0.88 ^{Aa}	31.72 ± 0.71 ^{ABc}	29.77 ± 0.19 ^{Ab}	
L20	27.16 ± 0.25 ^{Ba}	33.55 ± 0.86 ^{Bc}	28.94 ± 0.45 ^{Ab}	

Distintas letras indican diferencias significativas ($pvalue < 0.05$). Mayúsculas: Diferencia entre tratamientos por cada etapa (c/columna). Minúsculas: Diferencia entre etapas por cada tratamiento (c/fila).

En la Tabla 15. Se puede observar un resumen de los resultados obtenidos en el análisis bromatológico de las distintas etapas de germinado y el método de deshidratación aplicado.

Tabla 15. Análisis bromatológico de los polvos de germinado de brócoli con los diferentes tratamientos de secado en cada etapa de germinación.

		T₁	T₂	T₃	T₀
%Humedad	ST	3.41 ± 0.09 ^{Cc}	2.95 ± 0.04 ^{Ab}	2.35 ± 0.21 ^{Aa}	4.29 ± 0.13
	SC	2.54 ± 0.06 ^{Aa}	3.19 ± 0.04 ^{Bb}	2.44 ± 0.36 ^{Aa}	
	L	2.90 ± 0.07 ^{Ba}	2.91 ± 0.08 ^{Aa}	2.82 ± 0.26 ^{Aa}	
%Cenizas	ST	4.75 ± 0.28 ^{Aa}	6.93 ± 0.0 ^{Bb}	7.17 ± 0.09 ^{Bb}	4.29 ± 0.13
	SC	4.72 ± 0.11 ^{Aa}	6.80 ± 0.21 ^{A^{Bb}}	7.91 ± 0.15 ^{Cc}	
	L	4.63 ± 0.14 ^{Aa}	6.49 ± 0.08 ^{Ac}	5.17 ± 0.17 ^{Ab}	
%Grasa	ST	31.05 ± 0.34 ^{Ac}	23.32 ± 0.28 ^{Bb}	19.62 ± 0.86 ^{Aa}	35.63 ± 0.30
	SC	36.17 ± 0.37 ^{Bc}	22.94 ± 0.08 ^{ABb}	18.66 ± 0.51 ^{Aa}	
	L	36.07 ± 0.42 ^{Bc}	22.64 ± 0.17 ^{Aa}	24.90 ± 0.21 ^{Bb}	
%Proteína	ST	25.90 ± 0.01 ^{Aa}	30.41 ± 0.11 ^{Ab}	31.55 ± 0.15 ^{Ac}	24.34 ± 0.27
	SC	25.33 ± 0.27 ^{Aa}	31.32 ± 0.07 ^{Cb}	33.76 ± 0.02 ^{Cc}	
	L	25.22 ± 0.72 ^{Aa}	31.01 ± 0.03 ^{Bb}	32.77 ± 0.08 ^{Bc}	
%Fibra Cruda	ST	12.07 ± 0.62 ^{Cb}	8.05 ± 0.74 ^{Aa}	11.56 ± 0.88 ^{Cb}	7.40 ± 0.42
	SC	10.14 ± 0.95 ^{Bb}	7.22 ± 0.40 ^{Aa}	9.89 ± 0.25 ^{Bb}	
	L	6.91 ± 0.11 ^{Aa}	6.32 ± 0.89 ^{Aab}	8.23 ± 0.49 ^{Ab}	
%Carbohidratos	ST	26.24 ± 0.28 ^{Ba}	31.29 ± 0.67 ^{Ab}	30.10 ± 1.28 ^{Ab}	28.34 ± 0.53
	SC	23.63 ± 0.88 ^{Aa}	31.72 ± 0.71 ^{ABc}	29.77 ± 0.19 ^{Ab}	
	L	27.16 ± 0.25 ^{Ba}	33.55 ± 0.86 ^{Bc}	28.94 ± 0.45 ^{Ab}	

Las comparaciones son únicamente entre cada análisis bromatológico aplicado. Distintas letras indican diferencias significativas (*pvalue* < 0.05). Mayúsculas:

Diferencia entre tratamientos por cada etapa (c/columna). Minúsculas: Diferencia entre etapas por cada tratamiento (c/fila).

