

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Escuela de Posgrado

**MAESTRÍA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN GESTIÓN AMBIENTAL
Y DESARROLLO SOSTENIBLE**

**IMPACTO DE ESTRATEGIAS DE BIOFORTIFICACIÓN EN LA
BIOACCESIBILIDAD DEL SELENIO EN FLÓSCULOS DE
BRÓCOLI: UN ENFOQUE PARA EL DESARROLLO
SOSTENIBLE EN LAVRAS - BRASIL, 2024**

TESIS

PRESENTADA POR:

ANYELA PIERINA VEGA QUISPE

Para optar el Grado Académico de:

**MAESTRO EN CIENCIAS (*MAGISTER SCIENTIAE*) CON MENCIÓN
EN GESTIÓN AMBIENTAL Y DESARROLLO SOSTENIBLE**

TACNA – PERÚ

2025

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Escuela de Posgrado

**MAESTRÍA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN GESTIÓN AMBIENTAL Y
DESARROLLO SOSTENIBLE**

**IMPACTO DE ESTRATEGIAS DE BIOFORTIFICACIÓN EN LA
BIOACCESIBILIDAD DEL SELENIO EN FLÓSCULOS DE BRÓCOLI: UN
ENFOQUE PARA EL DESARROLLO SOSTENIBLE EN LAVRAS - BRASIL,
2024**

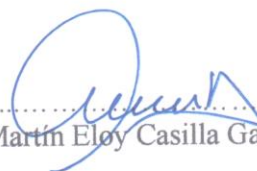
Tesis sustentada y aprobada el 19 de marzo del 2025; estando el jurado calificador integrado por:

PRESIDENTE



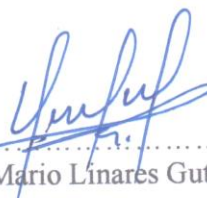
.....
Dr. Carlos Francisco Tito Vargas

SECRETARIO



.....
Dr. Martín Eloy Casilla García

MIEMBRO



.....
Dr. Nataniel Mario Linares Gutiérrez

ASESOR



.....
Dr. Nataniel Mario Linares Gutiérrez

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, Dr. Nataniel Mario Linares Gutiérrez, en mi condición de asesor acreditado con Resolución de Escuela de Posgrado N° 14886-2024-ESPG/UNJBG del 29 de noviembre del 2024, del trabajo de tesis titulado: **"IMPACTO DE ESTRATEGIAS DE BIOFORTIFICACIÓN EN LA BIOACCESIBILIDAD DEL SELENIO EN FLÓSCULOS DE BRÓCOLI: UN ENFOQUE PARA EL DESARROLLO SOSTENIBLE EN LAVRAS - BRASIL, 2024"**, presentado por el Srta. Anyela Pierina Vega Quispe, para optar el Grado Académico de Maestro en Ciencias (*Magíster Scientiae*) con mención en Gestión Ambiental y Desarrollo Sostenible.

Habiendo cumplido con lo establecido en el reglamento de originalidad y de similitud de trabajo de investigación y producción intelectual, considerando que según la revisión, evaluación y análisis realizado a través del software de similitud textual TURNITIN, cuenta con el nivel de similitud permitido cuyo porcentaje es 2 %.

Por lo que CERTIFICO LA SIMILARIDAD de la tesis y está de acuerdo al nivel PERMITIDO, para continuar con los trámites correspondientes y para su publicación en el repositorio institucional.

Se emite el presente certificado a solicitud del interesado con fines de continuar con los trámites respectivos para la obtención del Grado Académico de Maestro en Ciencias (*Magíster Scientiae*) con mención en Gestión Ambiental y Desarrollo Sostenible.

Tacna, 7 de febrero de 2025

FIRMA ASESOR
Nombres y apellidos


.....
Dr. Nataniel Mario Linares Gutiérrez
DNI N° 00797389



FIRMA TESISTA
Nombres y apellidos


.....
Srta. Anyela Pierina Vega Quispe
DNI N° 72780641



DEDICATORIA

Primero, quiero dar gracias a Dios por darme la fortaleza y la perseverancia necesarias para completar esta maestría. Aunque el camino estuvo lleno de desafíos, cada uno de ellos me dejó lecciones valiosas que hoy me llenan de gratitud.

A mi madre, Edith Ynés Quispe Gallegos, le agradezco de todo corazón por su apoyo incondicional en cada paso de este viaje. Gracias por los valores que me has enseñado y por brindarme la oportunidad de recibir una educación de calidad. Sobre todo, gracias por ser un ejemplo constante de amor, esfuerzo y dedicación.

A mi hermano, Jorge Mora, le agradezco por estar siempre ahí, dándome palabras de ánimo cuando más las necesitaba y por confiar en mí aún en los momentos más difíciles. Tu fe en mí ha sido una fuente de fuerza.

A mi tío, Víctor Raymundo Quispe, quien ha sido como un padre para mí, le doy gracias por su apoyo continuo, sus sabios consejos y por estar siempre dispuesto a ayudarme en todo lo que necesitaba.

Y a mis queridos amigos Diana, Roxana, Ali, Yhan Carlos y Keila, gracias por su amistad y por el respaldo constante. Su apoyo me ha dado la energía para seguir adelante, incluso cuando sentía que no podía más.

AGRADECIMIENTO

Agradezco al Departamento de Ciencias del Suelo de la Universidad Federal de Lavras por brindarme las instalaciones y los equipos necesarios para llevar a cabo esta investigación de manera exitosa.

Mi agradecimiento al Dr. Luiz Roberto Guimarães Guilherme, quien no solo me brindó su apoyo en la dirección de este proyecto, sino que también facilitó el financiamiento que hizo posible su realización.

A mis colegas del laboratorio, les agradezco por su constante orientación y apoyo. Un agradecimiento especial a Everton Geraldo de Moraes, quien me guió con paciencia y dedicación durante todo el desarrollo de este trabajo. También quiero expresar mi gratitud al Dr. Pedro Antonio Namorato Benevenuto, al Dr. Leônidas Canuto dos Santos y a todos aquellos que, de alguna forma, contribuyeron con su conocimiento y apoyo a la realización de este estudio.

Mi más sincero agradecimiento al Dr. Eduardo Valerio de Barros Vilas Boas por permitirme acceder a las instalaciones del Departamento de Alimentos de la Universidad Federal de Lavras, y a Gilson Gustavo Lucinda Machado, doctorando del Departamento de Alimentos, por su colaboración en el posprocesamiento de los brócolis, la cual fue de gran ayuda para el avance de mi trabajo.

Finalmente, agradezco al Dr. Nataniel Mario Linares Gutiérrez por su ayuda en la revisión del plan de trabajo y el informe final de esta tesis, aportando valiosos comentarios que contribuyeron significativamente a la mejora de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xii
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.1. Descripción de la Realidad Problemática	3
1.2. Formulación del Problema	5
1.2.1. Problema Principal.....	5
1.2.2. Problemas Específicos	5
1.3. Justificación en Importancia de la Investigación	5
1.4. Objetivos.....	7
1.4.1. Objetivo general.....	7
1.4.2. Objetivos Específicos	7
1.5. Hipótesis.....	8
1.5.1. Hipótesis general.....	8
1.5.2. Hipótesis específicas.....	8
1.6. Variables.....	8
1.6.1. Identificación de las variables.....	8
1.6.1.1. Definición conceptual de la variable independiente	8
1.6.1.2. Definición operacional de la variable independiente.....	9
1.6.1.3. Definición conceptual de la variable dependiente	9

1.6.1.4. Definición operacional de la variable dependiente.....	9
1.6.2. Operacionalización de las variables.....	10
1.7. Limitaciones de la investigación.....	10
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	12
2.1. Antecedentes del estudio.....	12
2.2. Bases Teóricas	14
2.2.1. El Selenio	14
2.2.2. Aplicación del selenio por el suelo o vía foliar.....	15
2.2.2.1. Aplicación Se en el suelo	15
2.2.2.2. Aplicación del Selenio vía foliar.....	17
2.2.3. Selenio en las plantas	18
2.2.4. Efectos del Se relacionados con la salud	18
2.3. Definición de Términos	19
CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO	21
3.1. Tipo, nivel y diseño de la investigación.....	21
3.2. Población y Muestra.....	22
3.2.1. Población.....	22
3.2.2. Muestra.....	22
3.2.3. Ámbito de estudio	23
3.2.4. Acciones y actividades para la ejecución del proyecto.....	24
3.2.4.1. Condiciones experimentales y tratamientos	24
3.2.4.2. Se, Zn, Mg, S total	28
3.2.4.3. Se, Zn, Mg, S bioaccesible	28

3.2.4.4. Materiales e instrumentos	30
3.2.5. Tratamiento de datos	30
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	31
4.1. Resultados de la investigación	31
4.1.1. Influencia del posprocesamiento en el contenido de Se bioaccesible y residual en los floretes de brócoli	31
4.1.2. Influencia del posprocesamiento en el porcentaje bioaccesible de Se (fase oral, gástrica e intestinal) en los floretes de brócoli.....	34
4.1.3. Estimación del consumo de Se, Zn, Mg y S al ingerir brócoli biofortificado con diferentes fuentes de Se y procesamiento.	39
4.1.4. Test de supuestos y ANOVA	42
DISCUSIONES.....	46
CONCLUSIONES.....	50
RECOMENDACIONES.....	51
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
ANEXOS.....	60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Propiedades fisicoquímicas del suelo utilizado en el experimento.....	25
Tabla 2	Descripción de los tratamientos (Ti) del experimento en invernadero.	27
Tabla 3	Materiales e instrumentos	30
Tabla 4	Estimación de cantidad de nutrientes ingeridos (Zn, Mg y S).....	40
Tabla 5	Aporte de nutrientes (Se, Zn, Mg y S) con diferentes fuentes de Se	41
Tabla 6	Supuestos (hipótesis) para Selenio.....	44
Tabla 7	ANOVA para Selenio	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Existencia de Selenio y toxicidad en el mundo	15
Figura 2	Diagrama pE-pH de la especiación química del Selenio	16
Figura 3	Transporte de Selenio.....	17
Figura 4	Ubicación del Estudio	24
Figura 5	Contenido de Se, Zn, Mg, S bioaccesible residual	33
Figura 6	Porcentajes de bioaccesibilidad por fase y residual de los floretes de brócoli	38
Figura 7	Crecimiento de Brócolis del cultivar avenger en invernadero.....	61
Figura 8	Cabezas de brócolis antes de la cosecha	61
Figura 9	Producción de brócolis con Se.....	62

