



**Efecto de diferentes concentraciones de zinc sobre parámetros de crecimiento en germinados de alfalfa (*Medicago sativa*) y su potencial fortificación para consumo humano**

Salvatierra Valdez, Xavier Eduardo

Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniero Agropecuario

Ing. Landázuri Abarca, Pablo Aníbal, M.Sc.

24 de febrero del 2022



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

### Certificación

Certifico que el trabajo de titulación: **“Efecto de diferentes concentraciones de zinc sobre parámetros de crecimiento en germinados de alfalfa (*Medicago sativa*) y su potencial fortificación para consumo humano”** fue realizado por el señor **Salvatierra Valdez, Xavier Eduardo**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además ha sido revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 1 de febrero de 2022



Firmado electrónicamente por:  
**PABLO ANIBAL  
LANDAZURI  
ABARCA**

-----  
Ing. Landázuri Abarca, Pablo Anibal, M.Sc.

C. C. 1708262348



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**

**Carrera de Ingeniería Agropecuaria**

**Responsabilidad de Autoría**

Yo, **Salvatierra Valdez, Xavier Eduardo**, con cédula de ciudadanía N° 2300336936, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: **“Efecto de diferentes concentraciones de zinc sobre parámetros de crecimiento en germinados de alfalfa (*Medicago sativa*) y su potencial fortificación para consumo humano”**; es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

**Sangolquí, 1 de febrero de 2022**

.....  
**Salvatierra Valdez, Xavier Eduardo**  
C.C.: 2300336936



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

**Autorización de Publicación**

Yo, **Salvatierra Valdez, Xavier Eduardo**, con cédula de ciudadanía N°2300336936, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, publicar el trabajo de titulación: **“Efecto de diferentes concentraciones de zinc sobre parámetros de crecimiento en germinados de alfalfa (*Medicago sativa*) y su potencial fortificación para consumo humano”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 1 de febrero de 2022

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'XAVIER', is written over a horizontal dotted line. The signature is stylized and cursive.

.....  
**Salvatierra Valdez, Xavier Eduardo**  
C.C.: 2300336936

## Reporte de verificación de similitud de contenidos



SALVATIERRA PROYECTO DE TITULACIÓN (1).docx

Scanned on: 16:50 February 1, 2022 UTC



Overall Similarity Score



Results Found



Total Words in Text

|                          |     |
|--------------------------|-----|
| Identical Words          | 692 |
| Words with Minor Changes | 185 |
| Paraphrased Words        | 260 |
| Ommited Words            | 0   |

Firmado digitalmente por:  
PABLO ANÍBAL  
LANDAZURI  
ABARCA

Ing. Landázuri Abarca, Pablo Aníbal, M.Sc.

C. C. 1708262348



Website | Education | Businesses

### **Dedicatoria**

A mis padres José Antonio y María Fernanda por su amor y apoyo incondicional en esta hermosa etapa de mi vida.

A mi abuelita Amada, que, a pesar de su condición de salud, con una sonrisa siempre me animó a seguir adelante.

A mi compañera de vida Sofía y su mamá Olivia por el cariño, amistad y sobre todo por creer en mí.

## **Agradecimientos**

Agradezco infinitamente a Dios por darme la vida, guiar mi camino y darme fuerza para seguir adelante ante las adversidades.

A mis papás, por darme la oportunidad de conocer el amor infinito, por educarme y darme las herramientas necesarias para cumplir mis metas.

A mis hermanos, Karen, Daniel y Fernando quienes con su amor me motivaron a seguir cultivándome como persona y profesional.

A mis compañeros y amigos Bryan Jaramillo y Nicolas Castro que también fueron parte de este maravilloso proceso de aprendizaje y haber logrado juntos culminar esta etapa de nuestras vidas.

Agradezco especialmente al Ingeniero Pablo Landázuri quien me dio la oportunidad de realizar esta investigación y guiarme en su ejecución, por su paciencia y apoyo incondicional.

Agradezco a la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I por ser mi segunda casa y brindarme lo necesario para lograr el desarrollo de esta investigación.

## Índice de contenidos

|  |    |
|--|----|
| Carátula.....  | 1  |
| Certificación.....                                       | 2  |
| Responsabilidad de autoría.....                          | 3  |
| Autorización de Publicación.....                         | 4  |
| Reporte de verificación de similitud de contenidos ..... | 5  |
| Dedicatoria.....   | 6  |
| Agradecimientos .....                                    | 7  |
| Índice de contenidos .....                               | 8  |
| Índice de tablas.....                                    | 13 |
| Índice de figuras .....                                  | 14 |
| Resumen.....   | 15 |
| Abstract.....  | 16 |
| Capítulo I.....  | 17 |
| Introducción.....  | 17 |
| Antecedentes.....  | 17 |
| Justificación.....                                       | 18 |
| Objetivos .....  | 19 |
| Objetivo General.....                                    | 19 |
| Objetivos Específicos .....                              | 19 |
| Hipótesis .....  | 20 |
| Capítulo II.....   | 21 |

|   |    |
|---|----|
| Revisión de la Literatura.....                              | 21 |
| Brote o germinado.....                                      | 21 |
| Historia del consumo de germinados .....                    | 21 |
| Uso de las semillas germinadas para el consumo humano ..... | 22 |
| Tipos de germinados.....                                    | 22 |
| Germinados más consumidos en el mundo .....                 | 23 |
| Producción de germinados .....                              | 23 |
| Generalidades de las semillas.....                          | 24 |
| Estructura de las semillas .....                            | 25 |
| Germinación de las semillas .....                           | 26 |
| Fases de la germinación.....                                | 26 |
| Tipos de germinación.....                                   | 27 |
| Índices de germinación .....                                | 29 |
| Prueba de germinación estándar.....                         | 29 |
| Generalidades de la alfalfa (Medicago sativa).....          | 30 |
| Origen .....  | 31 |
| Clasificación taxonómica .....                              | 31 |
| Descripción botánica .....                                  | 31 |
| Alfalfa para consumo humano.....                            | 32 |
| Composición nutricional de germinados de alfalfa .....      | 32 |
| Condiciones óptimas de germinación de alfalfa.....          | 34 |
| Producción de germinados de alfalfa .....                   | 34 |
| Fortificación de alimentos .....                            | 35 |

|  |    |
|--|----|
| Tipos de fortificación .....                                   | 35 |
| Suplementación .....   | 36 |
| Deficiencia de nutrientes .....                                | 36 |
| Biodisponibilidad de los nutrientes .....                      | 37 |
| Factores antinutricionales .....                               | 37 |
| Proteínas antigénicas.....                                     | 37 |
| Las saponinas .....  | 38 |
| Los inhibidores de proteasas .....                             | 38 |
| Las lectinas.....  | 38 |
| Los taninos .....  | 39 |
| Ácido fítico (AF).....   | 39 |
| Funciones fisiológicas del ácido fítico AF en las plantas..... | 40 |
| Zinc (Zn) .....  | 41 |
| Funciones fisiológicas del zinc .....                          | 42 |
| Ingesta recomendada de zinc .....                              | 42 |
| Fortificación con zinc .....                                   | 43 |
| Óxido de zinc.....   | 43 |
| Sulfato de zinc.....   | 44 |
| Citrato de zinc .....  | 44 |
| Gluconato de zinc .....  | 44 |
| Biodisponibilidad del zinc en el organismo.....                | 44 |
| Capítulo III.....  | 46 |
| Metodología.....   | 46 |

|   |    |
|---|----|
| Ubicación del sitio de estudio.....                                 | 46 |
| Establecimiento del experimento.....                                | 47 |
| Preparación de las semillas.....                                    | 47 |
| Preparación y aplicación de diferentes concentraciones de zinc..... | 47 |
| Prueba de germinación.....  | 48 |
| Prueba organoléptica.....   | 49 |
| Diseño experimental.....  | 51 |
| Factores y tratamientos.....  | 51 |
| Tipo de diseño.....   | 51 |
| Variables evaluadas.....  | 54 |
| Análisis de datos.....  | 57 |
| Capítulo IV.....  | 58 |
| Resultados y discusión.....   | 58 |
| Parámetros de germinación.....                                      | 58 |
| Porcentaje de germinación.....                                      | 58 |
| Longitud del germinado.....   | 58 |
| Peso seco.....  | 59 |
| Rendimiento biológico.....  | 59 |
| Contenido nutricional (zinc y ácido fítico).....                    | 60 |
| Contenido de zinc.....  | 60 |
| Contenido de ácido fítico.....                                      | 61 |
| Relación molar ácido fítico (AF:Zn).....                            | 62 |
| Prueba organoléptica.....   | 64 |

|                                      |    |
|--------------------------------------|----|
| Análisis de variables.....           | 64 |
| Discusión .....                      | 66 |
| Capítulo V.....                      | 71 |
| Conclusiones y recomendaciones ..... | 71 |
| Conclusiones .....                   | 71 |
| Recomendaciones.....                 | 72 |
| Bibliografía.....                    | 73 |

## Índice de tablas

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabla 1</b> <i>Composición nutricional de brotes de alfalfa</i> .....  | 32 |
| <b>Tabla 2</b> <i>Ingesta diaria recomendada de Zn</i> .....  | 43 |
| <b>Tabla 3</b> <i>Relación molar ácido fítico AF:Zn y la biodisponibilidad de zinc que representa en porcentaje</i> .....   | 45 |
| <b>Tabla 4</b> <i>Descripción de los tratamientos</i> .....   | 51 |
| <b>Tabla 5</b> <i>Disposición de los tratamientos evaluados a nivel organoléptico</i> .....   | 54 |
| <b>Tabla 6</b> <i>Promedio <math>\pm</math> DE del porcentaje de germinación (%) y longitud (cm) de germinados de alfalfa expuestos a diferentes niveles de zinc</i> .....                            | 58 |
| <b>Tabla 7</b> <i>Promedio <math>\pm</math> DE del peso seco (g) y rendimiento biológico (%) de germinados de alfalfa expuestos a diferentes niveles de zinc</i> .....                                | 60 |
| <b>Tabla 8</b> <i>Promedio <math>\pm</math> DE del contenido de zinc, ácido fítico y la relación molar ácido fítico (AF:Zn) en germinados de alfalfa expuestos a diferentes niveles de zinc</i> ..... | 63 |
| <b>Tabla 9</b> <i>Promedio <math>\pm</math> DE de la calificación promedio del sabor de los germinados de alfalfa expuestos a diferentes niveles de zinc</i> .....                                    | 64 |
| <b>Tabla 10</b> <i>Análisis de regresión</i> .....  | 65 |

## Índice de figuras

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1</b> <i>Partes de la semilla</i> .....   | 25 |
| <b>Figura 2</b> <i>Esquema de la absorción de agua y los eventos físicos y químicos que ocurren durante la germinación</i> .....                    | 27 |
| <b>Figura 3</b> <i>Tipos de germinación. A. Germinación Hipogea, B. Germinación epigea</i> .....  | 28 |
| <b>Figura 4</b> <i>Plántulas normales y anormales de soja</i> .....   | 30 |
| <b>Figura 5</b> <i>Molécula de ácido fítico AF y la interacción con minerales y proteínas</i> .....   | 40 |
| <b>Figura 6</b> <i>Ubicación geográfica del laboratorio de fisiología vegetal y principios activos</i> .....  | 46 |
| <b>Figura 7</b> <i>Preparación de germinación de semillas de alfalfa</i> .....  | 48 |
| <b>Figura 8</b> <i>Prueba de germinación in vitro</i> .....   | 49 |
| <b>Figura 9</b> <i>Cartilla de degustación para evaluar la propiedad organoléptica del sabor respecto al amargor</i> .....                          | 50 |
| <b>Figura 10</b> <i>Análisis sensorial a nivel del sabor de germinados de alfalfa</i> .....   | 50 |
| <b>Figura 11</b> <i>Disposición de los tratamientos</i> .....   | 52 |
| <b>Figura 12</b> <i>Disposición de bloques y tratamientos</i> .....   | 53 |
| <b>Figura 13</b> <i>Medición raíces con software ImageJ</i> .....   | 55 |
| <b>Figura 14</b> <i>Germinados de alfalfa tratados con diferentes concentraciones de zinc</i> .....   | 59 |
| <b>Figura 15</b> <i>Contenido promedio de zinc en germinados de alfalfa tratados con diferentes concentraciones de zinc</i> .....                   | 61 |
| <b>Figura 16</b> <i>Contenido de ácido fítico en germinados de alfalfa tratados con diferentes niveles de zinc</i> .....                            | 62 |
| <b>Figura 17</b> <i>Relación molar Ácido fítico:Zinc (AF:Zn) en germinados de alfalfa fortificados con diferentes concentraciones de zinc</i> ..... | 63 |

### Resumen

El zinc (Zn) es un oligoelemento esencial para todas las formas de vida, cumple un rol muy importante en múltiples funciones biológicas. La ingesta inadecuada de zinc puede causar diversas afecciones en la salud, trastornos fisiológicos, incluso la muerte. Desafortunadamente el contenido de zinc en los alimentos es muy variable, generalmente es bajo en alimentos de origen vegetal y, además, la biodisponibilidad del zinc está condicionada por factores antinutricionales como el ácido fítico. Varios estudios han demostrado que la impregnación de zinc por medio del remojo de semillas permite la fortificación de germinados como los de alfalfa siendo una alternativa rápida para mejorar el contenido de zinc y su biodisponibilidad. La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de diferentes concentraciones de zinc (0, 10, 20, 30, 40  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) sobre los parámetros de crecimiento (porcentaje de germinación, longitud del germinado, peso seco, rendimiento biológico, y el efecto sensorial respecto al sabor, adicional la biodisponibilidad del zinc. En este trabajo se demostró que con 40  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  de zinc, el contenido de zinc fue hasta 315% superior y promovió el crecimiento hasta un 35% respecto al tratamiento control (0  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). Los parámetros de crecimiento, porcentaje de germinación, materia seca, rendimiento biológico, no se vieron afectados negativamente. En conclusión, remojar semillas con zinc puede promover el crecimiento, no afecta la germinación ni el sabor, además de mejorar el contenido nutricional, por lo cual las semillas germinadas de alfalfa fortificadas, pueden ser una alternativa viable, moderna y rápida para obtener un alimento enriquecido con zinc.

**Palabras clave:** alfalfa, zinc, germinados, fortificación.

### **Abstract**

Zinc (Zn) is an essential trace element for all forms of life and plays a very important role in multiple biological functions. Inadequate zinc intake can cause various health conditions, physiological disorders, and even death. Unfortunately, the zinc content in foods is very variable, it is generally low in foods of vegetable origin and, in addition, the bioavailability of zinc is conditioned by anti-nutritional factors such as phytic acid. Several studies have shown that zinc impregnation by soaking seeds allows the fortification of sprouts such as alfalfa sprouts as a quick alternative to improve zinc content and bioavailability. The objective of this research was to evaluate the effect of different zinc concentrations (0, 10, 20, 30, 40  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) on growth parameters (germination percentage, sprout length, dry weight, biological yield, and sensory effect on taste, additional zinc bioavailability). In this work it was demonstrated that with 40  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  of zinc, the zinc content was up to 315% higher and promoted growth up to 35% with respect to the control treatment (0  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). Growth parameters, germination percentage, dry matter and biological yield were not negatively affected. In conclusion, soaking seeds with zinc can promote growth, does not affect germination or taste, and improves the nutritional content, so fortified alfalfa germinated seeds can be a viable, modern and fast alternative to obtain a zinc-enriched feed.

**Keywords:** alfalfa, zinc, sprouts, fortification.

## Capítulo I

### Introducción

#### Antecedentes

El zinc es un oligoelemento esencial para todas las formas de vida, cumple un rol importante en múltiples funciones biológicas. La ingesta inadecuada de zinc puede ocasionar un sistema inmune debilitado, trastornos fisiológicos, emaciación, retraso del crecimiento, discapacidad cognitiva y en casos graves hasta la muerte (Ohanenye et al., 2021).

La fortificación de alimentos con zinc se ha planteado como una alternativa para mitigar la deficiencia de este oligoelemento. Existen diferentes estrategias de fortificación, la agronómica y genética, sin embargo, la fortificación genética se limita como una solución a largo plazo debido al tiempo y costo que conlleva su aplicación (Di Gioia et al., 2019).

