



UNCUYO
UNIVERSIDAD
NACIONAL DE CUYO

80 años



FACULTAD DE
**CIENCIAS
AGRARIAS**

**“CONTENIDO DE HIERRO, CALCIO Y
MAGNESIO DURANTE EL PROCESO DE
PRODUCCIÓN DE GERMINADOS DE
LENTEJAS (*Lens culinaris*) BAJO CULTIVO
AEROPÓNICO”**

Autor: Brom. María Eugenia MARTINEZ

Tesis final para la obtención del grado de Licenciatura en Bromatología

Facultad de Ciencias Agrarias – Universidad Nacional de Cuyo

Alte. Brown 500 – Chacras de Coria – Mendoza

Noviembre 2019

“CONTENIDO DE HIERRO, CALCIO Y MAGNESIO DURANTE EL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE GERMINADOS DE LENTEJAS (*Lens culinaris*) BAJO CULTIVO AEROPÓNICO”

Autor: María Eugenia MARTINEZ

9 de Julio 10738

Puente de Hierro (5527)

Guaymallén - Mendoza

meugemartinezfagliano@gmail.com

Cel.: 261-5698271

Director: MSc Prof. Nora B. MARTINENGO

RESUMEN

Se evaluó el contenido de hierro, calcio y magnesio en semillas secas de lenteja (*Lens culinaris*) y durante el proceso de germinación hasta los 10 días. La germinación se llevó a cabo mediante un proceso de hidroponía, específicamente en aeroponía. La misma tuvo lugar en un invernadero con ventilación y riego por aspersión controlado. Cada dos días se extrajeron muestras y se analizaron los minerales por extracto clorhídrico. Las concentraciones de calcio y magnesio se obtuvieron por método colorimétrico y la concentración de hierro por análisis espectrofotométrico a 490 nm de longitud de onda. Se obtuvieron valores de concentración de los minerales similares los expresados en diferentes tablas de composición de alimentos. La concentración de hierro durante el tiempo de germinación no varió significativamente (p -valor=0,269). La concentración de calcio y magnesio varió durante la germinación y se pudieron plantear dos modelos para su predicción. Como aporte se realizó el desarrollo del proceso automatizado para la obtención de germinados y brotes con aeroponía.

PALABRAS CLAVE

Hidroponia, germinación, brotes de lentejas, hierro, calcio, magnesio, producción automatizada.

AGRADECIMIENTOS

A mi esposo Marcos y mis hijos Valentina, Adriano e Isabella, por el apoyo incondicional y empujarme para que pueda lograr mis objetivos.

A mi familia, por estar siempre.

A Nora, por la paciencia infinita.

A mis compañeros que día a día me enseñan, apoyan y motivan a seguir adelante y buscar nuevos objetivos para avanzar en lo que escogí para mi desarrollo profesional: la docencia.

A todos aquellos que me acompañaron y acompañan.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	9
1.1. ESTADO NUTRICIONAL DE LOS ARGENTINOS RESPECTO AL HIERRO, CALCIO Y MAGNESIO	9
1.1.1. Hierro	9
1.1.2. Calcio	9
1.1.3. Magnesio	10
1.2. LEGUMBRES	10
1.2.1. Composición de las legumbres	11
1.2.2. Las legumbres en nuestro país	12
1.3. Germinados	12
1.3.1. Los brotes y germinados en la normativa argentina	13
1.3.2. El proceso de germinación	14
1.3.2.1. Estructura de las semillas	14
1.3.2.2. Fisiología de la germinación	16
1.3.2.3. Respiración de la Semilla durante la Germinación	18
1.4. Hierro, calcio y magnesio en los vegetales	20
1.5. Metabolismo de hierro, calcio y magnesio en seres humanos	22
1.5.1. Hierro	22
1.5.2. Calcio y magnesio	27
1.5.2.1. Introducción	27
1.5.2.2. Metabolismo del calcio	27
1.5.2.3. Metabolismo del magnesio	30
1.6. Objetivos	34
1.6.1. Objetivo principal	34
1.6.2. Objetivos secundarios	34
2. MATERIALES Y MÉTODOS	35
2.1. Las semillas y la germinación	35
2.2. Las bandejas	36
2.3. Toma de muestra	37
2.4. Determinaciones analíticas	37
2.4.1. Determinación de humedad y materia seca	37
2.4.2. Determinación de minerales	38
2.4.3. Determinación de calcio y magnesio	38
2.4.4. Determinación de hierro	39
2.5. Análisis de los datos	40
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
3.1. Evaluación de hierro, calcio y magnesio en lentejas durante su proceso de germinación bajo cultivo aeropónico	41
3.1.1. Análisis descriptivo	41
3.1.2. Análisis inferencial	43
3.2. Análisis de la concentración de hierro durante la germinación de lentejas bajo cultivo aeropónico	44
3.3. Análisis de la concentración de calcio durante la germinación de lentejas bajo cultivo aeropónico	45
3.4. Análisis de la concentración de magnesio durante la germinación de lentejas bajo cultivo aeropónico	46
3.5. Producción automatizada de semillas germinadas en cultivo aeropónico	47

3.5.1. Ámbito de aplicación, utilización y definiciones	48
3.5.1.1. Ámbito de aplicación	48
3.5.1.2. Utilización.....	48
3.5.1.3. Definiciones	48
3.5.2. Proceso de producción de semillas germinadas	49
3.5.2.1. Generalidades:	49
3.5.2.2. Recepción de semillas:.....	49
3.5.2.3. Pesado de materia prima:	49
3.5.2.4. Lavado y Activación de semillas	50
3.5.2.5. Descontaminación microbiana de las semillas	50
3.5.2.6. Escurrido.....	50
3.5.2.7. Germinación:.....	50
3.5.2.8. Aplicación de luz:.....	50
3.5.2.9. Cosecha:.....	50
3.5.2.10. Enfriamiento:.....	50
3.5.2.11. Envasado	50
3.5.2.12. Almacenamiento	51
3.5.3. Diagrama de flujo para la producción de brotes y germinados mediante cultivo aeropónico para consumo humano.	51
3.5.4. Establecimiento: Mantenimiento y saneamiento	52
4. CONCLUSIONES	53
5. RECOMENDACIONES.....	54
6. ANEXO.....	55
6.1. Datos	55
6.2. Análisis descriptivo.....	55
6.2.1. Hierro	55
6.2.2. Calcio.....	55
6.2.3. Magnesio	55
6.3. Análisis inferencial.....	55
6.3.1. Cálculo de intervalos de confianza 95% para la concentración promedio de hierro (mg%g)	56
6.3.2. Cálculo de intervalos de confianza 95% para la concentración promedio de calcio (mg%g).....	56
6.3.3. Cálculo de intervalos de confianza 95% para la concentración promedio de magnesio (mg%g)	56
6.4. Análisis de regresión para la concentración de hierro (mg%g) vs días de germinación (2 a 10 días).....	56
6.4.1. Salida de InfoStat para el modelo potencial	56
6.4.2. Salida de InfoStat para el modelo exponencial	57
6.4.2.1. Análisis de supuesto de normalidad	57
6.4.3. Análisis de regresión para modelo no lineal (Logístico)	58
6.4.4. Análisis de la varianza para el modelo de un Diseño completamente aleatorizado... ..	59
6.4.4.1. Análisis de supuestos.....	59
6.5. Análisis de regresión para la concentración de calcio (mg%g) vs días de germinación (2 a 10 días).....	60
6.5.1. Salida de InfoStat para el modelo lineal	60
6.5.1.1. Análisis de supuestos.....	61
6.5.2. Salida de InfoStat para el modelo lineal de medias	61
6.5.2.1. Análisis de supuestos.....	63
6.6. Análisis de regresión para la concentración de magnesio (mg%g) vs días de germinación (2 a 10 días).....	63

6.6.1. Salida de InfoStat para el modelo lineal	63
6.6.1.1. Análisis de supuestos	64
6.6.2. Salida de InfoStat para el modelo polinómico de 2do grado.....	65
6.6.3. Salida de InfoStat para el modelo exponencial (semilogarítmico)	66
6.6.3.1. Análisis de supuestos	67
6.6.4. Salida de InfoStat para el modelo potencial (logarítmico)	67
7. Bibliografía	69

1. INTRODUCCIÓN

1.1.1. ESTADO NUTRICIONAL DE LOS ARGENTINOS RESPECTO AL HIERRO, CALCIO Y MAGNESIO

1.1.2. HIERRO

La deficiencia nutricional de hierro en nuestro país es elevada a pesar que presenta uno de los más altos consumos de carne, especialmente rojas, en el mundo (50kg/hab/año) con una disponibilidad promedio de hierro de 140% según las Hojas de Balance de los Alimentos. Aun así, se han observado resultados de insuficiente ingesta de hierro, causa principal de anemia según el Ministerio de Salud de la Nación, (MSN, 2016, pág.77). El diagnóstico lo realizó un equipo compuesto por profesionales de diferentes áreas en el marco de la elaboración de la Guía Alimentaria para la Población Argentina (MSN, 2016).

Los resultados reflejan que las alteraciones nutricionales más prevalentes en la infancia son anemias (16,5% de niños/as de 2 a 5 años y escolares) y baja talla para la edad (4,2%). En la población preescolar se encontró un déficit de hierro en 16,5% de niños de 6 a 72 meses y déficit de Vitamina A en 14,3% de los niños entre 2 y 5 años. En mujeres de 19 a 49 años se presenta el 18,7% de la población con déficit de hierro, 18% con anemia, 11,9% con déficit de Vitamina B12 y 0,8% de folatos.

Los resultados de la Encuesta Nacional de Nutrición y Salud de 2007 (ENNyS, Plan Federal de Salud, Ministerio de Salud de la Nación) revelan que la mediana de ingesta de hierro fue de 12,43 mg, siendo la mínima ingesta de 11,85 mg y la máxima de 13,14 mg. Se valoró además la ingesta de hierro hemínico, con una mediana nacional de 0,92 mg de entre 0,84 y 0,95 mg ingeridos, y del hierro biodisponible de la dieta se obtuvo una mediana de 0,69 mg entre 0,61 y 0,75 mg. (MSN, 2016). Estos valores no superan, en promedio, la cobertura del requerimiento de ingesta diaria de hierro (18 mg/día, según consenso para la población argentina, MSN, 2016).

La falta de relación entre el alto consumo de carnes rojas (47 kg/hab/año, diagnóstico arrojado en el 2011) (MNS, 2016) y la presencia de anemia, puede deberse al bajo consumo de frutas y verduras, fuente de ácido ascórbico y otros compuestos que favorecen la absorción de hierro hemínico. Según la Tercer Encuesta Nacional de Factores de Riesgo para enfermedades no transmisibles de la Dirección de Promoción de la Salud y Control de Enfermedades No Transmisibles Ministerio de Salud de la Nación del 2013 (ENFR, 2013), el promedio diario de porciones de frutas o verduras consumidas fue de 1,9 porciones por persona, cantidad que se encuentra muy por debajo de la recomendación de 5 porciones diarias. En Argentina 34,7% de la población consume frutas diariamente, el 35,9% come verduras y el 4,9% consume diariamente 5 porciones de frutas y verduras. (MSN, 2016)

1.1.3. CALCIO

Con respecto al consumo de calcio se encontró que la mediana fue de 367 mg, con un consumo mínimo de 273 mg y un máximo de 406 mg. La Ingesta Adecuada o Recomendada (IA) para una dieta de 2000 kcal/día, es de 840 mg/día. En una muestra nacional el porcentaje de mujeres con ingesta menor a la IA de calcio fue de 94,3%, siendo en el NOA del 97,8% y 92,3% en la región pampeana. Aballay¹ (2012), estudió la ingesta de calcio aportada por alimentos en mujeres y observó que el 50% no superaba 734mg (ABALLAY y cía, 2012).

Los principales alimentos fuente de calcio son los productos lácteos como leche, queso y yogurt, pero existen también fuentes no lácteas importantes por el aporte de vitamina D necesaria para la absorción del mineral. Estas fuentes son las verduras de hoja verde oscuro como la espinaca y el brócoli, algunos pescados, legumbres y frutos secos.

1 Aballay R. La obesidad en Córdoba: estudio de su prevalencia e identificación de factores de riesgo [Internet]. Universidad Nacional de Córdoba. FCM. Córdoba, Argentina; 2012.

En el primer semestre de 2012 el consumo per cápita² según productos fue del 58% de leche fluida (esterilizada, pasteurizada y chocolatada), 16% de quesos (con un mayor consumo de pasta blanda, seguidos de los de pasta semidura en un 13%, los de pasta dura 5% y los fundidos en un 1%), 16% yogurt, 5% dulce de leche, 4% leche en polvo (entera y descremada), 2% postres y 0,2% leche condensada. Según datos de la Hoja de Balance de Alimentos el calcio constituye desde hace tiempo un nutriente crítico (adecuación de la disponibilidad al requerimiento inferior al 80%), por lo que su consumo tampoco llega a cubrir las necesidades.

1.1.4. MAGNESIO

El magnesio se presenta en los alimentos de origen vegetal y algunos de origen animal. Como fuentes de magnesio tenemos: verduras de hoja verde (por ejemplo, espinaca y col rizada), fruta (higos, aguacates, plátanos y frambuesas), nueces y semillas, legumbres (porotos negros y garbanzos), verduras (arveja, brócoli, col, chaucha, alcaucil, espárrago, col de Bruselas), salmón, atún, granos integrales (arroz integral y avena), cacao crudo, chocolate oscuro, tofu y algas.

El bajo consumo de vegetales supone el no cumplimiento de las necesidades de este micronutriente, siendo su IA 320 mg/día para mujeres, 400 mg/día para hombres, embarazadas y adolescentes. Durante el relevamiento para las Guías Alimentarias para la Población Argentina (2016) no se ha realizado un estudio del consumo o el estado nutricional respecto al magnesio en la dieta.

1.2. LEGUMBRES

En el plan alimentario promedio se ha jerarquizado a las legumbres para aumentar su consumo, para ello el plan contiene herramientas prácticas para incluirlas en la dieta. En este sentido la FAO y el Ministerio de Salud de la Nación recomiendan aumentar las ingestas de vegetales y en concreto de legumbres secas y porotos, por proporcionar nutrientes y compuestos fitoquímicos con efectos beneficiosos para la salud. Asimismo, observan que bastan alrededor de 90 g de porotos alubias o lentejas secas para proporcionar mayores ingestas de fibra, proteína, ácido fólico, cinc, hierro y magnesio con un menor aporte de grasa (saturada y total), lo que respalda la recomendación realizada. Las legumbres, económicas y ricas en nutrientes contribuyen a mejorar la calidad de la dieta (Mitchel, 2009).

Las legumbres son plantas que pertenecen a la familia Fabácea, que se caracteriza porque en ella se encuentran numerosas especies cuyas semillas son utilizadas en la alimentación humana. En el Codex Alimentarius se consideran como más relevantes el poroto de *Phaseolus spp.*, lentejas de *Lens culinaris medicinalis* o *Lens esculenta*, arvejas de *Pisum sativum*, garbanzos de *Cicer arietinum*, habas de *Vicia faba* y poroto negro o caupí de *Vigna unguiculata*.

Son una buena fuente proteica e interesan por su bajo contenido lipídico y el tipo de fibra dietética. Otros aspectos de interés son su adaptación a suelos y climas poco favorables y su papel en la rotación de cosechas por su capacidad para fijar nitrógeno al suelo, gracias a la simbiosis con diversas bacterias radiculares. Las zonas de cultivo con altitudes superiores a 800 m ofrecen excelentes condiciones para el desarrollo de la lenteja en siembras realizadas desde el mes de abril hasta la segunda quincena de Mayo. Cuanto mayor es el período de exposición de las semillas a ambientes adversos, como los de temperatura y humedad elevadas, mayor es la tasa del deterioro de la semilla (Binotti Et Al., 2008). Los efectos de la germinación sobre la composición química, aspectos nutricionales y características sensoriales varían con las especies, cultivares vegetales y las condiciones de germinación de las semillas (Ellis Et Al., 1986; Ellis; Barrett, 1994).

Las semillas de plantas leguminosas son clave en la seguridad nutricional de grandes grupos poblacionales. Constituyen la principal fuente de proteínas en muchos países en

² El consumo per capita está calculado con los datos de población mensualizados. Lácteos – M.A.G. y P. Nación

desarrollo, en especial entre los grupos más pobres, que obtienen las proteínas y la energía de fuentes vegetales, mientras que, en los países desarrollados donde el consumo de legumbres estaba disminuyendo con los años, la incorporación de alimentos saludables ha favorecido el incremento de su consumo.

1.2.1. COMPOSICIÓN DE LAS LEGUMBRES

En la composición de las legumbres interesa destacar los contenidos de proteínas, hidratos de carbono de asimilación lenta, minerales (calcio, hierro, cinc), fibra y algunos componentes bioactivos minoritarios.

La fracción proteica más abundante son las globulinas, solubles en soluciones salinas, relativamente pobres en aminoácidos azufrados (metionina, cisteína y triptófano), pero con contenidos de lisina muy superiores a los de los granos de cereales, de forma que leguminosas y cereales se complementan en el aporte proteico. En dicha complementación influyen también los contenidos de aminoácidos secundarios limitantes (treonina en los cereales y triptófano en las legumbres). Las deficiencias de aminoácidos esenciales tradicionalmente se han superado incluyendo las legumbres en platos que contienen cereales.

Se consideran excelentes fuentes de almidón de digestión y asimilación lenta. El índice glucémico de las legumbres es bajo y esto contribuye de forma beneficiosa al control de la glucemia posprandial y el metabolismo lipídico; por lo tanto, son adecuadas también en la dieta del diabético y de interés para la disminución del riesgo de enfermedades cardiovasculares (Hawkins y otros, 2005; Riskalla y otros, 2002). En los obesos las comidas con bajo índice glucémico aumentan la saciedad y facilitan el control de la ingesta alimentaria.

Las leguminosas tienen alto contenido en minerales pero de biodisponibilidad baja ya que se unen a los fitatos, compuestos que constituyen el principal inhibidor de la absorción de hierro y cinc. Algunas leguminosas tienen además contenidos importantes de polifenoles que inhiben la absorción de hierro. Se han estudiado las maneras de eliminar eficientemente los fitatos y, probablemente, también polifenoles durante el procesado/elaboración de los alimentos aumentando la actividad de las fitasas y enzimas que degradan estos compuestos de los vegetales o añadiendo preparaciones de enzimas. El remojo, la germinación, el tratamiento térmico y la fermentación pueden incrementar la actividad de las enzimas de las legumbres (Greiner y otros, 2002).

Un reciente estudio (Trinidad y otros, 2010) con el objetivo de valorar los potenciales beneficios para la salud derivados del consumo de legumbres concluyó que la biodisponibilidad de los minerales varía en función de su concentración, las interacciones entre minerales y los contenidos de ácidos fítico y tánico. Además, propone en la conclusión final la consideración de las legumbres como alimento funcional.

El elevado contenido de fibra es otro de los aspectos de interés para su consumo. La fibra alimentaria o dietética es una mezcla compleja de hidratos de carbono que están asociados a otros componentes distintos de éstos (proteínas, ceras, saponinas o fitoesteroles). Sus propiedades fisicoquímicas producen efectos fisiológicos beneficiosos para la salud. Las "fibras solubles" forman geles viscosos en el intestino y afectan principalmente a la absorción de glucosa y grasa, mientras que las "fibras insolubles" aumentan el volumen fecal, tienen un efecto saciante al incrementar el tiempo de vaciado gástrico y disminuyen el tiempo de tránsito intestinal, lo que favorece un efecto anticarcinogénico. El alto contenido de fibra hace a las leguminosas recomendables en dietas de adelgazamiento y en el control de la diabetes mellitus tipo 2 (Gray, 2006).

Se presentan en su composición numerosos compuestos bioactivos en pequeñas cantidades, pero que pueden tener efectos metabólicos y fisiológicos de interés. Algunos de estos componentes (fitatos, galactooligosacáridos, inhibidores de proteasas, lectinas, saponinas, etc.) se han clasificado como factores antinutricionales, pero en numerosos estudios se ha reconsiderado el impacto beneficioso que pueden tener en la salud, por lo que actualmente se los considera compuestos bioactivos. Algunos de ellos pueden tener un papel en la prevención de enfermedades. A modo de ejemplo, se mencionan los efectos beneficiosos y perjudiciales de los fitatos y los galactooligosacáridos.

Los galactooligosacáridos de alubias, garbanzos y lentejas tienen el inconveniente de producir flatulencia y molestias intestinales, por lo que se tiende a seleccionar variedades con elevado contenido proteico y pobres en galactooligosacáridos (Da Silva y otros, 2006). No obstante, los α -galactósidos desempeñan importantes funciones durante el desarrollo de vegetales y semillas y tienen un efecto prebiótico al estimular de forma beneficiosa el crecimiento y la actividad de bifidobacterias y lactobacilos en el colon humano. Además, al ser fermentados por las bacterias intestinales producen compuestos (ácidos grasos de cadena corta) que inducen la muerte de células tumorales (Martínez, Frías, 2008).

En relación con el ácido fítico, debido a su efecto negativo en la biodisponibilidad de los minerales de las leguminosas, se han estudiado distintos procedimientos para degradarlo (cocción, germinación, fermentación, remojo), pero desde hace unos años este compuesto es objeto de interés por sus efectos beneficiosos en la calcificación y reduciendo la formación de cálculos renales, los efectos en la glucemia y el perfil lipídico, las propiedades antioxidantes y la potencial actividad anticarcinogénica (Schlemmer, 2009).

1.2.2. LAS LEGUMBRES EN NUESTRO PAÍS

En nuestro país, el Instituto de Estudios sobre Realidad Argentina y Latinoamericana (IREAL) de la Fundación Mediterránea, realizado entre los años 2009 y 2010, analizó la producción, consumo y exportaciones sobre tres legumbres: los porotos, las arvejas y el garbanzo. La producción supera ampliamente el nivel de consumo interno, por ello el país coloca más del 95% de la producción en los mercados externos (el 80,7% del total de las exportaciones de la cadena corresponde a porotos y aproximadamente el 97% de la producción de poroto seco se destina a exportación).

En Argentina el consumo de legumbres es escasa, se ubica alrededor de los 120 gramos por habitante por año, mientras que el promedio mundial se mantiene estable en alrededor de 6 kg/persona/año. Del volumen consignado, el 50% corresponde a lentejas, el 22% a porotos, alrededor del 18% arvejas y el 10% a garbanzos. Del total de porotos, la variedad alubia es característica de la gastronomía del norte argentino y en menor medida en la zona centro y sur del país (Min. Hacienda y Finanzas Públicas de Argentina, 2016).

A pesar de su valor nutritivo, las legumbres no tienen el reconocimiento que merecen debido a un grado insuficiente de innovación para el desarrollo de productos que se adapten a la vida actual. A ello debe añadirse la preferencia de muchos consumidores por las proteínas animales, de mayor prestigio, más fáciles de preparar y con mayor aceptación sensorial.

En los países industrializados se observa un incremento en el consumo per cápita de legumbres, lo que se atribuye a la conciencia sobre los beneficios para la salud. Los contenidos elevados de proteínas de origen animal, generalmente acompañados de grasa, de las dietas en dichos países estimulan a los consumidores a la búsqueda de fuentes alternativas de proteínas, con bajos contenidos de grasa. En este sentido las legumbres constituyen una excelente alternativa y ofrecen la ventaja adicional de un buen aporte de fibra.

1.3. GERMINADOS

Una alimentación saludable nos previene de ciertas enfermedades, por lo que actualmente se valora más la inclusión en nuestra dieta de alimentos que aporten algunos compuestos bioactivos, entre ellos vitaminas que nos protejan de ellas, además de tener un mayor valor nutritivo. Los germinados y brotes son alimentos caracterizados por haberse mejorado en nutrientes en relación al mismo alimento sin germinar, muy beneficiosos para la salud debido a que contienen algunos antioxidantes como la vitamina C. (Bolívar A. y otros, 2009).

En muchos países del mundo los germinados están incluidos en la dieta, aunque en otros no son tan frecuentes ni se conocen sus propiedades. Sin embargo, la germinación como fuente de alimentos es uno de los procesos más antiguos utilizado desde hace siglos. Se utiliza en los restaurantes chinos ya sea frescos, salteados, al vapor o hervidos, como ingredientes en la elaboración de platos como los "rollitos primavera".

En China, en el año 3000 a. C., el emperador Shen Nong Ben Cao Jing incentivaba a su pueblo al consumo diario de germinados de legumbres. Chinos y japoneses germinaron especialmente la soja, el denominado mung (*Vigna radiata* (L)) y la cebada para usarlos como suplemento fijo en su alimentación. En el Antiguo Egipto, las mujeres consumían germinados aromáticos como los del fenogreco o alholva, ya que al transpirar emanaba el agradable olor de este germinado. En occidente uno de los mejores navegantes del siglo XVIII, el capitán Cook, usó una bebida fermentada a base de germinados de cereales para prevenir el escorbuto (Ponce de León et al., 2011).

Los conceptos de semillas germinadas y brotes son diferentes. La semilla germinada o germinado se relaciona con el primer estadio post-germinación. En esta etapa, dos a tres días de iniciado el proceso de germinación, el germen comienza a transformar la reserva nutritiva en el alimento vivo para ser asimilado por la nueva planta. En cambio, el brote corresponde a un estadio más avanzado de desarrollo, de cinco a siete días, donde se observa la presencia de radícula, vástago y clorofila, la pérdida de la cáscara y la asimilación de casi toda reserva nutritiva (Marcos Hijo, 2005).

Antes del inicio de la germinación, la semilla es una fuente de proteínas, carbohidratos y a veces grasas, pero no de vitaminas. Por lo general, las semillas son duras y de difícil digestión. Sin embargo, la germinación y el crecimiento del embrión promueven una intensa actividad metabólica en la cual se producen varias reacciones químicas, entre ellas, la síntesis de las enzimas. También hay consumo de gran parte de carbohidratos y grasas reaprovechados en la síntesis de vitaminas, azúcares, proteínas y sales minerales, siendo así de fácil digestión y asimilación (Egli; Tekrony, 1997).

Miranda et al. (2002) refieren que posiblemente la germinación sea uno de los procesos más antiguos, económicos y sencillos empleados para mejorar el valor nutricional de granos de cereales y de leguminosas. Desde este punto de vista, la germinación de éstas y otras semillas presenta una considerable importancia y pueden llegar a ser una fuente potencial de ingredientes alimenticios más ricos en nutrientes. Entre las modificaciones en la composición, se pueden apreciar variaciones de los carbohidratos solubles y de las proteínas, así como un incremento de la vitamina C, lo que origina una mejora en el valor nutritivo de los germinados (Dávila et al., 2003 y Pamplona Roger, 1999). Se suele incrementar el contenido de vitaminas del grupo B y sobre todo la vitamina C, mejorando la digestibilidad proteica, reduciendo factores antinutricionales en las leguminosas, tales como inhibidores de proteasas, ácido fítico y lectinas, provocando una hidrólisis de oligosacáridos (rafinosa y estaquiosa), siendo éstos causantes de provocar flatulencia al consumirlos (Barcelos y cía, 2002; Doblado y cía, 2007; Yang y cía, 2001).

Además de incrementar la biodisponibilidad de nutrientes, aumenta la palatabilidad de ciertos alimentos. Durante la germinación las semillas necesitan ciertas condiciones ambientales favorables, como la presencia de oxígeno, luz, temperatura y humedad que determinan el desarrollo del olor y el sabor de los germinados. Es la fase del desarrollo vegetal más rica en nutrientes fácilmente digeridos y asimilados y corresponden, en sus características fisiológicas, a un proceso pre-digestivo. (Bressani y cía, 1984)

1.3.1. LOS BROTES Y GERMINADOS EN LA NORMATIVA ARGENTINA

En nuestro país existe una tendencia al consumo de brotes y germinados de forma regular. Ya se encuentran en el mercado algunos de estos productos de forma generalizada, como son los brotes de soja, mal llamados de soja porque son en realidad lo comúnmente denominado soja verde (*Vigna radiata*), alfalfa, lenteja y otros menos comunes como brotes de poroto aduki, poroto mung, chía, amaranto, arveja, fenogreco y otros. Tienen una amplia aplicación ya que pueden consumirse en fresco o como componente de productos preparados como ensaladas, sopas, salsas y otros alimentos. Son aptos para el consumo del público en general y para su conservación se recomienda la refrigeración a una temperatura de 4°C. Estos productos pueden también ser utilizados en la preparación directa de otros alimentos o también pueden ser deshidratados o escaldados. Su vida útil en refrigeración es de un máximo de 8 días.