4. Actividad antioxidante

Para evaluar la capacidad antioxidante de los extractos metanólicos, se analizó el parámetro EC50, definido como la cantidad de muestra (en gramos) necesaria para reducir en un 50% la inhibición de radicales libres. A valores más bajos de EC50, se asocia una mayor actividad antioxidante (Valero *et al.*, 2012). En las Tablas 14 y 15 se presentan los resultados obtenidos mediante los métodos DPPH y ABTS. En el caso del ensayo DPPH (Tabla 15), se observó que en la etapa T₃, el tratamiento L20 mostró la mayor actividad antioxidante; no obstante, sus valores fueron similares a los obtenidos en la etapa T₂. En el ensayo ABTS (Tabla 16), se observó un comportamiento similar, sin embargo, T₂-SC tuvo un EC50 menor al T₃-L20.

Respecto a la comparación con el tiempo de germinación se observó que no existe variación entre la actividad antioxidante de T₂ y T₃, concluyendo que 4 días germinación es la mejor etapa para su actividad antioxidante y que al aumentar el tiempo de germinación puede llegar a perderse. Moreano (2023) realizó un estudio del comportamiento de la actividad antioxidante en la germinación de la kiwicha (*Amaranthus caudatus*), logró observar que la capacidad antioxidante aumenta con el tiempo de germinación hasta el día 3, resultados similares a los obtenidos, del T₂ al T₃ la actividad aumentó; sin embargo, ellos mencionan igualmente que los datos de antioxidantes también se logran ver afectados por prácticas agrícolas y el entorno.

Para el método de secado, un estudio realizado por Zubia *et al.* (2023), en el que se analizaron los compuestos bioactivos del orujo de *Antidesma bunius* L. Spreng deshidratado por calor y liofilización, reportó que la liofilización tuvo un efecto positivo en las propiedades antioxidantes en el ensayo DPPH, sin embargo, en el ensayo ABTS no se observó una diferencia significativa en comparación con el secado por calor; además, concluyen que ciertas técnicas de procesamiento pueden afectar de manera positiva o negativa la bioactividad de algunos antioxidantes. En particular, la liofilización suele preservar de manera efectiva los compuestos bioactivos, como se observa en los resultados obtenidos en el presente estudio.

Desde un punto de vista estadístico, se logró observar que, para el ensayo DPPH, entre las distintas etapas de germinación T₁, T₂ y T₃ no existen diferencias significativas en la

mayoría de los casos. No obstante, en cuanto a los tipos de deshidratado, los resultados varían de manera significativa. En el caso del ensayo ABTS, se observó una tendencia similar a la reportada en la literatura de Zubia *et al.* (2023), ya que el secado por calor, tanto en las variantes ST como SC, no mostró diferencias respecto a la liofilización, preservando de manera favorable la capacidad antioxidante. Asimismo, no se detectaron diferencias significativas entre las etapas T₂ y T₃.

Tabla 16. Concentración Efectiva Media (EC₅₀) de la actividad antioxidante por DPPH las diferentes etapas de germinación.

Método de secado	Concentración Efectiva Media (EC ₅₀) por DPPH			
	T1	T2	T3	T0
ST	144.60 ± 6.09 ^{Aa}	115.11 ± 3.06 ^{Aa}	143.51 ± 23.77 ^{Ba}	77.71 ± 1.24
SC	145.77 ± 22.35 ^{Aa}	118.56 ± 5.78 ^{Aa}	116.29 ± 5.94 ^{ABa}	
L	141.18 ± 15.48 ^{Ab}	154.42 ± 8.34 ^{Bb}	95.87 ± 5.06 ^{Aa}	

Distintas letras indican diferencias significativas (*pvalue* < 0.05). Mayúsculas: Diferencia entre tratamientos por cada etapa (c/columna). Minúsculas: Diferencia entre etapas por cada tratamiento (c/fila).

Tabla 17. Concentración Efectiva Media (EC₅₀) de la actividad antioxidante por ABTS las diferentes etapas de germinación.

Método de secado	Concentración Efectiva Media (EC ₅₀) por ABTS			
	T1	T2	T3	T0
ST	155.07 ± 14.46 ^{Ab}	118.75 ± 3.28 ^{Ba}	103.93 ± 1.46 ^{Aa}	61.43 ± 4.08
SC	144.72 ± 10.03 ^{Ab}	98.43 ± 7.07 ^{Aa}	102.71 ± 2.32 ^{Aa}	
L	138.77 ± 10.25 ^{Ab}	149.95 ± 6.35 ^{Cb}	99.84 ± 4.90 ^{Aa}	

Distintas letras indican diferencias significativas (*pvalue* < 0.05). Mayúsculas: Diferencia entre tratamientos por cada etapa (c/columna). Minúsculas: Diferencia entre etapas por cada tratamiento (c/fila).