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar el impacto de estrategias de biofortificación en la bioaccesibilidad del selenio en floretes de brócoli, con un enfoque en el desarrollo sostenible en Brasil. El selenio (Se) es un micronutriente esencial para la salud humana, y su deficiencia es un problema significativo en diversas poblaciones debido a una ingesta dietética insuficiente. Este estudio se llevó a cabo en Brasil y se centró en la aplicación de tres fuentes de selenio: selenato de sodio (Na_2SeO_4), selenio orgánico (Seorg) y un fertilizante de selenio multinutriente (SeMNF). Se evaluó el contenido total y bioaccesible de selenio, además zinc (Zn), magnesio (Mg) y azufre (S) en brócoli crudo y cocido, utilizando un ensayo de bioaccesibilidad *in vitro* que simula las fases del sistema gastrointestinal humano. Se diseñó un experimento con un total de 24 pruebas experimentales, distribuidas en un sistema de parcelas subdivididas que consideró dos estrategias de postratamiento y tres fuentes de selenio. Los resultados mostraron que el contenido total de selenio en brócoli crudo fue de $15,03 \text{ mg Se kg}^{-1}$, con una bioaccesibilidad del 39,18 %. Tras el posprocesamiento, el contenido total se redujo a $12,03 \text{ mg Se kg}^{-1}$ y la bioaccesibilidad a 35,43 %, lo que indica una disminución del 27,52 % en la bioaccesibilidad. Sin embargo, la cocción aumentó la bioaccesibilidad en la fase intestinal en un 54 % en comparación con el brócoli crudo. En cuanto a los otros nutrientes, el cinc presentó una bioaccesibilidad del 54 % en crudo y del 49 % en cocido, mientras que el magnesio mostró valores de 63 % y 64 %, respectivamente, y el azufre tuvo un 57 % en crudo y un 43 % en cocido. Se concluyó que para alcanzar un consumo adecuado de $70 \text{ } \mu\text{g Se día}^{-1}$, se recomienda un consumo de 79,27 g de brócoli crudo o 109,36 g de brócoli cocido de la fuente SeMNF. Este estudio resalta la importancia de la biofortificación como una estrategia viable para mejorar la ingesta de selenio y otros nutrientes esenciales, contribuyendo así a la salud pública y al desarrollo sostenible en Brasil.

Palabras clave: selenio, biofortificación, brócoli, bioaccesibilidad, desarrollo sostenible, Brasil.

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the impact of biofortification strategies on the bioaccessibility of selenium in broccoli florets, with a focus on sustainable development in Brazil. Selenium (Se) is an essential micronutrient for human health, and its deficiency is a significant problem in several populations due to insufficient dietary intake. This study was conducted in Brazil and focused on the application of three sources of selenium: sodium selenate (Na_2SeO_4), organic selenium (Se_{org}) and a multi-nutrient selenium fertilizer (SeMNF). The total and bioaccessible contents of selenium, zinc (Zn), magnesium (Mg) and sulphur (S) in raw and cooked broccoli were evaluated using an in vitro bio accessibility assay that simulates the phases of the human gastrointestinal system. An experiment was designed with a total of 24 experimental trials, distributed in a subdivided plot system considering two post-treatment strategies and three selenium sources. The results showed that the total selenium content in raw broccoli was $15,03 \text{ mg Se kg}^{-1}$, with a bio accessibility of 39,18 %. After post-processing, the total content was reduced to $12,03 \text{ mg Se kg}^{-1}$ and bio accessibility to 35,43 %, indicating a 27,52 % decrease in bio accessibility. However, cooking increased bio accessibility in the intestinal phase by 54 % compared to raw broccoli. For the other nutrients, zinc showed a bio accessibility of 54 % in raw and 49 % in cooked, while magnesium showed values of 63 % and 64 %, respectively, and sulphur had 57 % in raw and 43 % in cooked. It was concluded that to achieve an adequate intake of $70 \mu\text{g Se day}^{-1}$, a consumption of 79,27 g raw broccoli or 109,36 g cooked broccoli from the SeMNF source is recommended. This study highlights the importance of biofortification as a viable strategy to improve the intake of selenium and other essential nutrients, thus contributing to public health and sustainable development in Brazil.

Keywords: selenium, biofortification, broccoli, bio accessibility, sustainable development, Brazil

INTRODUCCIÓN

El selenio (Se) es un micronutriente esencial para la salud humana, desempeñando un papel crucial en diversas funciones biológicas, especialmente en la función antioxidante del organismo. Este elemento es un componente fundamental de la enzima glutatión peroxidasa, que protege las células del daño oxidativo y contribuye a la regulación del sistema inmunológico (El-Ramady et al., 2020). A pesar de su importancia, la deficiencia de selenio es un problema de salud pública que afecta a millones de personas en todo el mundo, particularmente en regiones donde la concentración de selenio en el suelo es baja. La insuficiencia de este micronutriente se ha asociado con un mayor riesgo de enfermedades graves, como el cáncer, la infertilidad y disfunciones tiroideas, lo que subraya la necesidad de garantizar un consumo adecuado de selenio en la población (Ebert, 2022).

Para abordar este desafío, la biofortificación con selenio ha emergido como una estrategia prometedora para incrementar los niveles de este nutriente en los alimentos. La biofortificación implica el uso de técnicas agronómicas para aumentar la concentración de selenio en cultivos comestibles, lo que puede contribuir a mejorar la ingesta de este micronutriente sin necesidad de suplementos adicionales (Gui et al., 2021). En este contexto, el brócoli, perteneciente a la familia de las brassicas, se destaca por su capacidad para acumular selenio debido a su alto potencial de absorción de compuestos de azufre, que pueden ser reemplazados parcialmente por selenio en compuestos como los selenoaminoácidos. Esta característica convierte al brócoli en un candidato ideal para la biofortificación, ofreciendo una vía potencial para mejorar la ingesta de selenio en la dieta (Aloo et al., 2021).

Sin embargo, más allá de la simple acumulación de selenio en las plantas, es fundamental comprender qué fracción de este nutriente se encuentra bioaccesible, es decir, aquella que el organismo puede absorber efectivamente. La bioaccesibilidad del selenio depende de múltiples factores, incluidos los métodos de cocción y la forma química del selenio utilizado para la biofortificación. Estudios recientes han demostrado

que la forma de selenio aplicada y las condiciones de procesamiento de los alimentos pueden influir significativamente en la fracción bioaccesible, lo que a su vez afecta la eficacia de la biofortificación (Liu, 2024; Skrypnik et al., 2019). Por lo tanto, es esencial investigar no solo la acumulación de selenio en el brócoli, sino también cómo estos factores impactan su disponibilidad para el organismo humano.

La creciente preocupación por la salud y la nutrición ha llevado a un interés renovado en los alimentos funcionales, como los microvegetales y los brotes, que son ricos en nutrientes y compuestos bioactivos (Reddy, 2024). El brócoli, en particular, es conocido por su alto contenido de glucosinolatos y antioxidantes, lo que lo convierte en un alimento funcional valioso (El-Ramady et al., 2020). La biofortificación de brócoli con selenio no solo podría aumentar su valor nutricional, sino también potenciar sus propiedades antioxidantes, lo que podría tener implicaciones significativas para la salud pública (Du, 2024). En este sentido, la investigación sobre la biofortificación de brócoli con selenio se presenta como una oportunidad para mejorar la calidad nutricional de los alimentos y contribuir a la prevención de enfermedades relacionadas con la deficiencia de este micronutriente.

En tal sentido, la biofortificación de brócoli con selenio representa una estrategia viable para abordar la deficiencia de selenio en la población. A medida que se avanza en la comprensión de los factores que afectan la bioaccesibilidad de este nutriente, se abrirán nuevas vías para optimizar la biofortificación y mejorar la salud pública a través de la alimentación. La presente investigación se centró en evaluar la fracción bioaccesible de selenio en los flósculos de brócoli y su relación con diferentes métodos de biofortificación, contribuyendo así al desarrollo de estrategias efectivas para mejorar la ingesta de selenio en la dieta humana.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la Realidad Problemática

La acumulación de selenio (Se) en las plantas depende de la concentración presente en el suelo (Bañuelos et al., 2016a). La baja disponibilidad natural de este elemento en el suelo conduce a una reducida acumulación de Se en la parte comestible de los cultivos (Galić et al., 2021a; Lopes et al., 2017). Además, que la concentración de Se varía considerablemente entre regiones y depende de la geología, textura, pH, condiciones redox, condiciones climáticas, materia orgánica y entre otros factores. Algunos países presentan bajas concentraciones de Se en el suelo, lo que lleva a una ingesta insuficiente de este elemento por la población (Bañuelos et al., 2016a).

Así también la acumulación de Se en las plantas está influenciada por factores como la especie vegetal y el estado de desarrollo de la planta (White, 2018). Siendo así que ciertas especies tienen una mayor predisposición a la acumulación de Se, en comparación a otras, como lo es el brócoli (Bouranis et al., 2023). Al pertenecer a la familia de las brassicas posee un elevado potencial para acumular Se, esto se debe a su alto potencial de acumulación de compuestos de azufre (Galić et al., 2021b). Debido a que el Se puede sustituir parcialmente al azufre en algunos compuestos como los selenoaminoácidos (selenocisteína y selenometionina y las selenoproteínas. Esto lo convierte en un buen candidato para la suplementación con Se (Bouranis et al., 2023).