A la fecha el Código Alimentario Argentino define a los brotes en el artículo 820, dentro del capítulo XI “Alimentos Vegetales”, como “[...] *“brotes de... (indicación de especie)” se designa a las plántulas desarrolladas hasta cotiledones abiertos, de distintas especies vegetales frescas incluidas en este Código.[...]”*. Según esta denominación cualquier tipo de brote puede ser consumido sin límites ni avisos en etiqueta. Más adelante, en el artículo 852, hace referencia a los brotes de alfalfa dentro de “HORTALIZAS- Hortalizas de hoja”, pero no especifica ninguna característica de éste u otro brote en todo el reglamento.

En cuanto a las normas microbiológicas sobre los brotes no advierte nada específico, en el artículo 925 *quater*³ plantea, en lo general, para las hortalizas y frutas frescas. De acuerdo a esta especificación, los brotes deberían obedecer a la norma para las hortalizas frescas por su denominación dentro de ese apartado, pero por su producción y presentación al consumidor corresponderían a la normativa para las hortalizas mínimamente procesadas, enteras o cortadas, peladas o no, **lavadas**, tratadas (desinfectadas) o no y envasadas, listas para consumir.

En contraposición, frente a los hechos de intoxicación ocurridos en el año 2011 por la ingesta de brotes contaminados⁴, la Unión Europea ha elaborado una reglamentación completa y específica, no sólo para los brotes sino también para la producción de semillas destinadas a la producción de brotes (UE, 2013)⁵. Esta reglamentación de ejecución toma como base un estudio realizado por la EFSA (European Food Safety Authority), el cual fue publicado en el Journal EFSA en 2011, dando las pautas a las normativas hoy vigentes en la Unión Europea en lo que respecta a denominación, procedimiento, normas microbiológicas, trazabilidad y comercialización (importación) (EFSA, 2011).

1.3.2. EL PROCESO DE GERMINACIÓN⁶

1.3.2.1. Estructura de las semillas

La semilla es el óvulo fecundado, transformado y maduro. Constituye el órgano de dispersión y perpetuación de las angiospermas y representa la culminación de la evolución reproductiva de las plantas. Ésta se forma mediante la embriogénesis cigótica, que

³ Artículo 925 quater – (Resolución Conjunta SPRel N° 192/2012 y SAGyP N° 799/2012)

Las frutas y hortalizas deberán ajustarse a las siguientes normas microbiológicas:

2.- Vegetales mínimamente procesados: Hortalizas y frutas frescas, enteras o cortadas, peladas o no, lavadas, tratadas (desinfectadas) o no y envasadas, listas para consumir.

Parámetro	Criterio microbiológico	Método de referencia (1)
E.coli NMP/g	n=5 c=0 m= < 0.3	BAM-FDA: 2002, método I o II ISO/TS 16649-3:2005
Salmonella spp.	n=5 c=0 Ausencia en 25g	BAM-FDA: 2011 ISO 6579: 2002
E. coli O157: H7/NM	n=5 c=0 Ausencia en 25g	BAM-FDA: 2011 ISO 16654:2001

⁴ 2011: “[Escherichia coli O104:H4. Ensalada de pepinos y germinados de soja aderezados con una gestión imprudente de las autoridades sanitarias alemanas.](http://www.bbc.co.uk/mundo/noticias/2011/06/110610_ecoli_semillas_germinadas_men.shtml) Más de 3800 personas afectadas y 58 muertes. En el año 2012 no se ha podido esclarecer estas intoxicaciones ya que sólo el 10% de los casos pudieron conectarse con el consumo de los germinados.” Noticia publicada en el BBC Mundo el 10 de julio 2011. http://www.bbc.co.uk/mundo/noticias/2011/06/110610_ecoli_semillas_germinadas_men.shtml

⁵ R (CE) n°208/2013; R (CE) n°209/2013; R (CE) n°210/2013; R (CE) n°211/2013 y R (CE) n°704/2014

⁶ Courtis - Cátedra de Fisiología Vegetal- UNNE - Germinación de semillas - 2013

comprende los cambios morfológicos, estructurales y de expresión génica que tienen lugar desde la formación del cigoto hasta el final del desarrollo y la maduración del embrión.

En las plantas con flores la fecundación es doble: de los gametos masculinos del grano de polen, uno fecunda el gameto femenino, célula huevo u ovocélula, formando el cigoto, y el otro gameto se une a los núcleos polares, formando el endosperma (Figura 1).

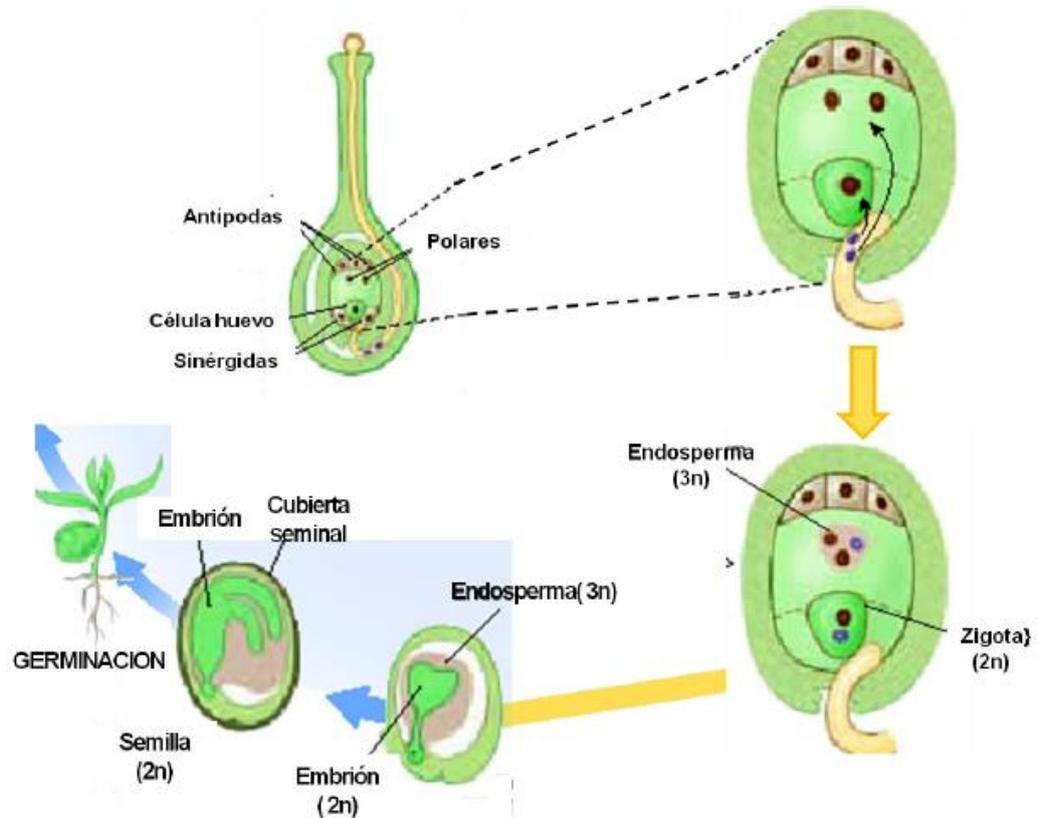


Figura 1: Estructura del ovulo de una flor, fases de formación de una semilla y sus componentes en Angiospermas. (Modificado de Raven 2007 Introducción a la biología).

La semilla está compuesta de tres partes básicas: el embrión; los tejidos de almacenamiento de alimentos; y la cubierta de la semilla. Las células del embrión contienen una gran cantidad de alimentos almacenados (aceites, almidón y proteínas). Generalmente los cotiledones o el endosperma actúan como reserva de carbohidratos, lípidos y proteínas que darán la energía para el desarrollo de la plántula durante la germinación. En algunas especies otras partes del embrión sirven también como reservorios.

Las sustancias de reserva durante la germinación son hidrolizadas y transportadas al eje embrionario en crecimiento, lo que lleva aparejado un cambio en las estructuras que la contienen. El carbohidrato de reserva más importante es el **almidón** que se encuentra en forma de granos en el citoplasma. El almidón se almacena en los amiloplastos y la síntesis de Adenosíndifosfato – glucosa (ADP-glucosa) se produce en su interior.

Los **lípidos**, (constituidos principalmente como grasas neutras) están acumulados en organoides con membrana, llamados *esferosomas* que se encuentran distribuidos al azar en el citoplasma. Además de los carbohidratos, lípidos y proteínas se encuentran otras sustancias de reserva como fosfato orgánico y varios componentes inorgánicos.

Las **proteínas** de reserva, están acumuladas en cuerpos específicos, los denominados *cuerpos proteicos* de membrana simple, derivados de la deposición de proteínas en pequeñas vacuolas o más raramente en el RE, que se encuentran distribuidos al azar en el citoplasma. Las proteínas de reserva representan un 50% del total de proteínas de la semilla.

Las **cubiertas de las semillas o testa** pueden estar constituidas por los tegumentos, los remanentes de la nucela y del endospermo y a veces, partes del fruto. Proporcionan protección mecánica al embrión, haciendo posible manejar las semillas sin dañarlas, permitiendo así transportarlas a grandes distancias y almacenarlas durante períodos considerables. Además, influyen sobre la germinación de las mismas.

1.3.2.2. **Fisiología de la germinación**

La germinación solamente puede llevarse a término mediante una degradación de la cubierta por el propio eje embrionario (secreción de enzimas hidrolíticas) o bien mediante agentes microbianos presentes en el suelo. Por otra parte, la impermeabilización impuesta por la cubierta seminal afecta el intercambio gaseoso, impidiendo la entrada de O_2 y la salida de CO_2 . A veces la cubierta impermeable puede retener una serie de inhibidores de la germinación.

La germinación es el conjunto de fenómenos por los cuales el embrión, que se halla en estado de vida latente dentro de la semilla, reanuda su crecimiento y se desarrolla para formar una plántula. De acuerdo a Hartam y Kester, deben cumplirse tres condiciones: que el embrión sea viable (que esté vivo), que los factores externos sean favorables y que no presente factores internos que impidan la germinación.

La germinación comprende cuatro etapas principales:

1. La imbibición de agua;
2. La síntesis y activación de los sistemas enzimáticos;
3. Degradación de las sustancias de reserva
4. Elongación de las células del embrión y emergencia de la radícula

1. *Imbibición:*

El paso inicial de la germinación es la imbibición en agua de varios tejidos de la semilla, lo que generalmente provoca su aumento de volumen. La imbibición es un fenómeno físico por el cual se produce la entrada de agua desde el medio a la semilla. La fuerza impulsora es el gradiente de potencial agua entre la semilla y el ambiente, pero su permeabilidad es muy importante para determinar la tasa de flujo del agua. La cantidad de agua que ingresa depende de las especies, pero en general es muy alta y depende del tipo de sustancias de reserva que contengan. Las leguminosas alcanzan a absorber hasta 180% de su volumen.

El agua penetra a través de los tegumentos, la micrópila, la lente (estrofiolo), las paredes y las membranas celulares y se liga por uniones de hidrógeno a los coloides y otras sustancias eléctricamente cargadas que se hallan en estado de gel. Esto provoca un hinchamiento de la semilla.

Al inicio el ingreso de agua es rápido. Las macromoléculas y estructuras se rehidratan y recuperan sus formas funcionales, durante este periodo, los solutos de bajo peso molecular pueden perderse desde las semillas.

Paralelamente y como consecuencia de la imbibición se reactiva la actividad respiratoria en la semilla.

La tasa de imbibición se ve afectada por varios factores que pueden determinar la respuesta a la germinación de las semillas.

a. Permeabilidad de la cubierta seminal: El caso más evidente es el de semillas cuyas cubiertas son totalmente impermeables al agua. Sin embargo, también se dan ejemplos en que la penetración de agua es restringida y no impedida.

b. Concentración de sales del agua: En general, la imbibición es más rápida cuando la semilla está en contacto con agua pura que cuando el agua contiene solutos. El principio que opera es el de presión de difusión del agua. De aquí que las semillas absorben agua

más lentamente en suelos secos o salinos, no solo porque hay menos agua, sino que también es causa de una menor presión de difusión del agua.

La permeabilidad de la semilla depende de la morfología, estructura, composición, contenido inicial de humedad y temperatura de imbibición de la semilla. La velocidad de penetración del agua es determinante de la germinación: si es muy lenta la germinación se retrasa y se pierde viabilidad y si es muy rápida, las semillas pueden sufrir daño por excesiva imbibición. A medida que las semillas toman agua se produce una liberación de un gran volumen de gases y una rápida pérdida de solutos solubles como azúcares, aminoácidos y ácidos orgánicos. En el suelo estos solutos pueden estimular el crecimiento de patógenos que invaden las semillas y la deterioran.

c. *Temperatura*: El calor es una forma de energía. Cuando se calienta el agua que está en contacto con la semilla, parte de la energía suministrada se invierte en aumentar la difusión de agua, por lo tanto, aumenta la tasa de absorción de agua, dentro de ciertos límites.

d. *Presión hidrostática*: Conforme el agua penetra en las semillas, ésta provoca un aumento de volumen y presión en las membranas celulares. Asimismo, las membranas celulares oponen resistencia de igual magnitud, la que resulta en un aumento de la presión de difusión del agua interna, aumentando su difusión hacia afuera y por lo tanto disminuyendo la tasa de absorción de la semilla.

e. *Área de la semilla en contacto con agua*: Considerando otros factores constantes, la tasa de absorción de agua es proporcional a la magnitud del área de las semillas en contacto con el agua. En algunas clases de semilla ciertas regiones son más permeables que otras, por ejemplo, el hilo en las semillas de leguminosas.

f. *Fuerzas intermoleculares*: Son en general fuerzas de naturaleza eléctrica. Cualquier aumento en estas fuerzas disminuye la presión de difusión del agua y por tanto la tasa de absorción de las semillas. El efecto de estas fuerzas es más evidente en el suelo. Suelos de bajo contenido de agua sujetan tenazmente la humedad mediante fuerzas intermoleculares.

2. La síntesis y activación de los sistemas enzimáticos

La entrada de agua en el interior de las semillas da lugar a una dispersión de los coloides necesaria para la vuelta a la vida activa; rehidrata las reservas alimenticias que sólo pueden transformarse en sustancias accesibles al embrión en presencia de agua. Con el aumento de la hidratación de las semillas, se activan las enzimas. En las semillas que poseen endosperma, las enzimas aparentemente se mueven del embrión hacia los tejidos endospermicos. Los alimentos previamente almacenados, sea en el endosperma o en los cotiledones, son digeridos, y los productos solubilizados por el proceso digestivo migran hacia los puntos de crecimiento del embrión.

En esta fase ocurren dos fenómenos fundamentales para la germinación. El primero es la reactivación de las enzimas, inactivadas por la extrema desecación y, el segundo, la síntesis de otras inexistentes.

Para iniciar el crecimiento del embrión las reservas de la semilla se movilizan, convertidas de la forma insoluble a la soluble, o a formas derivadas transportables y/o metabolizables.

Durante la germinación, en la capa de aleurona que rodea el endosperma se producen enzimas como amilasas y maltasas que transformarán el endosperma amiláceo a glucosa. Las experiencias realizadas demuestran que el embrión sintetiza giberelinas que desatan este proceso. Las giberelinas⁷ desempeñan un papel muy importante en la germinación

⁷ La giberelina es una fitohormona producida en la zona apical, frutos y semillas. Sus principales funciones son la interrupción del período de latencia de las semillas, haciéndolas germinar, la inducción del desarrollo de yemas, frutos y la regulación del crecimiento longitudinal del tallo como así también la elongación de órganos axiales. Su acción se considera opuesta a la de otra hormona vegetal, el ácido abscísico.

mediante la inducción de la síntesis de α -amilasa y su posterior secreción desde las capas aleuronales al endosperma. Este proceso es inhibido por el ácido abscísico ⁸(ABA).

En los cotiledones de las semillas que almacenan lípidos, los ácidos grasos son liberados de los cuerpos lipídicos por lipoxigenasas, entran en los glioxisomas (pequeñas organelas) donde sucesivos ciclos de oxidación generan acetil coenzima A (Acetil-CoA), que será usada para formar succinato en el ciclo del glioxilato. Este ácido orgánico ingresa a la mitocondria y al ciclo de Krebs. El oxalacetato obtenido del ciclo de los ácidos tricarbónicos actuará posteriormente como sustrato para la síntesis de sacarosa.

3. Degradación de las sustancias de reserva.

Las enzimas degradan las reservas de la semilla y ponen a disposición del embrión no sólo los nutrientes, sino también energía generada por la fermentación y la respiración de los sustratos solubilizados. Es así como los hidratos de carbono insolubles (almidón, inulina) son degradados por hidrolasas a monosacáridos solubles, como la glucosa, fructosa, etc. Los triglicéridos, principales lípidos de reserva de muchas leguminosas, son degradados en tres orgánulos: cuerpos lipídicos, mitocondrias y glioxisomas, son descompuestos a glicerol y ácidos grasos. Las proteínas de reserva son hidrolizadas a aminoácidos por proteinasas.

4. Elongación de las células del embrión y emergencia de la radícula.

Todo esto provoca que el embrión disponga de suficientes nutrientes para crecer normalmente. Todos los productos de la hidrólisis nutren al embrión, para el inicio de su crecimiento. La radícula o la plúmula ejercen presión sobre el tegumento lo que lleva a la emergencia con la ruptura de la testa caulinar el órgano que emerge en primer lugar. Una vez fuera, la radícula penetra en el suelo, produce pelos absorbentes y a veces raíces laterales, comenzando los procesos de absorción de nutrientes y agua.

1.3.2.3. Respiración de la Semilla durante la Germinación

La respiración en las semillas embebidas ha sido diferenciada en cuatro etapas. La *primera* es un rápido aumento de la respiración, ya que las mitocondrias son activadas y la replicación mitocondrial se estimula, llevando al inicio de la glucólisis (Figura 2), seguida por el ciclo de Krebs (Figura 3) y la cadena transportadora de electrones en las mitocondrias (Figura 4). Se cree que el sustrato es principalmente la glucosa.

En la *segunda etapa*, la respiración se mantiene estacionaria alrededor de 15 a 20 horas desde el comienzo de la imbibición, debido a que el oxígeno no difunde con velocidad suficiente según la necesidad de la semilla y el camino metabólico se deriva a la fermentación. La restricción del rápido flujo de oxígeno al embrión es causada por la resistencia que le ofrecen los tegumentos.

En la *tercera etapa*, la radícula ha crecido y alcanzado la testa que aparece con fisuras en varias partes. Esto facilita la entrada de oxígeno, lo que incrementa nuevamente la respiración, a la que contribuye el mayor número de mitocondrias y de enzimas activas. Comienza la síntesis proteica, inicialmente del *ácido ribonucleico mensajero* (ARNm) previamente almacenado, seguido de la transcripción y translación de nuevo ARNm a medida que los genes involucrados en la germinación se activan.

En la *cuarta fase*, se produce una disminución de la respiración causado por el agotamiento de las reservas, que todavía la fotosíntesis de la plántula no compensa.

⁸ El ácido abscísico (abreviado como ABA) es una fitohormona con importantes funciones dentro de la fisiología de la planta. Participa en procesos del desarrollo y crecimiento del embrión, así como en la respuesta adaptativa a estrés tanto de tipo biótico como abiótico

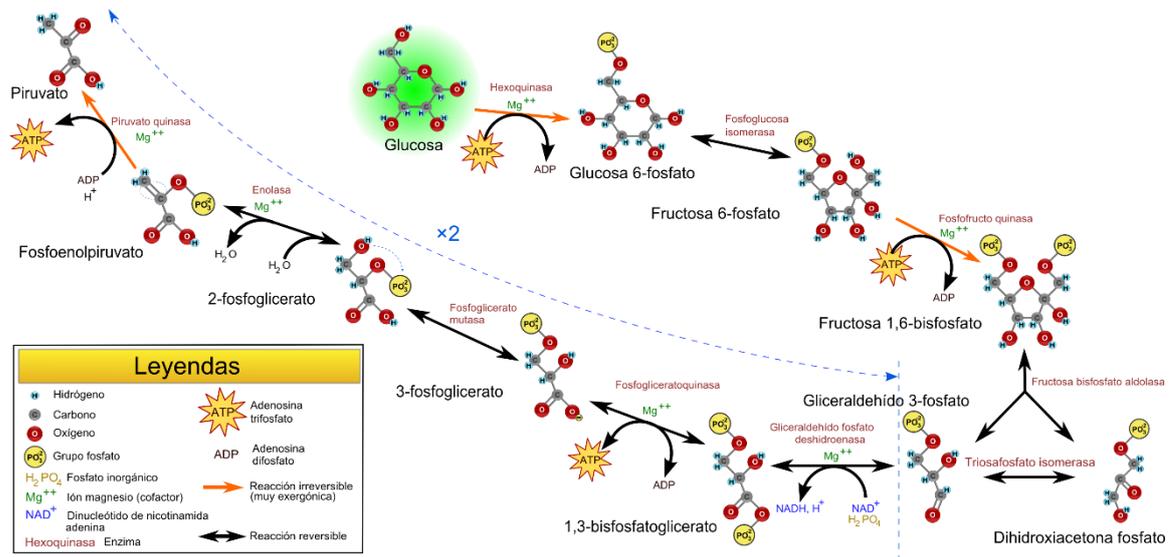


Figura 2: Las funciones de la glucólisis es la generación de moléculas de alta energía (ATP y NADH) como fuente de energía celular en procesos de respiración aeróbica. La generación de piruvato que pasará al ciclo de Krebs, como parte de la respiración aeróbica.

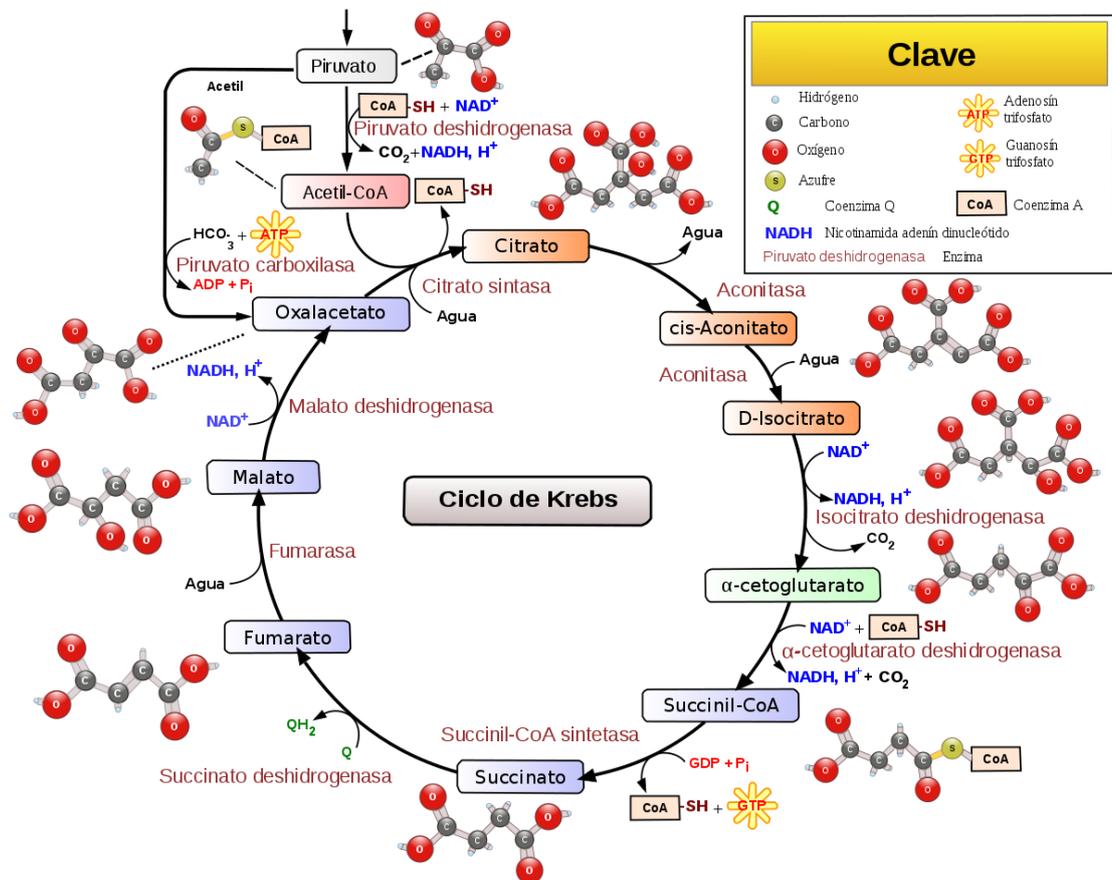


Figura 3: El ciclo de Krebs (ciclo del ácido cítrico o ciclo de los ácidos tricarbóxicos) es una ruta metabólica, es decir, una sucesión de reacciones químicas, que forma parte de la respiración celular en todas las células aerobias, donde es liberada energía almacenada a través de la oxidación del acetil-CoA derivado de carbohidratos, lípidos y proteínas en dióxido de carbono y energía química en forma de ATP. Se realiza en la matriz mitocondrial. En la célula procarionta, el ciclo de Krebs se realiza en el citoplasma. Además, el ciclo proporciona precursores de ciertos aminoácidos, así como el agente reductor NADH que se utiliza en numerosas reacciones bioquímicas. Su importancia central para muchas vías bioquímicas sugiere que uno de los primeros componentes establecidos del metabolismo celular. En organismos aeróbicos, el ciclo de Krebs

es parte de la vía catabólica que realiza la oxidación de glúcidos, ácidos grasos y aminoácidos hasta producir CO_2 , liberando energía en forma utilizable: poder reductor y GTP (en algunos microorganismos se producen ATP).

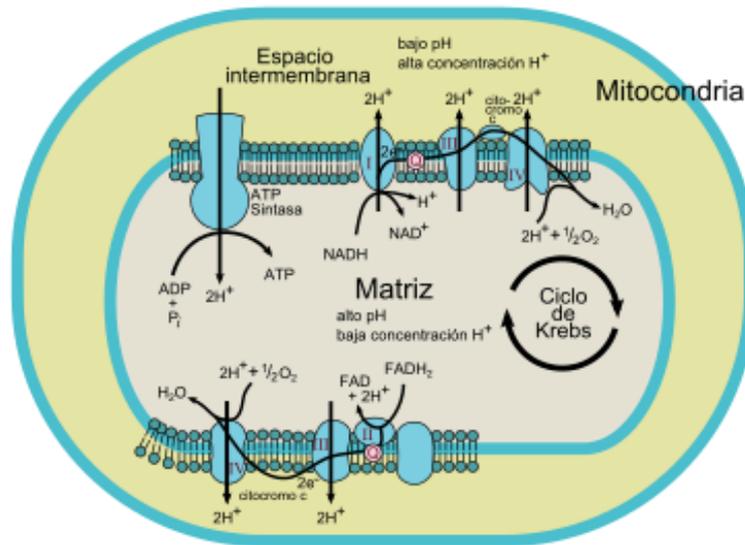


Figura 4: La cadena de transporte de electrones es una serie de transportadores de electrones que se encuentran en la membrana plasmática de bacterias, en la membrana interna mitocondrial o en las membranas tilacoidales, que mediante reacciones bioquímicas producen adenosín trifosfato (ATP), que es el compuesto energético que utilizan los seres vivos.

1.4. HIERRO, CALCIO Y MAGNESIO EN LOS VEGETALES

Existen más de 100 elementos químicos en la naturaleza, de los cuales sólo 17 se consideran esenciales para la vida de las plantas. Son elementos que en su ausencia éstas se muestran incapaces de completar su ciclo de vida. Los nutrientes pueden ser minerales o no minerales. Dentro de los nutrientes minerales se encuentran los macronutrientes, o los que se necesitan en mayor proporción como *nitrógeno*, *fósforo*, *potasio*, *calcio*, *magnesio* y *azufre*, y los micronutrientes, que son necesarios en menor proporción como *boro*, *cloro*, *cobre*, *hierro*, *manganeso*, *molibdeno*, *níquel*, *cinc*, etcétera.

Se ha propuesto una clasificación para los elementos esenciales relacionada con la función fisiológica de los mismos dentro de la planta, teniendo en cuenta su desempeño bioquímico.

- Grupo 1: elementos que son parte de compuestos orgánicos, como nitrógeno y azufre.
- Grupo 2: elementos involucrados en el almacenamiento de energía o de la integridad estructural, como fósforo, silicio y boro.
- Grupo 3: nutrientes que permanecen en la forma iónica; potasio, calcio, magnesio, cloro, manganeso y sodio.
- Grupo 4: elementos involucrados en las reacciones de óxido-reducción; hierro, cinc, cobre, níquel y molibdeno.

El **hierro** (Fe) es un micronutriente esencial, requerido por las plantas. Constituye aproximadamente el 5% de la corteza terrestre y se encuentra asociado con hematitas, sideritas y en combinaciones con materia orgánica. El Fe es absorbido como catión ferroso (Fe^{2+}) o en cualquiera de sus formas si está quelatado, ya sea natural o artificialmente. Sin embargo, existe una baja disponibilidad para ser utilizado por las raíces debido a factores que limitan la presencia de este micro elemento.