La producción de germinados para consumo humano se conoce desde hace mucho tiempo, ha sido muy importante en la historia culinaria de los países occidentales. Su popularidad incrementó en los últimos años junto con el interés de las personas por consumir alimentos más saludables caracterizados por un alto contenido de moléculas bioactivas a las que se atribuyen propiedades medicinales (Dal Bosco et al., 2015; Di Gioia et al., 2017). Los germinados también son denominados como alimentos funcionales porque brindan una mayor disponibilidad de minerales generada por la actividad enzimática y degradación de compuestos antinutricionales como el ácido fítico, entre otros (Morales et al., 2015). La producción no requiere de grandes espacios e infraestructura y obtener el producto final toma poco tiempo ya que el crecimiento es rápido, además su rendimiento puede ser triplicado y su biomasa puede aportar los mismo o mayores beneficios que su contraparte madura (Ayala, 2014).

Los germinados de alfalfa son uno de los más populares junto con otras leguminosas como soja y frijol mungo que pueden ser consumidos frescos o cocidos y son apetecidos por su calidad nutricional y el sabor (Keshri et al., 2019).

Se ha demostrado que la germinación de semillas en un medio con diferentes concentraciones de sulfato de zinc puede aumentar considerablemente el contenido de zinc, siendo una técnica agronómica de fortificación que permite la impregnación del elemento mediante el remojo de las semillas, logrando así obtener una alta acumulación de zinc en alimentos funcionales como son los germinados de leguminosas y cereales. Para la fortificación de alimentos se han utilizado diferentes compuestos de zinc entre ellos el sulfato, óxido, cloruro, gluconato y estearato, siendo el sulfato de zinc el más utilizado para la fortificación de germinados, multiplicando su valor nutricional respecto al zinc sin afectar en muchos casos la viabilidad de las semillas (Baczek et al., 2020; Jribi et al., 2019; Ohanenye et al., 2021; Wei et al., 2012; Zou et al., 2014).

### **Justificación**

La concentración de zinc en los alimentos es muy variable, sin embargo, los alimentos de origen animal contienen mayor cantidad de zinc como los mariscos, carnes y productos lácteos (Rubio et al., 2007). En los alimentos de origen vegetal, además de contener bajas cantidades de zinc la absorción de este microelemento se ve afectada por la presencia de compuestos antinutricionales como el ácido fítico ya que forma complejos insolubles con los minerales e impide la absorción en el organismo (Sánchez M. , 2011).

Existen diferentes maneras de reducir la cantidad de antinutrientes como el ácido fítico en los alimentos con técnicas simples como el remojo de las semillas, el descascarado, la cocción

y la germinación de las semillas que permite aumentar la biodisponibilidad de los minerales (Mubarak, 2005).

Los germinados se producen de una gran variedad de especies, han ganado popularidad en el mercado debido a sus propiedades nutricionales y una amplia disponibilidad de las semillas, además es una forma económica y ecológica de producir alimentos ricos en nutrientes biodisponibles y compuestos bioactivos (Gan et al., 2017; Di Gioia et al., 2017).

La fortificación de germinados puede ser una alternativa viable y moderna para mejorar las propiedades nutricionales de estos alimentos y proveer un impacto positivo en la nutrición humana. Sin embargo, esta actividad ha sido poco explorada (Galieni et al., 2020).

La presente investigación pretende evaluar el efecto de diferentes concentraciones de zinc sobre los parámetros de crecimiento y su potencial fortificación para ofrecer un alimento nutritivo, rico en zinc y de calidad al consumidor.

## **Objetivos**

### ***Objetivo General***

Evaluar el efecto de diferentes concentraciones de zinc sobre parámetros de crecimiento en germinados de alfalfa (*Medicago sativa*) y su potencial fortificación para proporcionar un alimento enriquecido con zinc y de calidad al consumidor.

### ***Objetivos Específicos***

Evaluar el contenido de zinc y ácido fítico en germinados de alfalfa tratados con cinco diferentes concentraciones del elemento.

Evaluar el efecto de cinco concentraciones de zinc sobre el porcentaje de germinación, rendimiento biológico, materia seca, longitud del germinado y sabor.

Identificar la dosis de zinc que permita obtener germinados de alfalfa fortificados sin afectar su germinación y crecimiento.

### **Hipótesis**

**H0:** El contenido de zinc de germinados de alfalfa no aumenta después de ser tratados con diferentes concentraciones de zinc.

**H1:** El contenido de zinc de germinados de alfalfa aumenta después de ser tratados con diferentes concentraciones de zinc.

**H0:** El contenido de zinc de los germinados de alfalfa tratados con diferentes concentraciones no afecta parámetros de crecimiento.

**H1:** El contenido de zinc de los germinados de alfalfa tratados con diferentes concentraciones afecta parámetros de crecimiento.

## Capítulo II

### Revisión de la Literatura

#### ***Brote o germinado***

Los germinados representan la primera etapa de crecimiento de una planta, son el resultado de un proceso que empieza desde la formación de las semillas en las plantas con la acumulación de nutrientes como vitaminas, minerales, proteínas, grasas y carbohidratos que luego se degradarán en elementos más simples para ser utilizados como energía y nutrientes para dar vida a nuevas plantas de su misma especie y continuar con su crecimiento y desarrollo (Di Gioia et al., 2017).

Los germinados son alimentos que contienen altas concentraciones de proteínas, vitaminas, enzimas, aminoácidos, azúcares y fitoquímicos de gran importancia para la salud humana; estos compuestos sufren transformaciones, los almidones se convierten en azúcares más simples, las grasas en ácidos grasos, las proteínas en aminoácidos y oligopéptidos libres. Los antinutrientes como el inhibidor de tripsina, ácido fítico, pentosano, taninos disminuyen favoreciendo la biodisponibilidad de los minerales (Sangronis & Machado, 2007). Para que ocurra la germinación se requiere de condiciones favorables de oscuridad, temperatura, oxigenación y humedad adecuada. Por la riqueza natural los germinados toman el nombre de “alimentos biogénicos” (Di Gioia et al., 2017).

#### ***Historia del consumo de germinados***

El consumo de germinados data desde los años 3000 antes de Cristo, en China se empezó a utilizar los germinados para aliviar dolencias y enfermedades, los más comunes utilizados fueron los brotes de soja y frijol, pasaron de ser usados con fines medicinales a ser parte de la dieta. En el siglo XVIII se atribuyó a la bebida fermentada de brotes de soja un

protector contra el escorbuto, enfermedad que acabó con tripulaciones enteras antes de conocer las propiedades de la bebida medicinal (Vázquez, 2020).

Durante la segunda guerra mundial los germinados de soja se popularizaron llegando a ser un alimento principal de la dieta de los norteamericanos, tanto así que se emitía comunicados con la finalidad de enseñar a las personas a producirlos y tener reservas alimentarias (Vázquez, 2020).

### ***Uso de las semillas germinadas para el consumo humano***

La popularidad de los brotes o semillas germinadas para el consumo humano data desde los años 80. Tomó importancia en la historia culinaria en los países occidentales donde se demandaban alimentos saludables, con sabores exóticos, dietéticos y de bajo procesamiento industrial. Los germinados tienen características peculiares que llaman la atención de los consumidores como su sabor, olor y color que se utilizan para decoración y mejorar las propiedades sensoriales de los platos de alta cocina. Los germinados pueden consumirse frescos o semiprosesados como deshidratados, en polvos, jugos, etc., también se ha investigado el uso de la harina de cereales germinados para la preparación de pan, sin embargo, resulta no ser tan efectiva para las propiedades físicas del pan en el proceso de horneado. Una perspectiva futurística de consumir alimentos funcionales como los brotes ha ido incrementando en los últimos años, demandando cada vez más en el mercado (Benincasa et al., 2019).

### ***Tipos de germinados***

Los germinados se pueden clasificar en germinados de cereales, ricos en almidones y proteínas que se transformarán en azúcares simples y aminoácidos esenciales en el proceso de germinación; los germinados de verduras que tienen altas cantidades de compuestos antioxidantes, antiinflamatorios, entre otras propiedades medicinales que están ligados a

compuestos bioactivos presentes en las plantas, también están los germinados de leguminosas que aportan una mayor cantidad de vitaminas, minerales y proteínas a las que también se les atribuye muchos beneficios medicinales hasta la cura al cáncer (Arrieta, 2021).

### ***Germinados más consumidos en el mundo***

Por la calidad nutricional, disponibilidad de semillas y bajo costo de producción, los germinados más consumidos en el mundo son principalmente leguminosas como la alfalfa, el frijol mungo y brotes de soja (Keshri et al., 2019). En el mundo de los cereales los germinados de trigo son uno de los más consumidos y se utilizan para la preparación de bebidas fermentadas, harinas de germinados, jugos entre otros tipos de alimentos a base de este germinado (Arrieta, 2021).

### ***Producción de germinados***

Para producir germinados, es importante realizar una correcta esterilización con soluciones de hipoclorito de sodio con concentraciones bajas como 0,07% con una relación de peso: volumen de las semillas y la solución de 1:5 a 1:6. Se ha demostrado que el etanol a 70% por 3 minutos puede ser eficaz para la esterilización. Soluciones de sulfato de zinc ha sido demostrado que es efectivo para inhibir ciertas bacterias aerobias, coliformes y levaduras, además de mejorar las propiedades nutricionales de los germinados (Wu et al., 2012; Jribi et al., 2019; Pajak et al., 2014).

El remojo también es muy importante para que la fase de latencia termine. Para el remojo es necesario que se use agua estéril y que no contenga ningún tipo de contaminantes, como el cloro que puede afectar la capacidad de germinación, también es recomendable que el agua tenga una temperatura entre 20 a 30 °C. El remojo se realiza empapando la semilla a una relación peso: volumen de 1g a 1,5 ml de agua, por varias horas. El tiempo de remojo dependerá

de las características físicas de las semillas, como su tamaño, grosor, capacidad absorbente, etc. (Gan et al., 2017).

Las semillas empapadas deben ser sometidas a condiciones de oscuridad y temperatura, también es importante regar a diario con agua limpia para mantener la humedad, prevenir el estancamiento de agua para evitar el crecimiento de microorganismos; drenar el exceso de humedad también permitirá eliminar los antinutrientes liberados. Los días de germinación dependen de la especie y el propósito de consumo, generalmente la germinación dura entre 3 a 7 días con condiciones ideales de germinación (Gan et al., 2017).

Los germinados son de fácil y rápida producción con un ciclo de producción entre 4 a 10 días, no requieren de grandes espacios ni de sofisticada tecnología, pueden ser producidos de forma casera, pero es importante mantener la inocuidad en el proceso. Son alimentos que se consumen crudos por lo que la refrigeración posproducción es importante. Las semillas a usar para la producción de germinados deben ser de origen orgánico, para asegurar que no contengan ningún tipo de agroquímicos tóxicos para el consumidor (Di Gioia et al., 2017).

### ***Generalidades de las semillas***

Las semillas son unidades reproductivas (óvulos maduros) que tienen la función de perpetuar la especie y bajo este término, el término semilla es considerado cualquier parte vegetal que tenga la capacidad de generar una nueva vida (Gutiérrez, 2002).

Las semillas pueden clasificarse en semillas ortodoxas y recalcitrantes, las primeras tienen la particularidad que al disminuir su contenido de humedad interno pueden sobrevivir durante largos periodos, mientras que las segundas no toleran la desecación y naturalmente pueden sobrevivir junto con los tejidos del fruto donde se alojan (Doria, 1979).

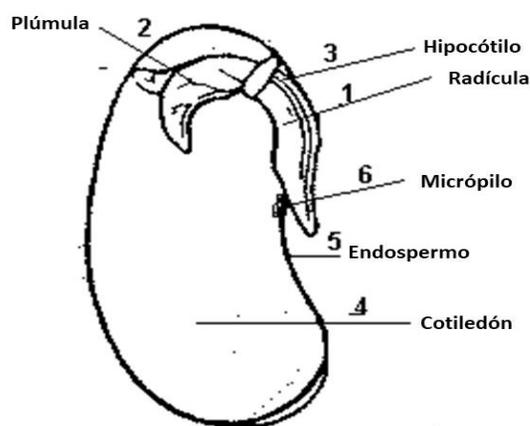
### ***Estructura de las semillas***

La semilla se conforma de estructuras especializadas en diferentes funciones para que se realice el proceso de germinación (Figura 1). El embrión es una parte importante que se conforma de la radícula, plúmula, hipocótilo y el cotiledón o cotiledones. La radícula cumple la función de la absorción de agua y nutrientes (Sánchez J. , 2021).

La plúmula es una yema o un brote terminal que se conforma de las hojas y el tallo en tamaño diminuto antes de la germinación y se encuentra en estado de latencia. El cotiledón es un tejido de reserva que absorbe nutrientes en el proceso de formación de las semillas y los almacena hasta la activación de la semilla para luego alimentar al embrión, en monocotiledóneas el cotiledón sirve para traspasar los nutrientes a través de ellos desde el endospermo que es donde se almacenan la mayor cantidad de nutrientes (Gutiérrez, 2002).

### **Figura 1**

#### *Partes de la semilla*



*Nota.* La figura muestra la estructura de una semilla dicotiledónea. Tomado de *Partes de las semillas* (p.1.), por Botanical-online, 2020.

### ***Germinación de las semillas***

La germinación empieza cuando la inactividad del embrión deshidratado se interrumpe y se reinicia la actividad metabólica. Inicia con la absorción de agua, es decir la imbibición, y termina en la elongación de la radícula. La semilla consta del embrión, un tejido de almacenamiento rico en nutrientes como el endospermo en los cereales y su cubierta externa, el tegumento o testa (Nonogaki et al., 2010). Durante la imbibición las semillas sufren cambios físicos y químicos. La capa más externa se debilita y permite el ingreso de agua, ablandar las paredes embrionarias para luego generar una gran actividad metabólica, transcripción de genes y la formación de organelos (Benincasa et al., 2019).

La ruptura del tegumento activa la oxigenación provocando que la respiración sea más rápida que en su estado de latencia activando procesos metabólicos más rápido; en este sentido bajas temperaturas externas hacen que la germinación sea más lenta (Gutiérrez, 2002).

### ***Fases de la germinación***

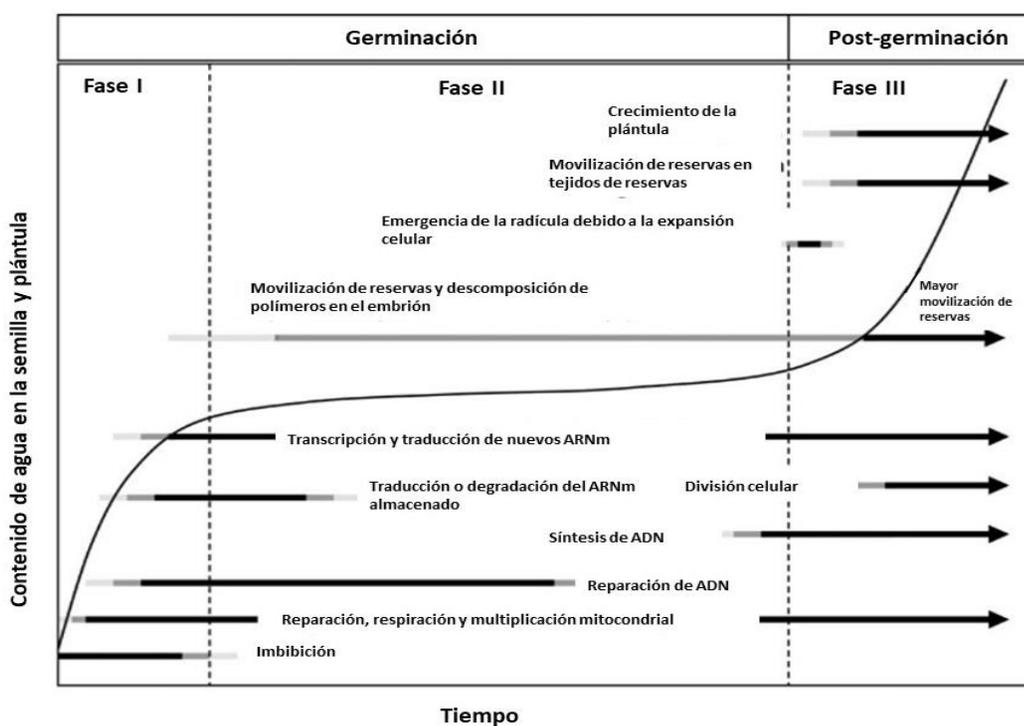
La germinación consta de tres fases, la fase 1, empieza con la imbibición de la semilla que se da por diferencia de potencial hídrico en la semilla y la solución del medio; su cinética de absorción depende de la estructura de la misma. En la fase 2, se activa el metabolismo celular, dando paso a la respiración, reparación mitocondrial reparación del ADN, transcripción y traslado de nuevos ARNm y la fase 3, que consiste en la mayor movilización de reservas de nutrientes, división celular, síntesis de ADN, movilización de los nutrientes de los tejidos de reserva como el endospermo y por último el crecimiento de la nueva plántula (Figura 2) (Nonogaki et al., 2010).