El selenio es un micronutriente esencial para los seres humanos, recomendándose un consumo de entre 60-70 $\mu\text{g Se día}^{-1}$ en los adultos (Kipp et al., 2015). Sin embargo, al ser su ingesta en la dieta humana generalmente baja, aproximadamente mil millones de personas padecen de deficiencia (Dinh et al., 2018). El consumo prolongado de dietas carentes de este elemento puede llevar a problemas de salud pública, ya que su deficiencia está asociada con un mayor riesgo de cáncer, infertilidad en hombres y mujeres (Kuria et al., 2021). Así como el debilitamiento del sistema inmunológico y disfunciones de la

toroides. Además, el Se juega un rol importante de la enzima glutatión peroxidasa, que protegen a las células del daño oxidativo (Yang et al., 2022).

Frente a ello, últimamente se ha prestado un notable interés a la biofortificación con Se para aumentar los niveles de este elemento a través de la fertilización, para lograr una acumulación significativa en la parte comestible de la planta (Cipriano et al., 2022). Por lo que para evaluar si esta práctica fue exitosa, comúnmente se realiza el análisis del contenido total de Se del alimento biofortificado (Ari et al., 2022). Sin embargo, también es indispensable conocer la fracción bioaccesible, es decir, la parte del nutriente que es absorbida por el ser humano (Zeng et al., 2023). Para ello se puede utilizar el modelo *in vitro*, mediante el cual se simula la digestión gastrointestinal utilizando reactivos químicos para retratar las reacciones bioquímicas que pueden suceder en el organismo vivo. Este modelo permite tener un mejor control sobre los parámetros, menores costos, así como una alta precisión y exactitud (Moreda-Piñeiro et al., 2017).

La biofortificación mejora el valor nutricional de los alimentos, ofreciendo una solución sostenible para abordar la deficiencia de nutrientes en la dieta de la población, conocida como “hambre oculta” (Kumar Yadav et al., 2024). Además de incrementar su valor económico al desarrollar alimentos con mayores aportes nutricionales, lo que los posiciona como opciones más atractivas y competitivas en el mercado. En este contexto, la hipótesis de este estudio es que el uso de diferentes fuentes de Se utilizadas para la biofortificación agronómica influye en las fracciones bioaccesibles de este micronutriente, y que el procesamiento térmico del brócoli, a través de la cocción, promueve pérdidas significativas de Se, reduciendo la bioaccesibilidad en el sistema gastrointestinal humano. Por lo que, los objetivos de este estudio fueron: i) Definir la mejor fuente de Se con el fin de desarrollar floretes de brócoli biofortificados. ii) Evaluar cómo afectan las estrategias de posprocesado del brócoli en la bioaccesibilidad de Se. iii) Determinar en cuál de las fases: oral, gástrica o intestinal el Se es más bioaccesible.

1.2. Formulación del Problema

1.2.1. Problema Principal

¿Cuál será la bioaccesibilidad del de Se, S, Mg y Zn en flósculos de brócoli a través de la biofortificación agronómica con Selenio?

1.2.2. Problemas Específicos

- a) ¿Cuál será la mejor fuente de Se en el cultivo de brócoli con el fin de desarrollar flósculos de brócoli biofortificados?
- b) ¿Cómo afectan las estrategias de postprocesado del brócoli en la bioaccesibilidad de Se?
- c) ¿En cuál de las fases: oral, gástrica o intestinal el Se es más bioaccesible?

1.3. Justificación en Importancia de la Investigación

Justificación Social

La atención global al hambre y sus efectos en los medios de vida ha aumentado en las últimas décadas. El Objetivo de Desarrollo Sostenible No. 2 tiene como objetivo "Acabar con el hambre, lograr la seguridad alimentaria y mejorar la nutrición y promover la agricultura sostenible", mientras que la Cumbre de Sistemas Alimentarios de las Naciones Unidas de 2021 (UNFSSS) destacó la atención adicional sobre la necesidad de cambios en los sistemas alimentarios mundiales.

La alimentación es una necesidad básica, esencial e indispensable para el ser humano. Es a través de ella que el cuerpo puede absorber los innumerables nutrientes de los alimentos y así mantener su funcionalidad. La nutrición de la población mundial y las carencias de vitaminas y minerales se consideran un problema de salud pública y la dificultad de acceso a los alimentos repercute en la seguridad alimentaria de los pueblos. Según el informe de la ONU de 2021, alrededor del 12 % de la población mundial podría estar afectada por la inseguridad alimentaria, lo que equivale a 928 millones de personas.

Justificación Económica

Desde el punto de vista económico, la biofortificación trae múltiples beneficios, puesto que su implementación, especialmente en zonas con elevadas tasas de desnutrición y deficiencia de micronutrientes. Puesto que las carencias en el consumo repercuten tanto en la prosperidad económica como en la salud de la población. Esto puede deberse a la disminución de la productividad laboral y el aumento de los costos de atención médica. Así como a la disminución en el rendimiento escolar de los estudiantes, pudiendo reducir su coeficiente intelectual, lo cual tiene implicaciones en el desempeño escolar y futuro potencial de ingresos. De acuerdo al Banco Mundial, al invertir en la nutrición durante los primeros años de vida, puede generar un retorno económico de hasta 35 dólares por cada dólar invertido, debido a la mejora en la salud y la productividad futura de los individuos.

Además, que la biofortificación puede reducir el costo de salud a largo plazo, puesto que la malnutrición está asociada con numerosas enfermedades crónicas, lo que implica altos costos en la atención médica. Un informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que cada dólar invertido en mejorar la nutrición puede generar un retorno de hasta 16 dólares en términos de ahorro en salud y aumento de la productividad económica.

Importancia de la investigación

Mediante la biofortificación se pretende abordar la malnutrición a nivel global, especialmente en regiones donde las deficiencias de micronutrientes son prevalentes. Buscando aumentar el contenido de vitaminas y minerales esenciales en los alimentos, mejorando la calidad nutricional de las dietas. Especialmente importante en países en desarrollo, donde la dieta básica se compone mayormente de cereales y legumbres, que con frecuencia carecen de ciertos nutrientes esenciales.

Una de las principales ventajas de la biofortificación es su sostenibilidad, ya que, a diferencia de la fortificación tradicional, la cual requiere la adición de nutrientes durante el procesamiento de los alimentos. Ya que a menudo estos programas de fortificación son

costosos y logísticamente complicados de implementar en áreas rurales y remotas. En cambio, la biofortificación brinda una solución a largo plazo. Siendo este más accesible para las poblaciones rurales que puedan no tener acceso regular a los alimentos procesados enriquecidos.

Además, la suplementación con Se tiene implicaciones económicas, ya que los cultivos biofortificados pueden ofrecer ventajas competitivas a los agricultores, al proporcionar productos no solo más nutritivos. Si no, también más resistentes a las enfermedades y condiciones ambientales adversas. Esto puede traer altos rendimientos, mejorando así los ingresos de los agricultores y puede contribuir al desarrollo económico rural.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General

Determinar la bioaccesibilidad de Se, S, Mg y Zn en flósculos de brócoli para mejorar la nutrición humana a través de la biofortificación agronómica y enfrentar la inseguridad alimentar.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Definir la mejor fuente de Se con el fin de desarrollar floretes de brócoli biofortificados.
- Evaluar cómo afectan la estrategia de posprocesado del brócoli en la bioaccesibilidad de Se.
- Determinar en cuál de las fases: oral, gástrica o intestinal el Se es más bioaccesible.

1.5. Hipótesis

1.5.1. Hipótesis General

La hipótesis del estudio es cómo la biofortificación con Se en brócoli y el posprocesamiento influyen la bioaccesibilidad en los flósculos.

1.5.2. Hipótesis específicas

La fuente de selenio utilizada en la fertilización del cultivo de brócoli influye significativamente en la acumulación de Se en los flósculos.

Las estrategias de posprocesado, afectan de manera significativa el contenido de Se en los flósculos de brócoli biofortificados.

La bioaccesibilidad del selenio será mayor en el intestino.

1.6. Variables

1.6.1. Identificación de las variables

VI: Independiente

Aplicación de Se en los flósculos de brócoli.

VD: Variable dependiente

Fracción bioaccesible de Se en cada una de las fases: oral, gástrica e intestinal.

1.6.1.1. Definición conceptual de la variable independiente

La aplicación de Se en los flósculos de brócoli se refiere al proceso mediante el cual se incorpora selenio en las estructuras vegetales del brócoli, específicamente en sus flósculos, con el objetivo de aumentar su contenido nutricional y funcional. El selenio es un oligoelemento esencial que desempeña un papel crucial en la salud humana, actuando

como un antioxidante y contribuyendo a la prevención de diversas enfermedades, incluyendo ciertos tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares (D'Amato et al., 2020). La biofortificación de cultivos como el brócoli con selenio se ha convertido en un enfoque importante para mejorar el perfil nutracéutico de los alimentos, lo que puede llevar a beneficios significativos para la salud pública (Gui et al., 2021).

1.6.1.2. Definición operacional de la variable independiente

La aplicación de Se en los flósculos de brócoli se operacionaliza mediante la administración de diferentes formas de selenio, como el selenito de sodio o levaduras ricas en selenio, a las plantas de brócoli durante su crecimiento. Se medirán las concentraciones de selenio en los flósculos utilizando técnicas analíticas como la espectrometría de masas o la espectroscopía de absorción atómica. La eficacia de la biofortificación se evaluó comparando los niveles de selenio en los flósculos tratados con selenio mediante un diseño cuasiexperimental (Zandani et al., 2021).

1.6.1.3. Definición conceptual de la variable dependiente

La fracción bioaccesible de Se, se define como la cantidad de selenio que se libera de los alimentos durante el proceso de digestión y que está disponible para ser absorbida por el organismo. Este concepto es crucial para entender cómo los nutrientes se metabolizan y se utilizan en el cuerpo humano. La bioaccesibilidad puede verse afectada por varios factores, incluyendo la forma química del selenio, la matriz alimentaria y las condiciones del tracto gastrointestinal (García & Raghavan, 2022). En el caso del brócoli, la bioaccesibilidad del selenio puede variar entre las diferentes fases de la digestión: oral, gástrica e intestinal, lo que implica que la forma en que se consume y se procesa el brócoli influye en la cantidad de selenio que finalmente se absorbe (Shi et al., 2019).