Se ha demostrado que la absorción del hierro sólo ocurre durante el crecimiento de las raíces. Sin embargo, un exceso de humedad en el suelo disminuye la presencia de oxígeno, limitando así el crecimiento radicular y por consiguiente la absorción. También restringe el incremento de CO_2 que genera la aparición de bicarbonatos (HCO_3^-). El proceso de absorción se inicia cuando la planta libera hidrogeniones (H^+) por las raíces lo que genera una reducción del pH en la rizósfera y facilita la solubilización del catión férrico (Fe^{3+}), quelación y reducción

a Fe^{2+} . Finalmente, el catión ferroso ingresa a las raíces por un mecanismo de transportadores específicos.

Este mineral desempeña un importante papel estructural en varios sistemas enzimáticos donde la **hemina** funciona como grupo prostético. Entre ellos figuran las catalasas, peroxidasas y varios citocromos. Estos permiten el mecanismo respiratorio de las células. Otras enzimas como la **ferredoxina** son importantes en las reacciones de óxido-reducción en la planta (reducción de nitrito y sulfato). El hierro no forma parte de la clorofila, pero es indispensable para su biosíntesis (al suministrar Fe a las plantas se observa una buena correlación entre hierro y contenido de clorofila). Además, este micronutriente es un catalizador enzimático de varias reacciones bioquímicas.

El **calcio** es abundante en la mayoría de los suelos, rara vez se comporta como un factor limitante, y se absorbe como catión calcio (Ca^{2+}). Es componente de las paredes celulares y tiene una función importante en la estructura y permeabilidad de las membranas. Es un activador de las enzimas amilasa y adenosintrifosfatasa (ATPasa).

En los **cultivos hidropónicos** la deficiencia en calcio se caracteriza por un pobre desarrollo radicular. Los síntomas de deficiencia son siempre más evidentes en tejidos jóvenes y zonas meristemáticas de raíces, tallos y hojas. Existen dos razones principales que explican este hecho: por un lado, la división celular se ve afectada por la deficiencia de calcio y en los tejidos mencionados el índice mitótico es alto; por otro, la lámina media que se forma entre dos células hijas, uno de cuyos principales componentes es el pectato cálcico, puede verse alterada.

Su concentración intracelular es muy baja, del orden de 1 μ molar (micromolar), aunque se absorbe en grandes cantidades y su presencia en la planta es similar a la que puede tener el fósforo, el azufre o el magnesio, lo que puede significar hasta el 1% de materia seca. La mayor parte de calcio se localiza extracelularmente en la pared celular, en los pectatos de la lámina media y en las membranas. En el interior de la célula, el calcio se encuentra en las vacuolas donde, dado el pH ácido de las mismas, puede precipitar como sales de oxalato, fosfato, carbonato, sulfato, etc., según las especies. Sin embargo, su concentración en el citosol (citoplasma) sigue siendo muy baja, pues si bien activa algunas enzimas, muchas otras son inhibidas frente a concentraciones de calcio por encima de 1 μ M (micromol) (Figura 5). Además, las corrientes citoplasmáticas también se ven inhibidas por concentraciones mayores a ese valor, así como la formación de sales de calcio insolubles con ATP y otros fosfatos orgánicos.

El calcio se requiere también para la integridad y funcionalidad de las membranas y se ha visto implicado como segundo mensajero en el funcionamiento de algunas hormonas y en respuestas medioambientales. En ésta función está implicada por la fosforilación de algunas proteínas, de manera que el calcio puede desempeñar un importante papel en la actividad y regulación de algunas enzimas. Su unión reversible a una pequeña proteína citosólica, la calmodulina⁹, le permite ejercer una importante función como modulador enzimático y desempeñar un papel fundamental en el mundo de las señales celulares y en el desarrollo vegetal.

El **magnesio** es el componente principal de la clorofila. El magnesio rara vez es factor limitante para las plantas, salvo en suelos muy ácidos o arenosos. Se absorbe como catión magnesio (Mg^{2+}) y se comporta como un elemento móvil tanto en la planta como en la célula. Las hojas adultas son las primeras en expresar situaciones de deficiencia, al emigrar el magnesio a las hojas más jóvenes. Aproximadamente, el 20 % del magnesio total de las hojas se encuentra en los cloroplastos, aunque sólo entre el 10 % y el 20 % se presenta en las moléculas de clorofila (Figura 6). El resto se encuentra localizado en forma iónica soluble en el espacio intratilacoidal y al iluminarse el cloroplasto, pasa al estroma donde activa enzimas tan importantes como la rubisco, la fosfoenolpiruvato carboxilasa y la glutamato sintetasa. La

⁹ La calmodulina (CaM) es una proteína ácida intracelular, de bajo peso molecular y termoestable que se localiza principalmente en el cerebro y el corazón, y que se expresa en todas las células eucariotas, siendo uno de los reguladores en la transducción de la señal de calcio en la célula.

asignación fotosintética del carbono y el nitrógeno depende en gran medida de la concentración de Mg^{2+} en el cloroplasto. También interviene en el metabolismo energético de la planta al formar complejos con el ATP, ya que las ATPasa utilizan como sustrato los complejos Mg-ATP. Incluso, la propia fosforilación del ATP a partir del ADP necesita Mg^{2+} .

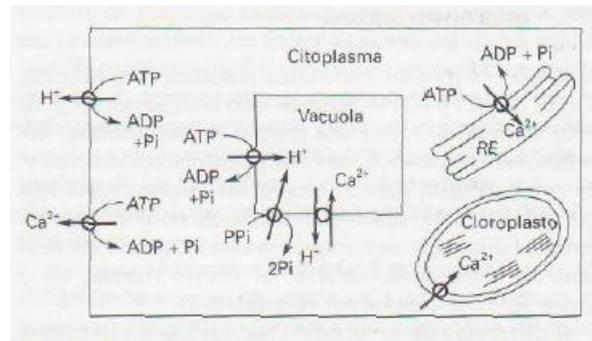


Figura 5: Regulación de la concentración intracelular de Ca^{2+} , que se acumula principalmente en la vacuola en forma de oxalato, carbonato, etc., pero también en el retículo endoplasmático (RE) y en el cloroplasto. (Fuente: Fundamentos de Biología Vegetal, Azcón-Bieto)¹⁰

Esa propiedad de establecer uniones tanto iónicas como covalentes, especialmente en el caso de la clorofila lleva al magnesio a estar presente en procesos claves, como la unión y estabilización de las subunidades del ribosoma y, por tanto, en la biosíntesis de proteínas e incluso en la transcripción del mensaje genético por la activación de la RNA polimerasa. Por esta razón, un aumento en la proporción de nitrógeno soluble no proteico puede ser un parámetro de diagnóstico químico de la deficiencia de magnesio.

1.5. METABOLISMO DE HIERRO, CALCIO Y MAGNESIO EN SERES HUMANOS

1.5.1. HIERRO¹¹

Aunque exista en pequeñas cantidades en los seres vivos, el hierro tiene un papel vital en el crecimiento y supervivencia de los mismos. Es necesario no sólo para lograr una adecuada oxigenación tisular sino también para el correcto funcionamiento del metabolismo de la mayor parte de las células. En el ser humano, es un elemento con funciones de gran importancia debido a que participa en procesos vitales. Al hierro lo podemos hallar siendo parte de enzimas del ciclo de Krebs, en la respiración celular y como transportador de electrones en los citocromos. Se encuentra en enzimas involucradas en el mantenimiento celular (catalasas, peroxidasas y oxidasas). Debido al elevado potencial redox y su facilidad para sintetizar compuestos tóxicos, el metabolismo del hierro es controlado por un potente sistema regulador.

El hierro puede encontrarse en el organismo como funcional y también como reserva. Funcionalmente se encuentra en: la hemoglobina (65%), la transferrina (0,1 – 0,2%) y las enzimas que lo requieren como cofactor o como grupo prostético (15%). El hierro de reserva forma parte de la ferrina y homosiderina (20%).

La **hemoglobina** es una hemoproteína de la sangre, de color rojo característico, que transporta el oxígeno desde los órganos respiratorios hasta los tejidos, el dióxido de carbono desde los tejidos a los órganos respiratorios que lo eliminan y participa en la regulación del pH de la sangre. Tiene una estructura cuaternaria, que consta de cuatro subunidades con un grupo hemo en cada subunidad. (Figura 7 y Figura 8)

¹⁰ Azcón-Bieto y Talón. Fundamentos de fisiología Vegetal. 2000. Ed. Universitat de Barcelona. España.

¹¹ Tortora y cía - Principios de anatomía y fisiología - 11º. Ed. - Buenos Aires: Médica Panamericana, c2006.

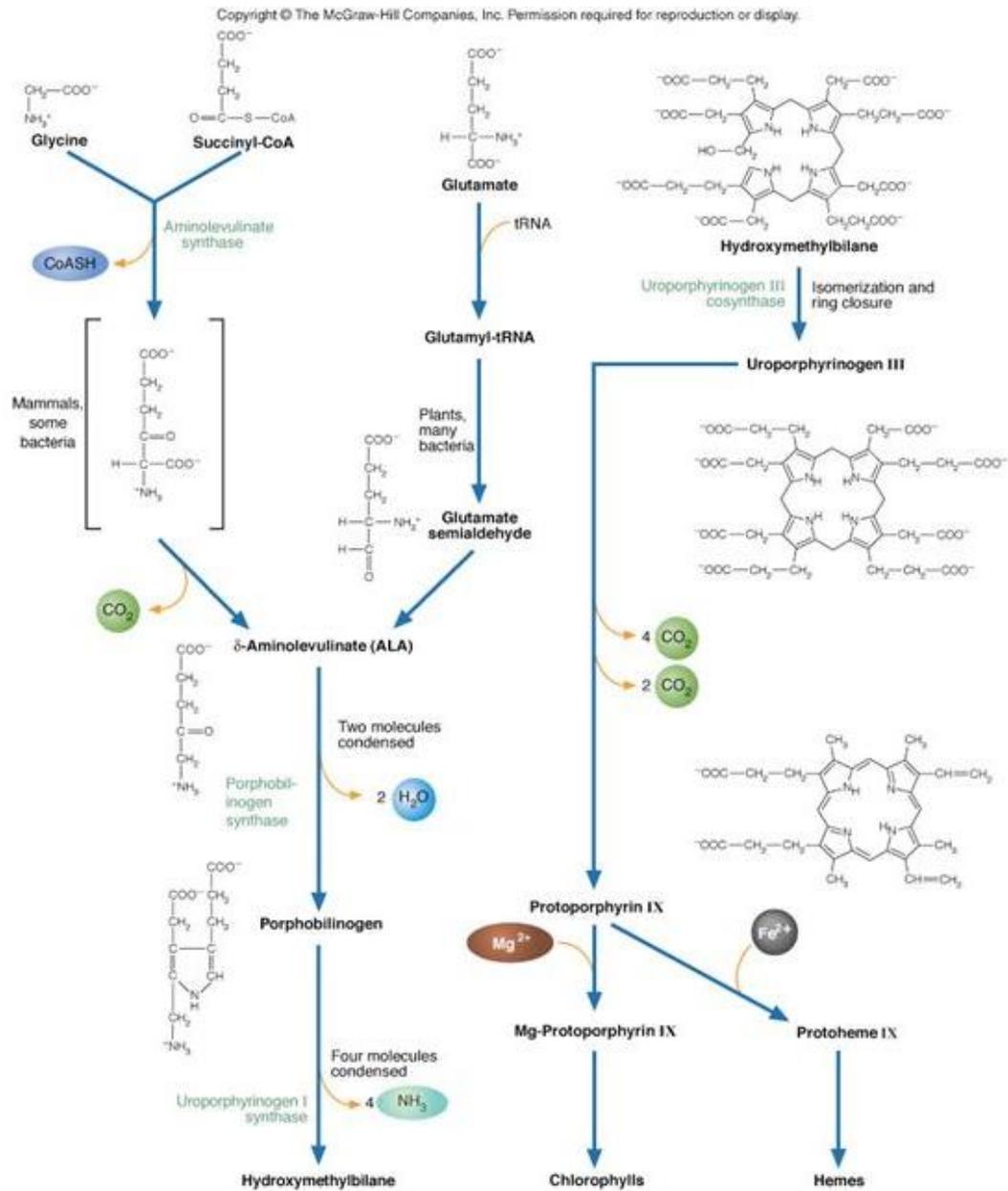


Figura 6: Tanto el Fe como el Mg desempeñan un papel clave en la síntesis de la molécula de clorofila. A partir de la protoporfirina encontramos Fe como constituyente del grupo hemo en los sistemas redox, pero no de la clorofila.

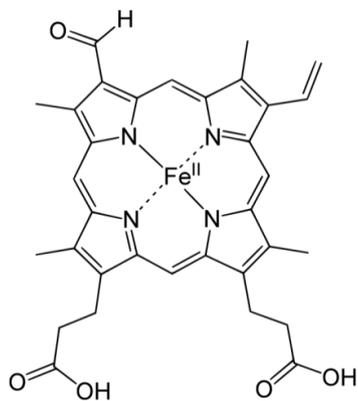


Figura 7: Estructura del grupo hemo

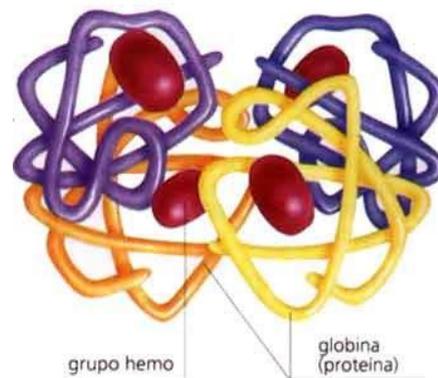


Figura 8: Estructura cuaternaria de la hemoglobina

La **mioglobina** es una hemoproteína muscular, que está presente en el corazón y en el músculo esquelético, cuya principal función es almacenar oxígeno. Es relativamente pequeña constituida por una cadena peptídica de 153 aminoácidos y por un grupo hemo. La mayoría de los aminoácidos hidrófobos se encuentran hacia el interior de la proteína generando cavidades hidrófobas. Dentro de una de ellas se encuentra el grupo hemo unida de manera no covalente, esencial para la actividad biológica de unión de oxígeno. (Figura 9)

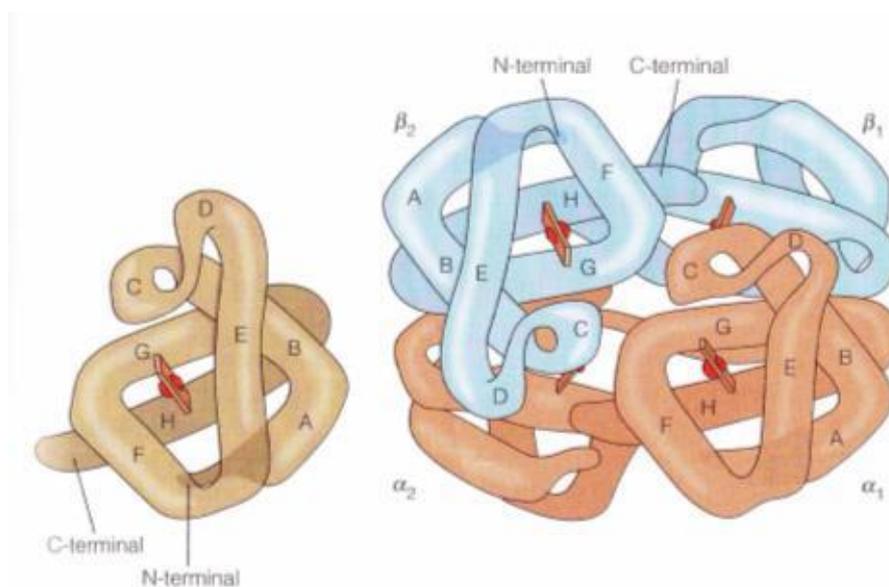


Figura 9: Estructura molecular de la mioglobina.

La **transferrina** es una β - 2 globulina, la proteína transportadora específica del hierro en el plasma. Es de forma elipsoidal constituida por una cadena simple de polipéptidos que tienen dos sitios activos de unión con el hierro. Se conoce que posee tres pools de hierro plasmático: un pool conformado por la transferrina monoférrica, otro por la transferrina diférrica y la tercera es la apotransferrina, carente de hierro. Se comportan diferentes y tienen diferente tasa de recambio, siendo la forma monoférrica mucho menos efectiva. (Figura 10)

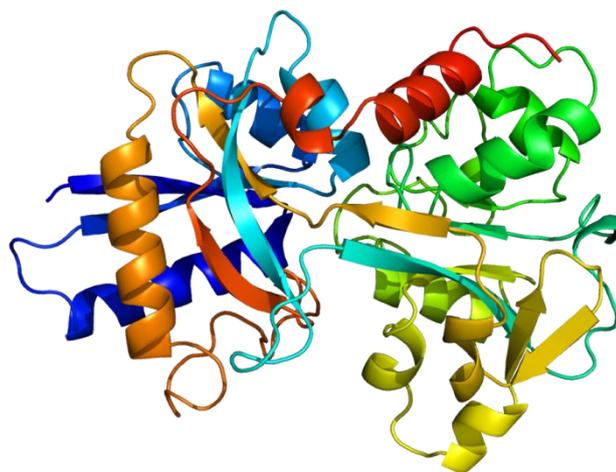


Figura 10: Estructura de la proteína transferrina

La proteína de almacenamiento de hierro es la **ferritina** (Figura 11), que se encuentra principalmente en el hígado, bazo, mucosa intestinal y médula ósea. Está constituida por una capa externa de proteína soluble, la **apoferritina**, y en el interior por un compuesto férrico. Ésta proteína puede contener hasta 4500 átomos de hierro en forma de fosfato básico férrico. Cada capa de apoferritina tiene 24 subunidades de dos tipos: la subunidad H y la subunidad L. Dependiendo del tejido y del estado funcional de la célula, la relación de las subunidades H y L pueden variar ampliamente.

La H-ferritina juega un papel importante en la desintoxicación rápida del hierro, mientras que la L-ferritina está implicada en la nucleación, la mineralización y almacenamiento de hierro. El almacenamiento no sólo permite tener hierro a disposición sino también evita la toxicidad, ya que el hierro iónico no unido es altamente tóxico. Cuando la ferritina comienza a acumularse se genera la **hemosiderina**, dando lugar a gránulos orgánicos impregnados con óxido férrico y proteínas degradadas, las cuales son insolubles y no homogéneas. (Figura 12)

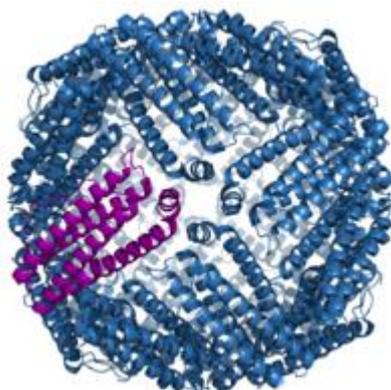


Figura 11: Estructura de la Ferritina

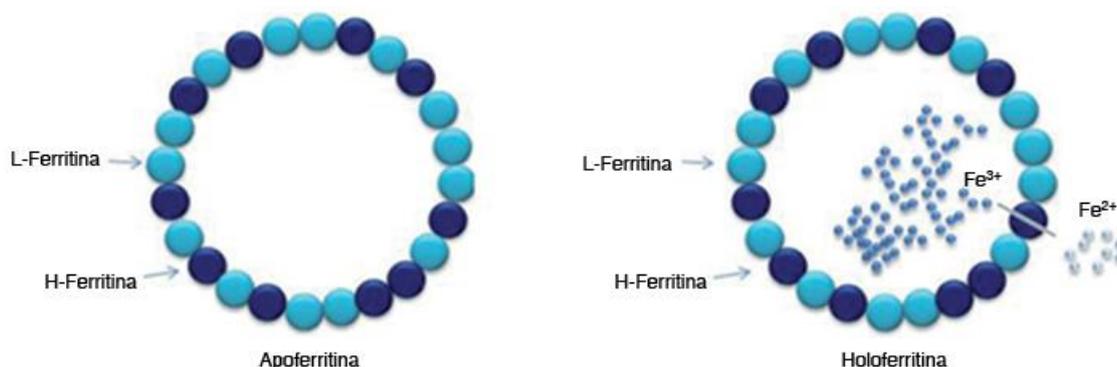


Figura 12: Estructura y función de la ferritina. La apoferritina refiere a la proteína en su forma libre de hierro; la forma que contiene hierro se denomina holo-ferritina o simplemente ferritina.

Del total del hierro que se moviliza diariamente, sólo se pierde una pequeña cantidad que es la que se debe reponer mediante la ingesta, ya que una pequeña cantidad de hierro sale por micro hemorragia y descamación de las células intestinales, es excretado por heces, orina, sudor y descamación de la piel, uñas y pelo. Existe diferencia sustancial entre el metabolismo del hierro en el niño y en el adulto. En el adulto el 95% del hierro necesario proviene de la recirculación de los hematíes destruidos y en los niños de entre 4 y 12 meses, el 30 % del hierro proviene de la alimentación.

La hemoglobina de un adulto normal contiene 2 gramos de hierro. Luego de transcurridos los 120 días de vida media de los eritrocitos, éstos son cedidos a los fagocitos del sistema retículo endotelial para su destrucción. Allí se reciben también el remanente de hierro que proviene de la eritropoyesis ineficaz. En el sistema retículo endotelial se encuentran 25 miligramos de hierro distribuidos 2 miligramos en equilibrio con el depósito y 23 miligramos transportados por la transferrina a la médula ósea para la síntesis de la hemoglobina. Para cerrar el ciclo la médula ósea requiere los 23 miligramos de hierro del sistema retículo endotelial más 2 miligramos provenientes de la absorción en el intestino. (Figura 13)

La absorción se realiza en pequeñas proporciones que varían de acuerdo a la cantidad y tipo de hierro presente en el alimento, el estado de los depósitos corporales del mineral, la actividad eritropoyética, las necesidades y los factores lumenales e intralumenales que interfieren o facilitan la absorción. Respecto al tipo de hierro, el hierro inorgánico en el estómago pasa a su forma más reducida, catión ferroso (Fe^{+2}), dado que allí el medio tiene

un pH bajo por acción del *HCl* (ácido clorhídrico). Éste catión es estable a bajo pH y medio reductor o anaerobio y es la forma química más soluble capaz de atravesar la membrana de la mucosa intestinal. Algunas sustancias como el ácido ascórbico (Vitamina C), algunos aminoácidos y azúcares facilitan la absorción intestinal debido a que forman quelatos de hierro de bajo peso molecular. La absorción se hace más fácil en el duodeno y la parte alta de yeyuno. La membrana de la mucosa intestinal tiene la facilidad de atrapar el hierro y permitir su paso al interior de la célula mediante un receptor específico. La apotransferrina del citosol contribuye a aumentar la velocidad y eficiencia de absorción. En el interior del citosol la endoxidasa I oxida el ión ferroso (Fe^{+2}) a férrico (Fe^{+3}) para ser captado por la apotransferrina y el excedente de hierro es depositado como ferritina. (Figura 14)

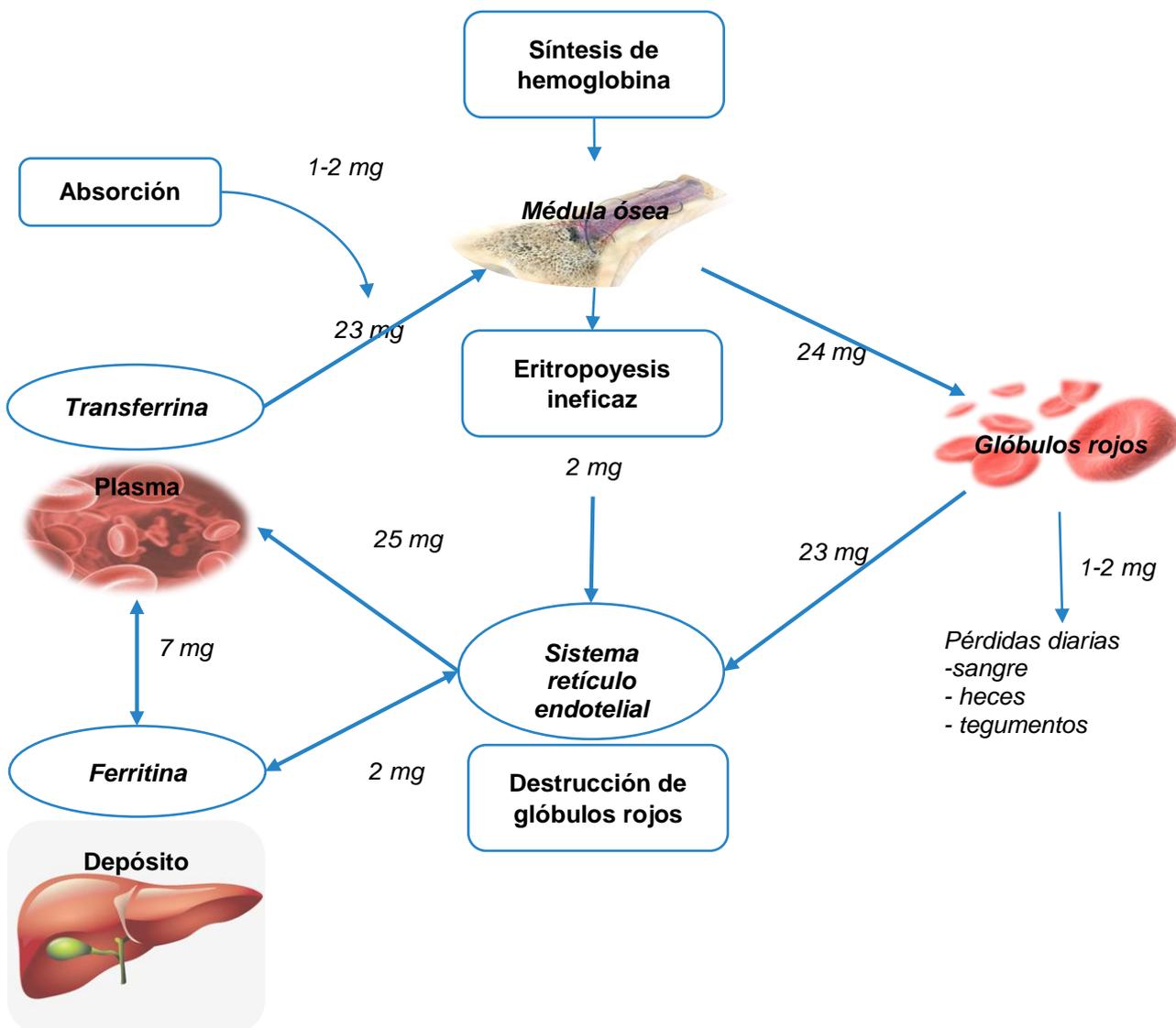


Figura 13: Ciclo de hierro en el organismo humano. Es prácticamente cerrado y muy eficiente.

El hierro hemo atraviesa la membrana celular como metalporfirina intacta, producto de la degradación de la globina, que se mantiene soluble. En el citosol la hemoxigenasa libera el hierro de la estructura tetrapirrólica y pasa a la sangre como hierro inorgánico.

El hierro hemínico representa una pequeña proporción del hierro de la dieta, su absorción es mayor que la del hierro inorgánico (20-30%) y se ve menos afectado por la composición del alimento. El ácido ascórbico tiene poco efecto sobre la absorción del hemo. El eritrocito desempeña un papel fundamental en la regulación de la absorción del hierro, debido a que los niveles intracelulares adquiridos durante su formación determinan la cantidad de mineral que entra en la célula.

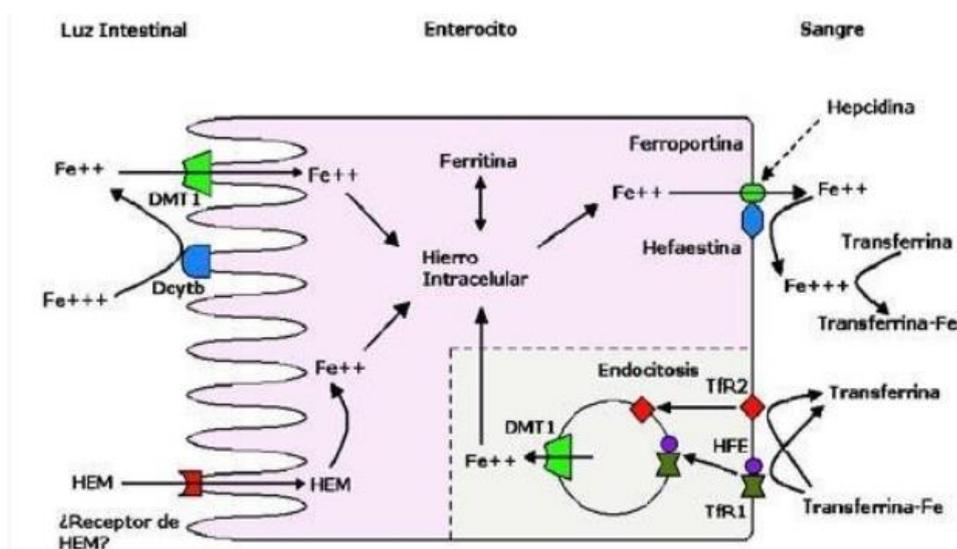


Figura 14: Regulación del hierro en el proceso de absorción.