La germinación está condicionada por factores intrínsecos y extrínsecos; para el primer caso está la viabilidad del embrión y tejidos de reserva, mientras que los factores externos que

afectan son la dureza del tegumento y permeabilidad, temperatura, humedad, oxigenación y luminosidad (Suárez & Malgarejo, 2010).

## Figura 2

Esquema de la absorción de agua y los eventos físicos y químicos que ocurren durante la germinación



*Nota.* La figura muestra las diferentes fases de la germinación y la actividad celular. Adaptado de *Germination—Still a mystery* (p.575), por Nonogaki et al., 2010, Plant Science.

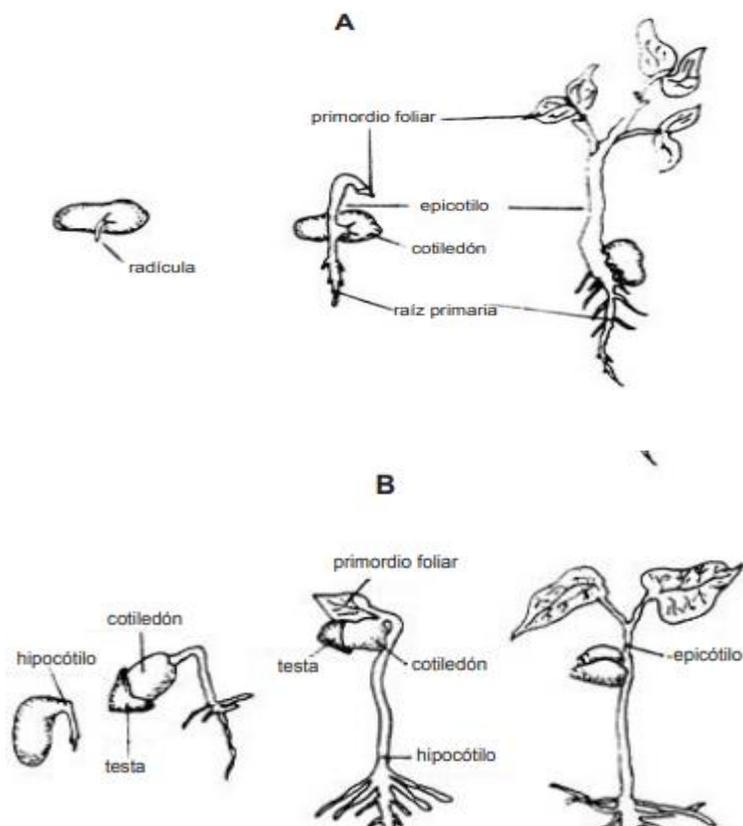
### Tipos de germinación

Existen dos tipos de germinación, la germinación hipogea y epigea, en la primera el hipocótilo se desarrolla y emerge hacia la superficie junto a los cotiledones que van a funcionar como hojas funcionales, almacenando nutrientes y realizando la fotosíntesis durante un periodo

de tiempo corto, mientras que la segunda los cotiledones no emergen del suelo o sustrato, el epicótilo se alarga y genera las hojas verdaderas (Figura 3) (González & Martínez, 2014).

### Figura 3

*Tipos de germinación. A. Germinación Hipogea, B. Germinación epigea*



*Nota.* La figura muestra los tipos de germinación, A. germinación hipogea. B. germinación epigea. Tomado de *Aspectos fisiológicos, bioquímicos y expresión de genes en condiciones de déficit hídrico. Influencia en el proceso de germinación* (p.24), por González & Martínez, 2014, Cultivos tropicales.

### ***Índices de germinación***

En la actualidad los rendimientos de los productos agrícolas cada vez son más demandante y producir alimentos cada vez es un desafío por lo que implica adquirir semillas de excelentes características físicas, sanitarias fisiológicas y además de calidad genética, considerándose factores importantes para obtener altos rendimientos en la producción agrícola. Una de las pruebas que se realiza para saber si una semilla tiene buenas características de germinación es la capacidad de germinación que está condicionada por factores intrínsecos y extrínsecos (López et al., 2016).

### ***Prueba de germinación estándar***

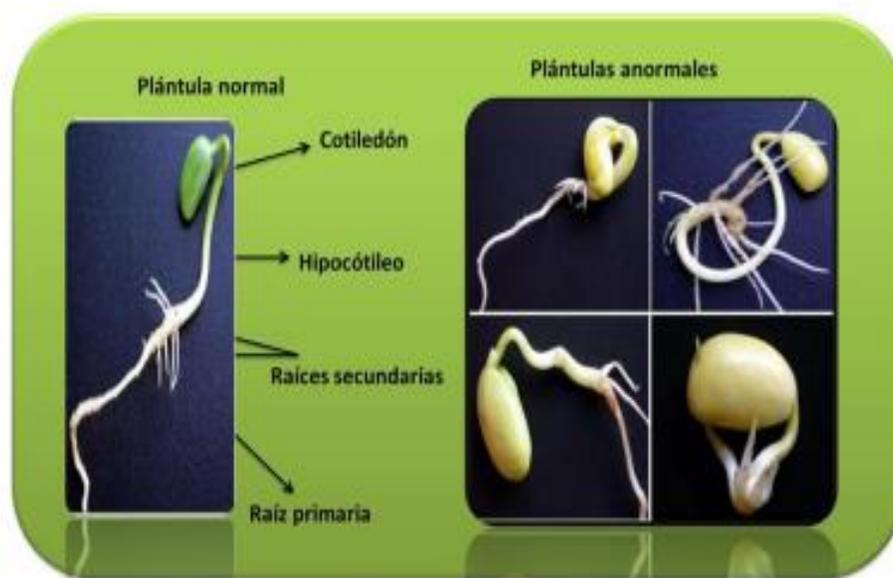
Se realiza para evaluar la capacidad que tienen las semillas en condiciones óptimas de factores ambientales como la temperatura, humedad, luz, etc., y en base al número de semillas germinadas se determina el porcentaje de germinación. Sin embargo, esta prueba no es eficiente porque sobreestima otros parámetros como el vigor de las semillas que también es importantes para determinar la viabilidad de las de las mismas, lo cual es de mayor importancia ya que las semillas con mejor vigor son menos susceptibles a condiciones adversas, estos atributos estarán determinados por las condiciones en las que hayan sido producidas las semillas como el almacenamiento y transporte (López et al., 2016).

Para evaluar correctamente la germinación de las semillas es importante observar las plantas con características normales y anormales, además se debe medir la longitud de las plantas normales y determinar el peso seco. Las plantas normales se consideran a las que tienen un buen crecimiento, el doble del tamaño de la semilla, sin daños en el tejido, mientras que las anormales son plantas que no tienen un buen crecimiento, poco desarrollo de los cotiledones, deformaciones, daños en los tejidos, etc., este resultado se expresa como el porcentaje de

plantas germinadas normales, y para germinación se toman en cuentas las normales y no normales (Figura 4) (López et al., 2016).

#### Figura 4

*Plántulas normales y anormales de soja*



*Nota.* El gráfico muestra la germinación normal y anormal de semillas de soja. Tomado de *Técnicas Para Evaluar Germinación, Vigor y Calidad Fisiológica de Semillas Sometidas a Dosis de Nanopartículas* (p.135), por López et al., 2016, Centro de Investigación en química Aplicada (CIBQ).

#### **Generalidades de la alfalfa (*Medicago sativa*)**

La alfalfa es un cultivo ampliamente usado como fuente principal de fibra y proteína, con un alto valor nutricional, además tiene la capacidad de fijar nitrógeno en los suelos, desde 88 kg/ha/año hasta 700 Kg/ha/año (Campillo et al., 2003). Puede aportar con hasta 450 kg de proteína/Ha/año, además posee raíces que penetran las capas más profundas del suelo que le permiten soportar largos periodos de sequía y así mejorar la fertilidad y estructura de los suelos (Flórez, 2015).

### **Origen**

Es una de las leguminosas forrajeras más antiguas e importantes del mundo que fue domesticada para la nutrición de animales de granja para la producción de leche y carne. Se cree que su origen proviene de donde hoy conocemos como Irán y Turquía. Fue cultivada por los Medos a los que se debe su nombre científico, *Medicago sativa* que significa cultivada por los Medos. Era muy apetecida por los árabes quienes la denominaban como al-fasfasa que significa "el mejor de los forrajes", pero después de su difusión por Europa y Asia Central, en España, se cambió su nombre por alfalfa y se distribuyó por medio de los conquistadores hacia toda América (Michaud et al., 1988). Se relacionó con la alimentación de los caballos y el poderío militar en los 700 A.C. Es una leguminosa forrajera muy importante a nivel mundial que se adapta muy bien a diferentes condiciones climáticas, es resistente a periodos invernales y de sequía prolongados, también es resistente a enfermedades. Se cultiva desde zonas heladas de Canadá, China, zonas templadas de Chile hasta zonas desérticas de México y norte de Sudáfrica. Utilizada mayormente en la nutrición animal, es el mejor forraje para la producción de leche (Putnam & Orloff, 2014).

### **Clasificación taxonómica**

Según Flórez (2015), la alfalfa pertenece a la familia *Leguminosae*, subfamilia *Papilionoideae*, género *Medicago* y especie *Medicago sativa*.

### **Descripción botánica**

La alfalfa es una planta leguminosa, perenne, de crecimiento erecto que puede ser cultivada en diferentes zonas climáticas. Puede crecer desde 60 a 100 cm de alto. Puede ser cultivada entre los 700 y 2800 m.s.n.m. La temperatura óptima para su desarrollo fluctúa entre los 10 a 25 °C. Se adapta muy bien a suelos profundos y drenados, la raíz principal puede

alcanzar profundidades de hasta 6 metros, lo que le permite sobrevivir a la sequía. Tolerancia los suelos alcalinos por lo que su desarrollo se limita a un pH inferior de 5. Es una especie de fotoperiodos largos, más de 12 horas. Sus hojas son trifoliadas y sus flores color azuladas o púrpura (Flórez, 2015).

### ***Alfalfa para consumo humano***

Puede ser un suplemento nutricional muy importante, no solo para animales sino también para el ser humano. Al ser un alimento con un alto valor nutricional se puede consumir de diferentes formas. En Europa es típico el consumo de brotes de alfalfa en ensaladas, y otros alimentos. También se fabrican comprimidos o polvos para comercializarlos como suplemento de minerales, vitaminas y antioxidantes atribuyéndole propiedades medicinales que ayudan a combatir la diabetes, aterosclerosis, trastornos cardiacos, hipercolesterolemia hasta la ansiedad (Flórez, 2015).

### ***Composición nutricional de germinados de alfalfa***

Los germinados de alfalfa son muy ricos en nutrientes como proteínas, fibras, bajo contenido de grasa y contenido calórico. Son ricos en minerales como el calcio, fósforo, magnesio y potasio. Contienen una cantidad importante de Vitaminas A, B y C (Tabla 1).

**Tabla 1**

*Composición nutricional de brotes de alfalfa*

| <b>Nutriente</b> | <b>Unidad</b> | <b>Valor por 100 g de brote</b> |
|------------------|---------------|---------------------------------|
| Agua             | g             | 91,14                           |
| Energía          | Kcal          | 29                              |
| Proteína         | g             | 3,99                            |
| Lípido total     | g             | 0,69                            |

| <b>Nutriente</b>       | <b>Unidad</b> | <b>Valor por 100 g de brote</b> |
|------------------------|---------------|---------------------------------|
| Carbohidratos          | g             | 3,78                            |
| Fibra, dietética total | g             | 2,5                             |
| Ceniza                 | g             | 0,4                             |
| <b>Minerales</b>       |               |                                 |
| Calcio (Ca)            | mg            | 32                              |
| Hierro (Fe)            | mg            | 0,96                            |
| Magnesio (Mg)          | mg            | 27                              |
| Fósforo (P)            | mg            | 70                              |
| Potasio (K)            | mg            | 79                              |
| Sodio (Na)             | mg            | 6                               |
| Zinc (Zn)              | mg            | 0,92                            |
| Cobre (Cu)             | mg            | 0,157                           |
| Manganeso (Mn)         | mg            | 0,188                           |
| Selenio (Se)           | mg            | 0,6                             |
| <b>Vitaminas</b>       |               |                                 |
| Vitamina C             | mg            | 8,2                             |
| Timina                 | mg            | 0,076                           |
| Riboflavina            | mg            | 0,126                           |
| Niacina                | mg            | 0,481                           |
| Ácido pantoténico      | mg            | 0,563                           |
| Vitamina B-6           | mg            | 0,034                           |
| Folato total           | µg            | 36                              |
| Vitamina B12           | µg            | 0                               |
| Vitamina A, UI         | IU            | 155                             |
| Vitamina A, RE         | µg RE         | 16                              |
| Vitamina E             | mg ATE        | 0,02                            |
| <b>Aminoácidos</b>     |               |                                 |
| Treonina               | g             | 0,134                           |
| Isoleucina             | g             | 0,143                           |

| <b>Nutriente</b> | <b>Unidad</b> | <b>Valor por 100 g de brote</b> |
|------------------|---------------|---------------------------------|
| Leucina          | g             | 0,267                           |
| Lisina           | g             | 0,214                           |
| Valina           | g             | 0,145                           |

*Nota.* Adaptado de *Central de datos de alimentos* (p. 1), por USDA, 2019, Agricultural Research Service.

### ***Condiciones óptimas de germinación de alfalfa***

Según Díaz (2020), la alfalfa puede germinar en rangos de temperatura entre 2 y 30 °C, pero se puede considerar 26 °C como la temperatura óptima de germinación. La alfalfa germina en 2 a 3 días, en condiciones óptimas de temperatura, humedad y oxígeno. Para la producción de germinados se deja germinar entre 4 a 5 días para obtener el mayor rendimiento y también va a depender de la temperatura de germinación. Ideal es obtener brotes o germinados de 2 a 3 y hasta 4 centímetros (Costas, 2012).

### ***Producción de germinados de alfalfa***

Las semillas que se van a utilizar para germinar y consumir no deben ser tratadas con ningún tipo de agroquímico que comúnmente se usa para desinfectar las semillas antes de la siembra; deben ser de origen orgánico y en lo posible contar con una certificación (Apostol et al., 2017).

La germinación se puede realizar en envases de vidrio, bandejas plásticas o de acero inoxidable. Es importante que el recipiente o sitio de producción permita el drenaje del exceso de humedad y una adecuada aireación, también se debe considerar desinfectar las superficies antes de iniciar el proceso. Se debe remojar las semillas en agua tibia o a temperatura ambiente durante 4 a 7 horas. Toma entre 4 a 7 días para que ocurra la germinación en condiciones

óptimas. Se debe enjuagar las semillas con agua limpia cada día, para mantener la humedad y eliminar residuos (Apostol et al., 2017).

La luz no es importante en la germinación, sin embargo, si se quiere obtener un color más verdoso por fijación de clorofila y sabores más intensos se debe exponer a la luz. A partir del cuarto a quinto día los germinados están listos para ser secados, envasados y conservados en refrigeración de 4 a 7 °C si el consumo no es inmediato (Apostol et al., 2017).

Los germinados se pueden cosechar una vez alcanzado los 2,5 a 3 cm de longitud, a temperatura óptima se logra obtener germinados con estas características a los 5 días, en esta etapa los germinados se encuentran en la actividad metabólica más alta, por ende, su valor nutricional también (Arrieta, 2021).

### ***Fortificación de alimentos***

La fortificación es un método que permite mejorar el contenido nutricional de los alimentos utilizando técnicas de mejoramiento genético, transgénesis o prácticas agronómicas. En leguminosas no se ha realizado muchos trabajos sobre biofortificación en la última década a comparación con el arroz, trigo y maíz, pero es una forma factible para reducir un problema de desnutrición a la población en general o ciertos grupos de una población (Kumar & Pandey, 2020).

### ***Tipos de fortificación***

Según Allen et al. (2017) la fortificación de alimentos se puede hacer de varias formas. La fortificación masiva, es añadir una cierta cantidad de micronutrientes a los alimentos de primera necesidad que se consumen con mayor frecuencia como las harinas, cereales, productos lácteos, etc. Este tipo de fortificación está dirigido para un grupo de personas más grandes, como de una región, un continente o la población en general que enfrente el riesgo de

carecer de micronutrientes. También existe la fortificación focalizada que trata de enmendar las carencias nutricionales de ciertos grupos afectados como niños de edades tempranas, lactantes y mujeres embarazadas, a los que se le suministra un tipo de alimento fortificado como galletas, preparados, entre otros, para cubrir sus requerimientos diarios; por último, la fortificación orientada por el mercado que tiene como fin comercializar productos fortificados como alimentos procesados adicionados con micronutrientes. Este tipo de fortificación puede contribuir positivamente en la salud del consumidor cubriendo las necesidades de nutrientes reduciendo el riesgo de déficit de micronutrientes. Es más común en países industrializados, mientras que en países en desarrollo sigue siendo limitado.