1.6.1.4. Definición operacional de la variable dependiente

La fracción bioaccesible de Se, se operacionaliza mediante un estudio de digestión *in vitro* que simula las condiciones del tracto gastrointestinal humano. Este proceso implica la incubación de los flósculos de brócoli tratados con selenio en un sistema que

imita las fases oral, gástrica e intestinal. Se medirán las concentraciones de selenio en cada una de estas fases utilizando técnicas analíticas adecuadas, como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o la espectrometría de masas, para determinar la cantidad de selenio que se libera y está disponible para la absorción (Bouranis et al., 2023).

Dado que, la investigación sobre la aplicación de selenio en los flósculos de brócoli y su fracción bioaccesible es fundamental para entender cómo la biofortificación puede mejorar la calidad nutricional de este vegetal y su potencial para contribuir a la salud humana. La correcta definición y operacionalización de estas variables permite establecer un marco claro para el estudio y la interpretación de los resultados, lo que es esencial para el avance en el campo de la nutrición y la salud pública.

1.6.2. Operacionalización de las variables

La operacionalización de las variables del presente trabajo fue:

La variable independiente fue: Aplicación de Se en los flósculos de brócoli

La dimensión de esa misma variable: Fuente de Se utilizada.

Indicador: Cantidad de selenio presente en el brócoli (mg/kg).

Variable dependiente: Fracción bioaccesible de Se en fase: oral, gástrica e intestinal

La dimensión fue: Concentración de Se bioaccesible

El indicador fue: Cantidad de Se disponible (mg Se/kg) tras la digestión simulada.

1.7. Limitaciones de la investigación

El estudio presentó algunas limitaciones que de un modo fueron consideradas al interpretar sus resultados. En primer lugar, la dependencia de proveedores específicos para la obtención de insumos necesarios para la biofortificación puede representar un

riesgo significativo para la ejecución oportuna del proyecto, ya que se retrasó en la entrega y afectó el cronograma de investigación. Además, aunque se han establecido la temperatura y el tiempo de cocción como constantes experimentales, es fundamental investigar su posible influencia en la bioaccesibilidad del selenio, dado que estos factores pueden de algún modo no muy significativo tener un impacto en la retención de nutrientes, aunque en general no se ha observado que alteren significativamente los resultados obtenidos. Estas limitaciones resaltan la necesidad de un enfoque más integral en futuros estudios que considere tanto la logística de adquisición de insumos como la variabilidad en los métodos de preparación de los alimentos.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

En un trabajo realizado por De Lima et al. (2023), determinaron las fracciones bioaccesibles de Se en granos de arroz biofortificados con especies inorgánicas de Se utilizando un método de extracción secuencial in vitro para simular la digestión humana. Las muestras y los extractos se sometieron a digestión ácida asistida por microondas, y los niveles de Se total/bioaccesible se determinaron mediante DRC-ICP-MS. Se logró una cuantificación precisa del Se mediante la calibración por ajuste de matriz. La biofortificación del arroz mediante aplicación foliar aumentó los niveles de Se en la fracción bioaccesible de forma más eficaz que las aplicaciones al suelo. El Se bioaccesible representó, por término medio, el 61 ± 5 % de los niveles totales. Del contenido total de Se en el arroz, el 44 ± 4 % se extrajo en el paso gástrico, que es donde se degrada la mayor parte del selenio bioaccesible unido a proteínas. El bioenriquecimiento con formas inorgánicas de Se aumenta eficazmente el contenido bioaccesible de este elemento en los alimentos. Aun así, la cantidad a aplicar debe corregirse en función de la fracción bioaccesible del nutriente en los granos de arroz.

Por otro lado, Delaqua et al. (2022), realizaron la evaluación de las fracciones de Se bioaccesibles y biodisponibles en granos de trigo biofortificados agronómicos (5, 10 y 20 g ha^{-1}). Para los experimentos de bioaccesibilidad, se utilizó la simulación in vitro de la digestión en las fases oral, gástrica e intestinal, mientras que la biodisponibilidad se evaluó utilizando un modelo celular con células Caco-2. La fracción bioaccesible de Se aumenta con el aumento de Se en los granos de trigo y representó, en promedio, 63,6–93,8 % de la fracción total. Sin embargo, los experimentos de biodisponibilidad mostraron que aproximadamente el 65 % del Se no es captado por las células y que solo alrededor del 19,6 % es absorbido por el cuerpo humano, para todas las dosis investigadas. Los resultados de este estudio muestran que el contenido nutricional de los alimentos

biofortificados debe tener en cuenta las fracciones absorbidas por el cuerpo y no sólo el contenido total.

En un trabajo realizado por Zeng et al. (2023), se obtuvieron 48 muestras de granos de arroz etiquetadas como enriquecidas con Se, de 22 importantes áreas productoras de arroz en China a través de fuentes en línea. Se evaluaron sus contenidos totales de Se, la especiación de Se y la bioaccesibilidad de Se para proporcionar una visión holística del arroz enriquecido con Se en el mercado. Los contenidos totales de Se fueron de 0,006 a 0,951 $\mu\text{g g}^{-1}$ (promedio 0,249 $\mu\text{g g}^{-1}$), que mostró grandes variaciones regionales, con un 73 % de las muestras que satisfacían el estándar enriquecido con Se basado en GB/T22499-2008 (0,04 – 0,30 mg kg^{-1}). Más del 80 % de Se en las muestras de arroz eran especies orgánicas de Se, incluyendo selenometionina, selenocisteína y metilselenocisteína, siendo la selenometionina la principal especie de Se, representando el 61–98 %. Con base en una prueba de extracción basada en la fisiología modificada (MPBET), la bioaccesibilidad del Se en 33 muestras seleccionadas fue del 8,05 – 49,6 % (28,6 %) en la fase gástrica y del 18,1–117 % (82,5 %) en la fase intestinal. Además, la bioaccesibilidad del Se, se correlacionó positivamente con Se orgánico ($r = 0,89\text{--}0,93$), pero no con Se inorgánico (selenio y selenato), lo que sugiere que la bioaccesibilidad del Se dependía del Se orgánico en estos granos de arroz.

Así también, Ghasemi et al. (2016) utilizaron un sistema hidropónico al aire libre para evaluar los efectos de la aplicación foliar de Se a las dosis de 0, 10, 50 y 100 $\mu\text{g Se mL}^{-1}$ quincenalmente. Entre los parámetros de rendimiento, el peso de la cabeza del brócoli se vio significativamente afectado. Las plantas de brócoli tratadas con Se produjeron cabezas más pesadas que el control; sin embargo, el peso de la cabeza entre las tres concentraciones de Se (Se_{10} , Se_{50} , Se_{100}) no fue significativamente diferente. Las diferentes concentraciones de Se no tuvieron efectos positivos ni negativos sobre la absorción de nitrógeno, fósforo y potasio. Sin embargo, el tratamiento con una concentración de 100 $\mu\text{g Se mL}^{-1}$ de Se contribuyó al mayor contenido de azufre en la cabeza de brócoli. El contenido de Se en la cabeza de brócoli aumentó con el incremento de las concentraciones de Se pulverizadas. La mayor concentración de Se (1,41 mg Se

kg⁻¹ de materia seca) en la cabeza de brócoli se registró en Se₁₀₀, que mostró una diferencia significativa en comparación con Se₀ y Se₁₀.

De igual manera, Poblaciones & Broadley (2022) evaluaron la eficacia de la aplicación foliar de Se en broccolini (una nueva variedad de cultivo híbrido derivada de un cruce entre col kalia y brécol), se ensayaron tres tratamientos: 0, 0,05 % o 0,10 % (p/v) de selenato sódico, aplicados en la fase de floración temprana. Los flósculos se recolectaron en cuatro cosechas secuenciales, mostrando que tanto el rendimiento como la composición nutricional eran mejores en las cosechas tempranas, produciendo menos flósculos, pero más pesados y ricos en nutrientes. Aunque no se observaron efectos globales sobre la biomasa, el aumento de las concentraciones totales de Se fue de más de 80 y 170 veces tanto en la raíz como en el brote, con 0,05 % y 0,10 % de Se, respectivamente, y de 270 y 600 veces en los ramilletes. Aunque el hervido provocó una pérdida de Se superior al 50 %, una ingesta de 100 g de peso fresco de brócoli hervido biofortificado con un tratamiento de 0,05 % de Se proporcionará ~590 µg de Se día⁻¹. Esta cantidad supera el límite superior tolerable de ingesta de Se. Por lo tanto, aunque el brécol es claramente un buen acumulador de Se con potencial para ser biofortificado con Se, sería necesario determinar tasas de aplicación más bajas para ser utilizado con fines de alimentación humana.

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. El Selenio

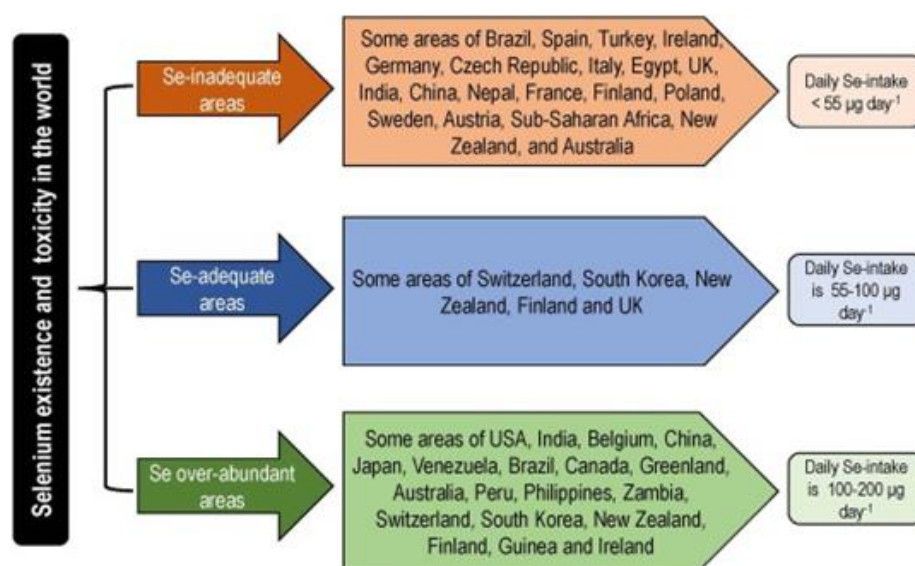
El Se aún no es considerado un elemento esencial en las plantas; sin embargo, es un micronutriente esencial para los seres humanos. Se realizan aplicaciones exógenas de este elemento, ya que naturalmente se encuentra en el suelo en bajas concentraciones (Bañuelos et al., 2016b). Por lo que, mediante la fertilización foliar, vía suelo o la imbibición de semillas, se puede enriquecer el cultivo de interés con Se (Astaneh et al., 2018).