El calcio disminuye la absorción de ambos tipos por interferir en la transferencia del metal por la membrana. Existen otros inhibidores de la absorción que se encuentran en la ingesta crónica de compuestos alcalinos, fosfatos, fitatos y taninos. Los fitatos (hexafosfatos de inositol) se localizan en la fibra del arroz, el trigo y el maíz y en la lignina de la pared celular, constituyendo potentes inhibidores por formar quelatos insolubles. La formación de estos quelatos puede disminuirse notoriamente con el consumo de alimentos ricos en vitamina C.

1.5.2. CALCIO Y MAGNESIO¹²

1.5.2.1. Introducción

Numerosos procesos biológicos dependen de la existencia de adecuadas concentraciones intracelulares y extracelulares de calcio y magnesio. El organismo mantiene los niveles séricos de estos minerales dentro de límites estrechos y estables por un estricto balance entre la entrada y la salida de estos elementos al líquido extracelular. En la conservación de esta homeostasis están implicados principalmente tres órganos: *intestino, hueso y riñón*. Las denominadas hormonas calciotrópicas, parathormona, calcitonina y los metabolitos de la vitamina D regulan estos procesos.

1.5.2.2. Metabolismo del calcio

El calcio interviene en la conducción nerviosa, la contractilidad muscular, el mecanismo de secreción y acción de diversas hormonas y enzimas citosólicas, la permeabilidad de membranas, el proceso de coagulación de la sangre y la mineralización del hueso.

Es el catión más abundante en el organismo (1000g) y representa un 2% del peso corporal. Se distribuye en el organismo en diversos sitios, entre los que existen constantes flujos de intercambio sometidos a complejos mecanismos de regulación. La importancia biológica del calcio debe considerarse bajo dos aspectos: las sales cálcicas que proporcionan la integridad estructural del esqueleto, siendo el principal componente mineral del hueso, y por otra parte, el catión calcio (Ca^{+2}) que posee una función crítica en procesos bioquímicos, como son la excitabilidad neuromuscular, procesos de coagulación sanguínea, permeabilidad de membrana y desencadenamiento de la reacción enzimática.

En el sistema óseo se encuentra más del 98% del calcio corporal, del cual aproximadamente un 1% es intercambiable de forma libre con el líquido extracelular. El calcio

¹² F. Carral San Laureano, G. Olveira Fuster, M. Aguilar Diosdado. Homeostasis del calcio, fósforo y magnesio. Elsevier, Vol 36. Tomo 7. Octubre 2000. <http://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-homeostasis-del-calcio-fosforo-magnesio-12960>

sérico se encuentra en tres formas diferentes: en forma iónica o libre, que corresponde al 50%, el unido a proteínas, aproximadamente un 40%, y finalmente, un 10% forma complejos con aniones como el bicarbonato, citrato, fosfato y lactato. El calcio iónico y el unido a aniones constituyen la fracción ultra filtrable, siendo la fracción iónica la única que tiene acción biológica y, por tanto, la que está sometida a control hormonal.

Aproximadamente el 90% del calcio unido a proteína lo hace a la albúmina mediante una unión pH dependiente. Las alteraciones que disminuyen los valores de la albúmina sérica disminuirán el calcio sérico total, pero tendrán un efecto menor sobre la concentración de calcio ionizado. En general, cada g/dl de albúmina se une aproximadamente a 0,8 mg/dl (0,2 mmol/L) de calcio.

La unión del calcio a la albúmina también está afectada por el pH del líquido extracelular. La acidemia disminuirá la unión a las proteínas y aumentará el calcio ionizado. La regulación exacta del calcio sérico está controlada por el propio calcio y por diversas hormonas, siendo las más importantes la parathormona (PTH) y la 1,25-dihidroxitamina D_3 ($1,25(OH)_2D_3$). El mantenimiento de una homeostasis adecuada del calcio es un proceso complejo y dinámico que implica la absorción y excreción de calcio en el intestino, la filtración y reabsorción en el riñón y su almacenamiento y movilización en el esqueleto.

La mayor parte del calcio dietético proviene de la ingesta de *leche y derivados lácteos*. La *fruta, hortalizas y cereales* proporcionan el resto. La *carne y pescado* proporcionan una cantidad mucho menor. El contenido cálcico de una dieta normal de un adulto es de unos 1.000 mg/día, absorbiendo sólo el 35%, con un pico de absorción a las dos horas, por lo que se observan ligeras modificaciones de la calcemia tras una ingestión con elevado contenido de calcio.

Más que la cantidad de calcio aportada por la dieta tiene importancia la fracción neta absorbida en el intestino, la cual varía en condiciones fisiológicas (adaptación al aporte de calcio en la dieta, edad, embarazo y lactancia). En condiciones normales, con una ingesta diaria de 1.000 mg de calcio, la verdadera absorción sería de unos 350 mg y el calcio fecal endógeno de 125 mg, con lo cual la absorción neta de calcio sería tan sólo de unos 175 mg/día, alcanzándose así un balance metabólico.

El calcio se absorbe en el tubo digestivo por dos mecanismos: un transporte activo saturable dependiente de la vitamina D, que predomina cuando la ingestión cálcica es baja, y un transporte difusible no saturable que predomina cuando la ingestión cálcica es elevada. El transporte activo del calcio es predominantemente en el duodeno y está favorecido por el menor pH del jugo intestinal y una mayor densidad de receptores de calcitrol ($1,25$ -dihidroxitamina D_3). Sin embargo, las zonas donde se produce mayor absorción del calcio dietético son, por su longitud y por el largo tiempo de permanencia de los alimentos, el yeyuno y el íleon. En condiciones basales, el yeyuno absorbe más cantidad de calcio por unidad de superficie que el íleon. La capacidad de absorción viene condicionada por la biodisponibilidad del calcio dietético (reducida en presencia de fitatos y oxalatos) y por la propia cantidad de calcio ingerido.

El calcio es un constituyente de la fase mineral del hueso que, depositado sobre las proteínas de la matriz ósea, da rigidez al tejido y le confiere sus propiedades mecánicas de protección y sostén. Desde el período fetal se produce la formación y mineralización del tejido óseo, precisando del concurso de los osteoblastos tanto para la síntesis de la matriz proteica como para su posterior mineralización. Además, el hueso precisa ser renovado a lo largo de toda la vida para mantener sus propiedades biomecánicas. En este proceso de renovación, los osteoclastos digieren el tejido óseo, produciéndose una salida de la fase mineral al torrente circulatorio. Posteriormente y merced a los osteoblastos, se forma el nuevo tejido, que requiere la entrada de calcio y fósforo para su mineralización.

En los adultos, aproximadamente un 35% del hueso es reemplazado en un año. Los osteoblastos son las células responsables de la formación ósea, sintetizan numerosas proteínas óseas que se sitúan a su alrededor y constituyen el osteoide o tejido óseo sin mineralizar. El osteoblasto se transforma en osteocito, la célula ósea madura y se mineraliza.

Los osteoclastos derivan del sistema monocito macrofágico e intervienen en los procesos de resorción¹³ ósea.

El contenido mineral óseo se hace utilizable mediante dos mecanismos: la osteólisis osteocítica y la resorción osteoclástica. El primer proceso se produce por movilización del contenido mineral, pero sin destrucción del hueso, y en el segundo intervienen los osteoclastos y se produce una destrucción del tejido óseo. Aunque ambos procesos son importantes en la homeostasis mineral, la exacta proporción en la participación de ambos procesos no se conoce; probablemente su importancia difiera según el grado y la duración de los estímulos sobre el hueso. La acción de las hormonas calciotrópicas a nivel óseo es compleja y no se ha dilucidado por completo la secuencia de estas acciones. Así, aunque la PTH produce aumento de la resorción ósea, sólo parece tener receptores a nivel de los osteoblastos; el calcitriol, que también presenta receptores a nivel de osteoblastos, favorece la diferenciación de los osteoclastos a partir de sus precursores, y la calcitonina tiene una acción inhibitoria sobre los osteoclastos (Carral S.L., 2000).

La vía más importante en la eliminación del calcio en el organismo es la renal. Otras vías de eliminación tienen menor importancia. El riñón regula la excreción de calcio por tres mecanismos: filtración glomerular, reabsorción en el túbulo proximal y reabsorción en el túbulo distal. El calcio filtrado por el glomérulo es aproximadamente un 50% del calcio sérico, ya que el resto está unido a proteínas. Este calcio ultrafiltrable varía por modificaciones del pH y de la concentración de proteínas.

Sólo el calcio plasmático no ligado a proteínas (60%) es filtrado a nivel glomerular. El 70% del calcio ultrafiltrado se reabsorbe en el túbulo proximal, a nivel intercelular, condicionado por diferencias de concentración y de potencial, y mediante transporte celular activo (Mg-ATPasa dependiente e intercambio Na^+/Ca^{2+}). El 20% del calcio filtrado es reabsorbido en el asa de Henle por diferencias de potencial subsecuentes a la acción de la bomba Na^+/K^+ e intercambio Ca^{2+}/Na^+ . Los diuréticos del asa de Henle disminuyen la reabsorción de calcio al disminuir el potencial positivo intraluminal. En el túbulo contorneado distal se reabsorbe aproximadamente un 8% del calcio filtrado de forma activa, siendo el segmento donde se produce la mayor regulación de la excreción de calcio.

La reabsorción tubular de calcio está regulada principalmente por la actividad de la PTH, que la incrementa en el túbulo distal, y está en parte ligada a la reabsorción tubular de sodio e inversamente relacionada con el aporte proteico. Un aporte elevado de sodio y proteínas puede incrementar la pérdida obligatoria de calcio en la orina y puede agravar estados carenciales de calcio.

Un escaso porcentaje se absorbe por difusión simple, paracelular y no saturable, y la mayor parte mediante un proceso de absorción transcelular fisiológicamente regulado por la vitamina D, que estimula su paso tanto mediante acciones genómicas (síntesis de proteínas transportadoras) como no genómicas. En circunstancias normales se absorbe aproximadamente un 30% del calcio dietético. Las dietas pobres en calcio, el déficit de vitamina D y la falta de respuesta intestinal a la misma (exceso de glucocorticoides o de hormona tiroidea, síndromes de mala absorción) son las causas más frecuentes del déficit de absorción del calcio.

1.5.2.2.1. Balance general del calcio

Normalmente existe un equilibrio entre la absorción intestinal neta y las pérdidas urinarias de calcio, permaneciendo constante el calcio extracelular e intercambiándose, con balance cero, calcio extracelular y calcio óseo. Así, con una dieta de unos 1.000 mg de calcio, se absorberían unos 300 mg, se segregarían con jugos intestinales unos 125 mg, se eliminarían por heces unos 825 mg, resultando una absorción neta de 175 mg. El hueso, en su proceso de remodelación constante, vierte al torrente circulatorio unos 500 mg pero

¹³ La **resorción** ósea es el proceso por el cual los osteoclastos eliminan tejido óseo liberando minerales, resultando en una transferencia de ion calcio desde la matriz ósea a la sangre.

requiere del mismo otros 500 mg. El riñón filtraría unos 10.000 mg, reabsorbería 9.825 mg y eliminaría 175 mg.

En el caso de que disminuya el calcio ingerido con la dieta, descendería la absorción de calcio y bajaría la concentración de calcio sérico. Ello estimularía la secreción de PTH, que aumentaría la resorción ósea, la reabsorción renal de calcio y la producción renal de calcitriol. Éste aumentaría la absorción intestinal y reabsorción renal de calcio y, en el hueso, favorecería la acción resortiva de la PTH. El balance entre entradas y salidas del organismo tendería a ser neutro, con estabilidad en los valores plasmáticos, pero a expensas de un balance negativo del hueso.

Fisiológicamente, hay circunstancias que tienden a un balance general positivo, como ocurre con la formación de tejido óseo, de ahí la necesidad de un incremento en el aporte dietético del calcio. En otras circunstancias hay tendencia a un balance negativo como en el embarazo (por los requerimientos fetales) o en la senectud, en que disminuye la capacidad absorptiva intestinal, disminuye la capacidad de formar vitamina D, etc., y se mantiene la estabilidad a expensas de perder masa ósea. (Figura 15)

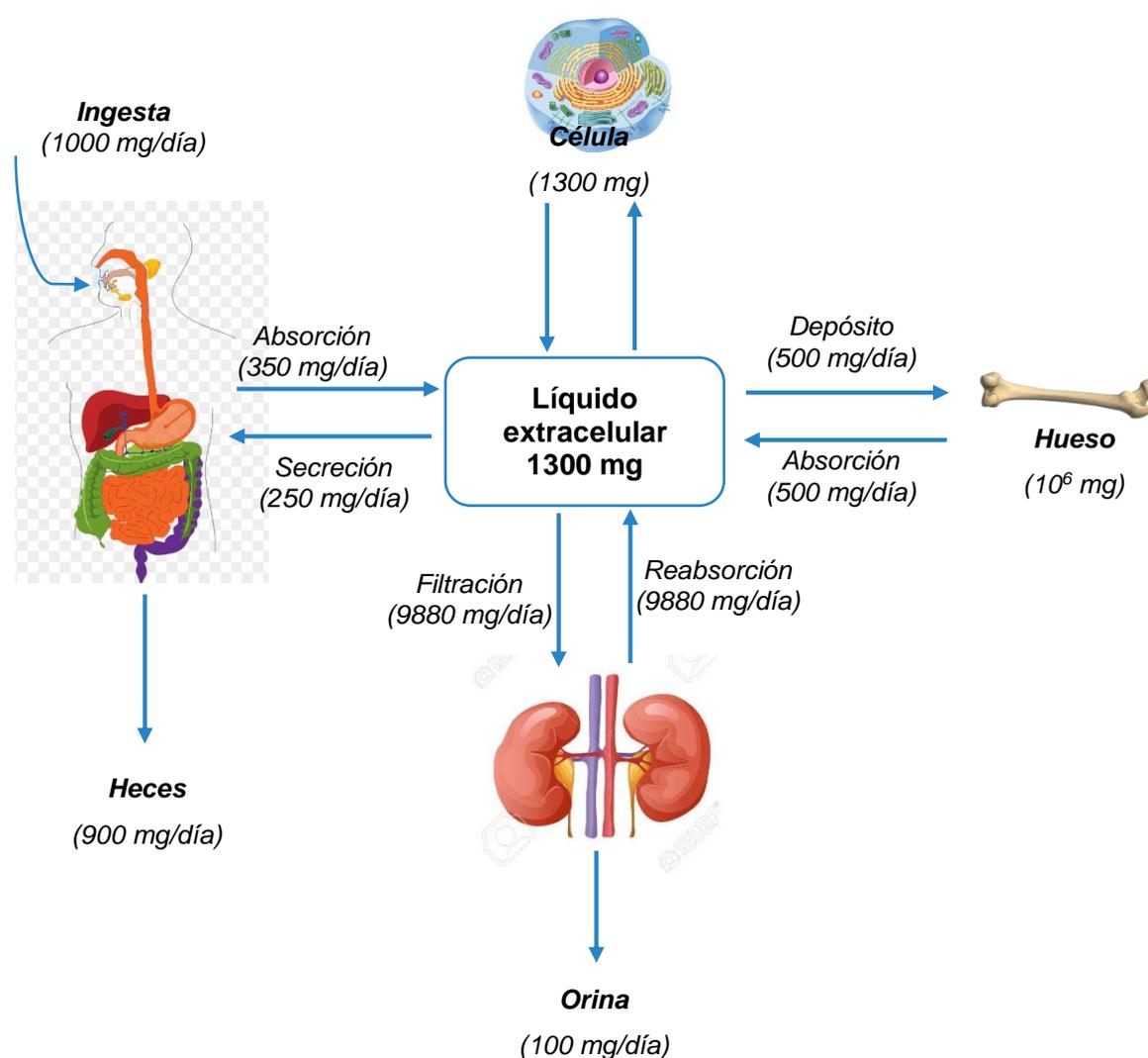


Figura 15: Metabolismo y regulación del calcio en el organismo

1.5.2.3. **Metabolismo del magnesio**

El magnesio es esencial para el funcionamiento de importantes enzimas, teniendo además un papel fundamental en la estabilización de las membranas, conducción nerviosa, transporte de iones y actividad de los canales de calcio. Participa como cofactor en numerosas reacciones enzimáticas, entre ellas aquellas en que participa el ATP y en los procesos de replicación, transcripción y traducción de la información genética. No obstante, el control del

metabolismo del magnesio se encuentra menos regulado hormonalmente que el del calcio. El contenido de magnesio corporal total depende principalmente de la absorción gastrointestinal y la excreción renal.

Es uno de los elementos más abundantes en el organismo y ocupa el cuarto lugar entre los cationes, superado por el calcio, sodio y potasio. El adulto normal posee de 20 a 28 g en total. La mayor parte del magnesio se localiza en el interior de las células (99%). Es el segundo catión intracelular, después del potasio. La concentración en plasma es mantenida constante en el adulto, entre 1,7 a 2,2 mg/dL, aproximadamente el 1% del magnesio corporal total el cual circula el 55% en forma iónica, 20% unido a proteínas y el resto formando complejos con aniones. Por análisis de emisión espectroscópica se han hallado las mayores concentraciones de magnesio en el hueso (55%) y en el músculo (25% del total). A pesar de ser el hueso el principal depósito de magnesio, aproximadamente 18 g, está muy alejado del contenido en calcio. Sin embargo, el líquido intersticial del tejido óseo, muy rico en minerales, puede tener un papel en la reposición del magnesio, como en la respuesta rápida frente a la acidosis, sin precisar mediación celular.

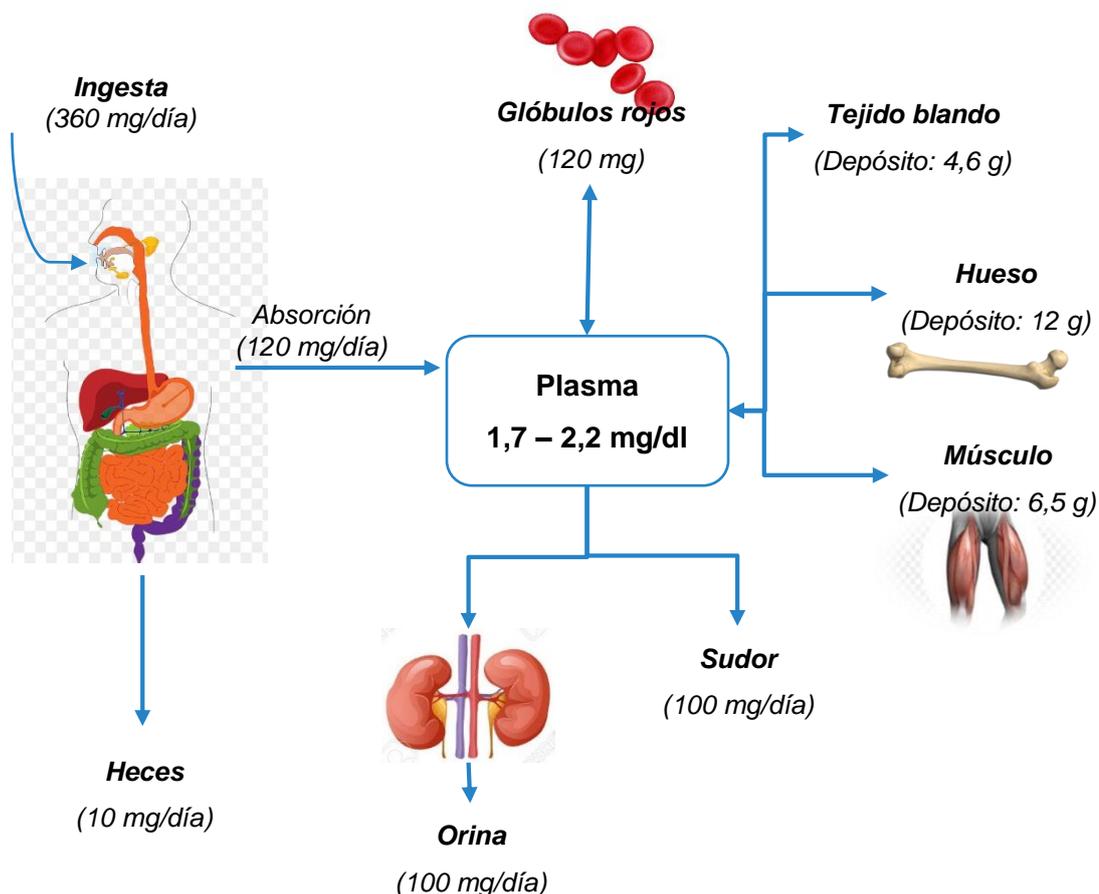


Figura 16: Distribución de magnesio en el organismo

La ingesta dietética normal de magnesio del adulto es de 300 a 360 mg/día y la necesidad es de alrededor de 3,6 mg/kg/día para mantener el balance del catión. La única manera por la cual el organismo puede replecionar¹⁴ sus depósitos de magnesio es mediante la dieta. Fuentes ricas en magnesio incluyen los *cereales, granos, nueces, legumbres, chocolate, vegetales verdes, algunas carnes y mariscos*. Los requerimientos pueden aumentar durante el embarazo, la lactancia y la adolescencia. Con una dieta normal, un tercio del magnesio pasa la barrera enteral y los dos tercios restantes son excretados con las heces. Con dietas pobres en magnesio, se absorbe hasta el 80% de lo ingerido, mientras que cuando el ingreso de magnesio es elevado sólo se absorbe el 25% del mismo.

¹⁴ El concepto hace mención al proceso y el resultado de repletar: hacer que algo quede repleto (lleno).

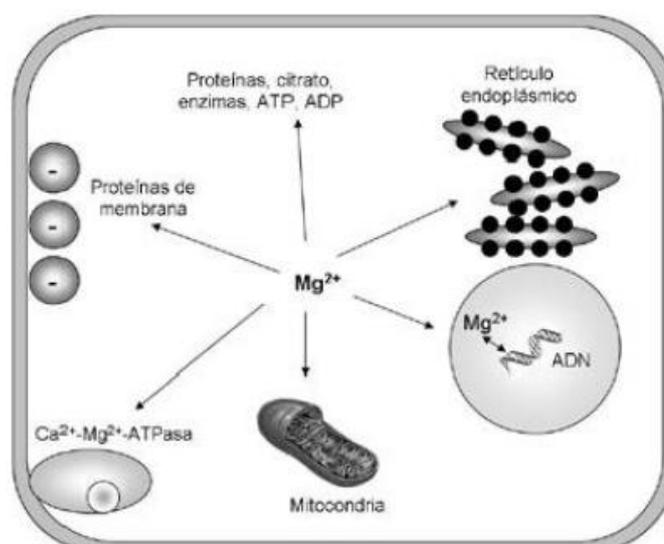


Figura 17: Distribución intracelular de magnesio (Fuente: G. Aranalde "Fisiología Renal", 2015, 1° Edición)

Normalmente, sólo 50% del magnesio de la dieta es absorbido en el tracto gastrointestinal, primariamente en el yeyuno proximal y el íleo. Alrededor de 40 mg de magnesio al día son también secretados en el intestino y de ellos solo 20 mg son reabsorbidos en el colon y recto. La absorción de magnesio en el íleo ocurre a través de 2 procesos: el primero es un proceso activo y saturable, que constituye la ruta principal de transporte de magnesio que se realiza a través del canal de magnesio TRPM6 (transient receptor potential melastatin); y el segundo mecanismo, que es pasivo y no saturable, se realiza a través de la ruta paracelular.

Las pérdidas normales con el sudor son de 15 mg/día, y aproximadamente la tercera parte del magnesio aportado con la dieta es excretada con la orina. El riñón se considera como el órgano fundamental en la homeostasis definitiva del magnesio. El 80% de magnesio en el plasma es filtrado por el glomérulo, del cual un 95% es reabsorbido por la nefrona. Aproximadamente, 100 mg de magnesio son excretados en la orina cada día. A diferencia de otros iones, la absorción tubular de magnesio ocurre principalmente en el asa gruesa de Henle, siendo ésta un 60 a 70% del total filtrado. El túbulo proximal absorbe solo 15 a 25% del magnesio filtrado; por su parte, el túbulo distal absorbe 5 a 10% del magnesio filtrado, pero es considerado como el sitio de control final en la regulación de magnesio. En el asa gruesa de Henle, el magnesio es reabsorbido con el calcio de manera pasiva a través de la vía paracelular formada por uniones intercelulares estrechas. La fuerza que impulsa esta reabsorción es la gradiente eléctrica generada por la reabsorción de sodio a través del cotransportador $Na^+ / K^+ / 2Cl^-$ (NKCC2). La paracelina-1, también conocida como claudina-16, ha sido identificada como la proteína constituyente de estas uniones intercelulares estrechas. En el túbulo distal, el magnesio es reabsorbido a través de un mecanismo activo, que involucra el canal de magnesio TRPM6. Se ha demostrado que el hombre excreta sólo el 3% del magnesio filtrado, y que la excreción puede aumentar hasta el 25% de la cantidad filtrada en condiciones de aporte elevado de magnesio.

La conservación de magnesio por el riñón normal durante la deprivación¹⁵ del catión puede disminuir la excreción fraccional a menos del 0,5%. A la inversa, el riñón aumenta la excreción de magnesio a niveles aproximados a la carga filtrada durante el aumento del ingreso o la administración excesiva de mineral.

Múltiples son los factores que regulan la excreción de magnesio en el riñón: concentración plasmática de magnesio y calcio, volumen del extracelular, tasa de filtración glomerular, estado ácido-base, hormonas.

¹⁵ Disminuir o perder funcionalidad.

Otro mecanismo recientemente descubierto es que altas concentraciones de magnesio pueden actuar en la región promotora del gen hPCLN-1, que expresa la proteína paracelina-1, disminuyendo por ende la transcripción de esta proteína y por tanto la reabsorción paracelular de magnesio. El volumen del fluido extracelular también influencia la excreción de magnesio. La expansión de volumen inhibe la reabsorción de magnesio en el asa gruesa de Henle, probablemente debido a un incremento en la carga de sodio y por ende una disminución en la gradiente eléctrica, que favorece el transporte paracelular de magnesio.

La acidosis metabólica crónica produce pérdida renal de magnesio, mientras que la alcalosis metabólica crónica produce el efecto opuesto. La acidosis metabólica crónica disminuye la expresión del canal de magnesio TRPM6 en el túbulo distal, disminuyendo la reabsorción de magnesio a ese nivel. La alcalosis metabólica crónica aumenta la expresión de este canal, produciendo el efecto opuesto.

Cambios en la tasa de filtración glomerular también pueden influenciar la excreción renal de magnesio. Cuando la tasa de filtración glomerular disminuye y, por ende, la carga de magnesio filtrada, la reabsorción de magnesio disminuye.

1.5.2.3.1. Balance general del magnesio

Aunque el esquema es similar al del calcio, en este caso el reservorio también está constituido por tejidos blandos. El magnesio se ha involucrado en el mecanismo de sensor del calcio de la PTH y, a través de la misma, participaría de la regulación del calcio, siendo la hipomagnesemia una de las causas de hipocalcemia.

Como cofactor metabólico, el magnesio desempeña un rol en más de 300 reacciones enzimáticas y está involucrado en el metabolismo energético, la utilización de la glucosa, la síntesis proteica, la síntesis y degradación de los ácidos grasos, la contracción muscular, y en todas las funciones de la ATPasa y en virtualmente todas las reacciones hormonales. El magnesio está estrechamente involucrado en el mantenimiento del balance iónico celular a través de su asociación con el sodio, potasio y calcio. El magnesio es importante en los procesos fisiológicos que involucran el almacenamiento, transferencia y utilización de la energía. El Mg complejado con el ATP es un sustrato para las enzimas que actúan en la transducción de señales, incluyendo fosfatasa y fosfoquinasas en la membrana plasmática y dentro del compartimento intracelular. Las reacciones enzimáticas que involucran al ATP requieren Mg^{2+} , que neutraliza la carga negativa del ATP para facilitar la unión a enzimas y asistir en la hidrólisis de las uniones PO_4^{3-} terminales.