### ***Suplementación***

Es la acción de adicionar altas concentraciones de micronutrientes en los alimentos, con dosis específicas que aportan lo necesario para cubrir el requerimiento de micronutrientes diarios. Los suplementos se pueden encontrar en diferentes presentaciones, como cápsulas, jarabes, polvos, concentrados, etc., y tienen la capacidad de ser absorbidos con mayor eficiencia (Allen et al., 2017).

### ***Deficiencia de nutrientes***

Según Singh et al. (2016), la desnutrición por falta de micronutrientes a nivel mundial alcanza alrededor de 2000 mil millones de personas en el mundo, provocando una variedad de problemas en la salud. La desnutrición afecta sobre todo a madres embarazadas y como consecuencia los niños que nacen y en edades muy tempranas padecen de baja capacidad cognitiva, sistemas inmunes débiles, bajo crecimiento, hipogonadismo, entre otras afecciones. Las dietas predominantes en cereales como el arroz, trigo y maíz es una de las causas de la

desnutrición. Los antinutrientes presentes en estos alimentos disminuyen la biodisponibilidad de elementos claves para el buen funcionamiento del organismo, como son el hierro y el zinc.

### ***Biodisponibilidad de los nutrientes***

La biodisponibilidad de los nutrientes se define como la cantidad de nutrientes que son absorbidos y asimilados por el organismo. Esta se ve afectada por los factores antinutricionales o antinutrientes presentes principalmente en los cereales y legumbres (Torres et al., 2018). Existen diferentes formas de suministrar nutrientes al organismo como la suplementación a través de tabletas, concentrados o jarabes con la ventaja de ingerir un nutriente o varios en cantidades específicas, de acuerdo al requerimiento, sin embargo, pueden resultar costosos y ser poco accesibles para los más vulnerables (Allen et al., 2017).

### ***Factores antinutricionales***

Son sustancias presentes en los cereales y legumbres que inhiben la absorción de ciertos minerales como el calcio, hierro, potasio, magnesio y zinc. Su función es de defensa frente a fitopatógenos y depredadores, actúan bloqueando la digestión de las semillas y la asimilación de nutrientes en el tracto digestivo para luego ser dispersadas a través de las heces del animal permitiendo su desarrollo y reproducción. El consumo excesivo puede llegar a ser perjudicial, además de impedir la asimilación de nutrientes, pueden provocar flatulencias, problemas estomacales, entre otros. Sin embargo, está demostrado que el consumo de estos compuestos bioactivos puede ser beneficiosos para tratar, prevenir y combatir ciertas afecciones en la salud por lo que también se denominan compuestos no nutricionales (Chaparro et al., 2009).

### ***Proteínas antigénicas***

Son responsables de alergias ya que al ser absorbidas son rechazadas por el sistema inmune produciendo anticuerpos que generan una variedad de reacciones gastrointestinales y

cutáneas. Son resistentes a la desnaturalización por calor y por la acción enzimática del sistema digestivo. Procesos como la germinación y fermentación son más eficaces para disminuir la cantidad de componentes antigénicos. Por lo general se encuentran en leguminosas como la soya, oleaginosas como el maní, también, la leche, huevos, mariscos, entre otros (Chaparro et al., 2009).

### ***Las saponinas***

Son responsables del sabor amargo de semillas crudas como la soya y quinoa. Su actividad antinutricional es baja. Se absorben en el intestino afectando la absorción del hierro y el zinc. Se atribuyen propiedades antimicóticas, antivirales, antitumorales, antitrombótica, diurética, entre otras. Además, son precursoras de hormonas y corticoides (Chaparro et al., 2009).

### ***Los inhibidores de proteasas***

Son compuestos de naturaleza proteica que forman complejos con enzimas comprometiendo la actividad catalítica de las enzimas alterando la digestión proteica. Se encuentran principalmente en semillas de leguminosas como la soya y el frijol. Se puede eliminar con tratamiento térmico, germinación y fermentación (Chaparro et al., 2009).

### ***Las lectinas***

se encuentran en forma de glicoproteínas en plantas, al unirse con las glicoproteínas de glóbulos rojos estos se aglutinan por lo que también se denominan fitohemaglutininas. Se adhieren a carbohidratos causando daños en las paredes del intestino delgado y el yeyuno impidiendo la absorción y transporte de nutrientes (Chaparro et al., 2009).

### ***Los taninos***

Son compuestos polifenólicos que tienen la capacidad de formar complejos con el hierro y unirse a proteínas y a otros antinutrientes como las saponinas inhibiendo la biodisponibilidad y la digestión de nutrientes (Chaparro et al., 2009).

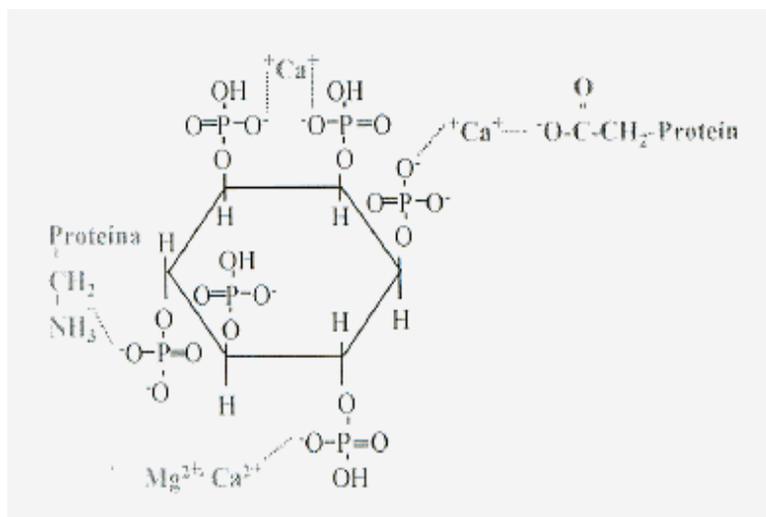
### ***Ácido fítico (AF)***

El ácido fítico (AF) o hexafosfato de inositol (IP6) es la principal forma de reserva de fósforo en los cereales y leguminosas como los frijoles. Este fósforo no se encuentra biodisponible para los animales y humanos ya que estos carecen de la enzima fitasa que descompone la estructura molecular del ácido fítico (Matos et al., 2002). El AF tiene la capacidad de quelar o atrapar cationes como el hierro y el zinc, entre otros. Los minerales quelados al ser ingeridos no son asimilados por el organismo, dando paso a una carencia de micronutrientes y como consecuencia la desnutrición (Matos et al., 2002).

El ácido fítico está conformado por una gran cantidad de grupos fosfatos cargados negativamente, lo que le permite formar complejos insolubles con minerales y proteínas, (Figura 5) impidiendo su absorción en el intestino. Un aumento de ácido fítico en la dieta significa la disminución de la absorción intestinal del zinc, hierro, calcio y otros microelementos importantes para un buen funcionamiento del organismo. Se encuentra en la matriz vegetal, unido a los oligoelementos y otros nutrientes difícil de separarse entre sí por su alta capacidad de formar complejos minerales, pero la absorción de estos minerales en las dietas dependerá de factores como la solubilidad, la cantidad de fibra ingerida y ácido fítico (Lopez et al., 2002).

Figura 5

Molécula de ácido fítico AF y la interacción con minerales y proteínas



*Nota.* La figura muestra la propiedad quelante del fitato y proteínas y minerales. *Nota.* Tomado de *Acido fítico: Aspectos nutricionales e implicaciones analíticas* (p, 219), por Martínez et al., 2002, Archivos Latinoamericanos de Nutrición.

En las plantas el 80% del fósforo se encuentra en forma de fitato, principalmente en las semillas de leguminosas, cereales y oleaginosas. En los cereales como el trigo y el arroz reservan la mayor cantidad de ácido fítico en las aleuronas, por lo que el descascarado reduce la mayor cantidad de antinutrientes. En leguminosas el ácido fítico se encuentra en los cotiledones y ejes embrionarios, pero es más soluble en agua. En las semillas el AF se encuentra atrapando muchos minerales y la unión con proteínas es dependiente del pH; en un pH neutro la molécula de ácido fítico es muy quelante (Martínez et al., 2002).

### ***Funciones fisiológicas del ácido fítico AF en las plantas***

La función más importante del ácido fítico en las plantas es de reservar fósforo que será utilizado como fuente de energía, de cationes y además de proteger a las semillas de

depredadores también puede inducir a la latencia en las semillas (Martínez et al., 2002). La cantidad de AF presente en las semillas varía en relación con las condiciones ambientales a las que se encuentren, factores genéticos y cantidad de fósforo presente en el medio donde se encuentren las semillas, se relaciona con funciones como el metabolismo de los almidones por homeostasis del fósforo, también participa en la señalización celular y desarrollo del ARN (Raboy et al., 2001).

### **Zinc (Zn)**

El zinc es un micronutriente crucial para la vida debido a que tiene un rol muy importante en múltiples funciones fisiológicas del organismo, regula muchas funciones vitales del cuerpo (Baczek et al., 2020). Es un elemento abundante en el cuerpo humano, se encuentra principalmente en el citosol debido a que es un ión intracelular. La cantidad de zinc presente en una persona adulta es de 1 a 2,5 gramos (Rubio et al., 2007).

Actúa en múltiples funciones vitales, como numerosas funciones catalíticas, además es un componente estructural de muchas enzimas y proteínas, y una gran cantidad de procesos e interacciones biológicas que dependen de este microelemento por lo que un desequilibrio puede afectar el correcto funcionamiento y desarrollo de los seres vivos (Maret & Sandstead, 2006).

Alrededor de 2000 mil millones de personas en el mundo padecen de deficiencia de zinc, particularmente en el este de Asia, donde su principal alimento es el arroz, por lo que la deficiencia de zinc es reconocida como un problema de salud mundial (Wei et al., 2012). La deficiencia de zinc se relaciona con el consumo de cereales, ciertos pseudocereales y legumbres, como dieta principal de las personas. Son los países en desarrollo los más afectados por esta problemática (Di Gioia et al., 2019).

La deficiencia de Zn ha causado hasta 450,000 muertes de niños menores de 5 años por año. La falta de Zn conduce a padecer de anorexia, falta de apetito, pérdida del sentido del olfato, gusto, poco desarrollo y crecimiento, sistemas inmunes débiles entre otros signos y síntomas (Lingyun et al., 2016).

### ***Funciones fisiológicas del zinc***

El zinc es un reductor de estrés oxidativo, actúa como cofactor en más de 300 reacciones enzimáticas, regula las funciones estructurales, la división celular, la expresión génica, la transmisión neuronal y el desarrollo de órganos, fortalece el sistema inmune y el desarrollo de funciones cognitivas. Su deficiencia en la alimentación puede acarrear riesgos de morbilidad y mortalidad (Jribi et al., 2019). Además de otras funciones vitales como la función cerebral, es un neuromodulador en la sinapsis, crecimiento y protección celular ya que es un citoprotector que tiene propiedades antioxidantes, antiapoptóticas y antiinflamatorias (Rubio et al., 2007).

El zinc interviene en la formación de los huesos, es un constituyente de la matriz del tejido óseo y activador de varias metaloenzimas. Es indispensable en la madurez sexual, la fertilidad y reproducción; interviene en la regulación sanguínea, es un regulador de diferentes mediadores de la inmunidad como enzimas y citoquinas. También actúa en procesos bioquímicos como la respiración celular, formación de ADN Y ARN y protección de la membrana celular (Rubio et al., 2007).

### ***Ingesta recomendada de zinc***

La ingesta diaria recomendada (IDR) se define como los niveles de ingesta de nutrientes esenciales, son fijados en función de parámetros como edad, sexo, fisiología por los comités nacionales e internacionales en base a los estudios científicos. Estos requerimientos se miden

mediante estudios de pérdida de zinc endógeno. Esta pérdida oscila entre 1,3 y 4,6 mg. día<sup>-1</sup>. La ingesta diaria recomendada varía entre 8 y 13 mg. día<sup>-1</sup> (Tabla 2) (Rubio et al., 2007).

**Tabla 2**

*Ingesta diaria recomendada de Zn*

| Grupo de edad | Zn (mg/día) | Grupo de edad | Zn (mg/día) |
|---------------|-------------|---------------|-------------|
| Lactantes     |             | Mujeres       |             |
| 0-6 meses     | 2           | 9-13 años     | 8           |
| 7-12 meses    | 3           | 14-18 años    | 9           |
| Niños         |             | 19 ≥70 años   | 8           |
| 1-3 años      | 3           | Embarazo      |             |
| 4-8 años      | 5           | ≤ 18 años     | 12          |
| Hombres       |             | 19-50 años    | 11          |
| 9-13 años     | 8           | Lactancia     |             |
| 14- >70 años  | 11          | ≤ 18 años     | 13          |
|               |             | 19- 50 años   | 12          |

*Nota.* Adaptado de *El zinc: Oligoelemento esencial* (p, 101), por Rubio et al., 2007, Nutrición Hospitalaria.

### **Fortificación con zinc**

La administración de Medicamentos y Alimentos de los EEUU (FDA) determina cinco compuestos de zinc puedan ser usados para la fortificación de alimentos, el sulfato de zinc, cloruro de zinc, gluconato de zinc, óxido de zinc y estearato de zinc (Boccio & Monteiro, 2004).

### **Óxido de zinc**

Es comúnmente usado para la fortificación de cereales en los países industrializados, es de bajo costo, no afecta a las propiedades organolépticas en concentraciones bajas pero su

biodisponibilidad también lo es, siendo nutricionalmente no atractivo para la fortificación (Boccio & Monteiro, 2004).

### ***Sulfato de zinc***

Se absorbe con mayor eficiencia en comparación del óxido de zinc, su precio es más elevado y además puede cambiar las propiedades organolépticas de los alimentos en concentraciones muy altas (Boccio & Monteiro, 2004).

### ***Citrato de zinc***

Este compuesto ha tenido poco éxito en el uso para fortificación de alimentos, su sabor es muy fuerte y difícil de esconder y asimilar afectando la propiedad sensorial del alimento (Boccio & Monteiro, 2004).

### ***Gluconato de zinc***

Se ha usado en la industria láctea y de jugos debido a que es un compuesto que no afecta el sabor del alimento. Es uno de los compuestos más importantes para considerarse en la fortificación industrial de alimentos (Boccio & Monteiro, 2004).

### ***Biodisponibilidad del zinc en el organismo***

La absorción intestinal del zinc y su utilización en el organismo está condicionada por los componentes ingeridos en la dieta como lo es el ácido fítico que es el principal determinante de la absorción de este oligoelemento muy importante para el correcto funcionamiento del organismo. El AF quela muy fuertemente al zinc provocando su baja biodisponibilidad. Este efecto inhibitor del AF se puede estimar por proporciones molares de AF sobre el zinc en la dieta. Una proporción molar superior a 15:1 inhibe la absorción de zinc (Lopez et al., 2002).

Según Borelli et al. (2007), la biodisponibilidad del zinc en el organismo se determina por la relación molar ácido fítico AF/Zn presente en los alimentos, mientras mayor sea la relación, menor será la biodisponibilidad del zinc en el organismo, es decir, la biodisponibilidad del zinc puede variar dependiendo de la cantidad de ácido fítico presente en el alimento y el contenido mineral como se muestra en la (Tabla 3).

**Tabla 3**

*Relación molar ácido fítico AF:Zn y la biodisponibilidad de zinc que representa en porcentaje*

| Relación molar (AF:Zn) | Biodisponibilidad Zinc (%) |
|------------------------|----------------------------|
| <5                     | >50%                       |
| 5-15                   | 30%                        |
| 15-30                  | 15%                        |
| >30                    | 10%                        |

*Nota.* Adaptado de Interacción calcio-fitato-cinc en yogures con cereales (p. 26), por Borelli et al., 2007, Revista Española de Nutrición Comunitaria.

La biodisponibilidad de los minerales se ve afectada por muchos factores, entre ellos se encuentran los factores antinutricionales presentes en los alimentos, pero además también es afectado por la cantidad de minerales versus la cantidad de compuestos antinutricionales ingeridos, el tiempo en el que es consumida una fuente mineral con una que contenga altas cantidades de ácido fítico, la absorción intestinal, la fitasa intestinal y bacterias presentes, cantidad de proteínas y fibra que competirán y disminuirán la quelación de minerales, la adaptación del organismo a elevadas cantidades de ácido fítico, entre otros (Domínguez et al., 2002).