El selenio y el S son químicamente semejantes, es decir, ambos elementos forman parte del grupo de los VÍA. Poseen características tanto químicas y físicas similares.

Existen dos formas de Selenio: inorgánico y orgánico. Las principales formas de Se inorgánico son selenato (SeO_4^{2-}), selenito (SeO_3^{2-}), ion hidrógeno selenito HSeO_3^- , ácido selenoso (H_2SeO_3), mientras que las principales formas orgánicas de Se son Selenio cisteína (SeCys) y Selenio metionina (SeMet) (Ghasemi et al., 2016).

Figura 1

Existencia de Selenio y toxicidad en el mundo



Nota. Presencia de Selenio en el suelo, tomado de Ghasemi et al (2016).

2.2.2. Aplicación del selenio por el suelo o vía foliar

2.2.2.1. Aplicación Se en el suelo

La movilidad y biodisponibilidad del Se está determinada por una variedad de factores como el pH del suelo, el potencial redox (Eh), materia orgánica (MO), la textura del suelo y los microorganismos (Tian et al., 2018).

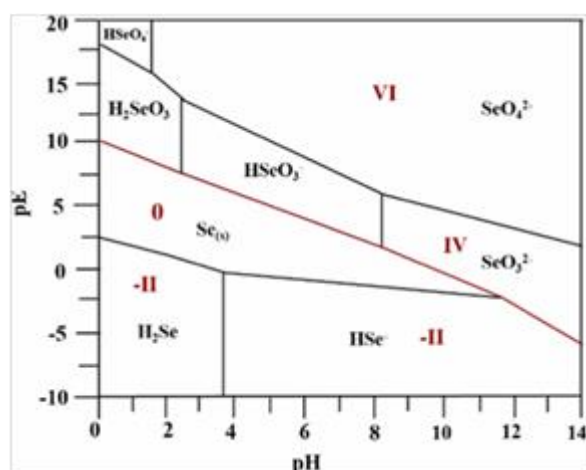
El pH del suelo tiene influencias significativas en la especiación química, la movilidad y la biodisponibilidad de Se en el sistema suelo-planta. Un pH alto del suelo promoverá la liberación del Se de las partículas del suelo para la formación de SeO_4^{2-} , y favorecerá su absorción por las plantas. Por lo que, la disponibilidad de SeO_4^{2-} en suelos

alcalinos es mayor que en suelos ácidos. El SeO_4^{2-} es la especie predominante en condiciones fuertemente oxidantes ($\text{pE} + \text{pH} > 15$), mientras que en suelo anaeróbicos con un pH neutro a ácido ($\text{pH} + \text{pE} = 7,5-15$), el SeO_3^{2-} es la forma más abundante (Zanandrea et al., 2009).

Además, el pH (Figura 2) también afecta el estado de protonación de los grupos funcionales en las superficies de las partículas del suelo, lo que influye en la adsorción y desorción de Se. Mientras que, el SeO_3^{2-} es menos móvil y soluble, ya que se adsorbe en la superficie de las arcillas y en los oxihidróxidos de Fe/Al (Zhang et al., 2019a). Diagrama pE-pH de la especiación química del Selenio.

Figura 2

Diagrama pE-pH de la especiación química del Selenio



Nota. Diagrama pE-pH de la especiación química del Se formado en agua a 1 bar de presión, 0 fuerza iónica y 25 °C en el diagrama pE-pH (Manojlović et al., 2019).

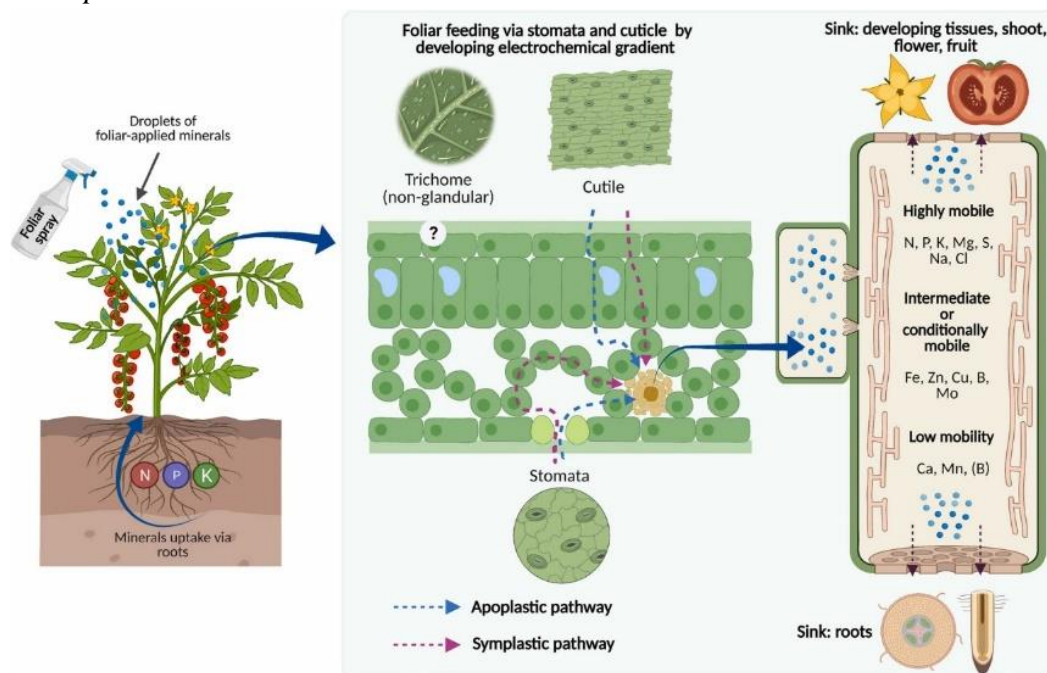
La materia orgánica (MO) influye en la disponibilidad de Se en el suelo, principalmente a través de tres mecanismos: reducción, adsorción e interacciones con microorganismos. La MO del suelo cambiará la microestructura del suelo y facilitará la reducción y la fijación (inmovilización) de Se con la ayuda de microorganismos. Además, la MO tiene varios grupos funcionales que se pueden unir a Se, como los grupos hidroxilo (OH^-), carboxilo ($-\text{COOH}$), lo que disminuye la biodisponibilidad de Se. La MO proporciona electrones y fuentes de carbono para microorganismos, promoviendo así la reducción de Se (Sohrabi et al., 2020).

2.2.2.2. Aplicación del Selenio vía foliar

Los diferentes tipos de estrés abiótico limitan la absorción de nutrientes por las raíces desde el suelo, lo que resalta la importancia de la fertilización foliar, cuya eficiencia es alta debido a que los nutrientes se aplican directamente en el metabolismo de la planta. La absorción de nutrientes aplicados foliarmente ocurre en gran medida a través de las grietas de la cutícula, los poros estomáticos, acuosos y ectodesmáticos. Las plantas absorben las gotas de minerales aplicados foliarmente a través de los poros estomáticos mediante el desarrollo de gradientes electroquímicos entre los lados interno y externo de la hoja (Medrano-Macías et al., 2016), tal como se muestra en la Figura 4.

Figura 3

Transporte de Selenio



Nota. Tomado de Baek & Skinner (2012).

2.2.3. Selenio en las plantas

Al estudiar el Selenio en el sistema suelo-planta, se abordan dos terminologías: la disponibilidad y la absorción. La disponibilidad y absorción de Selenio por las plantas depende de las propiedades del suelo (salinidad, pH, materia orgánica), la especie y edad de la planta, los aniones competitivos y otras sustancias, los transportadores de membrana y los mecanismos de transporte específico de la planta (Hernández-Díaz & Garza-García, 2020).

Las plantas absorben el selenio por la raíz principalmente en las formas SeO_4^{-2} y SeO_3^{-2} . Sin embargo, ninguno de los dos se absorbe a través de un transportador específico. El Selenio, al parecerse químicamente al azufre, comparte una vía similar para su absorción y transporte en las plantas. El SO_4^{-2} utiliza los transportadores SULTR (1;1–1;2). El SULTR1;2 es el principal transportador y SULTR1;1 puede absorber SO_4^{-2} en gran medida. El SeO_3^{-2} es absorbido por las raíces como ion hidrógeno selenito (HSeO_3^{-}) utilizando los transportadores del P (Pht1) y como ácido selenoso (H_2SeO_3) a través de las acuaporinas (White & Broadley, 2009; Zhang et al., 2019b).

Después de su absorción por las células de la raíz, el SO_4^{-2} se mueve a través del simplasto de la raíz hasta la estela y se traslada al brote por la xilema. Mientras que el SeO_3^{-2} se concentra mayormente en el sistema radicular, en lugar de ser transportado a los brotes, ya que es rápidamente convertido en formas orgánicas de Se como SeMet y SeCys en la raíz, y no se transfieren fácilmente a los brotes (Hernández-Díaz & Garza-García, 2020).

2.2.4. Efectos del Se relacionados con la salud

Es necesario adoptar algunas formas de mejorar el contenido de Selenio en la dieta, particularmente en regiones deficientes de micronutrientes. La importancia de Selenio es de interés mundial, los seres humanos necesitan selenio en su dieta para producir al menos 25 proteínas diferentes, entre las cuales se incluyen las enzimas antioxidantes de la selenoglutación peroxidasa (Manojlović et al., 2019). El selenio es un

micronutriente esencial para los humanos y animales, ya que participa en algunos procesos fisiológicos clave como el metabolismo de la hormona tiroidea, el equilibrio redox y la función del sistema inmunológico. Su deficiencia en la dieta puede ocasionar enfermedades con la tiroides, cardiovasculares, cáncer, entre otros (Gonnella et al., 2019).