También se analizaron los resultados según los $\mu\text{mol EqTrolox/g}$ (micro moles equivalentes de Trolox) donde se observó una tendencia similar al EC50, a diferencia del análisis anterior, entre mayor concentración, mayor capacidad antioxidante tiene el extracto. Kim *et al.* (2021) nos menciona que los valores obtenidos de actividad antioxidante en los extractos de brócoli pueden estar relacionada con la presencia de los glucosinolatos e isotiocianatos contribuyen en gran medida al potencial antioxidante de los extractos de brócoli.

Entre etapas, la actividad antioxidante se logra apreciar que aumenta según el día de germinación, sin embargo, existe poca o nula diferencia significativa tanto para DPPH como para ABTS. Para el tratamiento de deshidratación en DPPH (Tabla 17) existe diferencia significativa entre los secados con calor y liofilización, los liofilizados tienen mayor capacidad, no obstante, para ABTS (Tabla 18) no existe diferencia significativa entre tratamientos en la mayoría de los casos.

Tarasevičienė *et al.* (2019) realizó a determinación de actividad antioxidante durante el proceso de germinación del brócoli, donde obtuvieron en DPPH $6.2 \mu\text{mol EqTrolox/g}$ en la semilla, $18.5 \mu\text{mol EqTrolox/g}$ al primer día de germinación y $21.4 \mu\text{mol EqTrolox/g}$ a los 3 días, logrando observar que la actividad aumenta respecto al tiempo; para ABTS obtuvieron datos distintos, la actividad aumento entre la semilla y el día 3 teniendo un valor de $0,4$ a $1.6 \mu\text{mol EqTrolox/g}$ respectivamente, sin embargo, analizaron el día 5 y lograron observar que disminuyó a $0.8 \mu\text{mol EqTrolox/g}$. Al compararlo con los resultados obtenidos, se obtuvieron valores menores a los reportados, a excepción de la semilla el cual fue mayor, esto se puede justificar con lo mencionado anteriormente por Zubia *et al.* (2023), quienes indican que el proceso de deshidratación puede alterar el contenido de antioxidantes en los alimentos.

Tabla 18. Actividad antioxidante ($\mu\text{mol ET/g}$) por DPPH de las diferentes etapas de germinación.

Método de secado	Actividad antioxidante ($\mu\text{mol ET/g}$) por DPPH			
	T1	T2	T3	T0
ST	$7.41 \pm 0.92^{\text{Aa}}$	$9.20 \pm 0.71^{\text{Bb}}$	$9.61 \pm 0.30^{\text{Ab}}$	14.13 ± 0.34
SC	$7.26 \pm 0.53^{\text{Aa}}$	$8.79 \pm 0.39^{\text{Bb}}$	$9.72 \pm 0.46^{\text{Ab}}$	
L	$8.29 \pm 0.73^{\text{Ab}}$	$6.60 \pm 0.47^{\text{Aa}}$	$11.51 \pm 0.57^{\text{Bc}}$	

Distintas letras indican diferencias significativas ($p\text{value} < 0.05$). Mayúsculas: Diferencia entre tratamientos por cada etapa (c/columna). Minúsculas: Diferencia entre etapas por cada tratamiento (c/fila).

Tabla 19. Actividad antioxidante ($\mu\text{mol ET/g}$) por ABTS de las diferentes etapas de germinación.

Método de secado	Actividad antioxidante ($\mu\text{mol ET/g}$) por ABTS			
	T1	T2	T3	T0
ST	$3.52 \pm 0.64^{\text{Aa}}$	$4.86 \pm 1.03^{\text{ABab}}$	$6.77 \pm 1.02^{\text{Ab}}$	12.05 ± 0.76
SC	$3.88 \pm 1.36^{\text{Aa}}$	$6.61 \pm 1.42^{\text{Ba}}$	$6.27 \pm 1.02^{\text{Aa}}$	
L	$4.44 \pm 0.64^{\text{Aa}}$	$3.83 \pm 0.75^{\text{Aa}}$	$7.87 \pm 1.02^{\text{Ab}}$	

Distintas letras indican diferencias significativas ($p\text{value} < 0.05$). Mayúsculas: Diferencia entre tratamientos por cada etapa (c/columna). Minúsculas: Diferencia entre etapas por cada tratamiento (c/fila).