### Capítulo III

#### Metodología

##### Ubicación del sitio de estudio

El proyecto de investigación se realizó en los laboratorios de fisiología vegetal y principios activos de la carrera de ingeniería agropecuaria IASA 1 con coordenadas  $0^{\circ}23'05.7''S$   $78^{\circ}24'54.1''W$ , (-0.384903, -78.415017) ubicado en la Hacienda El Prado, parroquia San Fernando, cantón Rumiñahui, provincia de Pichincha (Figura 6).

El laboratorio de fisiología vegetal y principios activos, sitio donde se llevó a cabo la germinación tiene una temperatura promedio de  $13^{\circ}C$ , una temperatura máxima de  $22^{\circ}C$  y una mínima de  $8^{\circ}C$  (Intriago, 2021).

##### Figura 6

*Ubicación geográfica del laboratorio de fisiología vegetal y principios activos*



*Nota.* Esta figura muestra la ubicación del laboratorio de fisiología vegetal y principios activos de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I. Tomado de Google Earth, 2021.

## **Establecimiento del experimento**

### ***Preparación de las semillas***

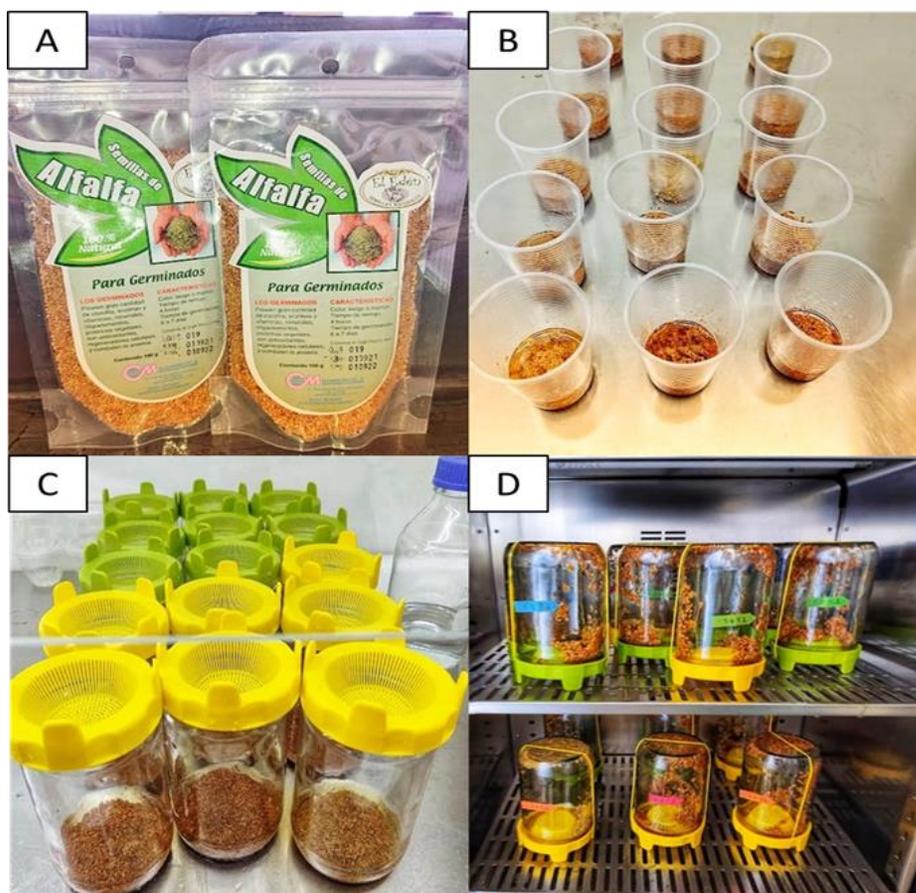
Para la investigación se adquirió 225 gramos de semillas de alfalfa para germinados con certificación orgánica, para asegurar que la semilla no contenga agroquímicos tóxicos que afecten la salud del consumidor y atente contra la seguridad alimentaria (Figura 7A). Se pesaron 15 gramos de semillas en vasos plásticos para cada tratamiento y se desinfectó con una solución de hipoclorito de sodio (1%) durante 5 minutos, cubriendo todas las semillas de forma homogénea (Figura 7B). Luego se enjuagó con agua destilada y estéril tres veces para eliminar el residuo de hipoclorito de sodio (Jribi et al., 2019).

### ***Preparación y aplicación de diferentes concentraciones de zinc***

Para la preparación de las soluciones con diferentes concentraciones de zinc se basó en la metodología modificada de Baczek et al. (2020). Se preparó una solución madre con una concentración de  $1000 \text{ mg. L}^{-1}$  de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  para obtener una alícuota de 50 ml por cada tratamiento con 5 concentraciones de zinc (0, 10, 20, 30 y  $40 \text{ } \mu\text{g. ml}^{-1}$ ) (Tabla 3). Se utilizó agua destilada y esterilizada y se agregaron las semillas junto con las diferentes soluciones en frascos de vidrio de 750 ml previamente esterilizados en una autoclave GEMMY SA-300H a una temperatura de  $121^\circ\text{C}$  y presión de 120 bares durante 20 minutos. Los frascos fueron acoplados con tapas para germinados Soligt y se dejó remojar durante 4 horas (tiempo recomendado por el fabricante) (Figura 7C). Para la concentración 0 se remojó las semillas con agua esterilizada y se drenó el exceso de humedad. Las semillas fueron germinadas en condiciones controladas en una incubadora BIOBASE a  $20^\circ\text{C}$  durante 5 días en total oscuridad (Figura 7D). Para compensar la pérdida de agua por evaporación se asperjó agua estéril cada 24 horas.

**Figura 7**

*Preparación de germinación de semillas de alfalfa*



*Nota.* A. semillas de alfalfa orgánicas, B. Desinfección semillas, C. Remojo en diferentes concentraciones de zinc, D. Germinación en incubadora.

### ***Prueba de germinación***

Para la prueba de germinación, se estableció el experimento con las mismas condiciones que el experimento inicial, sin embargo, las semillas fueron distribuidas en cajas Petri, previamente esterilizadas, 100 semillas por caja y 3 repeticiones por tratamiento (Figura 8). Las semillas fueron germinadas en una incubadora BIOBASE a 20°C y fueron asperjadas con agua estéril para mantener la humedad.

**Figura 8***Prueba de germinación in vitro*

*Nota.* Germinación de semillas de alfalfa in vitro bajo condiciones controladas.

***Prueba organoléptica***

Para el análisis sensorial se preparó 5 tratamientos bajo las mismas condiciones del experimento inicial, se cosechó los germinados, se enjuagaron y se drenaron. Luego se preparó una sala de degustación en el laboratorio de postcosecha de la carrera de ingeniería agropecuaria IASA I. La prueba se realizó con 20 participantes subdivididos en grupos de 5 personas. Se le brindó a cada participante una muestra de 1 gramo del producto fresco de cada tratamiento que había sido almacenado y refrigerado a una temperatura entre 2 y 4 °C. Se suministró un vaso con agua para que los participantes puedan enjuagar su boca por cada degustación (Figura 10). También proporcionó a cada participante, una ficha o cartilla de catación donde la variable pudo ser evaluada en una escala del 1 a 3 siendo 1 la calificación más baja y 3 la más alta (Figura 9).

**Figura 9**

*Cartilla de degustación para evaluar la propiedad organoléptica del sabor respecto al amargor*

**GERMINADOS DE ALFAFA FORTIFICADOS**

SABOR (AMARGOR)

NOMBRE: .....

FECHA: 30/09/2021

Marcar con una X

|                      | Nada Amargo (1) | Poco Amargo (2) | Amargo (3) |
|----------------------|-----------------|-----------------|------------|
| Código Muestra ..... |                 |                 |            |

Observaciones.....

.....

*Nota.* Cartilla de degustación para prueba sensorial.

**Figura 10**

*Análisis sensorial a nivel del sabor de germinados de alfalfa*



*Nota.* Participantes degustando muestras de germinados de alfalfa.

## Diseño experimental

### *Factores y tratamientos*

Las unidades experimentales fueron cada frasco de germinación con 15 gramos de semillas de alfalfa tratadas con diferentes concentraciones de zinc (0, 10, 20, 30 y 40  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ ) que fue el factor de estudio, teniendo así, 5 tratamientos incluido el control, con tres repeticiones, dando un total de 15 unidades experimentales (Tabla 4). La disposición de los tratamientos se muestra en la (Figura 10).

**Tabla 4**

*Descripción de los tratamientos*

| Tratamiento | Descripción<br>Zn ( $\mu\text{g. ml}^{-1}$ ) |
|-------------|--|
| T1          | 0  |
| T2          | 10   |
| T3          | 20   |
| T4          | 30   |
| T5          | 40   |

*Nota.* Esta tabla muestra los tratamientos, T1= Zn 0  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ , T2= Zn 10  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ , T3= Zn 20  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ , T4= Zn 30  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ , T5= Zn 40  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ .

### *Tipo de diseño*

El experimento se dispuso bajo un diseño completamente al azar DCA con 3 repeticiones, para las variables: porcentaje de germinación, longitud del germinado, contenido de zinc, ácido fítico, peso seco, rendimiento biológico, relación ácido fítico: zinc (AF:Zn). El modelo matemático fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + Z_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Variable de respuesta

$\mu$  = media general

$Z_i$  = efecto de la  $i$ -ésima concentración de Zn

$\epsilon_{ij}$  = Error experimental

**Figura 11**

*Disposición de los tratamientos*



*Nota.* Esta figura muestra la disposición de los tratamientos, T1= Zn 0  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ , T2= Zn 10  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ , T3= Zn 20  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ , T4= Zn 30  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ , T5= Zn 40  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ .

Para la prueba organoléptica (Sabor) se analizó mediante un diseño en bloques completamente al azar DBCA. Cada catador fue un bloque, teniendo así 20 bloques para cada tratamiento (Tabla 5). Los datos se analizaron con estadística descriptiva y se realizó una prueba

de comparación de medias de Duncan al 5%. La disposición de los bloques se muestra en la (Figura 12). El modelo matemático es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + Z_i + C_j + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Sabor

$\mu$  = media general

$Z_i$  = efecto de la i-ésima concentración de Zn

$C_j$  = efecto del j-ésimo catador (Bloque)

$\varepsilon_{ij}$  = Error experimental

**Figura 12**

*Disposición de bloques y tratamientos*

| B1 | B2 | B3 | B4 | B5 | B6 | B7 | B8 | B9 | B10 | B11 | B12 | B13 | B14 | B15 | B16 | B17 | B18 | B19 | B20 |
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| T2 | T5 | T1 | T5 | T4 | T3 | T5 | T4 | T5 | T5  | T1  | T1  | T3  | T3  | T4  | T4  | T4  | T2  | T4  | T4  |
| T4 | T1 | T5 | T3 | T2 | T5 | T2 | T5 | T1 | T4  | T4  | T4  | T2  | T4  | T5  | T2  | T3  | T1  | T5  | T5  |
| T5 | T4 | T3 | T1 | T3 | T4 | T1 | T2 | T3 | T1  | T3  | T5  | T1  | T2  | T1  | T3  | T2  | T5  | T1  | T2  |
| T3 | T2 | T4 | T4 | T5 | T1 | T4 | T1 | T2 | T3  | T5  | T3  | T5  | T5  | T2  | T5  | T1  | T3  | T3  | T3  |
| T1 | T3 | T2 | T2 | T1 | T2 | T3 | T3 | T4 | T2  | T2  | T2  | T4  | T1  | T3  | T1  | T5  | T4  | T2  | T1  |

*Nota.* Esta figura muestra la disposición de los tratamientos, T1= Zn 0  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ , T2= Zn 10  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ , T3= Zn 20  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ , T4= Zn 30  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ , T5= Zn 40  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ , B1... B20= Bloques (Catadores).

**Tabla 5***Disposición de los tratamientos evaluados a nivel organoléptico*

| Bloques (Catadores) | Tratamientos |    |    |    |    |  |
|---------------------|--------------|----|----|----|----|--|
| 1                   | T2           | T4 | T5 | T3 | T1 |  |
| 2                   | T5           | T1 | T4 | T2 | T3 |  |
| 3                   | T1           | T5 | T3 | T4 | T2 |  |
| 4                   | T5           | T3 | T1 | T4 | T2 |  |
| 5                   | T4           | T2 | T3 | T5 | T1 |  |
| 6                   | T3           | T5 | T4 | T1 | T2 |  |
| 7                   | T5           | T2 | T1 | T4 | T3 |  |
| 8                   | T4           | T5 | T2 | T1 | T3 |  |
| 9                   | T5           | T1 | T3 | T2 | T4 |  |
| 10                  | T5           | T4 | T1 | T3 | T2 |  |
| 11                  | T1           | T4 | T3 | T5 | T2 |  |
| 12                  | T1           | T4 | T5 | T3 | T2 |  |
| 13                  | T3           | T2 | T1 | T5 | T4 |  |
| 14                  | T3           | T4 | T2 | T5 | T1 |  |
| 15                  | T4           | T5 | T1 | T2 | T3 |  |
| 16                  | T4           | T2 | T3 | T5 | T1 |  |
| 17                  | T4           | T3 | T2 | T1 | T5 |  |
| 18                  | T2           | T1 | T5 | T3 | T4 |  |
| 19                  | T4           | T5 | T1 | T3 | T2 |  |
| 20                  | T4           | T5 | T2 | T3 | T1 |  |

*Nota.* T1= Zn 0  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ , T2= Zn 10  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ , T3= Zn 20  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ , T4= Zn 30  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ , T5= Zn 40  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ .

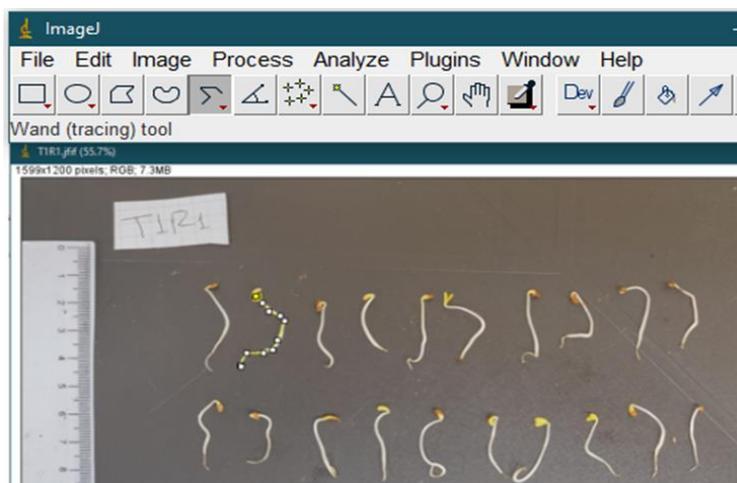
**Variables evaluadas**

Para la materia seca se determinó usando el método descrito por (Mattioli et al., 2019), los germinados previamente drenados se colocaron en bolsas de papel, se pesaron y se llevaron a secado en un horno a temperatura constante de 60°C por 36 horas, después se pesó nuevamente.

La longitud del germinado se midió utilizando el software ImageJ y una cámara de celular de 48 megapíxeles (Figura 13). La medición se realizó al finalizar el ciclo de producción, es decir, al quinto día y se tomó la medida desde el inicio del hipocótilo hasta el final de la radícula (Baczek et al., 2020). Se consideró un índice de madurez de referencia para la cosecha, una longitud de 26 a 38 mm (Ayala, 2014).

### Figura 13

*Medición raíces con software ImageJ*



*Nota.* Se observa la medición de la longitud con línea segmentada del software ImageJ.

El porcentaje de germinación se evaluó a los 3 días y se contó las semillas germinadas.

Se utilizó la ecuación detallada por (Wei et al., 2012), que se describe como:

$$\text{Porcentaje de germinación \%} = \left( \frac{\# \text{ semillas germinadas}}{\text{semillas total}} \right) * 100$$

Se evaluó el rendimiento biológico con la ecuación descrita por Zou et al. (2014) que se

detalla como:  $\left( \frac{FW}{M} \right) * 100 = \% \text{ rendimiento biológico}$ , donde: FW= peso fresco total de

brotos, M= peso de las semillas utilizadas por tratamiento y repetición.

Se evaluó el contenido de Zinc, para ello, las muestras de germinados de alfalfa secas se molieron en un molino ultracentrífugo ZM 200 Retsch. Se colocaron 3 gramos de la muestra molida en recipientes de cerámica y se llevó a una estufa a 600°C durante 4 horas para obtener cenizas y luego se agregó 10 ml de ácido nítrico y 2 ml de agua destilada, se llevó nuevamente a una estufa hasta que empiece a burbujear. Se dejó enfriar y se filtró con papel filtro en matraces de 50 ml y se aforó con agua desionizada y se determinó por espectrometría de absorción atómica (Wei et al., 2012).