2.3. Definición de Términos

Selenio: Es un micronutriente esencial para el ser humano para mantenerse sano. Este elemento es importante para el correcto funcionamiento de la glándula tiroidea, producción de ADN, así como también proteger al cuerpo contra infecciones y el daño ocasionado por los radicales libres (Zhang et al., 2019).

Biofortificación: Es una práctica utilizada para incrementar el contenido de un elemento de interés, mediante la aplicación foliar o al suelo. De esta manera se aumenta el valor nutricional de los cultivos, al incrementar la concentración. Entre estos elementos se encuentra el Se, así como también carotenoides, zinc y hierro (Poblaciones & Broadley, 2022b).

Absorción: La absorción es el proceso mediante el cual los nutrientes, incluidos los minerales como el selenio, son transportados desde el tracto gastrointestinal hacia el torrente sanguíneo. Este proceso es crucial para la utilización de los nutrientes en el organismo, ya que determina la cantidad de selenio que puede ser aprovechada por las células. La absorción puede ser influenciada por diversos factores, incluyendo la forma química del nutriente, la presencia de otros compuestos en la dieta, y las condiciones fisiológicas del sistema digestivo (Lima et al., 2020). En el contexto de la bioaccesibilidad, la absorción se refiere específicamente a la fracción de un nutriente que, tras ser liberado durante la digestión, es efectivamente absorbido y utilizado por el organismo.

Bioaccesible: El término bioaccesible se refiere a la fracción de un nutriente que está disponible para ser absorbido en el intestino después de la digestión. La bioaccesibilidad es un concepto clave en la nutrición, ya que no todos los nutrientes

presentes en los alimentos son igualmente accesibles para el organismo. Factores como la matriz alimentaria, la forma química del nutriente y las interacciones con otros componentes de la dieta pueden afectar la bioaccesibilidad (Álava-Vera, 2024). En el caso del selenio en el brócoli, la bioaccesibilidad se puede evaluar a través de estudios in vitro que simulan el proceso digestivo.

Fase oral: La fase oral es la primera etapa del proceso digestivo, que comienza con la ingestión de alimentos y la masticación. Durante esta fase, los alimentos son triturados y mezclados con la saliva, que contiene enzimas que inician la digestión de los carbohidratos y facilitan la formación del bolo alimenticio. La fase oral es crucial para la preparación del alimento para su paso al estómago, y puede influir en la bioaccesibilidad de los nutrientes, ya que la masticación adecuada y la mezcla con la saliva pueden mejorar la liberación de nutrientes durante la digestión (Fosch et al., 2022).

Fase gástrica: La fase gástrica es la segunda etapa del proceso digestivo, que ocurre en el estómago. Durante esta fase, el bolo alimenticio es mezclado con los jugos gástricos, que contienen ácido clorhídrico y enzimas digestivas. Este ambiente ácido es esencial para la digestión de proteínas y la liberación de minerales, como el selenio, de la matriz alimentaria. La fase gástrica también juega un papel importante en la regulación del vaciamiento gástrico y la preparación del quimo para su paso al intestino delgado (Lima et al., 2021).

Fase intestinal: La fase intestinal es la última etapa del proceso digestivo, que ocurre en el intestino delgado y grueso. Durante esta fase, el quimo se mezcla con los jugos pancreáticos y biliares, lo que permite la digestión final de los nutrientes y su absorción en el torrente sanguíneo. La fase intestinal es crucial para la bioaccesibilidad de los nutrientes, ya que es aquí donde se lleva a cabo la mayor parte de la absorción de minerales y vitaminas (Castrillón-Lozano, 2023).

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. Tipo, nivel y diseño de la investigación

El tipo de investigación utilizada en este estudio es de enfoque cuantitativo y de nivel descriptivo-correlacional. Este enfoque permite realizar una evaluación comparativa entre las variables involucradas, específicamente en cómo diferentes fuentes de selenio aplicadas para la biofortificación agronómica influyen en las fracciones bioaccesibles del brócoli. Además, se busca evaluar el impacto del procesamiento térmico, en este caso la cocción, sobre la bioaccesibilidad del selenio. La investigación cuantitativa es fundamental en este contexto, ya que se centra en la recolección y análisis de datos numéricos que permiten establecer patrones y relaciones significativas entre las variables estudiadas.

El diseño de investigación es cuasiexperimental, dado que no se implementa un control aleatorio total de las variables. En este diseño, se propone un experimento en el que se manipulan ciertas condiciones, como las diferentes fuentes de selenio (SeMNF, Seorg y Na_2SeO_4) y el proceso de cocción del brócoli. A través de este enfoque, se observa el efecto de estas manipulaciones sobre las fracciones bioaccesibles del selenio en las distintas fases del sistema digestivo, que incluyen las etapas oral, gástrica e intestinal. Este tipo de diseño es apropiado para estudios donde la aleatorización completa no es factible, permitiendo aun así obtener información valiosa sobre las relaciones causales entre las variables de interés. Según Hernández-Esquivel (2023), la bioaccesibilidad es un aspecto crucial que se debe evaluar para determinar la efectividad de los nutrientes en los alimentos, lo que resalta la relevancia de este estudio en el contexto de la nutrición y la salud pública. Asimismo, Trulls (2023) enfatiza que la cuantificación de la fracción bioaccesible de un nutriente es esencial para comprender su disponibilidad para la absorción intestinal, lo que refuerza la importancia de las metodologías empleadas en esta investigación.

En definitiva, el enfoque cuantitativo y el diseño cuasiexperimental adoptados en este estudio permiten una evaluación rigurosa de cómo las diferentes fuentes de selenio y el procesamiento térmico afectan la bioaccesibilidad de este micronutriente en el brócoli, contribuyendo así a la comprensión de su potencial como estrategia de biofortificación agronómica, para mejorar la salud nutricional de la población.

3.2. Población y Muestra

3.2.1. Población

La población objeto de estudio en esta investigación está constituida por floretes de brócoli (*Brassica oleracea var. italica*) cultivados en condiciones controladas, específicamente aquellos que han sido sometidos a diferentes tratamientos de biofortificación con selenio. Este enfoque permite evaluar cómo las distintas fuentes de selenio afectan la bioaccesibilidad de este micronutriente en el brócoli, así como su interacción con otros nutrientes esenciales como el zinc, magnesio y azufre. La elección de esta población es relevante, dado que el brócoli es conocido por su capacidad de acumular selenio y otros nutrientes, lo que lo convierte en un candidato ideal para estrategias de biofortificación destinadas a mejorar la ingesta de selenio en poblaciones con deficiencia de este elemento.

3.2.2. Muestra

La muestra de este estudio se compone de un total de 24 unidades experimentales, que se derivan de un diseño cuasiexperimental en el que se manipulan dos factores: las fuentes de selenio (SeMNF, Seorg y Na_2SeO_4) y el método de cocción del brócoli (crudo y cocido). Cada combinación de estos factores representa un tratamiento específico, lo que permite realizar un análisis comparativo de la bioaccesibilidad del selenio y otros nutrientes en las diferentes condiciones. La selección de estos tratamientos se basa en la necesidad de evaluar cómo cada fuente de selenio y el proceso de cocción influyen en la disponibilidad de selenio en el brócoli, proporcionando información valiosa para el desarrollo de estrategias de biofortificación efectivas. La muestra se considera

representativa para los objetivos del estudio, ya que abarca una variedad de condiciones que reflejan prácticas agrícolas y de preparación de alimentos en el contexto brasileño.

El tipo de brócoli estudiado fue el brócoli Avenger, el cual es una variedad híbrida muy apreciada por su calidad y durabilidad. Produce cabezas compactas de un verde intenso y tiene un sabor excelente. Esta variedad es popular entre los agricultores por su alto rendimiento y por ser resistente a algunas de las enfermedades más comunes del brócoli, como el mildiu y plagas. El brócoli Avenger crece bien en climas templados y tiene un ciclo de crecimiento relativamente corto, lo que lo hace ideal para cosechas más tempranas. Se adapta a varios tipos de suelo, siempre que se mantengan condiciones adecuadas de riego y fertilización. Además, tiene una excelente capacidad para mantenerse fresco después de la cosecha, lo que lo convierte en una opción excelente para mercados tanto frescos como procesados.

3.2.3. Ámbito de estudio

El experimento fue realizado en el invernadero del Departamento de Ciencia del Suelo de la Universidad Federal de Lavras (UFLA), localizada en la ciudad de Lavras.

Figura 4

Ubicación del Estudio



Nota. Vista panorámica de parte de la Universidad Federal de Lavras, Brasil.

3.2.4. Acciones y actividades para la ejecución del proyecto

3.2.4.1. Condiciones experimentales y tratamientos

Las plantas de brócoli fueron cultivadas en vasos de 5 kg de suelo. De acuerdo con el sistema de clasificación brasileño de suelos, el suelo empleado en este experimento fue clasificado como Latossolo Vermelho distrófico (< 4 mm) (Santos and Embrapa Solos, 2018), que correspondió a la capa de 0-20 cm de profundidad. El suelo utilizado corresponde a ferralsoles y oxisoles (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2014), en la taxonomía de suelos (Survey Staff, 2022). Adoptándose la denominación de oxisoles como la oficial en este estudio. Las propiedades fisicoquímicas del suelo utilizado en este experimento se muestran en la Tabla 1.

Antes de la plantación, fue realizado el encalado del suelo para corregir el pH y suministrar calcio y magnesio. Los demás nutrientes utilizados para la plantación se suministraron de acuerdo con las recomendaciones para experimentos en macetas propuestas por Novais et al. 1991, utilizando nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), azufre (S), boro (B), cobre (Cu), manganeso (Mn), molibdeno (Mo) y hierro (Fe) en cantidades de 25, 38, 43,8, 8,20, 0,81, 1,33, 3,66, 0,15 y 1,55 mg kg⁻¹, respectivamente.