El Mg^{2+} intracelular regula el metabolismo intermediario activando enzimas glicolíticas y del ciclo del ácido tricarbónico. El magnesio afecta indirectamente la síntesis proteica por cuatro mecanismos: a) facilitando la polimerización del ácido nucleico, b) facilitando la unión de los ribosomas al ARNm, c) acelerando la síntesis y degradación del ADN y d) regulando la interacción proteína ADN y por tanto la actividad transcripcional. La adenilciclase también requiere del Mg^{2+} para generar el segundo mensajero intracelular cAMP. El Mg^{2+} intracelular afecta significativamente el metabolismo del calcio y del potasio. Como catión bivalente el magnesio compite con el calcio por sitios de unión a la membrana y modula la unión y liberación del calcio del retículo sarcoplásmico. Efectos colaterales incluyen el mantenimiento de niveles bajos de reposo de Ca^{2+} intracelular, modulando la contracción muscular. El metabolismo del calcio es controlado fundamentalmente por la paratohormona, existiendo evidencias que el Mg^{2+} modula el balance del calcio por sus acciones sobre esta hormona. Regula el transporte de potasio por vía del sistema $Na^+K^+ATPasa$ como un cofactor. Esta acción influencia los flujos de sodio y de potasio, lo que determina el potencial eléctrico a través de la membrana celular. La deficiencia de magnesio puede dificultar la fosforilación oxidativa, el metabolismo proteico, y el flujo de electrolitos transmembrana en los tejidos cardíaco y nervioso.

1.6. OBJETIVOS

1.6.1. OBJETIVO PRINCIPAL

*Determinar la concentración de hierro, calcio y magnesio durante los primeros 10 días de germinación de brotes de lentejas (*Lens culinaris*) en cultivo aeropónico.*

H_c: Los brotes de lenteja obtenidos bajo cultivo aeropónico, incorporados en la alimentación, aportan hierro, calcio y magnesio para contribuir a la ingesta diaria recomendada por el Ministerio de Salud de la Nación (2016) en la población de consumidores.

1.6.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

- 1- Plantear un modelo que permita predecir el contenido de hierro en brotes de lenteja hasta los 10 días de germinación.
- 2- Plantear un modelo que permita predecir el contenido de calcio en brotes de lenteja hasta los 10 días de germinación
- 3- Plantear un modelo que permita predecir el contenido de magnesio en brotes de lenteja hasta los 10 días de germinación.
- 4- Desarrollar un proceso automatizado de cultivo aeropónico para la obtención de semillas germinadas y brotes para consumo humano.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Con el objetivo de determinar la concentración de hierro, calcio y magnesio durante los 10 primeros días de germinación de las lentejas, se compran semillas a un mismo proveedor y se acondicionan para comenzar con el proceso. Luego de lavarlas, desinfectarlas e hidratarlas se las coloca sobre bandejas en invernadero para cultivo aeropónico.

Se extren unidades de 100 gramos cada 2 días para realizar la determinación de los minerales en el laboratorio mediante método analítico. Los datos que se obtienen se analizan con el software InfoStat.

2.1. LAS SEMILLAS Y LA GERMINACIÓN

Se compran 3000 gramos de lentejas en una dietética del medio. Las semillas se dividen en tres partes iguales de 1000 gramos y se extraen 100 gramos de cada una para analizar en laboratorio. Estos primeros 100 gramos corresponden al tiempo 0 (cero).

Las semillas se lavan meticulosamente con agua limpia a temperatura ambiente para eliminar impurezas, semillas partidas, etc. Este proceso se realiza tres veces. Una vez escurridas se las coloca en una solución de agua clorada al 2% a temperatura ambiente durante 2 horas para reducir la carga microbiológica que pudiera estar presente. Se escurre y enjuaga con agua potable para la eliminación del residuo de hipoclorito de sodio remanente. Posteriormente, se dejan las semillas por 12 horas en agua potable a una temperatura de 36°C para su activación. A continuación, cada una de las tres partes se las coloca en bandejas plásticas de germinación previamente desinfectadas para ser llevadas al invernadero aeropónico¹⁶, en el cual se mantiene la temperatura en un rango de 20°C a 25°C y una humedad del 90%. Para mantener la temperatura se cuenta con un extractor de aire que se enciende cuando la temperatura es mayor a 24°C y se apaga cuando la temperatura alcanza los 18°C.

Las bandejas sembradas se disponen en estanterías de caño de PVC de 2 pulgadas con soportes de PVC reforzados, se encuentran apoyadas en tres puntos con una inclinación de 10° para que el excedente del riego escurra a una canaleta para su recolección y posterior uso en el riego de otros cultivos. Integrado a las estanterías se encuentra en sistema de riego de microaspersión sobre las bandejas, el cual es activado cada 20 minutos con una duración de 15 segundos. El agua de riego es potable para disminuir los riegos de recontaminación. (Figura 19)

El proceso de germinación se mantiene hasta los 10 días, momento aproximado en el cual aparecen las hojas verdaderas como se observa en Figura 18.



Figura 18: Lentejas durante el proceso de germinación y a los 10 días de germinación

¹⁶ La aeroponía es un método de cultivo hidropónico, en el cual las plantas en producción se encuentran desprovistas de un sustrato en contacto con las raíces. Los nutrientes y el agua necesarios para el crecimiento de las mismas son tomadas por las raíces del ambiente circundante el cual está saturado de humedad provista por diferentes mecanismos.

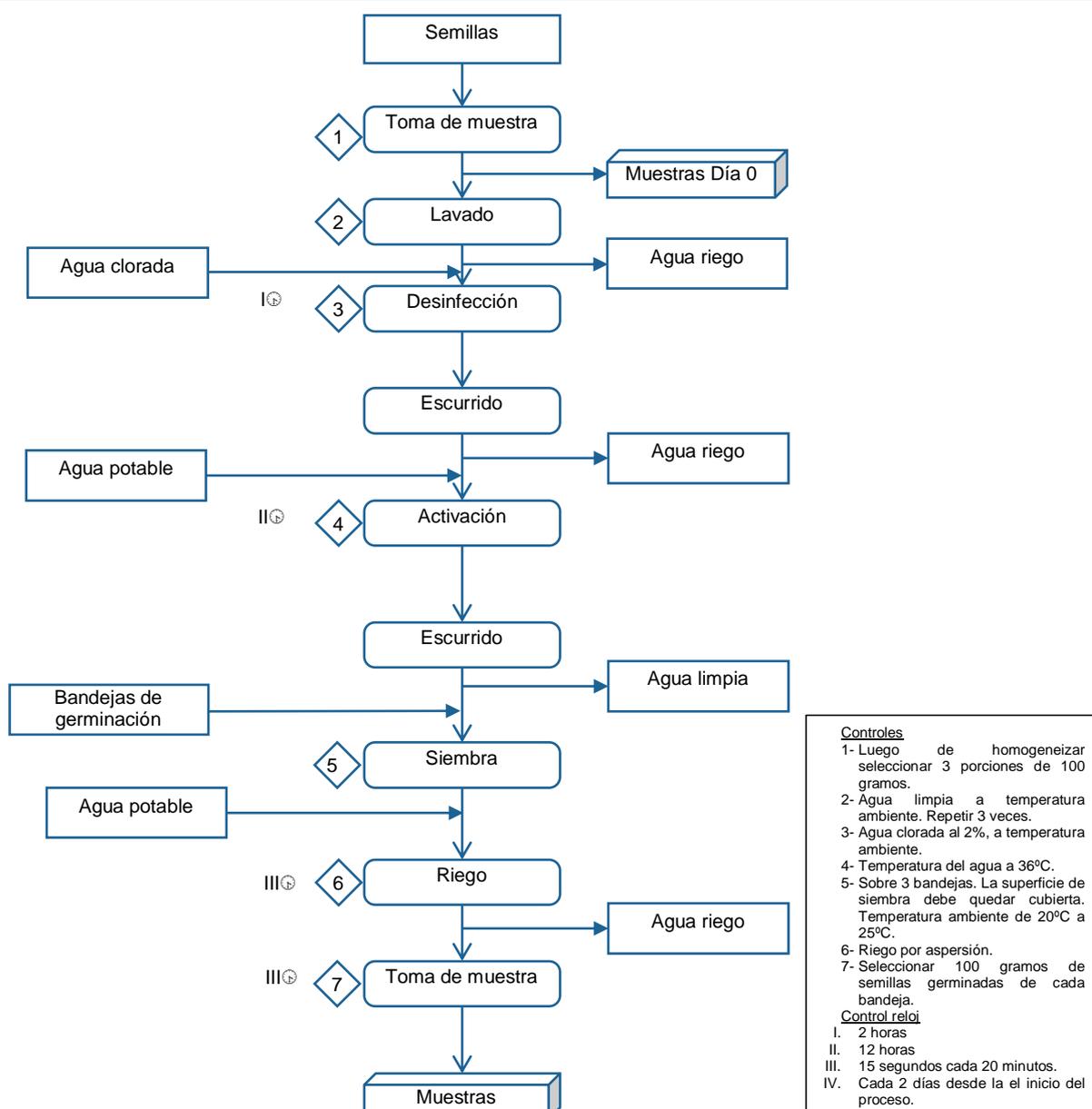


Figura 19: Diagrama de flujo del proceso de germinación y toma de muestra de germinados y brotes de lentejas mediante cultivo aeropónico.

2.2. LAS BANDEJAS

Las bandejas plásticas (Figura 20) utilizadas son las de producción de forraje verde hidropónico. Son de PEAD (polietileno de alta densidad) con medidas de 54cm de largo por 28cm de ancho y 5cm de profundidad. Se realizan perforaciones de 1-2mm de diámetro cada 5-8mm de distancia en los extremos de las bandejas para mejorar la eliminación del exceso de agua. Son lavadas con agua con detergente neutro al 6% para facilitar la eliminación de restos de semillas y brotes de procesos anteriores, ya que las bandejas son reutilizables. Se las enjuaga con suficiente agua y se las desinfecta por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 5% durante 2 horas. Transcurrido ese tiempo se las escurre y se las deja secar en un lugar ventilado, pero donde no haya entrada de insectos u otras plagas.



Figura 20: Bandeja de germinación

2.3. TOMA DE MUESTRA

Antes de comenzar el proceso de limpieza, las semillas se dividen en tres partes iguales de 1000 gramos y se extraen 100 gramos de cada una previa homogeneización de las semillas. Cada una de las extracciones constituye una unidad de muestra correspondiente al día cero. Desde el segundo día y hasta los 10 días de germinación, se toman unidades de 100 gramos de cada bandeja cada 2 días. La toma de las unidades de las bandejas se realiza por repique. La bandeja se divide en 24 sectores de 9cmx9cm que se seleccionan aleatoriamente hasta obtener 100 gramos. Se obtienen por día 3 unidades de 100 gramos, cada una perteneciente a cada una de las bandejas. Terminado el proceso de toma de muestra las semillas restantes se homogeneizan manualmente cubriendo totalmente la superficie de la bandeja para evitar focos donde pudiera ocurrir deshidratación, desarrollo de hongos, etc.

1	5	9	13	17	21
2	6	10	14	18	22
3	7	11	15	19	23
4	8	12	16	20	24

Figura 21: diseño de sectores por bandeja

2.4. DETERMINACIONES ANALÍTICAS¹⁷

2.4.1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Y MATERIA SECA

Es una de las determinaciones más frecuentes que se realiza sobre productos alimenticios y una de las más importantes ya que el tenor de agua de los alimentos está relacionado con la conservación y las alteraciones del mismo. El contenido de agua o humedad está representado por la pérdida de peso que experimenta la muestra al ser sometida a la temperatura de ebullición del agua hasta constancia de peso

Los vegetales frescos tienen alto contenido de humedad y pueden sufrir alteraciones si se secan a elevadas temperaturas. Normalmente la determinación de humedad se realiza

¹⁷ Cátedra de Química Agrícola. FCA. UNCuyo. Apuntes de clase y Guía de Trabajos Prácticos.

en estufas al vacío o en estufas comunes con circulación de aire y a temperaturas que no superan los 60 - 70 °C. a).

Se colocan 100g de la muestra en una bandeja previamente tarada y se lleva a estufa de aire forzado hasta peso constante a una temperatura de 60-70°C durante 4 a 6 horas. Se enfría y pesa rápidamente al mg. Al peso obtenido se le resta la tara de la bandeja y se obtiene el peso de la muestra seca. Mediante la siguiente fórmula se calcula el porcentaje de humedad.

$$H\% = \frac{\text{peso muestra húmeda} - \text{peso muestra seca}}{\text{peso muestra húmeda}} \times 100$$

El cálculo de materia seca se realiza con la siguiente fórmula:

$$MS\% = \frac{\text{peso muestra seca}}{\text{peso muestra húmeda}} \times 100$$

2.4.2. DETERMINACIÓN DE MINERALES

Para realizar el análisis del contenido mineral de las muestras, es necesario efectuar previamente la reducción del material al estado de sustancias minerales, para lo cual se procede a destruir los constituyentes orgánicos. Una vez lograda esta mineralización se debe solubilizar el residuo mineral empleando un disolvente. La solución que contiene disuelto el residuo mineral recibe el nombre de EXTRACTO.

Se realiza la mineralización por vía seca por incineración. Primeramente se calienta una cápsula o crisol, se deja enfriar y se pesa al mg. En su interior se colocan 2 a 5 g de muestra y se calienta lentamente con mechero sobre tela metálica para carbonizar sin desarrollo de llama. Luego se lleva a mufla a 500°C hasta eliminar las partículas carbonosas. Se retira y se enfría en desecador. Se pesa el crisol con las cenizas y se obtiene el peso de las cenizas por diferencia.

Una vez mineralizada la muestra se extraen los nutrientes de las cenizas, solubilizándolos. Para ello, se transfieren las cenizas de la cápsula a un vaso de 100 mL, arrastrando el residuo adherido, con 10 mL de CIH 1+1. Se lleva a plancha o baño de arena hasta suave ebullición y luego a sequedad. Se vuelve a agregar 10 mL de HCl 1+1 y se mantiene hasta suave ebullición disolviendo, sobre tela metálica. Se retira y se filtra con papel de poro mediano recogiendo en matraz de 100 mL. Se lava con pequeñas porciones de agua caliente y se enfría. Por último, se enrasa con agua destilada y se conserva para las determinaciones posteriores.

La dilución obtenida es de 1:50 (2g de muestra en 100mL de extracto).

2.4.3. DETERMINACIÓN DE CALCIO Y MAGNESIO¹⁸

La determinación de calcio y magnesio se realiza por titulación con EDTA (ácido etilendiaminotetraacético, $C_{10}H_{16}N_2O_8$) en medio alcalino. El EDTA es un compuesto que forma complejos 1:1 fuertes con la mayoría de los iones metálicos, por esto es el agente quelante más ampliamente utilizados en Química analítica.

Los extractos vegetales contienen metales y ortofosfatos. Los primeros interfieren con la determinación por formar complejos con el EDTA y los segundos, a causa de que la valoración se realiza en medio alcalino, forman sales insolubles de calcio y magnesio haciendo que estos cationes no formen complejos con el EDTA. Por estas razones es necesario eliminar los metales interferentes y los fosfatos como paso previo a las determinaciones. El oxiclورو de zirconio (o cloruro de zirconilo) a pH 5,5 – 6,5 forma con los fosfatos una sal insoluble y gelatinosa, que a su vez arrastra los metales pesados interferentes, eliminándose el conjunto por filtración, quedando un filtrado en condiciones de titular el calcio y el calcio más el magnesio.

¹⁸ HARRIS, Daniel. "Análisis químico cuantitativo" 3ra edición. Versión española traducida por Vicente Bereguer Navarro y otro. Ed. Reverté. Barcelona, 2007.

Para medir la concentración de calcio presente en el extracto clorhídrico es necesario eliminar el magnesio además de las sustancias interferentes. Esto se realiza al llevar la solución a un pH 12, medio al cual precipita como $Mg(OH)_2$ (hidróxido de magnesio) y no entra en la valoración. Para la valoración de magnesio se necesita un medio alcalino con pH10 y se mide conjuntamente la concentración de calcio y magnesio. La medida de la concentración de magnesio se realiza por diferencia.

Reactivos:

- 1- Indicador verde de bromocresol (sal de amonio)
- 2- Solución de oxiclورو de zirconio octahidratado ($ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$) al 2% en agua desmineralizada.
- 3- Solución de NH_4OH (1 + 4)
- 4- Solución complexona: sal disódica del EDTA 0.02 N
- 5- Solución alcalina de KOH al 10 %
- 6- Indicador murexida: mezclar 0,2 g de la droga con 40 g sulfato de potasio (K_2SO_4) o sulfato de sodio (Na_2SO_4) anhidro.
- 7- Solución reguladora: disolver 34 g de cloruro de amonio (NH_4Cl), libre de calcio y magnesio, en 100mL de agua, agregar 280mL amoníaco concentrado (NH_3) y llevar a volumen.
- 8- Indicador Negro de Eriocromo: disolver 0.2g de la droga y 2g de clorhidrato de hidroxilamina en 50mL de alcohol metílico. También se puede preparar disolviendo 1 g de eriocromo T en 100mL de trietanolamina.

Para la determinación se pipetea 25mL del extracto clorhídrico en un erlenmeyer agregando 1 gota del indicador verde de bromocresol. Se agrega 2mL de oxiclورو de zirconio, se agita y se añade gota a gota la solución reguladora agitando hasta viraje al verde y luego al verde azulado (se forma un precipitado gelatinoso). Se transfiere cuantitativamente a un matraz volumétrico de 50mL, se enrasa con agua destilada y se filtra con papel de poro grueso, desechando el precipitado sin lavarlo. Se coloca en erlenmeyer una alícuota de 20mL, agregar aproximadamente 0,3g de murexida y 2mL de hidróxido de potasio (KOH) al 10% para llevar a pH 12 y titular el calcio con la solución de EDTA, usando un testigo para comparar el punto final (color violeta).

Sobre otra alícuota de 20mL se titula conjuntamente el calcio y el magnesio con la solución de EDTA, previo agregado de 1 gota de indicador negro de eriocromo y 5mL de la solución reguladora para asegurar pH 10. El punto final es color azulino, sin tonalidad vinosa.

Teniendo en cuenta las diluciones realizadas, se obtiene la concentración en porcentaje de calcio y de magnesio mediante los siguientes cálculos:

$$Ca \text{ g\%g} = \frac{mL \text{ Ca} * N * p \text{ eq}}{1000} * \frac{50}{20} * \frac{100}{0,5}$$

$$Ca \text{ mg\%g} = Ca \text{ g\%g} * 1000$$

$$mL \text{ Mg} = \text{volumen gastado (Ca + Mg)} - \text{volumen gastado Ca}$$

$$Mg \text{ g\%g} = \frac{mL \text{ Mg} * N * p \text{ eq}}{1000} * \frac{50}{20} * \frac{100}{0,5}$$

$$Mg \text{ mg\%g} = Mg \text{ g\%g} * 1000$$

2.4.4. DETERMINACIÓN DE HIERRO

El procedimiento utilizado para medir la concentración de hierro en los brotes es un análisis espectrofotométrico. Para ésta determinación es necesario preparar la muestra reduciendo el ión férrico (Fe^{+3}) a ferroso (Fe^{+2}), ya que se valora bajo la forma más reducida. Esto se efectúa con una solución reductora de hidroxilamina al 10%, en un pH entre 1,5 y 4. El método colorimétrico utiliza como reactivo la ortofenantrolina que forma con el catión ferroso (Fe^{+2}) un complejo de coloración anaranjado-rojizo, la cual se mide en espectrofotómetro o

fotocolorímetro, a 490 nm de longitud de onda y se compara con una curva patrón realizada con soluciones patrón de diferentes concentraciones.

Reactivos:

- 1- Solución NaOH 2%
- 2- Solución HCl 1:20
- 3- Solución de reserva de Fe 500 ppm ($\mu\text{g} * \text{g}^{-1}$): Disolver 0,351g de sal de Mohr ($\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 * 6\text{H}_2\text{O}$) en agua destilada, agregar 2mL de solución HCl 1:20 y llevar a volumen de 100mL.
- 4- Solución patrón de Fe 20 ppm ($\mu\text{g} * \text{g}^{-1}$): Diluir 4mL de la solución anterior a 100mL, incluyendo 2mL de la solución HCl 1:20
- 5- Solución reductora de hidroxilamina al 10%: Disolver 10g de $\text{NH}_2\text{OH} * 2\text{HCl}$ en 100mL de agua.
- 6- Solución alcohólica de ortofenantrolina al 1,5%: Disolver 1,5g de la droga en 100mL de etanol.

Se prepara una curva patrón de Fe con soluciones de 0; 1; 2; 3; 4; 5 $\mu\text{g} * \text{g}^{-1}$ (ppm), empleando 0; 2,5; 5; 7,5; y 10mL de la solución patrón de 20 $\mu\text{g} * \text{g}^{-1}$ (ppm) de hierro en matraces aforados de 50mL, a los que se agrega 2mL de la solución reductora de hidroxilamina y 1mL de ortofenantrolina al 1,5%, enrasando finalmente a volumen. Se coloca en un matraz volumétrico de 50mL, 10mL del extracto y se diluye con aproximadamente 15mL de agua. Se agrega 1 gota de fenolftaleína y gotas de la solución de NaOH 2% hasta viraje del indicador, para neutralizar la acidez. Se agrega 1mL de HCl 1:20 para ajustar el pH a nivel adecuado, luego 2mL de la solución reductora de Hidroxilamina para reducir el hierro férrico a ferroso y finalmente 1mL de ortofenantrolina, terminar de enrasar con agua destilada a 50mL. En fotocolorímetro se lee la transmitancia a una longitud de onda de 490nm y se transformar el dato en absorbancia por tabla.

Se calcula el contenido de hierro en ppm ($\mu\text{g} * \text{g}^{-1}$) de acuerdo a la curva patrón teniendo en cuenta la absorbancia del testigo (AbsT), la concentración del testigo (ppmT) y la absorbancia de la muestra (AbsM):

$$Fe \text{ ppm} = AbsT * ppmT * AbsM$$

$$Fe \text{ mg}\%g = Fe \text{ ppm} * 0,10$$

2.5. ANÁLISIS DE LOS DATOS

Obtenidos los datos se procede al análisis descriptivo e inferencial de cada uno de los minerales en estudio, teniendo en cuenta el tiempo de germinación evaluado. Los análisis se realizan con el software estadístico InfoStat versión 2017p.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. EVALUACIÓN DE HIERRO, CALCIO Y MAGNESIO EN LENTEJAS DURANTE SU PROCESO DE GERMINACIÓN BAJO CULTIVO AEROPÓNICO

3.1.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO

De acuerdo a los datos obtenidos a partir de las muestras tomadas durante la producción de brotes de lentejas en cultivo aeropónico, se presenta la siguiente información:

Tabla 1: Promedio y desviación estándar de las concentraciones de hierro (mg%g), calcio (mg%g) y magnesio (mg%g) según el día de germinación de semillas de lenteja (*Lens culinaris*)

Germinación	Día 0	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8	Día 10
Hierro (mg%g)	12,50±0,53	11,48±1,41	10,18±0,45	11,21±1,20	9,23±1,29	10,68±1,59
Calcio (mg%g)	200,00±105,8	186,7±11,55	193,3±75,72	233,3±30,55	273,3±11,55	256,7±115,9
Magnesio (mg%g)	180,0±55,68	170,0±26,46	170,0±40,0	220,0±52,92	256,7±35,12	346,7±102,63

En el caso del día cero de germinación se toma en cuenta la semilla seca. La concentración promedio de hierro que se obtuvo en el ensayo fue de $12,5\pm 0,53\text{mg}\%g$. Si se tiene en cuenta la tabla de composición centesimal de vegetales, emitido por la Universidad Nacional de Luján, para "Alimentos Argentinos"¹⁹, la concentración de hierro de semillas secas de lenteja es de $3,86\text{mg}\%g$. La diferencia puede deberse a que la concentración de minerales en semillas tiene una gran variabilidad dependiendo del lugar de cultivo y las condiciones climáticas que soporta el cultivo.²⁰ Se puede observar esta diferencia en las distintas tablas de composición centesimal del mundo. Por ejemplo, la USDA (United States Department of Agriculture) presenta en lentejas secas una concentración de hierro de $6,51\text{mg}\%g$, valor promedio resultado del análisis a 38 muestras de lentejas en un rango que va desde los $4,19\text{mg}\%g$ hasta los $25,43\text{mg}\%g$.

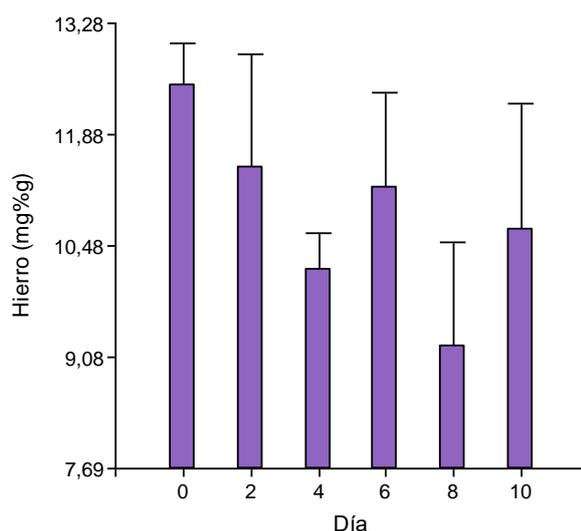


Figura 22: Concentración promedio de hierro (mg%g) y su desviación estándar según el día de germinación

En el caso de calcio se obtuvo una concentración promedio de $200\text{mg}\%g$ con una desviación estándar $105,8\text{mg}\%g$. La concentración del mineral es mucho más alta que la que

¹⁹ Universidad Nacional de Luján, "Tabla de composición centesimal de vegetales", 2010, <http://www.unlu.edu.ar/~argenfood/Tablas/Tabla.htm>

²⁰ Pacheco Loures y otros, "Análise físico-química, microbiológica e sensorial de brotos de lentilha da variedade PRECOZ", Acta Scientiarum. Agronomy Maringá, v. 31, n. 4, p. 599-606, Paraná, Brasil, 2009

se presenta en la tabla de composición centesimal de vegetales de la UNLuján (46mg%g) o en la tabla del USDA (35mg%g,n=38, un valor mínimo de 17mg%g y un máximo de 58mg%g).

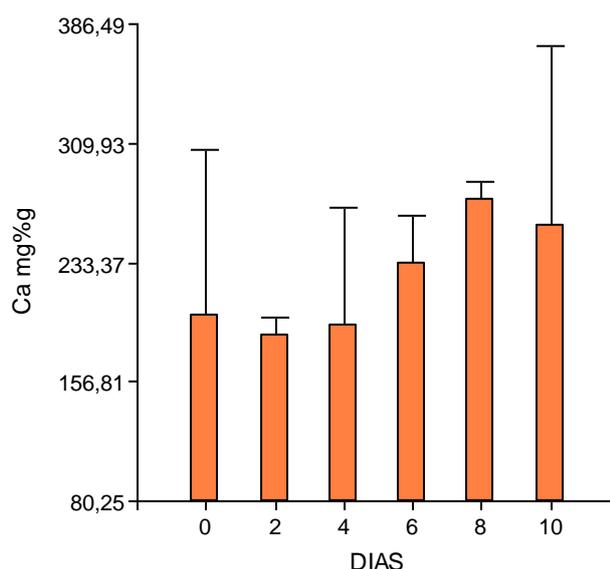


Figura 23: Concentración promedio de calcio (mg%g) y su desviación estándar según el día de germinación.

Con el magnesio sucede algo similar que con el calcio. La concentración promedio obtenida es de $180\text{mg}\%g \pm 55,68\text{mg}\%g$, más alta que la presente en la tabla de composición centesimal de alimentos del USDA de $47\text{mg}\%g$, tomado de 38 mediciones con un mínimo de $18\text{mg}\%g$ y un máximo de $82\text{mg}\%g$. La concentración de magnesio no se encuentra en la tabla de composición centesimal de la UNLuján, para ningún alimento. Las diferencias encontradas entre los valores medios en las concentraciones de calcio y magnesio, pueden deberse a los anteriormente expresado, las condiciones de suelo, método de cultivo, clima, etc. que afectan la concentración de minerales en la semilla y explica la gran variabilidad que se presenta.

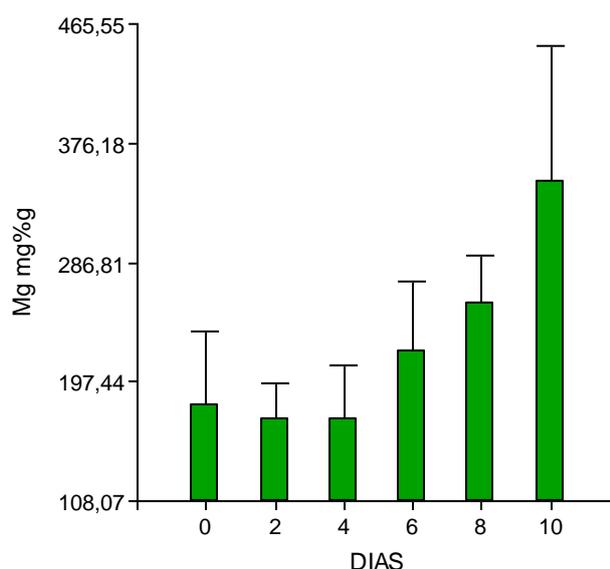


Figura 24: Concentración promedio de magnesio (mg%g) y su desviación estándar según el día de germinación

Para los siguientes días de germinación se pueden observar las concentraciones promedio y sus desviaciones estándar en la Tabla 1 y en las figuras 22, 23 y 24. No existe en las tablas de composición de alimentos la composición centesimal de los brotes de lenteja.