Se evaluó el contenido de ácido fítico de los germinados aplicando el método descrito por Abulude (2005), para ello se extrajo 2 gramos de las muestras liofilizadas y se mezcló con 50 ml de ácido clorhídrico (HCl) al 2% en matraces de 125 ml y se llevó a una incubadora agitador SHELL LAB orbital durante 3 horas, luego el contenido agitado se filtró con papel Whatman número 1 y el filtrado se mezcló con 2,5 ml del reactivo tiocianato de amonio  $\text{NH}_4\text{SCN}$  al 0,3% y se completó la mezcla con 27 ml de agua destilada. Se realizó la titulación con cloruro férrico  $\text{FeCl}_3$  con una concentración de  $1,95 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ , se añadió y se agitó a la mezcla hasta obtener una coloración más intensa (amarillo parduzco). La concentración de ácido fítico se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{Fitato de fósforo} \left( \frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \text{Valor de titulación} * 1,95;$$

$$\text{Fitato} \left( \frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \text{Fitato de fósforo} * 3,55$$

Adicional, se evaluó la biodisponibilidad del zinc basándose en el estudio realizado por (Wei et al., 2012), mediante la relación molar ácido fítico: Zinc que se describe a continuación:

$$AF: Zn = \frac{\text{mmol AF}}{\text{mmol Zn}}$$

y el resultado de esta operación se relacionó con los porcentajes de

biodisponibilidad descritos en la (Tabla 3). Adicional, se evaluó el sabor de los germinados, por

lo cual se germinaron semillas de alfalfa con las mismas condiciones y tratamientos que el experimento inicial. Obtenida la biomasa se tomó de cada tratamiento una muestra de 2 gramos para cada participante. Se dio indicaciones previas sobre cómo relacionamos el sabor amargo de los germinados si es que se presentaba el caso.

Para determinar la relación entre los diferentes niveles de exposición y los parámetros de crecimiento y contenido nutricional (zinc y ácido fítico) se realizó un análisis de regresiones para cada variable de respuesta y a su vez determinar la dosis óptima de zinc que no afecte el índice de germinación (porcentaje de germinación, longitud del germinado).

### **Análisis de datos**

Las variables de estudio se caracterizaron mediante estadística descriptiva (media y desviación estándar). Para comparar el efecto de los diferentes niveles de exposición con zinc sobre el contenido de zinc, ácido fítico y los parámetros de crecimiento de los brotes de alfalfa entre tratamientos se realizó un análisis de la varianza (ANAVA) y posteriormente se evaluó mediante una prueba de comparación de medias de Duncan al 5%. Para las variables, longitud de germinado y porcentaje de germinación se tomó como muestra 20 germinados por unidad experimental de forma aleatoria (Morales et al., 2015). La aleatorización se realizó colocando los germinados en una superficie plana dividida en cuatro cuadrantes al que se le añadió un punto en el centro de cada cuadrante y se seleccionaron los germinados más cercanos al punto. Para la prueba organoléptica se realizó un ANAVA para un DCBA y una prueba de comparación de medias de Duncan al 5%. El análisis se realizó con el software Infostat (Di Rienzo et al., 2020). Además, se determinó la concentración óptima de zinc que permita la fortificación sin afectar los parámetros de crecimiento mediante un análisis de regresión.

## Capítulo IV

### Resultados y discusión

#### Parámetros de germinación

##### *Porcentaje de germinación*

El porcentaje de germinación promedio no presentó diferencias significativas entre tratamientos ( $F= 2,67$ ;  $P= 0,0945$ ).

##### *Longitud del germinado*

La longitud promedio de los germinados de alfalfa presentó diferencias significativas entre tratamientos ( $F=37,20$ ;  $P < 0,0001$ ). La longitud promedio fue superior en las semillas expuestas a  $40 \mu\text{g. ml}^{-1}$  de zinc obteniendo un promedio de  $3,99 \text{ cm}$ , es decir, un  $35,25\%$  más grande que la longitud obtenida por el nivel de exposición  $0 \mu\text{g. ml}^{-1}$  de zinc (Figura 14) (Tabla 6).

**Tabla 6**

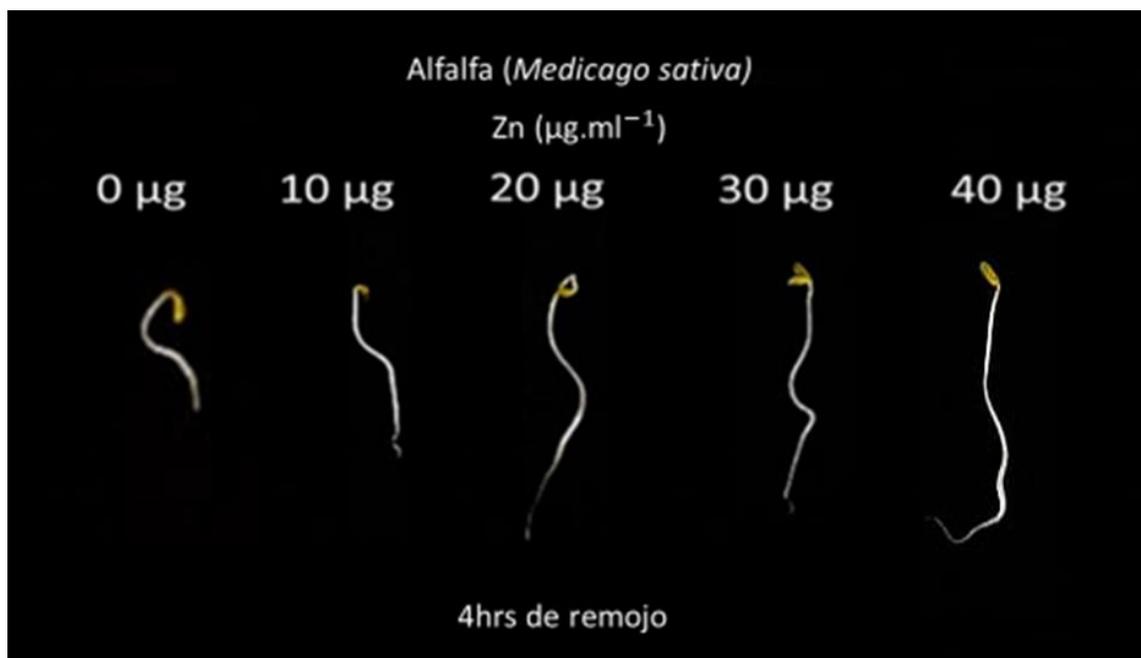
Promedio  $\pm$  DE del porcentaje de germinación (%) y longitud (cm) de germinados de alfalfa expuestos a diferentes niveles de zinc

| Nivel de exposición<br>Zn ( $\mu\text{g. ml}^{-1}$ ) | Germinación<br>(%) | Longitud<br>(cm)  |
|--|--------------------|-------------------|
| 0  | $97,00 \pm 1,00$   | $2,95 \pm 0,44$ a |
| 10   | $96,00 \pm 1,00$   | $3,23 \pm 0,60$ b |
| 20   | $95,00 \pm 2,00$   | $3,35 \pm 0,46$ b |
| 30   | $94,67 \pm 0,58$   | $3,67 \pm 0,50$ c |
| 40   | $94,33 \pm 2,08$   | $3,99 \pm 0,65$ d |

*Nota.* Medias en la misma columna con letras diferentes difieren estadísticamente (Duncan;  $\alpha=0,05$ ).

**Figura 14**

*Germinados de alfalfa tratados con diferentes concentraciones de zinc*



*Nota.* Se observa que los germinados expuestos a 40 Zn  $\mu\text{g. ml}^{-1}$  de zinc tienen una mayor elongación respecto al tratamiento control 0  $\mu\text{g. ml}^{-1}$  de zinc.

#### ***Peso seco***

El peso seco promedio de los germinados de alfalfa no presentó diferencias significativas entre los diferentes niveles de exposición de zinc ( $F=0,62$ ;  $P=0,6619$ ). El contenido de materia seca promedio fue de hasta 10,15 gramos en el nivel de exposición más alto (Tabla 7).

#### ***Rendimiento biológico***

El rendimiento biológico de los germinados de alfalfa no presentó diferencias significativas entre los diferentes niveles de exposición de zinc ( $F=1,20$ ;  $P=0,3817$ ). El rendimiento promedio fue superior a 500 % en todos los tratamientos (Tabla 7).

**Tabla 7**

*Promedio  $\pm$  DE del peso seco (g) y rendimiento biológico (%) de germinados de alfalfa expuestos a diferentes niveles de zinc*

| <b>Nivel de exposición<br/>Zn (<math>\mu\text{g. ml}^{-1}</math>)</b> | <b>Peso seco<br/>(g)</b> | <b>Rendimiento biológico<br/>(%)</b> |
|---|--------------------------|--------------------------------------|
| 0   | 9,45 $\pm$ 1,48          | 525,98 $\pm$ 36,41                   |
| 10  | 9,74 $\pm$ 0,67          | 546,33 $\pm$ 14,70                   |
| 20  | 8,89 $\pm$ 1,32          | 545,75 $\pm$ 20,57                   |
| 30  | 10,01 $\pm$ 0,09         | 518,47 $\pm$ 12,71                   |
| 40  | 10,15 $\pm$ 0,73         | 548,20 $\pm$ 18,70                   |

*Nota.* Medias en la misma columna con letras diferentes difieren estadísticamente (Duncan;  $\alpha=0,05$ ).

### **Contenido nutricional (zinc y ácido fólico)**

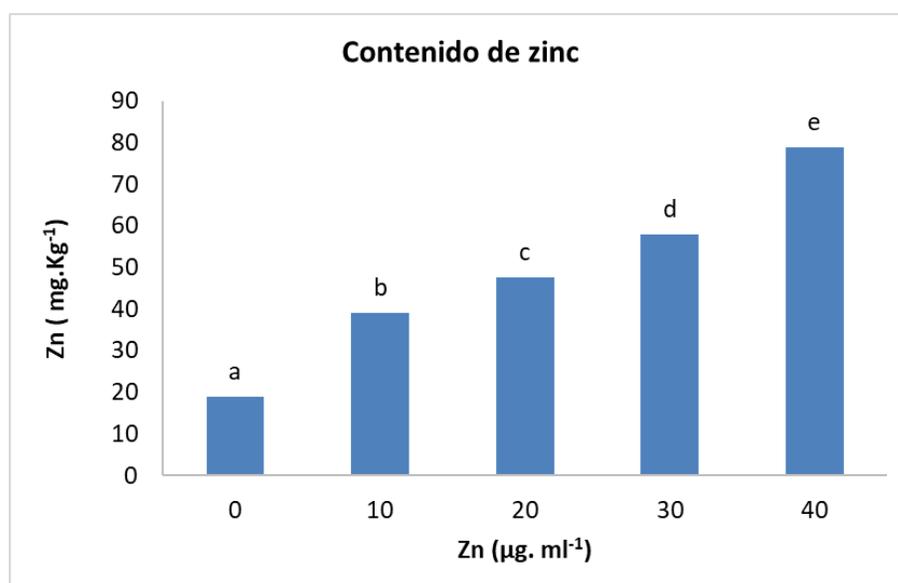
#### **Contenido de zinc**

El promedio del zinc residual contenido en los germinados de alfalfa presentó diferencias significativas ( $F=205,13$ ;  $P < 0,0001$ ). El contenido de zinc más alto fijado en los germinados de alfalfa se obtuvo con el nivel de exposición más alto, es decir, para la concentración de 40  $\mu\text{g. ml}^{-1}$  de zinc, el contenido promedio de zinc fue de 78,80  $\text{mg.kg}^{-1}$ , lo que representa 317,15 % más que el nivel de exposición 0  $\mu\text{g. ml}^{-1}$  de zinc, que presentó una concentración promedio de 18,98  $\text{mg.kg}^{-1}$  Zn. Seguido, el nivel 30  $\mu\text{g. ml}^{-1}$  dio una concentración promedio de zinc de 205,74 % mayor que la del nivel de exposición control con una concentración promedio de 58,03  $\text{mg.kg}^{-1}$  de zinc. Mientras que para los niveles de exposición

10 y 20  $\mu\text{g. ml}^{-1}$  de zinc, presentaron una concentración de zinc residual de 105,45% y 151,05% superior a la concentración de zinc promedio del tratamiento control (Tabla 8) (Figura 15).

### Figura 15

*Contenido promedio de zinc en germinados de alfalfa tratados con diferentes concentraciones de zinc*

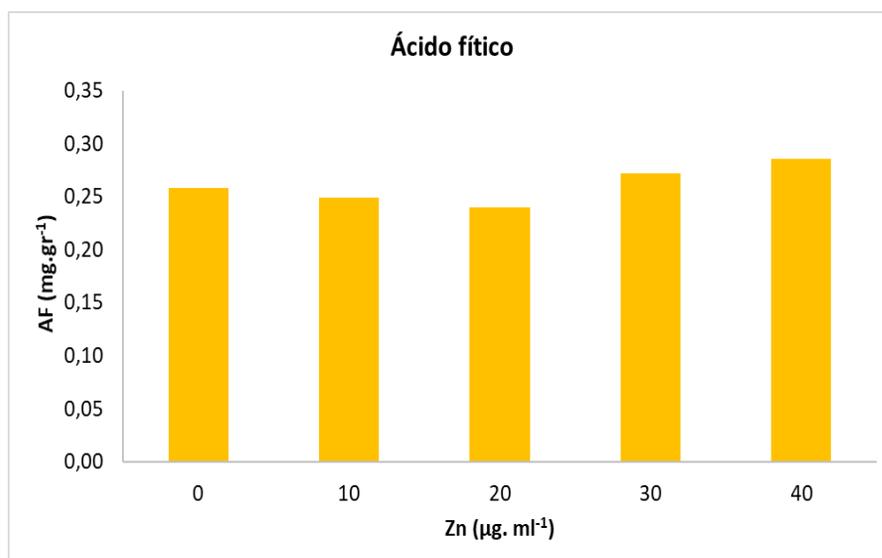


### **Contenido de ácido fítico**

El promedio del contenido de ácido fítico de germinados de alfalfa no presentó diferencias significativas entre los diferentes niveles de exposición ( $F=2,57$ ;  $P=0,1191$ ). El contenido de ácido fítico encontrado en los germinados de alfalfa fue hasta de  $28,6 \text{ mg.}100\text{g}^{-1}$  de germinados en peso seco (Tabla 8). No se evidenció una relación entre el nivel de exposición a zinc con el contenido de ácido fítico.

**Figura 16**

*Contenido de ácido fítico en germinados de alfalfa tratados con diferentes niveles de zinc*

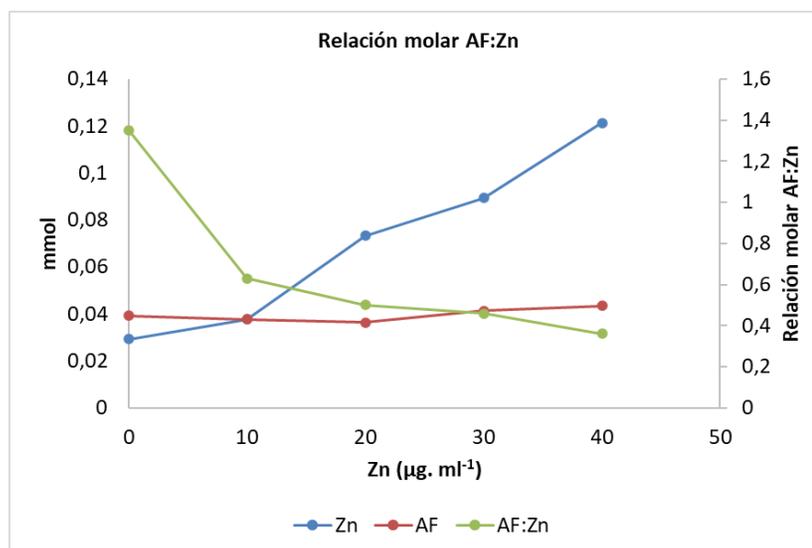


#### ***Relación molar ácido fítico (AF:Zn)***

La relación promedio de AF:Zn mostró diferencias significativas entre los diferentes niveles de exposición a zinc en germinados de alfalfa ( $F= 21,52$ ;  $P= 0,0002$ ). La biodisponibilidad del zinc fue mayor a 50% en todos los tratamientos a pesar de que el tratamiento control T0 fuera estadísticamente diferente a los demás tratamientos con un promedio de 1,35 de relación molar AF:Zn no afecta la biodisponibilidad del zinc (Tabla 8). Según Borelli et al. (2007), una relación molar menor a 5 da como resultado una biodisponibilidad del mineral, en este caso el zinc, superior a 50%. La presente investigación indica que el zinc fijado en los germinados de alfalfa puede estar en su mayoría biodisponible al ser ingerido sin que se vea afectado por las propiedades antinutricionales del ácido fítico. A medida que el contenido de zinc del tejido vegetal comestible es mayor que el contenido de ácido fítico, la relación molar AF:Zn disminuye (Figura 17).