Tabla 1

Propiedades fisicoquímicas del suelo utilizado en el experimento

Material	Valor
pH en agua	4,8
Materia orgánica (g kg ⁻¹)	24,9
Arcilla (g kg ⁻¹)	670
Limo (g kg ⁻¹)	130
Arena (g kg ⁻¹)	200
Nitrógeno total (g kg ⁻¹)	2,3
Potasio disponible (mg kg ⁻¹)	24,8
Fósforo disponible (mg kg ⁻¹)	0,4
Calcio intercambiable (cmol _c kg ⁻¹)	0,4
Magnesio intercambiable (cmol _c kg ⁻¹)	0,2
Cinc disponible (mg kg ⁻¹)	0,2
Hierro disponible (mg kg ⁻¹)	38,0
Manganeso disponible (mg kg ⁻¹)	3,4
Cobre disponible (mg kg ⁻¹)	1,2
Boro disponible (mg kg ⁻¹)	0,01
Azufre disponible (mg kg ⁻¹)	2,9
Selenio total (mg kg ⁻¹)	0,38

El pH del suelo se determinó en agua en una proporción de 1:2,5 (p/v). La materia orgánica del suelo se determinó por el método Walkley-Black, y la arcilla, el limo y la arena se evaluaron por el método Boyoucos. El contenido total de nitrógeno se determinó mediante el método Kjeldahl. El contenido disponible de nutrientes se determinó mediante la prueba Mehlich¹ del suelo. Los contenidos de calcio y magnesio intercambiables se extrajeron mediante una prueba de suelo con solución de KCl de 1 mol L⁻¹. El contenido del boro disponible se determinó por el método de extracción con agua caliente, y el contenido de azufre disponible se determinó por el método del fosfato monocálcico diluido en ácido acético. También se determinó el contenido total de selenio. Todas las metodologías se describen en Teixeira (2017).

Hubo dos factores; el primero fue la aplicación foliar de tres fuentes de Se con cuatro repeticiones. Las fuentes de selenio utilizadas fueron: fertilizante multinutriente (SeMNF), Se + compuestos orgánicos (SeOrg) y selenato de sodio (Na₂SeO₄). Se aplicó una única dosis foliar de Se (50 g Se ha⁻¹), que fue fraccionada 50 % en la fase vegetativa y 50% en la fase reproductiva (45 y 75 días después del trasplante). Considerándose una población media de 20 000 plantas por hectárea, con un volumen de pulverización de 400 L ha⁻¹, se aplicaron 20 mL de la solución de pulverización por planta, equivalentes a 2,5 mg de Se por planta. Los tratamientos se organizaron en un diseño completamente aleatorizado. Al final del cultivo, se cosecharon las plantas y una parte del brócoli se procesó y otra no, siendo este el segundo factor estudiado. De esta forma se ensayaron dos factores en un sistema de parcelas subdivididas de 2x3 (dos estrategias de postratamiento x tres fuentes de Se), en total fueron 24 unidades experimentales.

Tabla 2

Descripción de los tratamientos (Ti) del experimento en invernadero.

Ti	Fuente	Procesamiento
T1	SeMNF	Crudo
T2	SeOrg	Crudo
T3	Na ₂ SeO ₄	Crudo
T4	SeMNF	Cocido
T5	SeOrg	Cocido
T6	Na ₂ SeO ₄	Cocido

La cosecha de los brócolis ocurrió de acuerdo a su maduración, siguiendo los padrones establecidos en el mercado. El límite fue determinado por la época en que los floretes laterales comenzaron a ser mayores que los floretes centrales en la cabeza de los brócolis. Una vez colectados, fueron lavados en agua destilada. Parte de los floretes de brócoli fueron sumergidos en agua hirviendo (100 °C) durante 1 minuto, seguidamente fueron pasados a un recipiente con agua fría (con la adición de hielo, <5 °C), para ser congeladas (escaldado) (Severini et al., 2016). Posterior al proceso del escaldado, los floretes de brócolis fueron cocinados para simular la preparación final del consumidor. Para el proceso de cocción, se calentaron las muestras escaldadas y congeladas en un horno microondas (MT030) a 800 W durante 180 segundos (Zheng et al., 2023).

3.2.4.2. Se, Zn, Mg, S total

Seguidamente, las muestras de brócoli crudo y cocido fueron llevadas a un horno de circulación forzada a 45 °C, para luego ser molidas (< 0,38 mm) con un molino de acero inoxidable. Posteriormente, se analizó el contenido total de Se, Zn, Mg, S de las muestras de brócoli, así como del material de referencia certificado (MRC) siguiendo el procedimiento estándar (método USEPA 3051A) (USEPA, 2007). Para ello, se pesaron 0,100 g de la muestra molida, por triplicado, en tubos de digestión TFM®. Luego, se añadieron al recipiente 1 mL de ácido nítrico concentrado bidestilado. Esta mezcla se dejó a temperatura ambiente durante 15 h como paso de predigestión. A continuación, se añadieron 2 mL de H₂O₂ al 30 % (ppm⁻¹). Los recipientes luego se sellaron y se insertaron en el horno microondas. Las muestras se calentaron en una rampa de temperatura hasta 175 °C durante 10 min, seguido de un tiempo de espera de 10 min. Los niveles de Zn, Mg y S se determinaron mediante espectrometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES). El contenido de Se, se determinó mediante espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (IPC-MS). Para evaluar la eficiencia de la digestión de la muestra y la veracidad del método de cuantificación de Se, Zn, Mg, S, se digirió un MRC (Peach leaves).

3.2.4.3. Se, Zn, Mg, S bioaccesible

Para determinar la bioaccesibilidad, se utilizó el método de Horner and Beauchemin, (2013) con algunas alteraciones, para determinar el Se, Zn, Mg, S bioaccesible en los floretes de brócoli. Este método fue seleccionado debido a su simplicidad y mejor reproductibilidad. Permitiendo tener un mayor control sobre las variables del proceso y permitir la simulación individual de cada paso de la digestión. Lo que permitió examinar cada paso en lugar de solo todo el tracto gastrointestinal (Fernández-García et al., 2009). Este método permite simular secuencialmente el sistema gastrointestinal, emulando las reacciones bioquímicas de la fase oral, gástrica e intestinal.

La solución de la etapa oral consistió en 6,8 g L⁻¹ de fosfato de potasio monobásico (KH₂PO₄), 0,616 g L⁻¹ de hidróxido de sodio (NaOH). La solución de la fase gástrica se

preparó utilizando $3,2 \text{ g L}^{-1}$ de pepsina, 2 g L^{-1} de cloruro de sodio y 7 mL L^{-1} de ácido clorhídrico destilado concentrado. Finalmente, la solución de la fase intestinal se preparó utilizando 10 g L^{-1} de pancreatina, $6,8 \text{ g L}^{-1}$ de KH_2PO_4 y $0,616 \text{ g L}^{-1}$ de NaOH .

El ensayo secuencial de bioaccesibilidad in vitro inició con la simulación de la fase oral, para lo cual se mezcló 0,5 g de las muestras de brócoli trituradas con 3 mL de la saliva simulada (manteniendo una relación masa-volumen 1:6 como fue descrito por Horner and Beauchemin, (2013) en un tubo centrifugado de 15 mL. Los tubos se dejaron en baño de agua a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 10 minutos para simular las condiciones fisiológicas naturales del cuerpo humano. Siendo agitados esporádicamente. Posteriormente, las mezclas se centrifugaron a $1915 \times g$ durante 15 minutos para separar el sobrenadante, que se transfirió a otro tubo (solución de la fase oral). Luego se agregaron 3 mL de la solución simuladora gástrica al residuo sólido de la fase anterior (oral); el tubo se agitó manualmente para homogeneizar la mezcla y se colocó nuevamente en el baño de agua durante 2 horas a $37 \text{ }^\circ\text{C}$. Después los tubos se centrifugaron a $1915 \times g$ durante 15 minutos y el sobrenadante se transfirió a otro recipiente. Estos mismos pasos se repitieron para la fase intestinal. Luego de separar el sobrenadante de la fase intestinal, el residuo sólido restante fue secado en estufa a $65 \text{ }^\circ\text{C}$ por 48 horas, para luego ser digerido utilizando el mismo método descrito para la determinación del contenido total de Se, Zn, Mg, S para evaluar la fracción de Se no bioaccesible, es decir la fracción residual.

Para disminuir el contenido de carbono orgánico en las soluciones líquidas obtenidas en cada fracción del ensayo de bioaccesibilidad, se digirió 1 mL de cada extracto, agregando 1 mL de HNO_3 concentrado bidestilado y 2 mL de H_2O_2 al 30 % (w/w), conforme a los procedimientos anteriormente citados. Los análisis de Zn, Mg, S y Se en los extractos digeridos siguieron los procedimientos ya descritos.

3.2.4.4. Materiales e instrumentos

Tabla 3

Materiales e instrumentos

Materiales y/o reactivos	Cantidad
Fosfato monobásico de potasio	1
Hidróxido de sodio	1
Pancreatina	1
Clorato de sodio	1
Ácido clorhídrico	1
Alfaamilase	1
Material certificado (BCR-402)	1
Material certificado (NIST 1573A)	1
Substrato (50kg)	1
Bandejas para mudas (50 unidades)	1

3.2.5. Tratamiento de datos

Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software R (R Core Team R, 2022), con los siguientes paquetes: stats, agricolae, corrplot, factoextra, FactoMineR y Metrics (Arnhold, 2019; Hothorn et al., 2008a; Lê et al., 2008; Mendiburu, 2020; Wei, 2017). Las medias de los tratamientos se diferenciaron mediante la prueba de Duncan ($p < 0,05$) tras confirmar que se cumplían los supuestos básicos del análisis de la varianza (normalidad, homocedasticidad, aditividad e independencia de los residuos) y alcanzar la significación en la prueba F ($p < 0,05$), se realizó el Análisis de Varianza (ANOVA). Para diferenciar los efectos de los distintos métodos de procesamiento postcosecha sobre el contenido de Se, se realizó un análisis preliminar utilizando la «función ANOVA», seguido de comparaciones entre cada método de procesamiento y las muestras crudas para cada estrategia de biofortificación utilizando comparaciones múltiples con la «función ghlt» (Hothorn et al., 2008b).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. Resultados de la investigación

4.1.1. Influencia del posprocesamiento en el contenido de Se bioaccesible y residual en los floretes de brócoli

La Figura 5 representa el contenido de Se, Zn, Mg, S bioaccesible (suma de los extractos de la fase oral, gástrica e intestinal) y residual, que se denominan en conjunto contenido total, expresado en mg kg^{-1} de masa seca en los floretes de brócolis crudos y cocidos tras la aplicación de diferentes fuentes de Se (SeMNF, Na_2SeO_4 , SeOrg).