3.1.2. ANÁLISIS INFERENCIAL

Se realiza el cálculo de la estimación de las concentraciones promedio para cada uno de los minerales en estudio teniendo en cuenta el día de germinación, cuyos resultados se encuentran en la Tabla 2.

Tabla 2: Intervalos de confianza del 95% para las concentraciones promedio de hierro (mg%g), calcio (mg%g) y magnesio (mg%g) según el día de germinación.

Germinación	Día 0	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8	Día 10
Hierro (mg%g)	(11,19; 13,81)	(7,96; 14,99)	(9,06; 11,30)	(8,22; 14,20)	(6,02; 12,44)	(6,73; 14,63)
Calcio (mg%g)	(0; 462,9)	(158,0; 215,4)	(5,24; 381,4)	(157,4; 309,2)	(244,6; 302,0)	(0; 544,6)
Magnesio (mg%g)	(41,7; 318,4)	(104,3; 235,7)	(70,6; 269,4)	(88,6; 351,4)	(169,4; 343,9)	(91,7; 601,6)

Las representaciones de los intervalos de confianza obtenidos, permiten observar la variabilidad que se encuentra en cada día de germinación con respecto a las concentraciones promedio: en la Figura 25 se presentan las concentraciones promedio de hierro, en la Figura 26 las de calcio y en la Figura 27 las de magnesio.

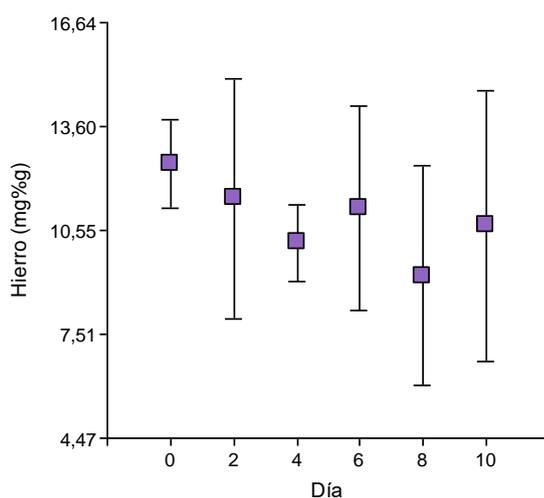


Figura 25: Intervalos de confianza para la concentración promedio de hierro (mg%g) según el día de germinación de semillas de lenteja (*Lens culinaris*) por cultivo aeropónico

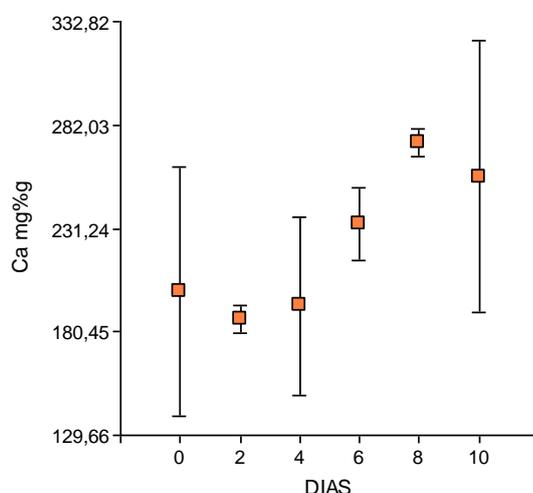


Figura 26: Intervalos de confianza del 95% para la concentración promedio de calcio (mg%g) según el día de germinación de semillas de lenteja (*Lens culinaris*) por cultivo aeropónico

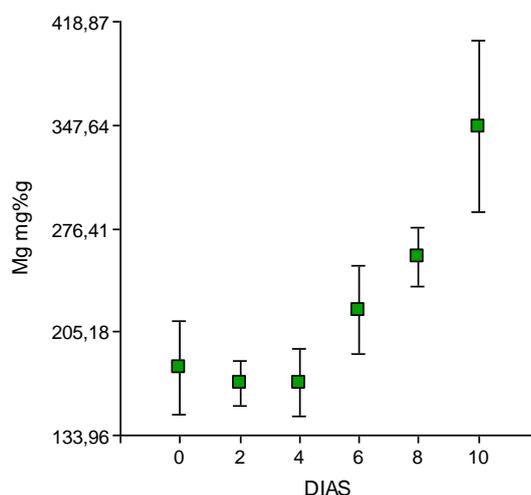


Figura 27: Intervalos de confianza del 95% para la concentración promedio de magnesio (mg%g) según el día de germinación de semillas de lenteja (*Lens culinaris*) por cultivo aeropónico.

3.2. ANÁLISIS DE LA CONCENTRACIÓN DE HIERRO DURANTE LA GERMINACIÓN DE LENTEJAS BAJO CULTIVO AEROPÓNICO

Con el objetivo de determinar si existe un modelo predictivo de la concentración de los minerales en semillas de lenteja según los diferentes días de germinación bajo cultivo aeropónico. Se realiza un análisis exploratorio para evaluar si existe una asociación lineal simple entre la concentración del mineral y los días de germinación. En éste análisis no se toman los datos observados en el día 0, debido a que el material de observación es diferente (semillas secas).

En el análisis de correlación de la concentración de hierro (mg%g) y el tiempo de germinación (2, 4, 6, 8 y 10 días), se obtuvo un coeficiente de Pearson $r = -0,28$. Éste valor representa una asociación muy débil entre ambas variables y de carácter negativo (ver Tabla 3). De acuerdo a la prueba de hipótesis, el coeficiente de Pearson no es significativo ($pvalor = 0,31$) por lo que no existe una correlación lineal significativa.

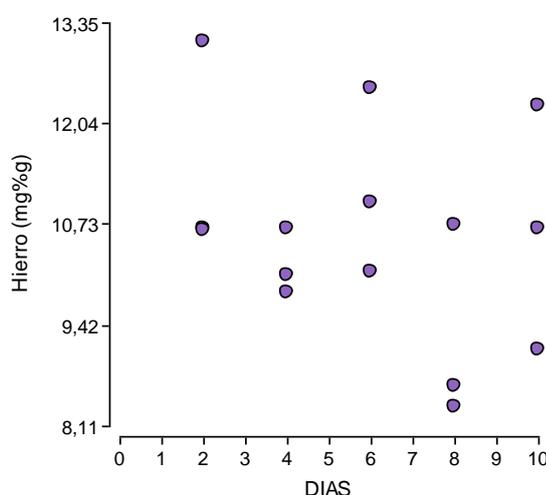


Figura 28: Diagrama de dispersión de la concentración de hierro (mg%g) según el día de germinación de semillas de lentejas (*Lens culinaris*) en cultivo aeropónico.

Tabla 3: Salida InfoStat para el coeficiente de correlación simple lineal y su prueba de hipótesis

Correlación de Pearson: Coeficientes\probabilidades		
	Hierro (mg%g)	DIAS
Hierro (mg%g)	1,00	0,31
DIAS	-0,28	1,00

Debido a los resultados del análisis de correlación no se plantea un modelo lineal pero se intenta relacionar las variables mediante otros modelos no lineales (potencial, exponencial y logístico) observándose que no existe una relación funcional entre la concentración de hierro y los días de germinación.

Se realiza un análisis de la varianza (ADEVA) para determinar si existe variación de la concentración de hierro durante la germinación, tomando los 2, 4, 6, 8 y 10 días de germinación como tratamientos. El resultado indica que no existe variabilidad, con un p – $valor = 0,2697$.

Ésta falta de asociación y de variabilidad al transcurrir el proceso de germinación, puede explicarse por su fisiología. Durante éste proceso la semilla no incorpora hierro al sistema ya que la raíz se desarrolla a partir del sexto día, órgano de la plántula dónde se realiza la absorción de nutrientes. (Azcón Bieto, 2000)

3.3. ANÁLISIS DE LA CONCENTRACIÓN DE CALCIO DURANTE LA GERMINACIÓN DE LENTEJAS BAJO CULTIVO AEROPÓNICO

Se procede de la misma forma teniendo como respuesta la concentración de calcio (mg%g). En el análisis de correlación el coeficiente de correlación de Pearson $r = 0,50$ significa una asociación lineal media entre las variables pero en este caso positiva. Al realizar la prueba de hipótesis para el coeficiente no se tiene suficiente evidencia muestral para decir que es significativo, con un p – $valor = 0,06$.

Tabla 4: Salida de InfoStat para el coeficiente de correlación simple lineal y su prueba de hipótesis

Coeficientes de correlación		
Correlación de Pearson: Coeficientes \probabilidades		
	CALCIO (%)	DIAS
CALCIO (%)	1,00	0,06
DIAS	0,50	1,00

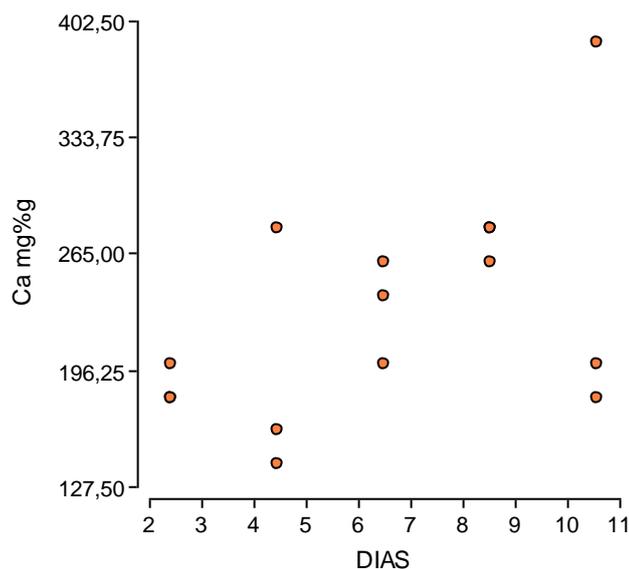


Figura 29: Diagrama de dispersión de la concentración de calcio (g%g) según el día de germinación de semillas de lentejas (*Lens culinaris*) en cultivo aeropónico.

Al analizar el modelo lineal, se observa la presencia de diferencia de las varianzas a diferentes días de germinación (falta de homoscedasticidad). Se decide plantear un modelo lineal de predicción para las concentraciones promedio de calcio.

$$\bar{V}_i = \beta_0 + \beta_1 x_i + \varepsilon_i \quad i = 1, \dots, 5$$

Donde:

\bar{V}_i es la concentración promedio de calcio (mg%g) observado en la i-ésima muestra de semillas de lentejas germinadas

x_i es el día de germinación de la i-ésima muestra de semillas de lentejas germinadas

β_0 es la concentración promedio de calcio (mg%g) en el día 0 de germinación

β_1 es la variación de la concentración promedio de calcio (mg%g) por cada día de germinación que transcurre.

El modelo

$$\hat{v} = 162,67 \text{ mg\%g} + 11,0 \text{ mg\%g} * x$$

puede utilizarse para predecir la concentración promedio de calcio (mg%g) durante el período de germinación de 2 a 10 días ($p - \text{valor} = 0,0307$), representando éste el 83% ($R^2 = 0,83$) de la variabilidad que se presenta en éstas concentraciones promedio.

3.4. ANÁLISIS DE LA CONCENTRACIÓN DE MAGNESIO DURANTE LA GERMINACIÓN DE LENTEJAS BAJO CULTIVO AEROPÓNICO

De acuerdo a la representación de las concentraciones de magnesio (mg%g) obtenido durante los días de germinación, puede observarse cierta variación de la concentración a medida que la germinación transcurre. Al realizar el análisis de correlación (Tabla 5) se ve reflejada una asociación lineal positiva, con un coeficiente de Pearson $r = 0,77$, cuya prueba de hipótesis es significativa ($p - \text{valor} = 0,0008$). Este valor manifiesta que a medida que transcurre la germinación el contenido de magnesio va aumentando.

Tabla 5: Salida InfoStat del análisis de Correlación para el coeficiente de correlación simple lineal y su prueba de hipótesis

Coeficientes de correlación		
Correlación de Pearson: Coeficientes \probabilidades		
	MAGNESIO (mg%g)	DIAS
MAGNESIO (mg%g)	1,00	8,3E-04
DIAS	0,77	1,00

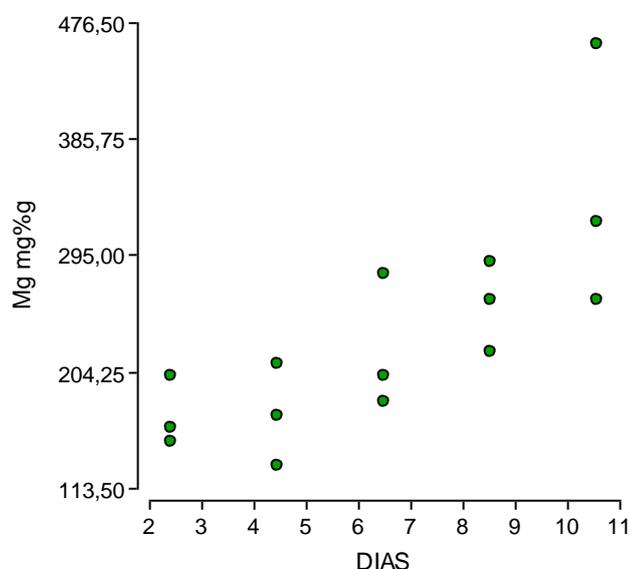


Figura 30: Diagrama de dispersión de la concentración de magnesio (mg%g) según el día de germinación de semillas de lentejas (*Lens culinaris*) en cultivo aeropónico.

Es muy probable que ésta asociación pueda explicarse mediante un modelo lineal que nos permita predecir el contenido de magnesio en alguno de los días en los que transcurre la germinación. Se planten varios modelos, lineal y no lineales, siendo el modelo exponencial el

que mejor se ajusta a las concentraciones de magnesio (mg%g) durante el proceso de germinación ($R^2 = 0,64$) con un $p - valor = 0,0003$. Se tiene que tener en cuenta que entre el 2° y el 4° día de germinación la concentración de magnesio se mantiene constante hasta que comienza la síntesis de compuestos que contienen al magnesio en su composición, como por ejemplo la clorofila.

El modelo de predicción para la concentración de magnesio es:

$$\hat{w} = 121,75 \text{mg}\%g * e^{0,10(\text{mg}\%g)/\text{día} * x}$$

Siendo:

\hat{w} : concentración de magnesio (mg%g) estimada en brote de lenteja a los x días de germinación.

x : día de germinación de lenteja.

Y la representación del ajuste del modelo a las concentraciones de magnesio obtenidas es:

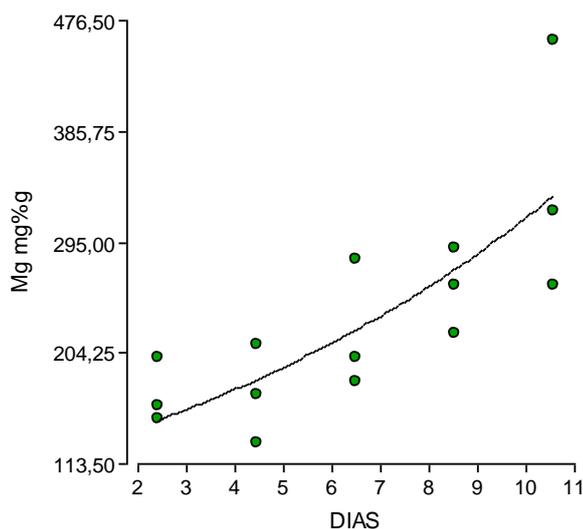


Figura 31: Modelo exponencial de la concentración de magnesio (mg%g) entre el 2° y el 10° día de germinación de lentejas (*Lens culinaris*) en cultivo aeropónico

La concentración de calcio y magnesio se mantienen constantes durante los 4 primeros días de germinación debido a que no hay absorción de dichos minerales ni tampoco síntesis de proteínas. A partir del cuarto día comienza el mayor crecimiento en materia seca del germinado dado por la formación de pared celular. El calcio es uno de los componentes principales que le dan rigidez a dicha pared y a la plántula en crecimiento. (Azcón Bieto, 2000)

3.5. PRODUCCIÓN AUTOMATIZADA DE SEMILLAS GERMINADAS EN CULTIVO AEROPÓNICO

En los últimos años, ha aumentado la popularidad de las semillas germinadas, que muchos aprecian por su valor nutritivo. Sin embargo, el consumo de semillas germinadas crudas se puede asociar con enfermedades transmitidas por alimentos, causadas principalmente por patógenos como *Salmonella* spp, *E. Coli*, *Listeria monocytogenes* y *Shigella* spp. Actualmente existen formas de obtención de estos productos mediante un cultivo controlado que podría garantizar la producción de semillas germinadas libres de patógenos.

Los germinados pueden consumirse en fresco o como componente de productos preparados como ensaladas, sopas, salsas, entre otro. Además, son aptos para el consumo del público en general. Para su conservación se recomienda la refrigeración a una temperatura de 5-8°C. Estos productos pueden ser utilizados en la preparación directa de otros alimentos o también pueden ser deshidratados o escaldados y finalmente envasados (por ejemplo, en bolsas plásticas de 125 gramos o en bandejas plásticas recubiertas con film

plástico de polietileno y polipropileno). Su vida útil en refrigeración es de hasta 7 días a partir de la fecha de envasado.

Es importante que la producción de semillas germinadas para el consumo humano se realice bajo la implementación de Buenas Prácticas de Manufactura y Producción. Esto lleva a obtener un producto inocuo manteniendo las características nutritivas esperadas por el consumidor. El tipo de cultivo que se plantea es *aeropónico*, realizado dentro de una cámara con un sistema automatizado. Entre las ventajas de este sistema, es que no se encuentran en contacto con el suelo y se utiliza agua limpia, existe un mejor aprovechamiento de los recursos, una respuesta más oportuna a los problemas, se facilita la inspección por parte de las autoridades y aumenta la confianza en el producto.

La estrategia que aquí se presenta, podría servir como prerrequisito para la implementación de un sistema HACCP para la producción de semillas germinadas. Se decidió el desarrollo de esta metodología debido que se cuenta con la información suficiente para su elaboración, entre ellos: la estandarización del proceso germinación de las semillas, el establecimiento de ciertas variables del mismo y la necesidad de obtener un producto inocuo. Uno de los objetivos de este trabajo fue diseñar un proceso aplicable a la producción de semillas germinadas. La finalidad de este apartado es ilustrar sobre las diferentes prácticas a seguir para la obtención de semillas germinadas inocuas y posibilitar la aplicación de la misma.

3.5.1. **ÁMBITO DE APLICACIÓN, UTILIZACIÓN Y DEFINICIONES**

3.5.1.1. **Ámbito de aplicación**

Éste apartado tiene como objetivo la producción de semillas germinadas o brotes para el consumo humano, con el fin de obtener un producto inocuo y sano.

3.5.1.2. **Utilización**

El proceso planteado sigue el modelo de los Principios generales de higiene de los alimentos (CXC 1-1969) y debe utilizarse junto con los Principios generales de higiene de los alimentos y el Código de prácticas de higiene para frutas y hortalizas.

3.5.1.3. **Definiciones**

Productor de semillas: Persona encargada de dirigir las actividades asociadas con la producción primaria de semillas, incluidas las prácticas postcosecha.

Distribuidor de semillas: Persona encargada de distribuir semillas (manipular, almacenar y transportar) a los productores de semillas germinadas. Puede darse el caso de que los distribuidores de semillas traten directamente con uno o varios productores de semillas o que sean ellos mismos productores.

Productor de semillas germinadas. Persona encargada de dirigir las actividades asociadas con la producción de semillas germinadas.

Biocida: Toda sustancia química o microorganismo destinado a destruir, contrarrestar, neutralizar o ejercer un control sobre cualquier organismo nocivo por medios químicos o biológicos.

Hidroponia: Término general utilizado para la producción de plantas sin suelo, en un medio nutriente acuoso.

Aeroponía: Término general utilizado para la producción de plantas en un entorno aéreo o de niebla sin hacer uso de suelo.

Cámara de producción: Lugar aislado donde se colocan los cajones con las semillas para su germinación.

Producción primaria: las fases del cultivo y la recolección de frutas y hortalizas frescas, como la preparación del suelo, la plantación, el riego, la aplicación de fertilizantes y productos agroquímicos, el envasado en el campo y el transporte a un establecimiento de envasado.

Frutas y hortalizas listas para el consumo: Toda fruta u hortaliza que normalmente se consume cruda, destinadas al consumo humano directo sin que se le aplique ninguna fase microbicida adicional. Puede incluir cualquier fruta o verdura que haya sido lavada, pelada, cortada o modificada físicamente de alguna otra manera con respecto a su forma original, pero que se mantiene en estado fresco.

Agua limpia: Agua que no pone en peligro la inocuidad de los alimentos en las circunstancias en que se utiliza.

Agua potable: Agua que cumple con las normas de calidad del agua para beber descritas en el artículo 982 del Código Alimentario Argentino (Ley 18284 – Decreto 2126/1971)

Agua de riego utilizada: Agua que ha estado en contacto con las semillas germinadas durante el proceso de germinación

3.5.2. PROCESO DE PRODUCCIÓN DE SEMILLAS GERMINADAS

3.5.2.1. **Generalidades:**

Durante el proceso es necesario mantener la revisión continua en la germinación para detectar y/o controlar ataque de microorganismos e insectos. Para ello el control de temperatura y humedad, los tiempos de enfriado y rotación de las semillas germinadas son importantes durante toda la etapa de germinación. También se debe tener control sobre el empaque utilizado y en el almacenamiento la temperatura, humedad y tiempo son sensibles para mantener el objetivo. Todo debe quedar registrado y documentado.

3.5.2.2. **Recepción de semillas:**

Las semillas germinadas y brotes deben ser productos obtenidos a partir de semillas deshidratadas de origen orgánico, obtenidas directamente de productores de semillas para el consumo humano. Éstos deben realizar sus actividades teniendo en cuenta Buenas Prácticas Agrícolas (BPA).

A su llegada las semillas se examinan para reducir al mínimo la posibilidad de que se introduzcan contaminantes obvios y visibles. Los recipientes de entrega se examinan para determinar si presentan daños físicos (por ejemplo, agujeros que indiquen la presencia de roedores) y signos de contaminación (manchas, insectos, heces de roedores o insectos, orina, materias extrañas, etc.). Si los recipientes se encuentran dañados, contaminados o potencialmente contaminados, las semillas no se deben utilizar para la producción de brotes destinados al consumo humano.

Durante el almacenamiento las semillas se mantienen en depósito sobre pallets plásticos, a una distancia de 30 cm de las paredes. Las condiciones del almacenamiento son: temperatura entre 15°C y 18°C, sin superar los 25°C para evitar deshidratación y mantener el poder germinativo, humedad ambiente máxima de 20%, baja luminosidad y adecuada circulación de aire. Estas condiciones impiden además la formación de moho y la proliferación de bacterias y facilita la inspección para la lucha contra plagas.

Los recipientes que contienen las semillas deben estar etiquetados y registrados para su control. Una vez abiertos se protegen con el cierre y malla contra plagas y otras fuentes de contaminación.

3.5.2.3. **Pesado de materia prima:**

Para comenzar con el proceso de germinación se pesa la cantidad de semillas de acuerdo a lo que se planifica producir. Si la cantidad de semillas es baja se evita el uso innecesario de los recursos; si es excesiva se produce un aumento de la temperatura dentro de la masa en el proceso de germinación que provocaría la proliferación de algunos microorganismos que pudieran encontrarse viables.

3.5.2.4. **Lavado y Activación de semillas**

Las semillas se deben enjuagar concienzudamente antes de la descontaminación microbiológica a fin de eliminar la suciedad y aumentar la eficacia del tratamiento siguiente. Para ello se someten a reiterados lavados con suficiente agua limpia a temperatura ambiente, moviéndolas para que la suciedad que pudiera estar pegada se afloje y/o se elimine por barrido del agua. Este proceso se realiza 2 veces o hasta que se elimine la mayor parte de la suciedad y el agua de enjuague quede limpia.

Para comenzar con la etapa de activación se remojan las semillas con agua potable a $35^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ y se dejan en remojo durante 12 horas. Los recipientes utilizados para el remojo deben limpiarse y desinfectarse antes de su utilización.

3.5.2.5. **Descontaminación microbiana de las semillas**

En la última fase de la etapa de remojo se aplica el tratamiento de descontaminación antes del proceso de germinación para reducir el riesgo de enfermedades transmitidas por lo alimentos.

El tratamiento de descontaminación es la aplicación de ozono gaseoso al agua de remojo durante 10 minutos. (Chawsla y otros, 2012)

3.5.2.6. **Escurrido**

Luego que se cumple el tiempo de hidratación las semillas hidratadas se cuelan y se disponen en cajones plásticos cribados y los mismos se colocan dentro de la cámara de producción. Allí, en un ambiente cerrado, se aplica ozono nuevamente durante 5 minutos para disminuir la carga microbiana que pudiera estar presente en la cámara.

3.5.2.7. **Germinación:**

Se enciende el controlador de la cámara de producción que mantiene la temperatura en un rango de 18 a 20°C y con un riego por aspersion con agua potable de 15 segundos cada 20 minutos. Este proceso disminuye la temperatura de las semillas que aumentan la misma por el proceso de germinación, además de mantener la condición de humedad entre 80% y 95%. Al estar en una cámara cerrada no recibe luminosidad.

3.5.2.8. **Aplicación de luz:**

Al tercer día de germinación se enciende una luz de longitud de onda de 400 a 600nm aproximadamente, emitiendo luz verde- azul para potenciar la producción de clorofila impartiendo al producto color. Esto se mantiene hasta el momento de la extracción de los brotes o semillas germinadas para el consumo.

3.5.2.9. **Cosecha:**

A los 4-8 días de producción aproximadamente (dependiendo de la especie y variedad), o cuando la plántula abrió su primer par de hojas, se corta el suministro de agua.

3.5.2.10. **Enfriamiento:**

Se somete a los brotes a un enjuague con agua potable para bajar la temperatura, eliminar cáscaras y reducir aún más la contaminación microbiana. Se pasa a cámara de refrigeración (8°C) durante 2 horas para disminuir aún más la temperatura y frenar la germinación, además de reducir al mínimo la proliferación de microbiana. Los brotes quedan en un proceso de germinación latente o muy lenta.

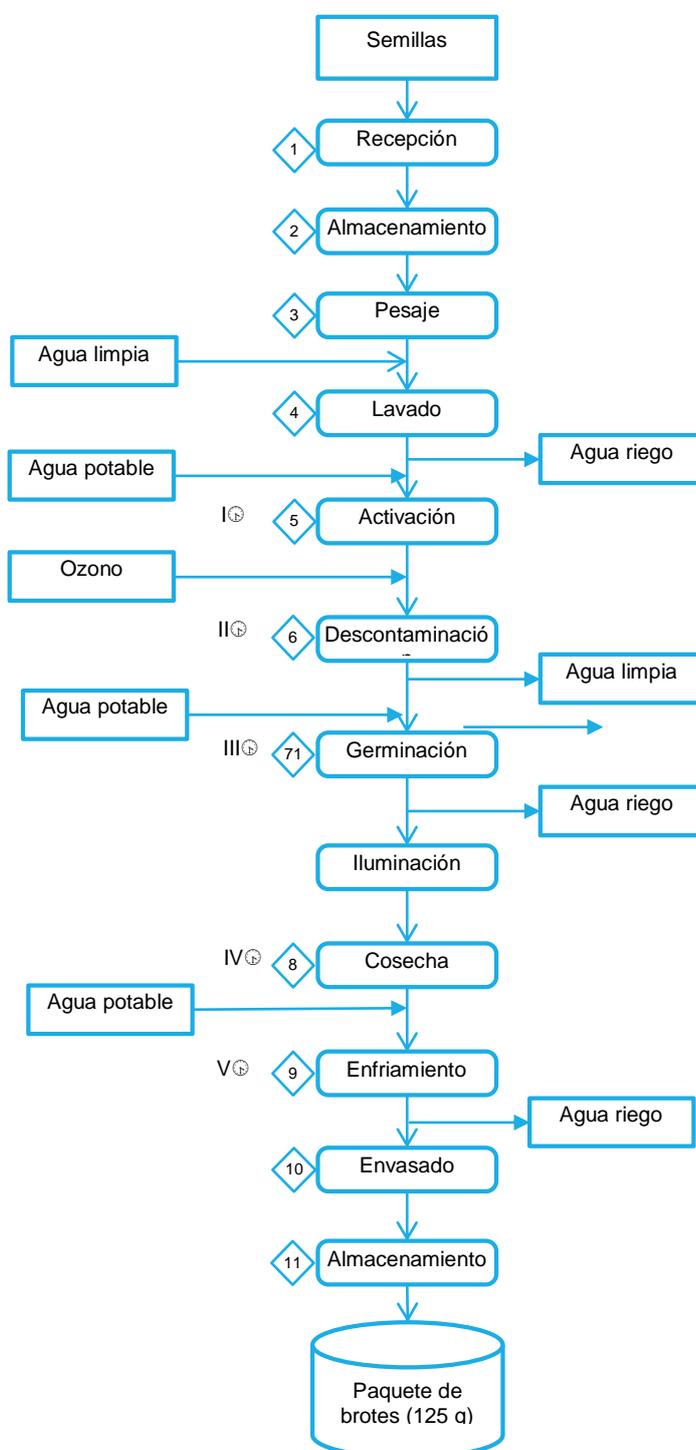
3.5.2.11. **Envasado**

Se colocan los brotes en bolsas de polietileno de cierre hermético, con etiqueta autoadhesiva.