**Figura 17**

*Relación molar Ácido fítico:Zinc (AF:Zn) en germinados de alfalfa fortificados con diferentes concentraciones de zinc*



*Nota.* Se puede observar que la relación molar AF:Zn decrece a medida que el contenido de zinc aumenta y el ácido fítico se mantiene.

**Tabla 8**

*Promedio ± DE del contenido de zinc, ácido fítico y la relación molar ácido fítico (AF:Zn) en germinados de alfalfa expuestos a diferentes niveles de zinc*

| Nivel de exposición<br>Zn (µg. ml <sup>-1</sup> ) | Contenido de Zn<br>(mg.kg <sup>-1</sup> ) | Ácido fítico<br>(mg.gr <sup>-1</sup> ) | Relación molar (AF:Zn) |
|---|---|--|------------------------|
| 0   | 18,98 ± 1,54 a                            | 0,258 ± 0,062                          | 1,35 ± 0,35 b          |
| 10  | 38,99 ± 1,04 b                            | 0,249 ± 0,055                          | 0,63 ± 0,13 a          |
| 20  | 47,65 ± 2,10 c                            | 0,240 ± 0,07                           | 0,50 ± 0,17 a          |
| 30  | 58,03 ± 1,99 d                            | 0,272 ± 0,021                          | 0,46 ± 0,04 a          |
| 40  | 78,80 ± 4,19 e                            | 0,286 ± 0,035                          | 0,36 ± 0,06 a          |

*Nota.* Medias en la misma columna con letras diferentes difieren estadísticamente (Duncan;  $\alpha=0,05$ ), AF= ácido fítico; Zn= zinc.

### Prueba organoléptica

La calificación promedio del sabor no presentó diferencias significativas entre los diferentes niveles de exposición a zinc ( $F=0,77$ ;  $P=0,5468$ ). La calificación promedio más alta fue de 1,70 en el nivel de exposición 10 Zn ( $\mu\text{g. ml}^{-1}$ ), pero no afectó significativamente la calidad sensorial de los germinados en la propiedad evaluada que fue el sabor respecto al amargor (Tabla 9).

**Tabla 9**

*Promedio  $\pm$  DE de la calificación promedio del sabor de los germinados de alfalfa expuestos a diferentes niveles de zinc*

| Nivel de exposición<br>Zn ( $\mu\text{g. ml}^{-1}$ ) | Sabor           |
|--|-----------------|
| 0  | 1,45 $\pm$ 0,69 |
| 10   | 1,70 $\pm$ 0,66 |
| 20   | 1,55 $\pm$ 0,60 |
| 30   | 1,40 $\pm$ 0,68 |
| 40   | 1,45 $\pm$ 0,60 |

*Nota.* Medias en la misma columna con letras diferentes difieren estadísticamente (Duncan;  $\alpha=0,05$ ).

### Análisis de variables

Mediante el análisis de regresión el porcentaje de germinación, longitud del germinado, contenido de zinc y relación molar AF: Zn promedio de germinados de alfalfa se relacionaron con el nivel de exposición de zinc con los modelos de regresión lineal descritos en la (Tabla 10). Las dosis evaluadas en esta investigación, no presentaron un efecto inhibitor en el porcentaje de germinación.

**Tabla 10***Análisis de regresión*

| Variable                          | Ecuación   |
|-----------------------------------|--|
| Porcentaje de germinación<br>(PG) | $PG = 97,02 - 0,12(Zn) + 1,4 \cdot 10^{-3}(Zn)^2$ $(R^2=0,99; P=0,01)$ <p>Donde:</p> <p>PG= porcentaje de germinación,<br/>Zn= concentración de zinc (<math>\mu\text{g. ml}^{-1}</math>)</p>         |
| Longitud del germinado (LG)       | $LG = 2,93 + 0,03(Zn)$ $(R^2=0,98; P=0,0012)$ <p>Donde:</p> <p>LG= Longitud de germinado,<br/>Zn= concentración de zinc (<math>\mu\text{g. ml}^{-1}</math>)</p>                                      |
| Contenido de zinc (CZ)            | $CZ = 29,75 + 1,39(Zn)$ $(R^2=0,96; P<0,0001)$ <p>Donde:</p> <p>CZ= Contenido de zinc;<br/>Zn: concentración de zinc (<math>\mu\text{g. ml}^{-1}</math>)</p>   |
| Relación molar AF:Zn (RM)         | $RM = 1,27 - 0,06(Zn) + 9,4 \cdot 10^{-4}(Zn)^2$ $(R^2=0,79; P=0,0001)$ <p>Donde:</p> <p>RM= relación molar ácido fítico zinc;<br/>Zn: concentración de zinc (<math>\mu\text{g. ml}^{-1}</math>)</p> |

*Nota.* Se describe las ecuaciones que se ajustan para cada variable de respuesta

## Discusión

Los valores promedios del porcentaje de germinación obtenidos en esta investigación se asemejan al obtenido por Aydinalp & Marinova (2009) en el que se demostró que la exposición a concentraciones de Zn (0, 10, 20 y 40  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ ) no afectó el porcentaje de germinación en semillas de alfalfa, a pesar de que no presentó diferencias significativas, se observó una leve reducción a partir del tratamiento con 20  $\mu\text{g. ml}^{-1}$  de zinc. Por el contrario, Zou et al. (2014), evidenció que con un nivel de exposición de 100  $\mu\text{g. ml}^{-1}$  de zinc reduce la germinación en semillas de soja, lo que indica posiblemente que concentraciones altas de zinc puede inhibir la germinación.

En cuanto a la longitud promedio de los germinados de alfalfa se obtuvo un aumento de la longitud promedio respecto al tratamiento control superior al resultado obtenido por Aydinalp & Marinova (2009), reportando un aumento significativo del 10 % de la longitud de germinados de alfalfa expuestos a 40  $\mu\text{g. ml}^{-1}$  de zinc, sobre el grupo control. Zou et al. (2014), también reportó un aumento significativo en la longitud del hipocótilo en germinados de soja, hasta un 16% con un nivel de exposición de 10  $\mu\text{g. ml}^{-1}$  de zinc, pero a medida que aumentó la concentración, a partir de 30  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ , hubo una reducción considerable de la longitud entre 17 y 42% de la longitud en los germinados respecto a la del tratamiento control. En otra investigación realizada por Lingyun et al. (2016), en guisantes remojados con zinc, a diferentes concentraciones entre 0 y 60  $\mu\text{g. mL}^{-1}$  se evidenció reducción del crecimiento de los germinados a un nivel de exposición superior a 50  $\mu\text{g. ml}^{-1}$  de zinc. Mientras que para niveles de exposición inferiores y hasta 50  $\mu\text{g. ml}^{-1}$  presentaron un aumento considerable de la longitud en los germinados de hasta 32,7 % respecto al control, indicando que dosis altas de zinc en la germinación de semillas de soja y guisantes pueden inhibir el crecimiento y esto puede deberse

a la capacidad de acumulación de minerales en este tipo de semillas es alta, causando un efecto tóxico. Baczek et al. (2020), reportó que, a niveles de exposición de 0, 10, 20 y 30  $\mu\text{g. ml}^{-1}$  de zinc en semillas de brócoli, girasol y guisantes, no se evidenció una reducción significativa del índice de germinación en el que consta la longitud y el porcentaje de germinación, mientras que en guisantes sí se redujo el índice de germinación en su nivel más alto de exposición (30  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ ). El zinc es un elemento esencial para el desarrollo y crecimiento de un organismo como las plantas. En el tejido foliar es normal encontrar cantidades entre 25 y 150  $\text{mg.kg}^{-1}$  Zn y puede ser tóxico a 300  $\text{mg.kg}^{-1}$  Zn, por lo que concuerda con los resultados de la presente investigación en el que no hubo un efecto inhibitor de la longitud del germinado, pero sí en el porcentaje de germinación que también podría haber sido afectado por diversos factores Baczek et al. (2020). En el presente estudio no se evidenció inhibición del crecimiento de los germinados de alfalfa a un mayor nivel de exposición a zinc, esto pudo deberse a que la acumulación de zinc no fue elevada como en los estudios ya descritos

El peso seco de los germinados de alfalfa no presentó diferencias significativas lo que concuerda con el estudio realizado por Di Gioia et al. (2019), en el que se probó niveles de 0 a 20  $\mu\text{g. ml}^{-1}$  de zinc, con diferentes semillas, no hubo diferencias significativas en la materia seca acumulada, lo que sugiere que la materia seca no se ve afectada por la acumulación de zinc.

El rendimiento biológico de los germinados de alfalfa fue similar entre tratamientos, datos que concuerdan con los obtenidos por Zou et al. (2014), donde el rendimiento de germinados de soya expuestos a niveles de 0, 10, 20  $\mu\text{g. ml}^{-1}$  no presentó diferencias significativas y sus rendimientos fueron mayores a 600%. Sin embargo, con niveles de exposición mayores a 30  $\mu\text{g. ml}^{-1}$  el rendimiento biológico presentó reducciones significativas entre 16 y 25% hasta el nivel de exposición más alto de la investigación (100  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ ) y se determinó que a

niveles de exposición superiores a  $30 \mu\text{g. ml}^{-1}$  puede inhibir el rendimiento de la producción de germinados y se relaciona con la cantidad de semillas sembradas y el peso fresco obtenido después de la germinación.

El contenido de zinc fue más bajo que el obtenido por Zou et al. (2014), la acumulación de zinc fue hasta de 659, 37 % superior con un nivel de exposición de  $40 \mu\text{g. ml}^{-1}$  y hasta 1134,37% más con un nivel de exposición de  $100 \mu\text{g. ml}^{-1}$  en germinados de soja. Esto pudo deberse a que para el estudio se utilizó semillas de soja que tienen un tamaño mucho más grande que las semillas de alfalfa utilizadas en la presente investigación, indicando las semillas de mayor tamaño tienen más capacidad de almacenamiento pudiendo acumular más cantidad de minerales, además las concentraciones utilizadas para el estudio fueron entre 0 a  $100 \mu\text{g. ml}^{-1}$  en intervalos de 10, por lo que se obtiene una mejor precisión del comportamiento de los germinados biofortificados. De la misma manera Jribi et al. (2019) reportó un aumento significativo de 247,3% en el contenido de zinc en brotes de trigo sometidos a niveles de exposición entre 7 y  $120 \mu\text{g. ml}^{-1}$ . También Lingyun et al. (2016), reportó que semillas de guisantes remojados en soluciones de 0 hasta  $60 \mu\text{g. ml}^{-1}$  en intervalos de 10 puede mejorar la calidad nutricional de los brotes de guisantes. Mientras mayor fue el nivel de exposición en el remojo, mayor fue el contenido de zinc residual logrando acumular hasta 357 veces más zinc que el tratamiento control alcanzando una acumulación de hasta  $168,56 \text{ mg kg}^{-1}$  mediante el remojo. La acumulación de zinc en los germinados varía según el tipo y el tamaño de la semilla como se mostró en un estudio realizado por Baczek et al. (2020), en el que se expuso semillas de girasol, brócoli y guisantes a 4 niveles de zinc (0, 10, 20,  $30 \mu\text{g. ml}^{-1}$ ) y se obtuvo un aumento del 19%, 2420% y 325% de aumento en el contenido de zinc. La baja acumulación de zinc en las semillas de girasol fue causada por su cubierta externa que es más gruesa que las demás

semillas, mientras que semillas de brócoli acumuló mayor cantidad de zinc, pero se demostró que una acumulación alta de zinc causaba un efecto inhibitor en los germinados. Se puede afirmar que existe una respuesta positiva a la fortificación con zinc mediante el remojo en los germinados de alfalfa y otras especies.

El contenido de ácido fítico en los germinados de alfalfa no varió entre los tratamientos y se obtuvo valores semejantes a los obtenidos por (Campbell et al., 1991) en donde se investigó la cantidad de ácido fítico en germinados de alfalfa en diferentes tiempos de germinación donde como resultado se obtuvo hasta  $0,39 \text{ mg.gr}^{-1}$  de muestra seca al tercer día de germinación y se determinó que el ácido fítico disminuye en el proceso de germinación. Otra investigación realizada por Wei et al. (2012), demostró que semillas germinadas de arroz germinadas con 0 y  $100 \mu\text{g. ml}^{-1}$  no presentaron diferencias significativas en el contenido de ácido fítico, pero sí entre semillas sin germinar y semillas germinadas que significó una reducción del 26 % del contenido de ácido fítico. En la presente investigación no se evidenció una variación del contenido de ácido fítico lo que puede deberse a que la cantidad de ácido fítico no aumenta o disminuye por la exposición al zinc, sino que está condicionada a otros factores, como la cantidad de fósforo acumulada en las semillas, procesamiento, factores ambientales y factores genéticos (Domínguez et al., 2002).

La relación molar promedio de ácido fítico AF:Zn en germinados de alfalfa fue mucho menor a la obtenida por Wei et al. (2012), en semillas sin germinar, germinadas y germinadas con zinc donde se reportó que las semillas de arroz sin germinar presentaron una alta relación molar AF:Zn de 48,6, sin embargo después de la germinación esta relación disminuyó hasta 35,5, es decir un 27 % y en semillas germinadas expuestas a  $100 \text{ mg.L}^{-1}$  de sulfato de zinc, disminuyó considerablemente la relación molar AF:Zn a 12,4 lo que significó una

reducción de 75 % respecto a las semillas sin germinar, con lo que se puede deducir que el aumento de la cantidad de zinc mediante la fortificación disminuye la relación AF:Zn aumentando la biodisponibilidad del zinc, significando que tan solo el proceso de germinación puede disminuir la cantidad de ácido fítico aumentando la biodisponibilidad de minerales como el zinc.

No hubo un efecto significativo en la calificación promedio evaluada para determinar si la fortificación con zinc afecta el sabor, respecto al amargor, de germinados de alfalfa, es decir, el sabor de los germinados fue similar y no hubo alteración de la propiedad organoléptica en este caso, siendo positivo para la fortificación ya que se puede aplicar diferentes concentraciones de zinc para obtener germinados fortificados sin que afecte sus propiedades organolépticas a nivel de sabor hasta el nivel de exposición más alto de  $40 \mu\text{g. ml}^{-1}$  evaluado en la presente investigación. Este resultado puede deberse a que, pequeñas dosis de sulfato de zinc heptahidratado no altera el sabor de los alimentos fortificados con este compuesto (Boccio & Monteiro, 2004).

## Capítulo V

### Conclusiones y recomendaciones

#### Conclusiones

Se evaluó el efecto de diferentes niveles de exposición con zinc (0, 10, 20, 30, 40  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ ) con lo cual se logró influenciar sobre el contenido de zinc y parámetros de germinación, logrando fijar mayor cantidad de zinc con el nivel de exposición más alto de este estudio (40  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ ) respecto a los germinados que no fueron tratados, como consecuencia se obtuvo un alimento con potencial uso para la fortificación y el consumo humano.

Al evaluar el contenido de zinc, se consiguió obtener una fijación de 78,80  $\text{mg.Kg}^{-1}$  de zinc con T5 (40  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ ) es decir, hasta 317 % más, respecto a T0 (0  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ ). Además, el contenido de ácido fítico fue similar entre tratamientos con una concentración de hasta 0,28  $\text{mg. g}^{-1}$  con T5 (40  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ ) y una relación molar AF:Zn menor a 5 en todos los tratamientos, por lo cual se obtendría una biodisponibilidad del zinc superior a 50% .

Se evaluó el efecto de diferentes niveles de exposición con zinc sobre los parámetros de crecimiento y se evidenció que la fijación de zinc en el tejido vegetal comestible, además de no afectar significativamente el porcentaje de germinación, también promovió el crecimiento de los germinados de alfalfa. La longitud promedio fue mayor en T5 (40  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ ) con 3,99 cm de longitud, siendo 1,04 cm superior a la longitud promedio obtenida con T0 (0  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ ). El peso seco fue similar en todos los tratamientos por lo que el rendimiento biológico tampoco se vio afectado obteniendo hasta 528% de rendimiento en el producto terminado a los 5 días de germinación con T5 (40  $\mu\text{g. ml}^{-1}$ ).