5. Cuantificación de sulforafano

Para la cuantificación de sulforafano se obtuvieron resultados variados, tal como se observa en la Tabla 19; según el tiempo de germinación, para ST, T₂ días fue el que obtuvo mayor cantidad, para SC fue T₃ y para L20 fue T₁. Lv *et al.* (2020) mencionan que, normalmente en los primeros 3 días se logra observar la mayor cantidad de compuestos bioactivos, en especial del sulforafano, ya que la semilla en ciertos casos puede contener mayor cantidad de sulforafano que el germinado; en el caso de los resultados obtenidos, en la semilla se encontró en mayor cantidad que en otras etapas, pero no mayor a los obtenidos por el germinado liofilizado o al SC del T₃, donde no existe diferencia

significativa entre ellos, el único caso donde se obtuvo lo reportado a la literatura es en el caso del secado tradicional. Viendo que no existe diferencia significativa entre SC y L20 en la última etapa de germinación, esto puede indicar que el pre-tratamiento ayudó a preservar o aumentar la cantidad del sulforafano, logrando competir con la liofilización.

De igual forma en este objetivo se analizó la cantidad de sulforafano en el brócoli entero, teniendo un resultado de 2.23 mg/g, al compararlo con el valor de 17.18 mg/g, el contenido del brócoli es únicamente el 13% del que obtuvo la mayor cantidad, confirmando lo que menciona Chacón (2011) que un germinado de brócoli puede contener hasta 10 veces mayor producción de sulforafano que el brócoli maduro.

Baenas y colaboradores (2017), obtuvieron en germinados liofilizados 0.951 mg/g peso seco de sulforafano, donde ellos querían demostrar que el germinado de brócoli es un alimento completo; comparando este resultado con lo obtenido, se obtuvieron valores mayores incluso en lo secados con calor, algo importante para comparar es que los autores utilizaron extractos acuosos y día 8 de germinación, llegando a suponer que entre mayor tiempo de germinación, existe un punto donde el sulforafano disminuye. Por otro lado, los resultados obtenidos por Tríska y colaboradores (2021), lograron concluir que temperaturas de 60° hasta 100 ° C por cortos periodos de tiempo, pueden llegar a incrementar la cantidad de sulforafano, como se observó en lo obtenido, justificando que no existe diferencia significativa en dos de los casos respecto al secado con pretratamiento de congelación y los liofilizados, cuando muchos reportan que la temperatura indicada para el sulforafano es 40°C.

Al comparar el contenido de sulforafano con los germinados en polvo comerciales tales como HerbaDiet donde 800 mg de muestra contiene 2.4 mg de sulforafano, es una cantidad menor a la obtenida por el secado con pre-tratamiento de congelación considerando un total de 14.47 mg/g en 1000 mg de muestra. De igual forma es mayor al suplemento Maple life sciences, donde cada 400 mg únicamente contiene 0.16 mg de sulforafano o que Koyah que contiene 15 mg por cada 5000 mg, considerando que contiene 3 mg en 1000 mg; lo que lleva a la conclusión que T₃-SC es una buena alternativa al germinado en polvo liofilizado.

Gu y colaboradores (2012) analizaron la cantidad de sulforafano en distintas horas de germinación del brócoli donde consideraron tomar las mediciones cada 12 horas por 3 días; ellos obtuvieron que las primeras 24 horas considerando el tiempo 0, la cantidad de sulforafano disminuyó de 3.4 a 1.0 mg de sulforafano/g, sin embargo, para el día 2 hubo un incremento teniendo como resultado de nueva forma 3.5 mg de sulforafano/g y al tercer día volvió a disminuir a 1 mg de sulforafano/g, lo que significa que la cantidad puede variar dependiendo el día de germinación y no tiene un comportamiento ascendente en todos los casos, tal como se observó con los germinados liofilizados donde en T₁-L se obtuvo la mayor cantidad del compuesto.

Uno de los factores que pueden afectar en la cantidad de sulforafano es la cantidad de glucorafanina presente, ya que el compuesto es el precursor de dicho isotocianato (Campas-Bayoili *et al.* 2009), donde a mayor cantidad de glucorafanina, mayor será la cantidad de sulforafano que se puede obtener (Navas, 2004);, es por esto que Gu *et al.* (2012) de igual forma analizaron el comportamiento de la glucorafanina en los 3 días de germinación, donde ellos observaron que del día 0 a las primeras 12 horas, la cantidad aumenta de 3.8 a 5.5 mg de glucorafanina/g aproximadamente, al día 2 disminuyó a 3.0 mg de glucorafanina/g y al día 3 aumentó a 6.1 mg de glucorafanina/g aprox., siendo este un comportamiento opuesto al sulforafano, lo que comprueba la teoría que la glucorafanina hidroliza a los glucosinolatos para convertirse en isotocianatos, teniendo así menor cantidad de glucorafanina cuando hay mayor cantidad de sulforafano ya que estos fueron hidrolizados.