3.5.2.12. Almacenamiento

Las bolsas se colocan en cajones plásticos para su estiva y se mantienen en cámara de refrigeración a $6 \pm 2^{\circ}\text{C}$ hasta su distribución. La vida útil del producto es de 7 días en refrigeración desde el envasado.

3.5.3. DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA PRODUCCIÓN DE BROTES Y GERMINADOS MEDIANTE CULTIVO AEROPÓNICO PARA CONSUMO HUMANO.



Referencias

Controles

- 1- BPA. Ausencia de daños físicos y signos de contaminación.
- 2- Distancia a las paredes y suelo, temperatura, humedad y luminosidad. Control de plagas.

- 3- Determinar de acuerdo a la producción.
- 4- Hasta eliminación de suciedad y materia extraña
- 5- Agua potable a $35^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$.
- 6- Cantidad de agua suficiente.
- 7- Control automatizado de temperatura, humedad y riego.
- 8- Al aparecer el primer par de hojas
- 9- Agua potable fría, temperatura de refrigeración
- 10- Pesaje y calidad de envases
- 11- Temperatura, tiempo y humedad.

Control reloj

- I- 12 horas
- II- 5 minutos
- III- 5 minutos de ozonización, riego automatizado de 15 segundos cada 20 minutos.
- IV- A los 4-8 días de iniciado el proceso
- V- 2 horas en cámara de refrigeración.

3.5.4. ESTABLECIMIENTO: MANTENIMIENTO Y SANEAMIENTO

Al inicio de las operaciones y durante todo el proceso, se debe limpiar y desinfectar los utensilios y superficies que estarán en contacto con las semillas en cualquiera de sus etapas y con los germinados y brotes, para asegurar la ausencia de patógenos en las instalaciones y los equipos.

Se debe tener un programa para el control de plagas comenzando por una eficaz eliminación de los residuos y del material descartado por eliminación selectiva, para disminuir la posibilidad de atraer insectos y otras plagas. Además, deben tenerse en cuenta la documentación de los controles para una adecuada gestión de residuos y vigilancia de la efectividad del programa desarrollado.

4. CONCLUSIONES

La concentración de hierro (mg%g) en los brotes de lenteja no presenta variación durante el proceso de germinación, lo que le daría una ventaja en contraposición a las semillas cocidas. Durante el cocimiento muchas de las vitaminas y minerales se pierden en el agua de cocción. El consumo de brotes de lentejas puede ser una opción para aumentar la presencia de legumbres en la dieta diaria de la población argentina, sujeta a una campaña de información y concientización a favor de la buena nutrición y la salud.

Durante el proceso de germinación aumenta el contenido de calcio y magnesio, manteniéndose constantes hasta el 4° día de germinación. El contenido promedio de calcio (mg%g) se puede calcular mediante un modelo lineal y la concentración de magnesio (mg%g) mediante un modelo exponencial.

El proceso de obtención de brotes y germinados mediante la producción aeropónica disminuye el contacto con fuentes de contaminación, siempre y cuando se mantengan los procesos de descontaminación adecuados. Éste método de cultivo permite la automatización del mismo haciendo más eficiente el proceso respecto a los recursos naturales, humanos y financieros y facilitando la inspección y control por parte de las autoridades y los encargados.

5. RECOMENDACIONES

La alimentación saludable, el veganismo y el vegetarianismo, dejó de ser una moda para ser una tendencia mundial. Los brotes y germinados de diferentes leguminosas y cereales se toman como fuente natural de nutrientes y el CAA no los contempla. La Unión Europea, el Codex Alimentarius de la FAO y organismos de diferentes países están regularizando éste alimento, las materias primas y la producción. Es necesario continuar con el estudio de éste tipo de alimentos, que en el mundo entran en el grupo de los Alimentos Funcionales. En Japón se certifican bajo la denominación de “FOSHU”²¹. (Durán, Valenzuela, 2010).

Así mismo, se deben tener en cuenta el desarrollo de productos que tengan como materia prima a los brotes y germinados. Un ejemplo de estos es el empleo en panadería de la harina de trigo germinado para la elaboración de productos a partir de *masa madre*²², o la elaboración de medallones con mezcla de brotes diferentes con el agregado de otros vegetales.

²¹ FOSHU: “Food for Specified Health Use”, en español “Alimentos para usos específicos en salud” o en forma general “Alimentos Funcionales”.

²² Masa madre se denomina al fermento natural que se mantiene para la producción de panificados sin el agregado de levaduras y se pasa de generación en generación. Se conoce que existe masa madre de más de 100 años.

6. ANEXO

6.1. DATOS

Tabla 6: Concentración de hierro (mg%g), calcio (mg%g) y magnesio (mg%) en semillas de lenteja en distintas etapas de la germinación

DIAS	Fe mg%g	Ca mg%g	Mg mg%g
0	12,81	320,00	240,00
0	11,89	160,00	170,00
0	12,80	120,00	130,00
2	10,67	180,00	150,00
2	13,11	200,00	200,00
2	10,65	180,00	160,00
4	10,06	140,00	130,00
4	10,68	160,00	170,00
4	9,85	280,00	210,00
6	11,00	260,00	200,00
6	12,50	200,00	180,00
6	10,12	240,00	280,00
8	8,35	280,00	220,00
8	10,72	280,00	260,00
8	8,63	260,00	290,00
10	10,68	200,00	260,00
10	12,27	180,00	320,00
10	9,09	390,00	460,00

6.2. ANÁLISIS DESCRIPTIVO

6.2.1. HIERRO

Medidas resumen

Día	Variable	n	Media	D.E.	E.E.	Mín	Máx
0	Hierro (mg%g)	3	12,50	0,53	0,30	11,89	12,81
2	Hierro (mg%g)	3	11,48	1,41	0,82	10,65	13,11
4	Hierro (mg%g)	3	10,18	0,45	0,26	9,81	10,68
6	Hierro (mg%g)	3	11,21	1,20	0,69	10,12	12,50
8	Hierro (mg%g)	3	9,23	1,29	0,75	8,35	10,72
10	Hierro (mg%g)	3	10,68	1,59	0,92	9,09	12,27

6.2.2. CALCIO

Medidas resumen

DIAS	Variable	n	Media	D.E.	E.E.	Mín	Máx
0	Ca mg%g	3	200,00	105,83	61,10	120,00	320,00
2	Ca mg%g	3	186,67	11,55	6,67	180,00	200,00
4	Ca mg%g	3	193,33	75,72	43,72	140,00	280,00
6	Ca mg%g	3	233,33	30,55	17,64	200,00	260,00
8	Ca mg%g	3	273,33	11,55	6,67	260,00	280,00
10	Ca mg%g	3	256,67	115,90	66,92	180,00	390,00

6.2.3. MAGNESIO

Medidas resumen

DIAS	Variable	n	Media	D.E.	E.E.	Mín	Máx
0	Mg mg%g	3	180,00	55,68	32,15	130,00	240,00
2	Mg mg%g	3	170,00	26,46	15,28	150,00	200,00
4	Mg mg%g	3	170,00	40,00	23,09	130,00	210,00
6	Mg mg%g	3	220,00	52,92	30,55	180,00	280,00
8	Mg mg%g	3	256,67	35,12	20,28	220,00	290,00
10	Mg mg%g	3	346,67	102,63	59,25	260,00	460,00

6.3. ANÁLISIS INFERENCIAL

6.3.1. CÁLCULO DE INTERVALOS DE CONFIANZA 95% PARA LA CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE HIERRO (MG%G)

Intervalos de confianza

Bilateral

Estimación paramétrica

Día	Variable	Parámetro	Estimación	E.E.	n	LI (95%)	LS (95%)
0	Hierro (mg%g)	Media	12,50	0,30	3	11,19	13,81
2	Hierro (mg%g)	Media	11,48	0,82	3	7,96	14,99
4	Hierro (mg%g)	Media	10,18	0,26	3	9,06	11,30
6	Hierro (mg%g)	Media	11,21	0,69	3	8,22	14,20
8	Hierro (mg%g)	Media	9,23	0,75	3	6,02	12,44
10	Hierro (mg%g)	Media	10,68	0,92	3	6,73	14,63

6.3.2. CÁLCULO DE INTERVALOS DE CONFIANZA 95% PARA LA CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE CALCIO (MG%G)

Intervalos de confianza

Bilateral

Estimación paramétrica

DIAS	Variable	Parámetro	Estimación	E.E.	n	LI (95%)	LS (95%)
00	Ca mg%g	Media	200,00	61,10	3	-62,90	462,90
02	Ca mg%g	Media	186,67	6,67	3	157,98	215,35
04	Ca mg%g	Media	193,33	43,72	3	5,24	381,43
06	Ca mg%g	Media	233,33	17,64	3	157,44	309,22
08	Ca mg%g	Media	273,33	6,67	3	244,65	302,02
10	Ca mg%g	Media	256,67	66,92	3	-31,25	544,58

6.3.3. CÁLCULO DE INTERVALOS DE CONFIANZA 95% PARA LA CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE MAGNESIO (MG%G)

Intervalos de confianza

Bilateral

Estimación paramétrica

DIAS	Variable	Parámetro	Estimación	E.E.	n	LI (95%)	LS (95%)
00	Mg mg%g	Media	180,00	32,15	3	41,69	318,31
02	Mg mg%g	Media	170,00	15,28	3	104,28	235,72
04	Mg mg%g	Media	170,00	23,09	3	70,63	269,37
06	Mg mg%g	Media	220,00	30,55	3	88,55	351,45
08	Mg mg%g	Media	256,67	20,28	3	169,43	343,91
10	Mg mg%g	Media	346,67	59,25	3	91,71	601,62

6.4. ANÁLISIS DE REGRESIÓN PARA LA CONCENTRACIÓN DE HIERRO (MG%G) VS DÍAS DE GERMINACIÓN (2 A 10 DÍAS)

6.4.1. SALIDA DE INFOSTAT PARA EL MODELO POTENCIAL

Análisis de regresión lineal

Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP	AIC	BIC
LN Hierro (mg%g)	15	0,11	0,04	0,02	-16,06	-13,93

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	E.E.	LI (95%)	LS (95%)	T	p-valor
const	2,47	0,10	2,25	2,68	24,97	<0,0001
LN DIAS	-0,07	0,06	-0,19	0,05	-1,26	0,2287

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,02	1	0,02	1,60	0,2287
LN_DIAS	0,02	1	0,02	1,60	0,2287
Error	0,20	13	0,02		
Total	0,23	14			

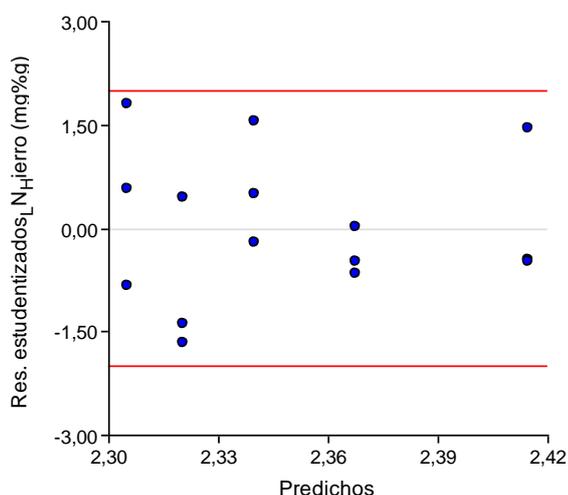


Figura 32: Diagrama de residuos estandarizados del logaritmo natural de la concentración de hierro vs predichos, para la evaluación de supuestos en el modelo potencial.

6.4.2. SALIDA DE INFOSTAT PARA EL MODELO EXPONENCIAL

Análisis de regresión lineal

Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP	AIC	BIC
LN Hierro (mg%g)	15	0,09	0,01	0,02	-15,66	-13,54

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	E.E.	LI (95%)	LS (95%)	T	p-valor
const	2,43	0,08	2,26	2,59	31,72	<0,0001
DIAS	-0,01	0,01	-0,04	0,01	-1,10	0,2908

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,02	1	0,02	1,21	0,2908
DIAS	0,02	1	0,02	1,21	0,2908
Error	0,21	13	0,02		
Total	0,23	14			

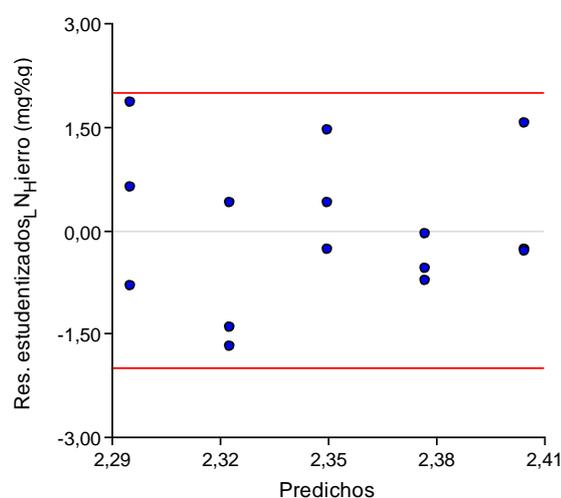


Figura 33: Diagrama de residuos estandarizados del logaritmo natural de la concentración de hierro vs predichos, para la evaluación de supuestos

6.4.2.1. Análisis de supuesto de normalidad

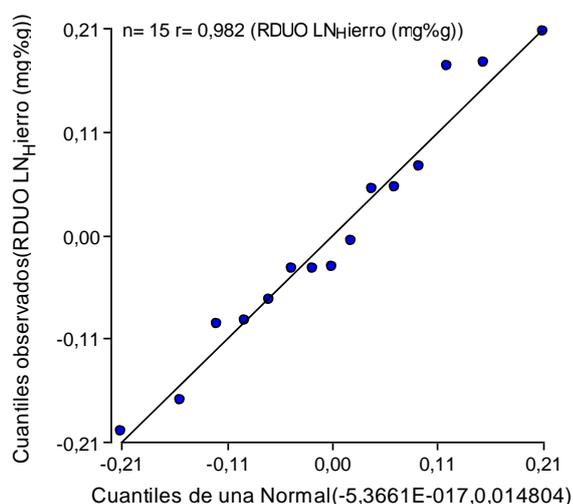


Figura 34: Q-Qplot de los residuos del logaritmo natural de la concentración de hierro (mg%g).

6.4.3. ANÁLISIS DE REGRESIÓN PARA MODELO NO LINEAL (LOGÍSTICO)

Análisis de regresión no lineal

Modelo Hierro (mg%g) $\alpha/(1+\beta \cdot \exp(-\gamma \cdot DIAS))$

Variable	N	CMError	Sigma	AIC	BIC	Iteración
Hierro (mg%g)	15	1,93	1,39	57,10	59,93	4

Parámetros	Cota inf.	Cota sup.	Val.Ini.	Estimación	E.E.	T	p-valor
ALFA	-1E30	1E30	13,11	75,29	26774,07	2,8E-03	0,9978
BETA	-1E30	1E30	0,04	5,63	2356,26	2,4E-03	0,9981
GAMMA	-1E30	1E30	-0,21	-0,01	0,83	-0,02	0,9865

Matriz de correlación de las estimaciones

	ALFA	BETA	GAMMA
ALFA	1,00	1,00	1,00
BETA	1,00	1,00	1,00
GAMMA	1,00	1,00	1,00

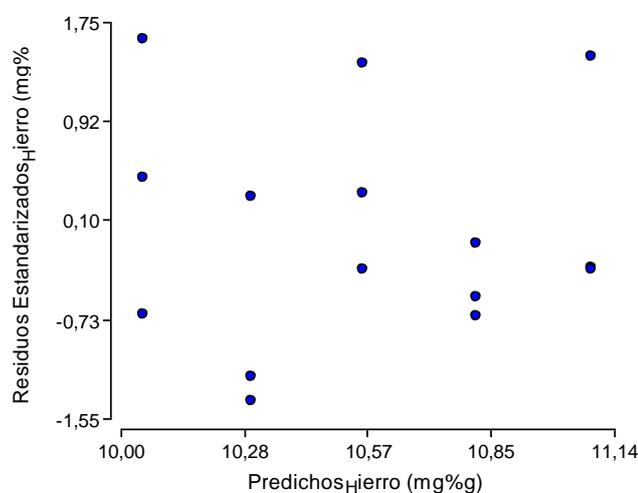


Figura 35: Diagrama de residuos estandarizados de la concentración de hierro vs predichos, para la evaluación de supuestos

6.4.4. ANÁLISIS DE LA VARIANZA PARA EL MODELO DE UN DISEÑO COMPLETAMENTE ALEATORIZADO

Modelo

$$Y_{ij} = \mu + \tau_j + \varepsilon_{ij} \quad i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3, 4, 5$$

Y_{ij} : Concentración de hierro (mg%g) de la i-ésima observación del j-ésimo día de germinación

μ : Concentración promedio de hierro (ppm) general

τ_j : variación de la concentración promedio de hierro del j-ésimo día de germinación respecto a la concentración promedio de hierro (ppm) general

i : la i-ésima repetición

j : los j-ésimos días de germinación (2, 4, 6, 8 y 10)

Hipótesis del modelo

H_c : Existe variación en la concentración promedio de hierro (ppm) durante los días de germinación de lenteja bajo cultivo aeropónico"

$$H_0: \tau_j = 0 \forall j$$

$$H_1: \tau_j \neq 0 \text{ para algún } j$$

$$\alpha = 0,05$$

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Hierro (mg%g)	15	0,38	0,13	11,86

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	9,51	4	2,38	1,52	0,2697
DIAS	9,51	4	2,38	1,52	0,2697
Error	15,67	10	1,57		
Total	25,18	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,36408

Error: 1,5673 gl: 10

DIAS	Medias	n	E.E.	
2	11,48	3	0,72	A
6	11,21	3	0,72	A
10	10,68	3	0,72	A
4	10,20	3	0,72	A
8	9,23	3	0,72	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

6.4.4.1. Análisis de supuestos

6.4.4.1.1. Normalidad

$$H_0: Y \sim N(\mu, \sigma)$$

$$\alpha = 0,05$$

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Hierro (mg%g)	18	10,88	1,44	0,92	0,2513

6.4.4.1.2. Homoscedasticidad

$$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2 = \sigma_4^2 = \sigma_5^2 = \sigma_\varepsilon^2$$

$$\alpha = 0,05$$

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS Hierro (mg%g)	18	0,34	0,06	66,80

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1,69	5	0,34	1,22	0,3589
Día	1,69	5	0,34	1,22	0,3589
Error	3,34	12	0,28		
Total	5,03	17			

6.5. ANÁLISIS DE REGRESIÓN PARA LA CONCENTRACIÓN DE CALCIO (MG%G) VS DÍAS DE GERMINACIÓN (2 A 10 DÍAS)

6.5.1. SALIDA DE INFOSTAT PARA EL MODELO LINEAL

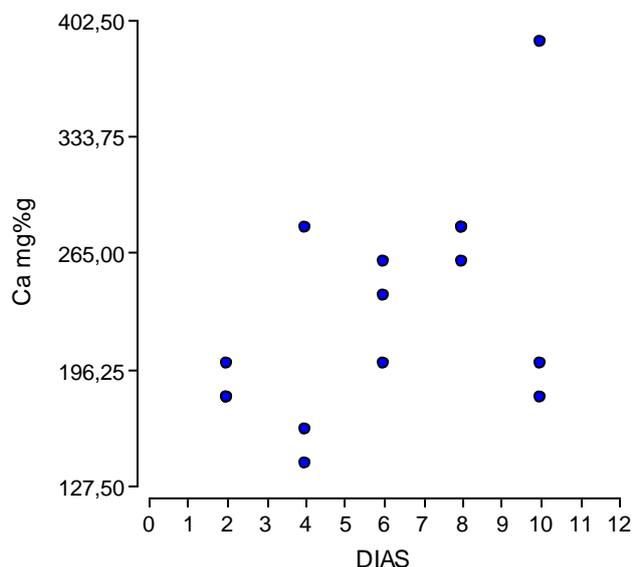


Figura 36: Concentración de calcio (mg%g) en lentejas desde los 2 hasta los 10 días de germinación

Análisis de regresión lineal

Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP	AIC	BIC
Ca mg%g	15	0,25	0,19	4836,87	168,21	170,33

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	E.E.	LI (95%)	LS (95%)	T	p-valor
const	162,67	35,09	86,86	238,47	4,64	0,0005
DIAS	11,00	5,29	-0,43	22,43	2,08	0,0579

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	14520,00	1	14520,00	4,32	0,0579
DIAS	14520,00	1	14520,00	4,32	0,0579
Error	43653,33	13	3357,95		
Total	58173,33	14			

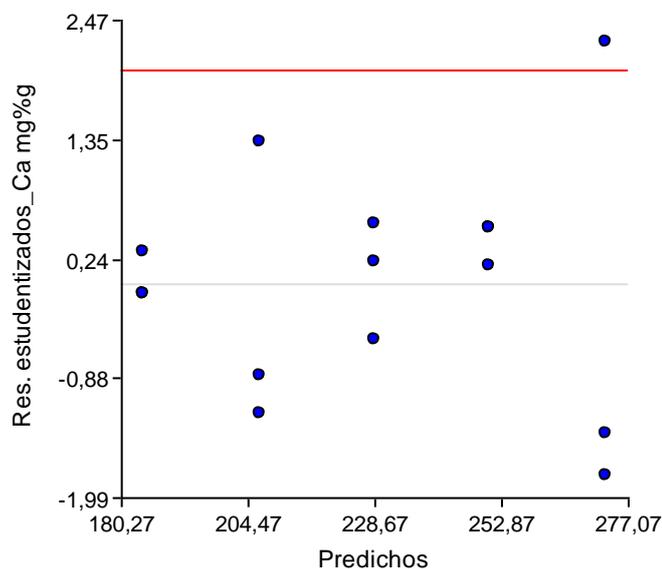


Figura 37: Residuos estudentizados de la concentración de calcio de lentejas durante la germinación

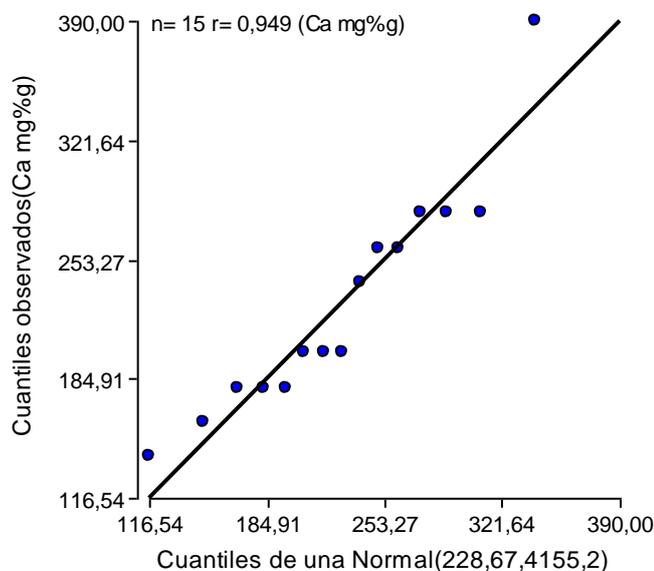


Figura 38: Q-Qplot de la concentración de calcio (mg%g)

6.5.1.1. Análisis de supuestos

6.5.1.1.1. Normalidad

$$H_0: Y \sim N(\mu, \sigma)$$

$$\alpha = 0,05$$

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Ca mg%g	15	228,67	64,46	0,91	0,2828

6.5.2. SALIDA DE INFOSTAT PARA EL MODELO LINEAL DE MEDIAS

Análisis de regresión lineal

Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP	AIC	BIC
Media de [Ca]	5	0,83	0,78	1023,46	46,55	45,37

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	E.E.	LI (95%)	LS (95%)	T	p-valor
const	162,67	18,89	102,55	222,79	8,61	0,0033
DIAS	11,00	2,85	1,94	20,06	3,86	0,0307

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4840,00	1	4840,00	14,92	0,0307
DIAS	4840,00	1	4840,00	14,92	0,0307
Error	973,33	3	324,44		
Total	5813,33	4			

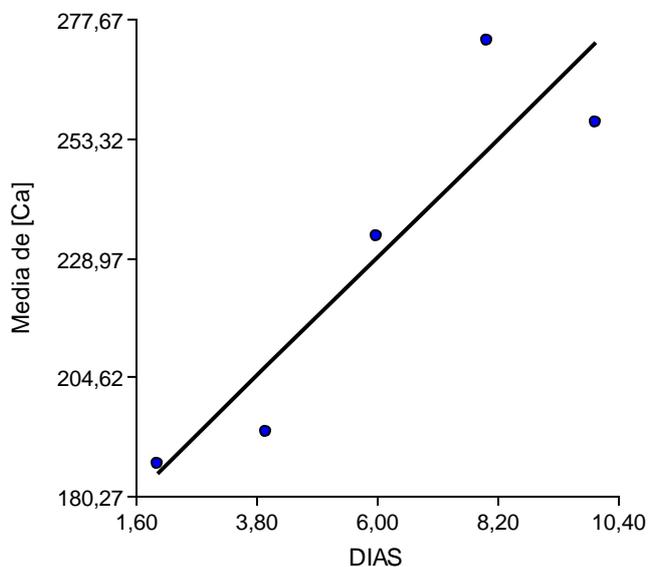


Figura 39: Modelo lineal ajustado a las concentraciones medias de calcio (mg%g) en lentejas durante la germinación

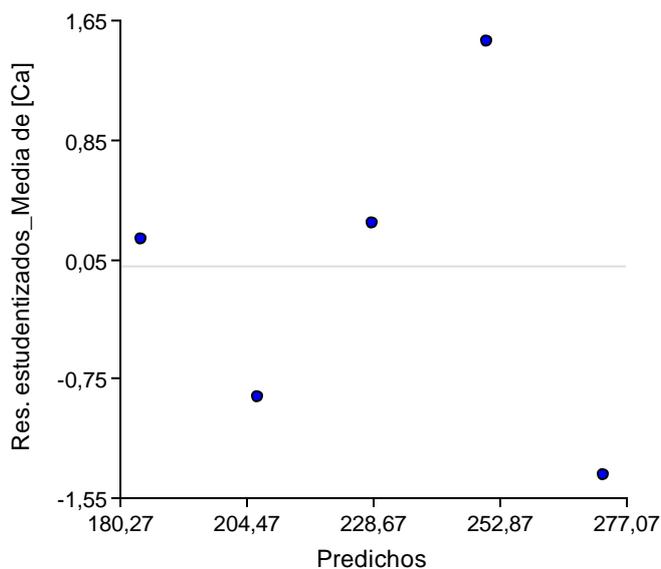


Figura 40: Residuos estudentizados de la concentración promedio de calcio en lentejas durante la germinación

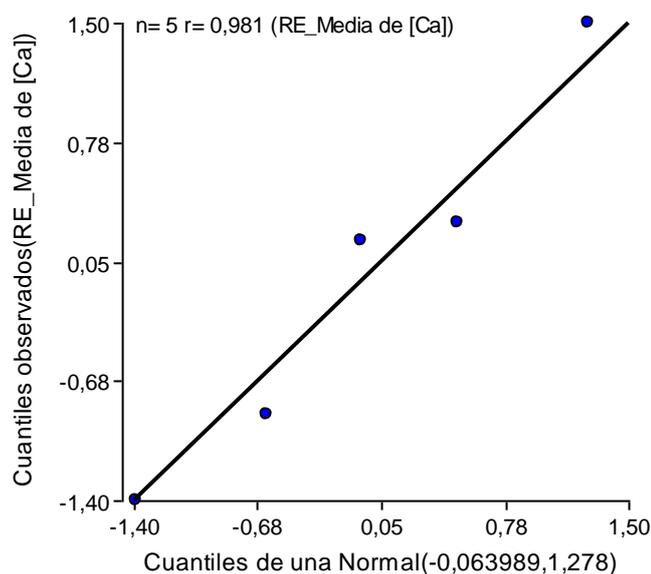


Figura 41: Q-Qplot de los residuos estudentizados de la concentración promedio de calcio en lentejas durante su germinación