Se evaluó la propiedad sensorial a nivel sabor en germinados de alfalfa luego de ser tratados con diferentes concentraciones de zinc, lo cual no presentó diferencias entre

tratamientos, por lo que se obtendría un producto fortificado sin alterar su sabor para los consumidores.

Para este estudio las dosis probadas de zinc no afectaron significativamente los parámetros de germinación, por lo cual no se logró obtener una dosis óptima que permita la fijación de zinc en el tejido vegetal comestible sin que cause un efecto tóxico en los germinados de alfalfa.

### **Recomendaciones**

Usar el método de fortificación agronómica por imbibición de las semillas con zinc ya que se logra fijar zinc sin afectar los parámetros de germinación ni su sabor.

Se recomienda utilizar la concentración más alta de zinc T5 ( $40 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) evaluada en este experimento, aplicando el tiempo de remojo recomendado por el proveedor de las semillas, que, en este caso, fue de 4 horas, debido a que presentó una mayor fijación de zinc.

Se recomienda evaluar el efecto de diferentes concentraciones de zinc usando distintos tipos y tamaños de semillas para evaluar la fijación de zinc y el grado de afectación en los parámetros de germinación.

Se recomienda probar otras fuentes de zinc sobre la fijación de zinc y parámetros de germinación en semillas de alfalfa u otras especies.

### Bibliografía

- Abulude, F. (2005). Effect Of Processing On Nutritional Composition, Phytate And Functional Properties Of Rice (*Oryza sativa* L) Flour. *Nigerian Food Journal*, 22.  
<https://doi.org/10.4314/nifoj.v22i1.33573>
- Allen, L., De Benoist, B., Dary, O., & Hurrell, R. (2017). Guías para la fortificación de alimentos con micronutrientes. Organización Mundial de la Salud. 416.  
<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255541/9789243594019-spa.pdf;jsessionid=4CA11B3AEEB993DF79BBC9F8BFD49540?sequence=1>
- Apostol, L., Iorga, S., Mosoiu, C., Racovita, R. C., Niculae, O. M., & Vlasceanu, G. (2017). Alfalfa concentrate – a rich source of nutrients for use in food products. *International Scientific Publications*, 5, 66-73. <https://www.researchgate.net/publication/318495350>
- Arrieta, A. (2021). Importancia de los germinados para el consumo humano. 15-56.  
[https://repositorio.udes.edu.co/bitstream/001/5646/1/Importancia\\_de\\_los\\_Germinados\\_Para\\_el\\_Consumo\\_Humano.pdf](https://repositorio.udes.edu.co/bitstream/001/5646/1/Importancia_de_los_Germinados_Para_el_Consumo_Humano.pdf)
- Ayala, R. (2014). *Extracto de cáscara de granada como antimicrobiano y potenciador antioxidante en germinados de alfalfa*.  
<https://ciad.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1006/271/1/AYALA-SOTO-RE14.pdf>
- Aydinalp, C., & Marinova, S. (2009). The effects of heavy metals on seed germination and plant growth on alfalfa plant (*Medicago sativa*). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 15, 347-350.

- Baczek, R., Baran, A., Simlat, M., Lang, J., Bieniek, M., & Florek, B. (2020). Enrichment of different plant seeds with zinc and assessment of health risk of Zn-fortified sprouts consumption. *Agronomy*, *10*, 937. <https://doi.org/10.3390/agronomy10070937>
- Benincasa, P., Falcinelli, B., Lutts, S., Stagnari, F., & Galieni, A. (2019). Sprouted grains: A comprehensive review. *Nutrients*, *11*. <https://doi.org/10.3390/nu11020421>
- Boccio, J., & Monteiro, J. B. (2004). Fortificación de alimentos con hierro y zinc: pros y contras desde un punto de vista alimenticio y nutricional. *Revista de Nutrición*, *17*, 71-78. <https://doi.org/10.1590/s1415-52732004000100008>
- Borelli, F., Ramón, A., & de la Vega, S. (2007). Interacción calcio-fitato-cinc en yogures con cereales. *Revista Española de Nutrición Comunitaria*, *13*, 26-29.
- Campbell, M., Dunn, R., Ditterline, R., Pickett, S., & Raboy, V. (1991). Phytic acid represents 10 to 15% of total phosphorus in alfalfa root and crown. *Journal of Plant Nutrition*, *14*, 925-937. <https://doi.org/10.1080/01904169109364253>
- Campillo, R., Urquiaga, S., Pino, I., & Montenegro, A. (2003). Estimación de la fijación biológica de nitrógeno en leguminosas forrajeras mediante la metodología del 15N. *Agricultura Técnica*, *63*, 169-179. <https://doi.org/10.4067/S0365-28072003000200006>
- Chaparro, D., Porrilla, Y., & Elizalde, A. (2009). Factores antinutricionales en semillas. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, *7*, 45-54. <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v7n1/v7n1a07.pdf>
- Costas, M. (2012). *Brotos y Germinados, Sus beneficios y cómo hacerlos en casa*. <http://www.munistgo.info/medioambiente/wp-content/uploads/2019/09/GERMINADOS Y BROTES 2019.pdf>

- Dal Bosco, A., Castellini, C., Martino, M., Mattioli, S., Marconi, O., Sileoni, V., . . . Benincasa, P. (2015). The effect of dietary alfalfa and flax sprouts on rabbit meat antioxidant content, lipid oxidation and fatty acid composition. *Meat Science*, *106*, 31-37.  
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.03.021>
- Dal Bosco, A., Castellini, C., Martino, M., Mattioli, S., Marconi, O., Sileoni, V., . . . Benincasa, P. (2015). The effect of dietary alfalfa and flax sprouts on rabbit meat antioxidant content, lipid oxidation and fatty acid composition. *Meat Science*, *106*, 31-37.  
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.03.021>
- Di Gioia, F., Petropoulos, S. A., Ozores Hampton, M., & Morgan, K. (2019). Zinc and iron agronomic biofortification of Brassicaceae microgreens; Roskopf, Erin N. *Agronomy*, *9*.  
<https://doi.org/10.3390/agronomy9110677>
- Di Gioia, F., Renna, M., & Santamaria, P. (2017). Preservation Methods for Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables. (F. Yildiz, & R. Wiley, Edits.) *Food Engineering Series*, *2*, 187-237. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7018-6\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7018-6_6)
- Di Rienzo, J., Balzarini, M., Casanoves, F., González, L., Tablada, M., & Robledo, C. (2020). *InfoStat: software estadístico*. <https://www.infostat.com.ar/>
- Díaz, A. d. (2020). Factores implicados en la Calidad del forraje de Alfalfa: *Medicago sativa*. 161-170.  
<https://repositorioinstitucional.buap.mx/bitstream/handle/20.500.12371/11222/20201204135237-7693-T.pdf?sequence=1>
- Domínguez, B. M., Gómez, M. V., & León, F. R. (2002). Ácido fítico: Aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, *52*, 219-231.

[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222002000300001&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222002000300001&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

Doria, J. (1979). Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales*, 31.

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362010000100011](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362010000100011)

Flórez, D. F. (2015). La alfalfa (*Medicago sativa*): origen, manejo y producción. *Conexagro*, 5, 27-43.

<https://doi.org/https://www.jdc.edu.co/revistas/index.php/conexagro/issue/view/52>

Galieni, A., Falcinelli, B., Stagnari, F., Datti, A., & Benincasa, P. (2020). Sprouts and microgreens: Trends, opportunities, and horizons for novel research. *Agronomy*, 10.

<https://doi.org/10.3390/agronomy10091424>

Gan, R. Y., Lui, W. Y., Wu, K., Chan, C. L., Dai, S. H., Sui, Z. Q., & Corke, H. (2017). Bioactive compounds and bioactivities of germinated edible seeds and sprouts: An updated review. *Trends in Food Science and Technology*, 59, 1-14.

<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.11.010>

González, L., & Martínez, G. (2014). Aspectos fisiológicos, bioquímicos y expresión de genes en condiciones de déficit hídrico. Influencia en el proceso de germinación. 1.

<https://www.redalyc.org/pdf/1932/193232155003.pdf>

Google Earth. (2021). [https://earth.google.com/web/search/IASA+/@-0.38482002,-78.4149512,2713.55744398a,127.48618341d,35y,40.4626543h,44.95922402t,0r/data=CigijgokCfCQn36PCdS\\_EQPXitT\\_AdW\\_GWBDOugmm1PAIbekXodcnVPA](https://earth.google.com/web/search/IASA+/@-0.38482002,-78.4149512,2713.55744398a,127.48618341d,35y,40.4626543h,44.95922402t,0r/data=CigijgokCfCQn36PCdS_EQPXitT_AdW_GWBDOugmm1PAIbekXodcnVPA)

Gutiérrez, O. (2002). *La producción de semillas*.

<https://repositorio.una.edu.ni/2802/1/nf03g633.pdf>

Intriago, L. E. (2021). Efecto de semillas con Zn sobre la germinación y vigor de maíz dulce (*Zea mays* L.) var. Bandit. 32.

<http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/26766/1/T-IASA I-004407.pdf>

Jribi, S., Molnàr, H., Antal, O. T., Adányi, N., Kheriji, O., Naàr, Z., & Debbabi, H. (2019). Zinc fortification as a tool for improving sprout hygienic and nutritional quality: a factorial design approach. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *99*, 5187-5194.

<https://doi.org/10.1002/jsfa.9765>

Keshri, J., Krouptiski, Y., Abu Fani, L., Achmon, Y., Bauer, T. S., Zarka, O., . . . Sela Saldinger, S. (2019). Dynamics of bacterial communities in alfalfa and mung bean sprouts during refrigerated conditions. *Food Microbiology*, *84*.

<https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103261>

Kumar, S., & Pandey, G. (2020). Biofortification of pulses and legumes to enhance nutrition.

*Heliyon*, *6*, 4-9. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03682>

Lingyun, Y., Jian, W., Chenggang, W., Shan, L., & Shidong, Z. (2016). Effect of Zinc Enrichment on Growth and Nutritional Quality in Pea Sprouts. *Journal of Food and Nutrition Research*, *4*, 100-107. <https://doi.org/10.12691/jfnr-4-2-6>

Lopez, H. W., Leenhardt, F., Coudray, C., & Remesy, C. (2002). Minerals and phytic acid interactions: Is it a real problem for human nutrition? *International Journal of Food Science and Technology*, *37*, 727-739. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2002.00618.x>

- López, J., Torres, N., Saldivar, R., Reyes, I., & Argüello, B. (2016). Técnicas para evaluar germinación, vigor y calidad Fisiológica de Semillas sometidas a dosis de nanopartículas. *Centro de Investigación en química Aplicada (CIBQ)*, 129-140.  
<https://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1025/334/1/T%C3%A9cnicas%20Para%20Evaluar%20Germinaci%C3%B3n%20Vigor%20y%20Calidad%20Fisiol%C3%B3gica%20de%20Semillas%20Sometidas%20a%20Dosis%20de%20Nanopart%C3%ADculas.pdf>
- Maret, W., & Sandstead, H. H. (2006). Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 20, 3-18.  
<https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2006.01.006>
- Martínez, B., Ibáñez Gómez, V., & Rincón León, F. (2002). Acido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 52, 219-231.  
[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222002000300001&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222002000300001&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Matos, A., Garland, J., & Fett, W. (2002). Composition and Physiological Pro ling of Sprout-Associated Microbial Communities. 65, 1903-1908.  
[http://meridian.allenpress.com/jfp/article-pdf/65/12/1903/1674942/0362-028x-65\\_12\\_1903.pdf](http://meridian.allenpress.com/jfp/article-pdf/65/12/1903/1674942/0362-028x-65_12_1903.pdf)
- Mattioli, S., Dal Bosco, A., Castellini, C., Falcinelli, B., Sileoni, V., Marconi, O., . . . Benincasa, P. (2019). Effect of heat- and freeze-drying treatments on phytochemical content and fatty acid profile of alfalfa and flax sprouts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99, 4029-4035. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9630>

- Michaud, R., Lehman, W., & Rumbaugh, M. (1988). World distribution and historical development. *Agronomy Monograph*, 29.
- Morales, A., De la Cruz, L., Osorio, R., Sánchez, E., Montemayor, A., & Márquez, C. (2015). Contenido mineral y rendimiento de germinados de frijol caupí biofortificados. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*(17), 381-389.
- Morales, A., De la Cruz, L., Osorio, R., Sánchez, E., Montemayor, A., & Márquez, C. (2015). Contenido mineral y rendimiento de germinados de frijol caupí biofortificados. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 2, 381-389.  
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263149506003>
- Mubarak, A. E. (2005). Nutritional composition and antinutritional factors of mung bean seeds (*Phaseolus aureus*) as affected by some home traditional processes. *Food Chemistry*, 89, 489-495. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.007>
- Nonogaki, H., Bassel, G. W., & Bewley, J. D. (2010). Germination-still a mystery. *Plant Science*, 179, 574-581. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.02.010>
- Ohanenye, I. C., Emenike, C. U., Mensi, A., Medina, S., Jin, J., Ahmed, T., . . . Udenigwe, C. C. (2021). Food fortification technologies: Influence on iron, zinc and vitamin A bioavailability and potential implications on micronutrient deficiency in sub-Saharan Africa. *Scientific African*, 11, 2-8. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00667>
- Pająk, P., Socha, R., Gałkowska, D., Rożnowski, J., & Fortuna, T. (2014). Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. *Food Chemistry*, 143, 300-306.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.064>
- Putnam, D. H., & Orloff, S. B. (2014). Forage Crops. *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*, 381-405. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52512-3.00142-X>

- Raboy, V., Young, K. A., Dorsch, J. A., & Cook, A. (2001). Genetics and breeding of seed phosphorus and phytic acid. *Journal of Plant Physiology*, *158*, 489-497.  
<https://doi.org/10.1078/0176-1617-00361>
- Rubio, C., González Weller, D., Martín Izquierdo, R. E., Revert, C., Rodríguez, I., & Hardisson, A. (2007). El zinc: Oligoelemento esencial. *Nutrición Hospitalaria*, *2*, 101-107.  
<https://doi.org/10.23853/bsehm.2001.0510>
- Sánchez, J. (2021). *Partes de la semilla y sus funciones*. <https://www.ecologiaverde.com/partes-de-la-semilla-y-sus-funciones-1973.html>
- Sánchez, M. (2011). Estudio de la acción fuertemente quelante del ácido fítico como factor antinutricional en granos andinos y su incidencia en la baja biodisponibilidad de minerales. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/1900/1/BQ%2024.pdf>
- Sangronis, E., & Machado, C. J. (2007). Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* and *Cajanus cajan*. *LWT - Food Science and Technology*, *40*, 116-120.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.08.003>
- Singh, U., Praharaj, C. S., Singh, S. S., & Singh, N. P. (2016). Biofortification of food crops. *Biofortification of Food Crops*, 1-490. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2716-8>
- Suárez, D., & Malgarejo, L. (2010). Biología y germinación de semillas.  
[https://www.researchgate.net/publication/258627099\\_BIOLOGIA\\_Y\\_GERMINACION\\_DE\\_SEMILLAS](https://www.researchgate.net/publication/258627099_BIOLOGIA_Y_GERMINACION_DE_SEMILLAS)
- Torres, A., Cova, A., & Valera, D. (2018). Effect of the germination process of *Cajanus cajan* grains on nutritional composition, fatty acids, antioxidants and mineral bioaccessibility. *Revista Chilena de Nutrición*, *45*, 323-330. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182018000500323>

- USDA. (2019). *Central de datos de alimentos*. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/168384/nutrients>
- Vázquez, M. (2020). *Germinados, fuente viva de alimentación*.  
<https://www.excelenciasgourmet.com/es/salud/germinados-fuente-viva-de-alimentacion>
- Wei, Y., Shohag, M. J., & Wang, Y. (2012). Effect of zinc sulfate fortification in germinated brown rice on seed zinc concentration, bioavailability, and seed germination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 1871-1879. <https://doi.org/10.1021/jf205025b>
- Wu, Z., Song, L., Feng, S., Liu, Y., He, G., Yioe, Y., . . . Huang, D. (2012). Germination dramatically increases isoflavonoid content and diversity in chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 8606-8615.  
<https://doi.org/10.1021/jf3021514>
- Zou, T., Xu, N., Hu, G., Pang, J., & Xu, H. (2014). Biofortification of soybean sprouts with zinc and bioaccessibility of zinc in the sprouts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 3053-3060. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6658>

Enlace:

<https://drive.google.com/drive/folders/14Bquc3Wj0wdBahXK2TcsstngFAq0Yy3v?usp=sharing>