Tabla 20. Contenido de sulforafano (mg/g de extracto) de las diferentes etapas de germinación.

Método de secado	Contenido de sulforafano (mg/g de extracto)				
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₀	Brócoli
ST	8.32 ± 0.01 ^{Aa}	9.13 ± 0.10 ^{Aa}	8.96 ± 1.53 ^{Aa}	12.74 ± 0.16	2.23 ± 0.08
SC	11.45 ± 0.10 ^{Bb}	8.92 ± 0.20 ^{Aa}	14.47 ± 0.50 ^{Bc}		
L	17.18 ± 2.14 ^{Ca}	14.41 ± 1.57 ^{Ba}	16.77 ± 0.74 ^{Ba}		

Distintas letras indican diferencias significativas (*p*value < 0.05). Mayúsculas: Diferencia entre tratamientos por cada etapa (c/columna). Minúsculas: Diferencia entre etapas por cada tratamiento (c/fila).

Uno de los resultados obtenidos fue el incremento o la retención del sulforafano en las muestras que fueron previamente congeladas, tanto en el tratamiento de liofilización como en la deshidratación por calor, en comparación con el método tradicional. Mahn *et al.* (2018) señala que la congelación del brócoli, después de haber sido cortado y dejado en reposo durante un tiempo determinado, favoreció a una mayor retención de sulforafano durante el almacenamiento en comparación con el brócoli fresco, tal como se observa en la Figura 6. Esto sugiere que la congelación, utilizada como primer método de conservación, contribuyó a maximizar la cantidad de sulforafano en las muestras analizadas.

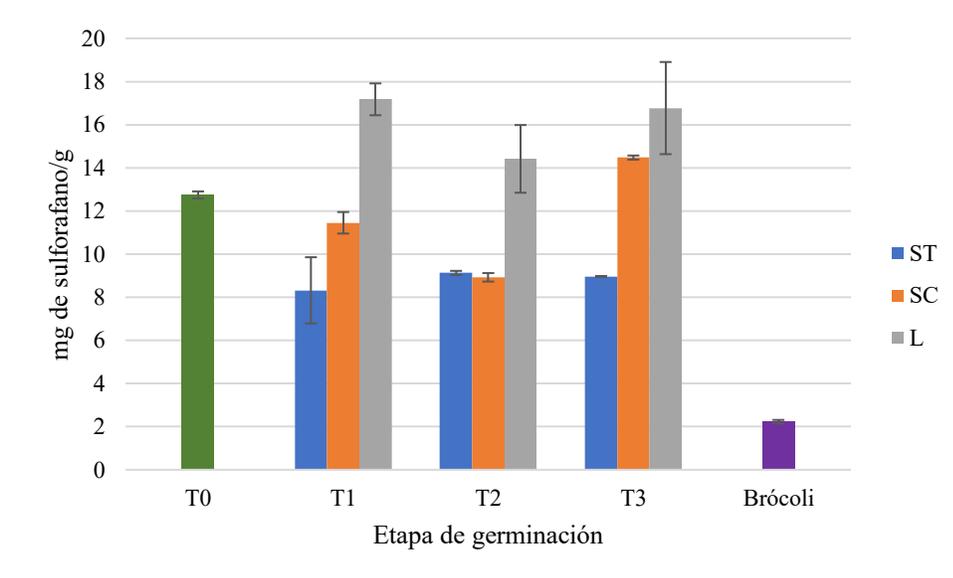


Figura 6. Contenido de sulforafano (mg/g) de las diferentes etapas de germinación deshidratado por los métodos de secado aplicados.