6.5.2.1. Análisis de supuestos

6.5.2.1.1. Normalidad

$$H_0: Y \sim N(\mu, \sigma)$$

$$\alpha = 0,05$$

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RE Media de [Ca]	5	-0,06	1,13	0,96	0,8020

6.6. ANÁLISIS DE REGRESIÓN PARA LA CONCENTRACIÓN DE MAGNESIO (MG%G) VS DÍAS DE GERMINACIÓN (2 A 10 DÍAS)

6.6.1. SALIDA DE INFOSTAT PARA EL MODELO LINEAL

Análisis de regresión lineal

Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP	AIC	BIC
Mg mg%g	15	0,59	0,56	4463,87	167,05	169,18

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	E.E.	LI (95%)	LS (95%)	T	p-valor
const	100,67	33,76	27,73	173,60	2,98	0,0106
DIAS	22,00	5,09	11,00	33,00	4,32	0,0008

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	58080,00	1	58080,00	18,68	0,0008
DIAS	58080,00	1	58080,00	18,68	0,0008
Error	40413,33	13	3108,72		
Total	98493,33	14			

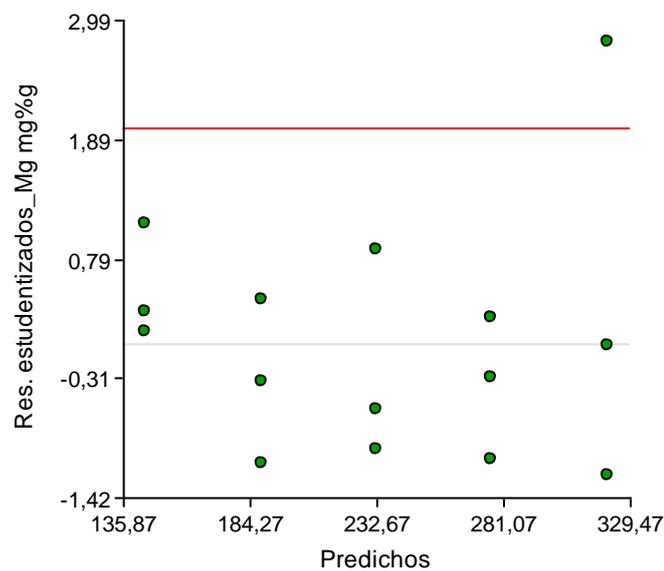


Figura 42: Residuos estudentizados de la concentración de magnesio en lentejas durante la germinación

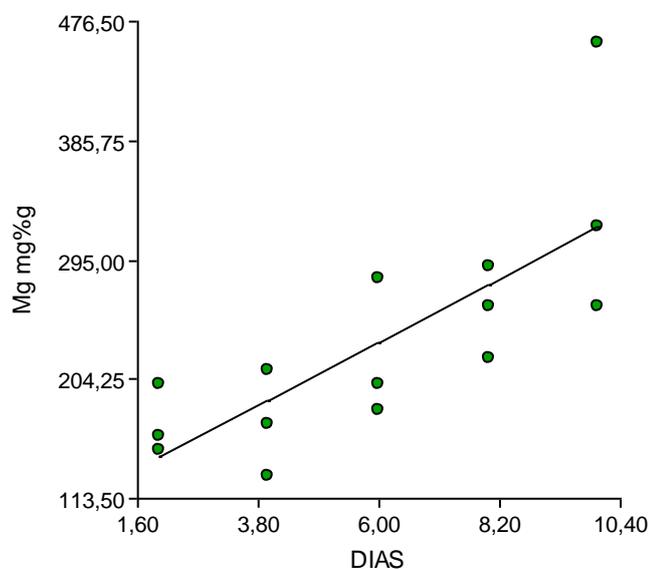


Figura 43: Modelo lineal de la concentración de magnesio (mg%g) en lentejas durante la germinación

6.6.1.1. Análisis de supuestos

6.6.1.1.1. Normalidad

$$H_0: Y \sim N(\mu, \sigma)$$

$$\alpha = 0,05$$

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Mg mg%g	15	232,67	83,88	0,90	0,1770

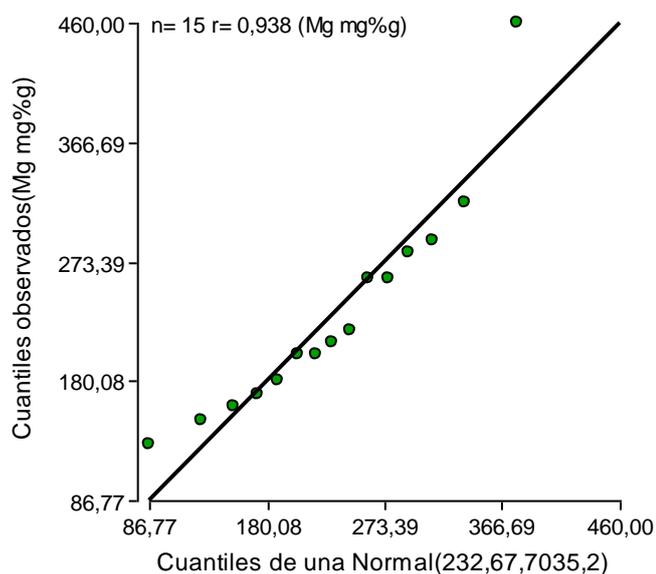


Figura 44: Q-Qplot de los residuos estudentizados de la concentración de magnesio

6.6.2. SALIDA DE INFOSTAT PARA EL MODELO POLINÓMICO DE 2DO GRADO

Análisis de regresión lineal

Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP	AIC	BIC
MAGNESIO (mg%g)	15	0,65	0,59	51,33	97,58	100,42

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	E.E.	LI (95%)	LS (95%)	T	p-valor
const	18,40	6,64	3,94	32,86	2,77	0,0169
DIAS	-1,37	2,53	-6,88	4,14	-0,54	0,5975
DIAS^2	0,30	0,21	-0,15	0,75	1,44	0,1755

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	640,32	2	320,16	11,15	0,0018
DIAS	640,32	2	320,16	11,15	0,0018
Error	344,61	12	28,72		
Total	984,93	14			

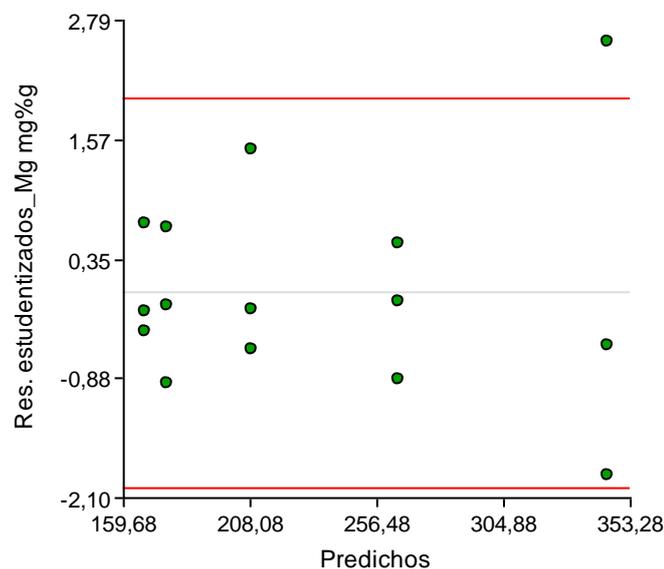


Figura 45: Residuos estudentizados de la concentración de magnesio en lentejas durante la germinación

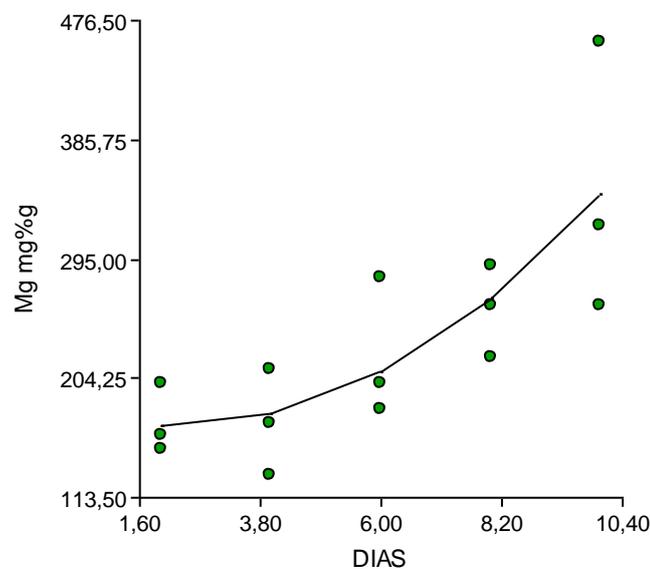


Figura 46: Modelo polinómico de 2º grado de la concentración de magnesio (mg%g) en lentejas durante la germinación

6.6.3. SALIDA DE INFOSTAT PARA EL MODELO EXPONENCIAL (SEMILOGARÍTMICO)

Análisis de regresión lineal

Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP	AIC	BIC
LN Mg mg%g	15	0,64	0,62	0,06	-1,15	0,97

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	E.E.	LI (95%)	LS (95%)	T	p-valor
const	4,85	0,12	4,59	5,12	39,14	<0,0001
DIAS	0,09	0,02	0,05	0,13	4,84	0,0003

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,98	1	0,98	23,40	0,0003
DIAS	0,98	1	0,98	23,40	0,0003
Error	0,55	13	0,04		
Total	1,53	14			

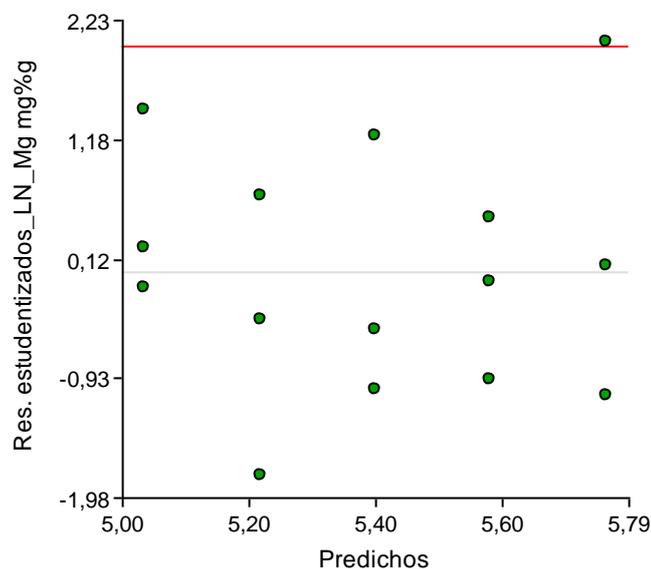


Figura 47: Gráfico de residuos del logaritmo natural de la concentración de magnesio en un modelo exponencial

6.6.3.1. Análisis de supuestos

6.6.3.1.1. Normalidad

$$H_0: Y \sim N(\mu, \sigma)$$

$$\alpha = 0,05$$

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RE LN Mg mg%g	15	0,01	1,04	0,97	0,9122

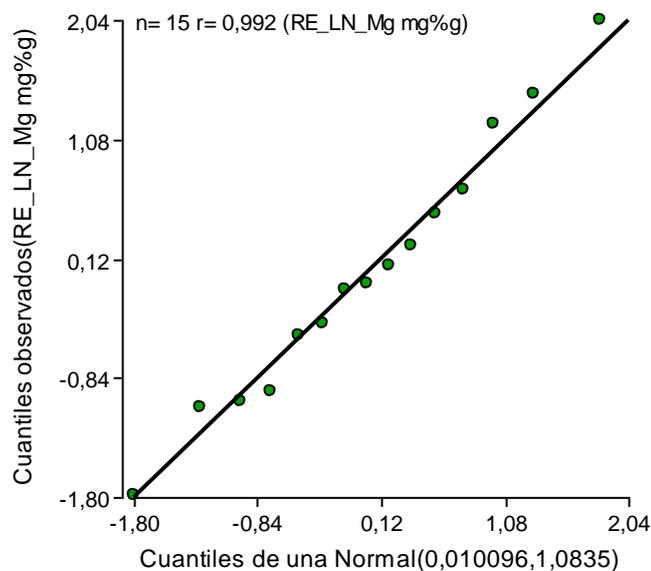


Figura 48: Q-Q plot de los residuos estudentizados del logaritmo natural de la concentración de magnesio en un modelo exponencial.

6.6.4. SALIDA DE INFOSTAT PARA EL MODELO POTENCIAL (LOGARÍTMICO)

Análisis de regresión lineal

Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP	AIC	BIC
----------	---	----------------	-------------------	------	-----	-----

RE LN Mg mg%g 15 0,01 0,00 1,55 48,64 50,77

Coeficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	E.E.	LI (95%)	LS (95%)	T	p-valor
const	0,24	0,85	-1,60	2,09	0,28	0,7809
LN DIAS	-0,14	0,49	-1,20	0,92	-0,29	0,7780

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,10	1	0,10	0,08	0,7780
LN DIAS	0,10	1	0,10	0,08	0,7780
Error	15,07	13	1,16		
Total	15,17	14			

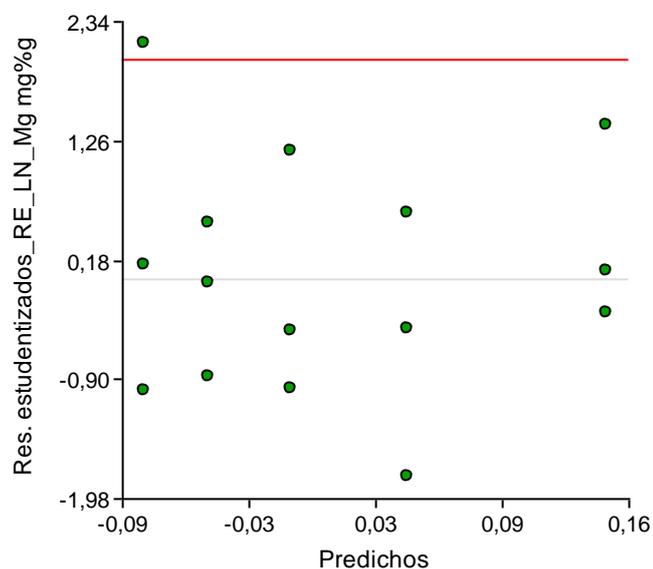


Figura 49: Gráfico de residuos del logaritmo natural de la concentración de magnesio en un modelo potencial

7. BIBLIOGRAFÍA

- Aballay R. La Obesidad En Córdoba: Estudio De Su Prevalencia E Identificación De Factores De Riesgo [Internet]. Universidad Nacional De Córdoba. FCM. Córdoba, Argentina; 2012.
- Azcón-Bieto Y Talón. Fundamentos De Fisiología Vegetal. 2000. Ed. Universitat De Barcelona. España.
- Binotti, F. F. S; Haga, K. I.; Cardoso, E. D.; Alves, C. Z.; Sá, M. E.; Arf, O. Efeito Do Período De Envelhecimento Acelerado No Teste De Condutividade Elétrica E Na Qualidade Fisiológica De Sementes Feijão. *Acta Scientiarum. Agronomy*, V. 30, N. 2, P. 247-254, 2008.
- Bolívar A. Cevallos-Casals 1, Luis Cisneros-Zevallos * Impact Of Germination On Phenolic Content And Antioxidant Activity Of 13 Edible Seed Species. *Food Chemistry* 119; 2010. Págs 1485–1490
- Cátedra De Química Agrícola. FCA. Uncuyo. Apuntes De Clase Y Guía De Trabajos Prácticos.
- Da Silva Fialho L, Guimarães VM, De Barros EG, Moreira MA, Dos Santos Dias LA, De Almeida Oliveira MG, Et Al. Biochemical Composition And Indigestible Oligosaccharides In *Phaseolus Vulgaris* L. Seeds. *Plant Foods Hum Nutr.* 2006;61:87-9
- Ellis, R. H.; Barrett, S. Alternating Temperatures And Rate Of Seed Germination In Lentil *Annals Of Botany*, V. 74, N. 5, P. 519-524, 1994.
- Ellis, R.; Ellis, R. H.; Covell, S.; Roberts, E. H.; Summerfield, J. The Influence Of Temperature On Seed Germination Rate In Grain Legumes. II. Intraspecific Variation In Chickpea (*Cicer Arietinum* L.) At Constant Temperatures. *Journal Of Experimental Botany*, V. 37, N. 10, P. 1503-1515, 1986.
- F. Carral San Laureano , G. Olveira Fuster , M. Aguilar Diosdado. Homeostasis Del Calcio, Fósforo Y Magnesio. Elsevier, Vol 36. Tomo 7. Octubre 2000. [Http://Www.Elsevier.es/Es-Revista-Medicina-Integral-63-Articulo-Homeostasis-Del-Calcio-Fosforo-Magnesio-12960](http://www.Elsevier.es/Es-Revista-Medicina-Integral-63-Articulo-Homeostasis-Del-Calcio-Fosforo-Magnesio-12960)
- Gray J. Dietary Fibre. Definition, Analysis, Physiology And Health. ILSI Europe Concise Monograph Series. Brussels: ILSI; 2006
- Greiner R, Alminger ML, Carlsson NG, Muzquiz M, Burbano B, Cuadrado Pedrosa MM, Et Al. Enzymatic Phytate Degradation –A Possibility To Design Functional Foods? *Polish Journal Of Food And Nutrition Sciences.* 2002;11:50-4
- HARRIS, Daniel. “Análisis Químico Cuantitativo” 3ra Edición. Versión Española Traducida Por Vicente Bereguer Navarro Y Otro. Ed. Reverté. Barcelona, 2007.
- Hawkins A, Johnson SK. In Vitro Carbohydrate Digestibility Of Whole-Chickpea And Chickpea Bread Products. *Int J Food Sci Nutr.* 2005;56:147-55.
- Martínez-Villaluenga C, Frias J, Vidal-Valverde C. Alpha-Galactosides: Antinutritional Factors Or Functional Ingredients? *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2008;48:301-6.
- Mitchell DC, Lawrence FR, Hartman TJ, Curran JM. Consumption Of Dry Beans, Peas, And Lentils Could Improve Diet Quality In The US Population. *J Am Diet Assoc.* 2009; 109:909-13
- Pacheco Loures Y Otros, “Análise Físico-Química, Microbiológica E Sensorial De Brotos De Lentilha Da Variedade PRECOZ”, *Acta Scientiarum. Agronomy Maringá*, V. 31, N. 4, P. 599-606, Paraná, Brasil, 2009
- Rizkalla SW, Bellisle F, Slama G. Health Benefits Of Low Glycaemic Index Foods, Such As Pulses, In Diabetic Patients And Healthy Individuals. *Br J Nutr.* 2002;88 Suppl 3:S255-62.
- Schlemmer U, Frølich W, Prieto RM, Grases F. Phytate In Foods And Significance For Humans: Food Sources, Intake, Processing, Bioavailability, Protective Role And Analysis. *Mol Nutr Food Res.* 2009;53 Suppl 2:S330-75.24
- Trinidad TP, Mallillin AC, Loyola AS, Sagum RS, Encabo RR. The Potential Health Benefits Of Legumes As A Good Source Of Dietary Fibre. *Br J Nutr.* 2010;103:569-74.
- Universidad Nacional De Luján, “Tabla De Composición Centesimal De Vegetales”, 2010, [Http://Www.Unlu.Edu.Ar/~Argenfood/Tablas/Tabla.Htm](http://www.Unlu.Edu.Ar/~Argenfood/Tablas/Tabla.Htm)

- M.L. López-Amorós, T. Hernández, I. Estrella. "Effect Of Germination On Legume Phenolic Compounds And Their Antioxidant Activity". Madrid, España. *Journal Of Food Composition And Analysis* 19 (2006) 277–283. Doi:10.1016/J.Jfca.2004.06.012
- Barcelos, M.F.P., Vilas Boas, E.V.B. & Lima, M.A.C. 2002. Aspectos Nutricionais De Brotos De Soja E Milho Combinados. *Ciencia Y Agrotecnología*, 26 (4): 817- 825.
- BBC Mundo. "Escherichia Coli O104:H4. Ensalada De Pepinos Y Gérminados De Soja Aderezados Con Una Gestión Imprudente De Las Autoridades Sanitarias Alemanas". Noticia Publicada El 10 De Julio 2011. [Http://Www.Bbc.Co.Uk/Mundo/Noticias/2011/06/110610_Ecoli_Semillas_Germinadas_M en.Shtml](http://www.Bbc.Co.Uk/Mundo/Noticias/2011/06/110610_Ecoli_Semillas_Germinadas_M en.Shtml)
- Binqiang Tian, Bijun Xie, John Shi, Jia Wua, Yan Cai, Tuoming Xu, Sophia Xue, Qianchun Deng. "Physicochemical Changes Of Oat Seeds During Germination". *China. Food Chemistry* 119 (2010) 1195–1200. [Http://Dx.Doi.Org/10.1016/J.Foodchem.2009.08.035](http://Dx.Doi.Org/10.1016/J.Foodchem.2009.08.035)
- Bressani, R., Harper, J.M. & Whickstrom, B.1984. Processed And Packaged Weaning Foods: Development, Manufacture And Marketing. In: Mitzner, N., Scrimshaw, N., Morgan, R., Eds. *Improving The Nutritional Status Of Children During Weaning Period*. Págs. 51-64. MIT. Cambridge, MA, EEUU.
- Chawla, D. R. Kasler, S. K. Sastry And A. E. Yousef, "Microbial Decontamination Of Food Using Ozone". The Ohio State University, USA. Woodhead Publishing Limited, 2012
- Comisión Unidada Europea - Re. 704/2014.
- Comisión Unidada Europea - REGLAMENTO (UE) 209/2013 DE LA COMISIÓN De 11 De Marzo De 2013 Que Modifica El Reglamento (CE) N O 2073/2005 En Lo Que Respecta A Los Criterios Microbiológicos Para Los Brotos Y Las Normas De Muestreo Para Las Canales De Aves De Corral Y La Carne Fresca De Aves De Corral
- Comisión Unidada Europea - REGLAMENTO (UE) 210/2013 DE LA COMISIÓN De 11 De Marzo De 2013 Sobre La Autorización De Los Establecimientos Que Producen Brotos En Virtud Del Reglamento (CE) N O 852/2004 Del Parlamento Europeo Y Del Consejo
- Comisión Unidada Europea - REGLAMENTO (UE) 211/2013 DE LA COMISIÓN De 11 De Marzo De 2013 Relativo A Los Requisitos De Certificación Aplicables A Las Importaciones En La Unión De Brotos Y Semillas Destinadas A La Producción De Brotos
- Comisión Unidada Europea - REGLAMENTO DE EJECUCIÓN (UE) 208/2013 DE LA COMISIÓN De 11 De Marzo De 2013 Sobre Requisitos En Materia De Trazabilidad De Los Brotos Y De Las Semillas Destinadas A La Producción De Brotos.
- Courtis - Cátedra De Fisiología Vegetal- UNNE - Germinación De Semillas - 2013
- De Nicola, Bagatta, Pagnotta, Angelino, Gennari, Ninfali, Rollin Y Lori. Comparison Of Bioactive Phytochemical Content And Release Of Isothiocyanates In Selected Brassica Sprouts. *Food Chemistry* 141 (2013) 297–303. [Http://Dx.Doi.Org/10.1016/J.Foodchem.2013.02.102](http://Dx.Doi.Org/10.1016/J.Foodchem.2013.02.102)
- Doblado, R., Frías, J. & Vidal-Valverde, C. 2007. Changes In Vitamin C Content And Antioxidant Capacity Of Raw And Germinated Cowpea (*Vigna Sinensis* Var. Carilla) Seeds Induced By High Pressure Treatment. *Food Chemistry*, 101:918- 923.
- Durán, Rodrigo y Valenzuela, Alfonso. "La experiencia japonesa con los alimentos FOSHU ¿Los verdaderos alimentos funcionales? Artículo de actualización. INTA, Universidad de Chile, Santiago, Chile. *Revista Chilena de Nutrición*. Vol. 37, N°2, Junio 2010.
- Egli, D. B.; Tekrony, D. M. Species Differences In Seed Water Status During Seed Maturation And Germination. *Seed Science Research*, V. 7, N. 1, P. 3-11, 1997.
- European Food Safety Authority. "Scientific Opinion On The Risk Posed By Shiga Toxin-Producing *Escherichia Coli* (STEC) And Other Pathogenic Bacteria In Seeds And Sprouted Seeds". *EFSA Journal* 2011;9(11):2424
- F. Carral San Laureano, G. Oliveira Fuster, M. Aguilar Diosdado. Homeostasis Del Calcio, Fósforo Y Magnesio. Elsevier, Vol 36. Tomo 7. Octubre 2000. [Http://Www.Elsevier.Es/Es-Revista-Medicina-Integral-63-Articulo-Homeostasis-Del-Calcio-Fosforo-Magnesio-12960](http://Www.Elsevier.Es/Es-Revista-Medicina-Integral-63-Articulo-Homeostasis-Del-Calcio-Fosforo-Magnesio-12960)
- FAO. Código De Prácticas De Higiene Para Las Frutas Y Hortalizas Frescas Cac/Rcp 53-2003.

- García Alcántara A, De La Torre Prados MV, Pouillet Brea A. Trastornos Del Metabolismo Del Calcio, Fósforo Y Magnesio. [Http://Www.Uninet.Edu/Tratado/C0504i.Html](http://Www.Uninet.Edu/Tratado/C0504i.Html)
- Li Kai Phua, Shan Yu Neo, Gek Hoon Khoo, Hyun-Gyun Yuk. Comparison Of The Efficacy Of Various Sanitizers And Hot Water Treatment In Inactivating Inoculated Foodborne Pathogens And Natural Microflora On Mung Bean Sprouts. China. Food Control 42 (2014) 270e276. [Http://Dx.Doi.Org/10.1016/J.Foodcont.2014.02.013](http://Dx.Doi.Org/10.1016/J.Foodcont.2014.02.013)
- Marcos Filho, J. Fisiología De Sementes De Plantas Cultivadas. Piracicaba: Fealq, 2005.
- Mayer, A. M.; Poljakoff-Mayber, A. The Germination Of Seeds. 4th Ed. Oxford: Pergamon Press, 1989.
- Michał Świeca, Barbara Baraniak, Urszula Gawlik-Dziki. EFFECT OF SELECTED DIVALENT CATIONS ON PROTEIN MOBILIZATION IN LENTIL (LENS CULINARIS) SPROUTS. J. Elem. S. 577–586. Polonia. 2014. DOI: 10.5601/Jelem.2014.19.2.650
- Ministerio De Salud De La Nación. Guías Alimentarias Para La Población Argentina, Buenos Aires 2016. Guíasalimentarias@Msal.Gov.Ar.
- Patil And P. Bourke. Ozone Processing Of Fluid Foods. School Of Food Science And Environmental Health, Dublin Institute Of Technology, Dublin, Ireland. 2012. Novel Thermal And Non-Thermal Technologies For Fluid Foods. DOI: 10.1016/B978-0-12-381470-8.00009-8
- Ponce De León Y Otros. Utilidad En La Alimentación De Algunas Semillas Germinadas: Brotes De
- Soja Y Trigo. Madrid. España. Bol. R. Soc. Esp. Hist. Nat. Sec. Biol., 107, 2013, 47-55.
- Ponce De León, E.C., Matallana González, MC. & Torija Isasa, E. 2011. Germinados O Brotes. Su Interés En La Alimentación Actual. Schironia. Revista Científica Del Colegio Oficial De Farmacéuticos De Madrid, 10: 5-13.
- Priyanka, Navin K. Rastogi, Brijesh K. Tiwari. "Opportunities And Challenges In The Application Of Ozone In Food Processing". UK. Emerging Technologies For Food Processing [Http://Dx.Doi.Org/10.1016/B978-0-12-411479-1.00019-X](http://Dx.Doi.Org/10.1016/B978-0-12-411479-1.00019-X).
- Raven. Biología De Las Plantas. 1992. Reverté. Barcelona.
- SUBSECRETARIA DE PLANIFICACIÓN ECONÓMICA. Dirección Nac. De Planificación Regional - Dirección Nac. De Planificación Sectorial. Informe De Cadenas De Valor. Legumbres. Diciembre 2016
- Tiwari, C.S. Brennan, T. Curran, E. Gallagher, P.J. Cullen, C.P. O' Donnell. "Application Of Ozone In Grain Processing". Irlanda. Journal Of Cereal Science 51 (2010) 248–255. Www.Elsevier.Com/Locate/Jcs/Doi:10.1016/J.Jcs.2010.01.007
- Tortora Y Cía - Principios De Anatomía Y Fisiología - 11º. Ed. - Buenos Aires: Médica Panamericana, C2006.
- Yang, F., Basu, T.K. & Ooraikul, B. (2001). Studies On Germination Conditions And Antioxidant Contents Of Wheat Grain. International Journal Of Food Sciences And Nutrition, 52: 319-330.