CONCLUSIONES

1. La morfología del germinado de los diferentes parámetros (Raíz, hipocotilo, tallo aéreo largo de hoja, ancho de hoja) se incrementó según el tiempo de y el de hojas se mantuvo constante.
2. El secado con pretratamiento de congelación logró perder la mayor cantidad de agua y llegar a peso constante en menor tiempo en comparación con el secado tradicional en las curvas de secado.
3. La etapa T3 con el secado con pre-tratamiento de congelación logró obtener valores mayores de minerales y proteína necesarios para la dieta humana.
4. El germinado en la etapa T3 secado por SC y L presentaron mayor actividad antioxidante según el EC_{50} y $\mu\text{mol EqTrolox/g}$.
5. El germinado liofilizado de las etapas T1 y T3 presentaron mayor cantidad de sulforafano.
6. El germinado con la etapa T3 secado por SC presentó mayor contenido de sulforafano que los suplementos liofilizados existentes en mercado.

Con los resultados obtenidos se concluye que el método de secado sí influye en el contenido de nutrientes presentes en el germinado de brócoli. El secado con pretratamiento de congelación (T3) presentó características recomendables para ser considerado como una alternativa en la producción de suplementos en polvo para la industria farmacéutica mexicana.

BIBLIOGRAFÍA

- Alhajri, A. S., & Saad, H. H. (2023). The Biological, Biochemical, and Immunological Impact of Broccoli and Green Pea Sprouts on Acrylamide Intoxicated Rats. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 11(3), 1243-1262.
- Alvidrez-Morales, A., González-Martínez, B. E., & Jiménez-Salas, Z. (2002). Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales. *Revista salud pública y Nutrición*, 3(3).
- Ando, Y., Maeda, Y., Mizutani, K., Wakatsuki, N., Hagiwara, S., & Nabetani, H. (2016). Impact of blanching and freeze-thaw pretreatment on drying rate of carrot roots in relation to changes in cell membrane function and cell wall structure. *LWT-Food Science and Technology*, 71, 40-46.
- Arrieta, A. (2021). *Importancia de los germinados para el consumo humano* [Tesis para Obtener el título de Microbióloga Industrial]. Universidad de Santander.
- Bachiega, P., Salgado, J. M., de Carvalho, J. E., Ruiz, A. L. T., Schwarz, K., Tezotto, T., & Morzelle, M. C. (2016). Antioxidant and antiproliferative activities in different maturation stages of broccoli (*Brassica oleracea Italica*) biofortified with selenium. *Food chemistry*, 190, 771-776.
- Baenas, N., Moreno, D. A., & García-Viguera, C. (2018). *Estudio de la bioactividad in vitro e in vivo de brotes de brócoli ricos en glucosinolatos/isotiocianatos*. *Nereis*, (10), 69-78.
- Campas-Baypoli, O. N., Bueno-Solano, C., Martínez-Ibarra, D. M., Camacho-Gil, F., Villa-Lerma, A. G., Rodríguez-Núñez, J. R., ... & Sánchez-Machado, D. I. (2009). Contenido de sulforafano (1-isotiocianato-4-(metilsulfinil)-butano) en vegetales crucíferos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 59(1), 95-100.
- Cedeño, S. (2017). *Efecto de los diferentes procesos de Secado en los compuestos bioactivos de murtilla (ugni molinae turcz) y su bioaccesibilidad* (Doctoral dissertation, Tesis de Magister en ingeniería de alimentos. Lima. Perú).
- Chacaliaza Silva, J. A., Fernández Pineda, P. H., Huamaní Rivera, C. A., León Ramos, J. E., & Melly Acosta, L. A. (2020). Brócoli liofilizado enriquecido con yacón en polvo como suplemento alimenticio–Metfitlife. Recuperado de:

<https://repositorio.usil.edu.pe/server/api/core/bitstreams/3074452d-e1be-4398-a2ca-6ba9146e4b67/content>

- Chacón Lee, T. L. (2011). *Efecto de la aplicación de soluciones de *Chorella Vulgaris* y *Scenedesmus Obliquus* sobre el contenido de compuestos funcionales en germinados de brócoli* (Bachelor's thesis, Universidad de La Sabana.).
- Conzatti, A., Fróes, F. C. T. D. S., Perry, I. D. S., & Souza, C. G. D. (2015). Evidencias Clínicas y moleculares del consumo de brócoli, glucorafanina y sulforafano en humanos. *Nutrición Hospitalaria*, 31(2), 559-569.
- Cortés, M., Chiralt, A., & Puente, L. (2005). Alimentos funcionales: una historia con mucho presente y futuro. *Vitae*, 12(1), 5-14.
- Dandamrongrak, R., Mason, R., & Young, G. (2003). The effect of pretreatments on the drying rate and quality of dried bananas. *International journal of food science & technology*, 38(8), 877-882.
- Fernández, A. M. (2015). *Estudio de la biodisponibilidad y bioactividad de los compuestos funcionales presentes en brócoli y col de Milán* (Doctoral dissertation, Universidad de Extremadura).
- Gascón, A., Muravnick, N., & Andreuccetti, C. (2013). *DESECACIÓN y DESHIDRATACIÓN DE VEGETALES. Manual y esquemas de las elaboraciones industriales*. Facultad de Ciencias Agrarias - Universidad Nacional de Cuyo. Argentina. pp.3
- Gomero, O. (2012). Evaluación de equivalencia de la capacidad antioxidante por el método FRAP del brócoli (*Brassica oleracea*) fresco y deshidratado. Tesis de Doctorado, Universidad Nacional del Callao, Perú.
- Gu, Y., Guo, Q., Zhang, L., Chen, Z., Han, Y., & Gu, Z. (2012). Physiological and biochemical metabolism of germinating broccoli seeds and sprouts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(1), 209-213.
- Guzmán-Díaz, D. A., Treviño-Garza, M. Z., Rodríguez-Romero, B. A., Gallardo-Rivera, C. T., Amaya-Guerra, C. A., & Báez-González, J. G. (2019). Development and characterization of gelled double emulsions based on Chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage mixed with different biopolymers and loaded with green tea extract (*Camellia sinensis*). *Foods*, 8(12), 677.

- Hinojosa-Dávalos, J., Cardona-López, M. A., Gutiérrez-Lomelí, M., Barrera-Rodríguez, A., & Robles-García, M. Á. (2019). Identificación del perfil fitoquímico y efecto del estrés lumínico sobre la capacidad antioxidante del germinado de brócoli en un dispositivo germinador rotatorio tipo tambor. *Biotecnia*, 21(3), 67-75.
- Huamani Medina, M. R. (2021). EFECTO DE LA TEMPERATURA Y LA CONCENTRACIÓN SOBRE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ACUOSO DEL GERMINADO DE *Brassica oleracea var. italica* Plenck (BRÓCOLI). Tesis para obtener el título de Licenciatura en Nutrición y Técnicas Alimentarias. UNIVERSIDAD LE CORDON BLEU, Perú.
- Japa-Paqui, L. E. (2022). *Efectos de los métodos de deshidratación de frutas sobre sus propiedades nutricionales y sensoriales* (Bachelor's thesis, Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. Carrera de Ingeniería en Alimentos).
- Jaramillo J.; Díaz, C. 2005. (Compiladores). El Cultivo de las Crucíferas.
- Kim, H. Y., Ediriweera, M. K., Boo, K. H., Kim, C. S., & Cho, S. K. (2021). Effects of cooking and processing methods on phenolic contents and antioxidant and anti-proliferative activities of broccoli florets. *Antioxidants*, 10(5), 641.
- León, A. M. F. (2016). *Estudio de la biodisponibilidad y bioactividad de los compuestos funcionales presentes en brócoli y col de Milán* (Doctoral dissertation, Universidad de Extremadura).
- Lv, X., Meng, G., Li, W., Fan, D., Wang, X., Espinoza-Pinochet, C. A., & Cespedes-Acuña, C. L. (2020). Sulforaphane and its antioxidative effects in broccoli seeds and sprouts of different cultivars. *Food chemistry*, 316, 126216.
- Mahn, A. V., Pérez, C. E., & Reyes, A. E. (2017). Efecto de las condiciones de secado en lecho fluidizado pulsante sobre el contenido de sulforafano de brócoli. *Información tecnológica*, 28(4), 17-28.
- Mahn, A. V., Román, J. I., & Reyes, A. E. (2016). Efecto de la Liofilización de Brócoli Pre-Procesado sobre la Cinética de Secado y el Contenido de Sulforafano. *Información tecnológica*, 27(6), 95-106.
- Mahn, A., Pérez, C. E., Zambrano, V., & Barrientos, H. (2022). Maximization of Sulforaphane Content in Broccoli Sprouts by Blanching. *Foods*, 11(13), 1906.

- Mahn, A., Saavedra, A., & Paz Rubio, M. (2018). Kinetic study of sulforaphane stability in blanched and un-blanched broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) florets during storage at low temperatures. *Journal of food science and technology*, 55, 4687-4693.
- Medina-Jaramillo, C. (2015). *Estudio del proceso de deshidratación de alimentos frutihortícolas: Empleo de microondas y energía solar* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata).
- Moreano Alarcón, L. (2023). Efecto del tiempo de germinación en el contenido de polifenoles totales, actividad antioxidante y proteínas en dos variedades de kiwicha (*Amaranthus caudatus*). Tesis de Ingeniero Agroindustrial, Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, Perú.
- Morris, S. A. (2011). *Food and package engineering*. John Wiley & Sons. pp.448.
- Mosquera, E., Ayala, A., & Ochoa, C. (2012). Influencia de la congelación con nitrógeno líquido sobre el secado de naranja por liofilización. *Vitae*, 19(1), S204-S206. ISSN: 0121-4004
- Navas Nájera, R. P. (2004). “CUANTIFICACIÓN DE SULFORAFANO PROCEDENTE DE GLUCORAFANINA EN RETOÑOS DE *Brassica oleracea* var. *italica* por Cromatografía Líquida de Alta Resolución.” Tesis para optar el título de Químico. UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.
- Ortiz López, M., Delgado-Alvarado, A., Herrera-Cabrera, B. E., Árevalo-Galarza, Ma. de L., & Barrera-Rodríguez, A. I. (2019). Efecto de dos métodos de secado en los compuestos fenólicos totales, L-DOPA y la actividad antioxidante de *Vicia faba* L. *Nova Scientia*, 11(23), 198–219. <https://doi.org/10.21640/ns.v11i23.2093>
- Osorio, V., Pabón, J., & Gómez, C. R. (2024). Efecto del porcentaje de humedad del café en la actividad de agua. *Revista Cenicafé*, 75(1), e75104-e75104.
- Padilla, C., Fraga, N., & Suárez, M. (2012). Efecto del tiempo de remojo de las semillas de moringa (*Moringa oleifera*) en el comportamiento de la germinación y en indicadores del crecimiento de la planta. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 46(4), 420.
- Poblete, T., Rebolledo, K., Barrera, C., Ulloa, D., Valenzuela, M., Valenzuela, C., ... & González, C. (2020). Effect of germination and cooking on iron content, phytic acid

- and lectins of four varieties of chilean beans (*Phaseolus vulgaris*). *Journal of the Chilean Chemical Society*, 65(4), 4937-4942.
- Sader, A. P. O., Oliveira, S. G., & Berchielli, T. T. (2004). APPLICATION OF KJELDAHL AND DUMAS COMBUSTION METHODS FOR NITROGEN ANALYSIS (Aplicação dos métodos de Kjeldahl e de Dumas para análise de nitrogênio). *Archives of Veterinary Science*, 9(2), 73-79.
 - Sanjuán, N., Benedito, J., Bon, J., & Mulet, A. (2000). Changes in the quality of dehydrated broccoli stems during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(11), 1589-1594.
 - Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural de México (s.f.) BRÓCOLI. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural de México. Recuperado el 27 de septiembre 2024 del URL: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/832758/brocoli.pdf>
 - Suárez, D., & Melgarejo, L. M. (2010). Biología y germinación de semillas. *Experimentos en fisiología vegetal*, 13-25.
 - Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Fisiología Vegetal* Vol. 1. Universitat Jaume, 584. pp. 20-21.
 - Tarasevičienė, Ž., Danilčenko, H., Jariene, E., Paulauskienė, A., & Gajewski, M. (2009). Changes in some chemical components during germination of broccoli seeds. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 37(2), 173-176.
 - Tarasevičienė, Ž., Viršilė, A., Danilčenko, H., Duchovskis, P., Paulauskienė, A., & Gajewski, M. (2019). Effects of germination time on the antioxidant properties of edible seeds. *CyTA-Journal of Food*, 17(1), 447-454.
 - Valero, Y., Colina, J., & Ineichen, E. (2012). Efecto del procesamiento sobre la capacidad antioxidante de la ciruela criolla (*Prunus domestica*). *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 62(4), 363-369.
 - Weber, C. F. (2017). Broccoli microgreens: A mineral-rich crop that can diversify food systems. *Frontiers in nutrition*, 4, 7.
 - Zubia, C. S., Babaran, G. M. O., Duque, S. M. M., Mopera, L. E., Flandez, L. E. L., Castillo-Israel, K. A. T., & Reginio Jr, F. C. (2023). Impact of drying on the bioactive compounds and antioxidant properties of bignay [*Antidesma bunius* (L.) Spreng.] pomace. *Food Production, Processing and Nutrition*, 5(1), 11.