Con respecto al contenido de Se (Figura 5A), de acuerdo a la fuente de Se aplicada, se siguió el siguiente orden decreciente $\text{SeMNF} > \text{Na}_2\text{SeO}_4 > \text{SeOrg}$ para los brócolis crudos (15,03, 10,71 y 9,99 mg kg^{-1} , respectivamente) y cocidos (12,03, 8,39 y 6,86 mg kg^{-1} , respectivamente) en el contenido total de Se. Un comportamiento semejante también fue observado en la bioaccesibilidad de Se, en los brócolis crudos y cocidos. Independientemente de la fuente de Se suministrada, el proceso de cocción disminuyó en un 20, 22 y 31 % el contenido total de Se y bioaccesible en 28, 40 y 51 % bajo la aplicación de SeMNF, Na_2SeO_4 y SeOrg, respectivamente.

En el contenido total de Zinc (Figura 5B) en las muestras crudas no se observaron diferencias estadísticas significativas (media de 46,09 mg kg^{-1}). Sin embargo, en las muestras cocidas se observó el menor valor en SeMNF (28,07 mg kg^{-1}), Na_2SeO_4 y SeOrg fueron estadísticamente semejantes (34,15 y 35,04 mg kg^{-1} , respectivamente). Con respecto a la bioaccesibilidad de Zn no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos crudos y cocidos en las tres fuentes de Se. Indistintamente de la fuente de Se aplicada, el proceso de cocción redujo el contenido de Zinc en 40 % para SeMNF, un 26 % para Na_2SeO_4 y un 18 % para SeOrg. De igual manera, la bioaccesibilidad un 45, 30 y 20 % tras la pulverización con SeMNF, Na_2SeO_4 y SeOrg, respectivamente.

Para el contenido total de magnesio (Figura 5C) en muestras crudas siguió el siguiente orden decreciente SeMNF, SeOrg y Na₂SeO₄ con valores de 2,41, 2,18, 1,98 mg kg⁻¹, respectivamente. Para el proceso de cocción se obtuvo el mayor valor para Na₂SeO₄ (1,82 mg kg⁻¹), seguido de SeMNF (1,67 mg kg⁻¹), SeOrg fue estadísticamente semejante a estas dos fuentes de Se. Con respecto al Mg bioaccesible siguió el siguiente orden SeMNF, SeOrg y Na₂SeO₄ en las muestras crudas con valores de 1,53, 1,26 y 1,09 mg kg⁻¹, respectivamente.

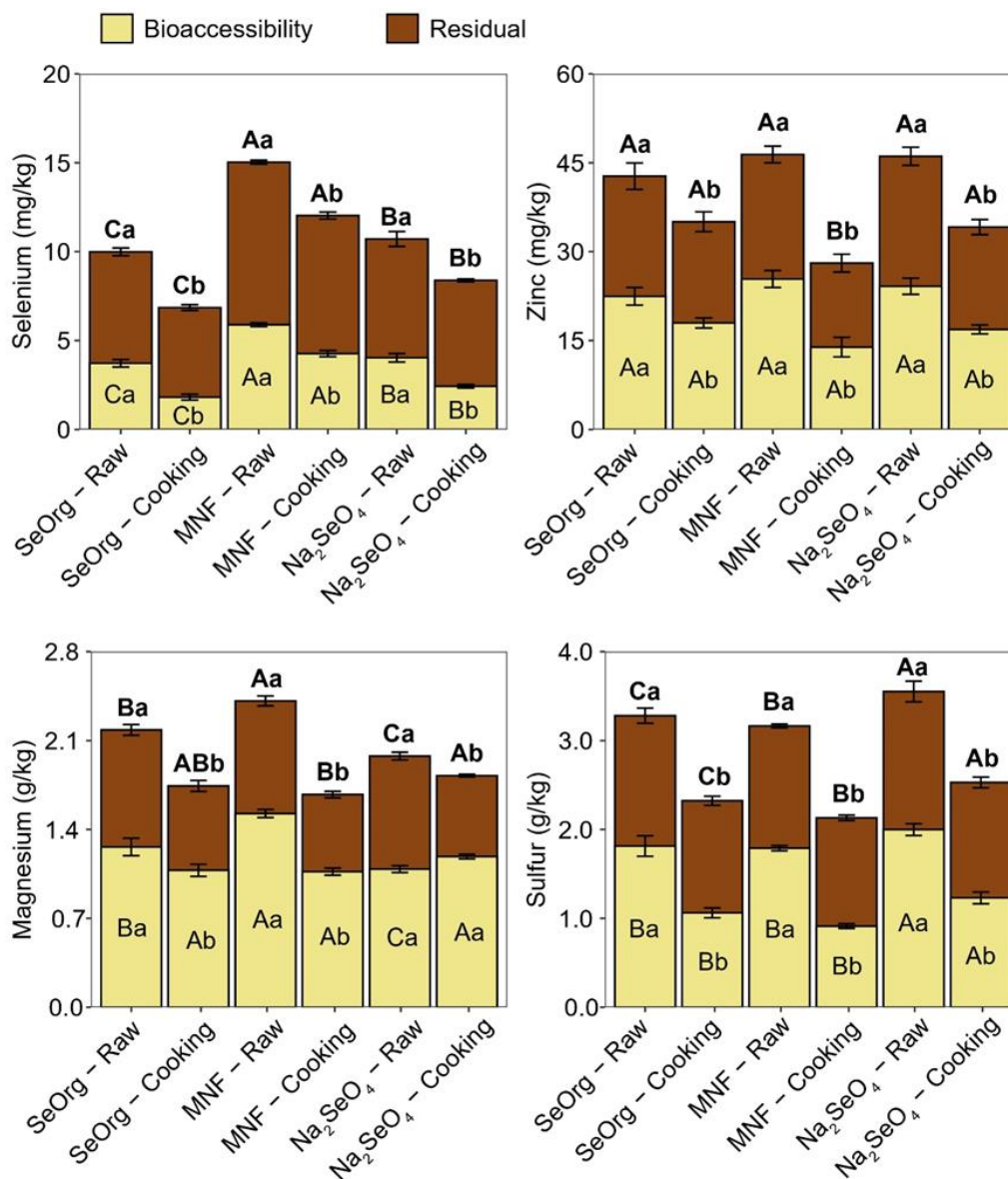
En las muestras cocidas no se observaron diferencias estadísticas significativas entre las fuentes de Se (promedio de 1,11 mg kg⁻¹). Al margen de la fuente de Se aplicada, el proceso de cocción decreció el contenido total de Mg en 30,56, 20,17 y 7,78 % en SeMNF, SeOrg y Na₂SeO₄, respectivamente. En la bioaccesibilidad se redujo en un 30 % para SeMNF y 15 % en SeOrg. A excepción Na₂SeO₄ que se observó un aumento del 9 % tras la cocción.

Para el contenido total de Azufre (Figura 5D) en las muestras crudas y cocidas se observó que entre las fuentes de Se, Na₂SeO₄ obtuvo el mayor valor, seguido de SeOrg y SeMNF, con valores de 3,55, 3,28 y 3,16 mg kg⁻¹ para los tratamientos crudos y 2,53, 2,32 y 2,13 mg kg⁻¹ para las muestras cocidas, respectivamente. En la bioaccesibilidad de S se observó que tanto para las muestras crudas y cocidas Na₂SeO₄ (2 y 1,23 mg kg⁻¹, respectivamente) presentó los mayores valores, mientras que SeOrg y SeMNF fueron estadísticamente semejantes (promedio de 1,8 mg kg⁻¹ para las muestras crudas y 0,99 mg kg⁻¹ en cocidas).

Al margen de la fuente de Se suministrada, el proceso de cocción redujo en un 32,67, 28,81 y 29,17 % en el contenido total de S bajo la aplicación de SeMNF, Na₂SeO₄ y SeOrg, respectivamente. De manera similar, la bioaccesibilidad de S decreció en un 48,97, 38,45 y 41,43 % tras el proceso de cocción en SeMNF, Na₂SeO₄ y SeOrg, respectivamente.

Figura 5

Contenido de Se, Zn, Mg, S bioaccesible residual



Nota. Concentraciones de Se, Zn, Mg y S bioaccesible y residual en los floretes de brócoli, bajo diferentes fuentes de Se (50 g Se ha⁻¹) y procesamiento de cocción en mg kg⁻¹. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre las fuentes de Se en cada procesamiento (crudo y cocido) y letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre los procesamientos para cada fuente de Se de acuerdo al test de Duncan ($p < 0,05$). Los datos son medias \pm SD ($n = 4$).

4.1.2. Influencia del posprocesamiento en el porcentaje bioaccesible de Se (fase oral, gástrica e intestinal) en los floretes de brócoli

La Figura 6 presenta el porcentaje de bioaccesibilidad y en cada fase bioaccesible (oral, gástrica e intestinal) de Se, Zn, Mg y S en los floretes crudos y cocidos, en cada fuente de Se suministrada (SeMNF, Na₂SeO₄ y SeOrg).

El porcentaje de Se bioaccesible total en el brócoli crudo en las tres fuentes de Se, no mostraron diferencias significativas, con un promedio de 37,97 %. Sin embargo, en las muestras cocidas se observó el mayor porcentaje para SeMNF (35,43 %), seguido de SeOrg y Na₂SeO₄ que fueron estadísticamente semejantes en este procesamiento (media de 27,67 %). Tras el proceso de cocción, la bioaccesibilidad total disminuyó en las tres fuentes, siendo SeMNF la más resistente a este cambio, con una reducción de solamente un 9,56%, comparada con SeOrg (29,02 %) y Na₂SeO₄ (22,90 %).

En la fase oral, el Se bioaccesible, en los brócolis crudos, SeMNF presentó el mayor porcentaje bioaccesible (14,06 %), seguido de SeOrg (12,83 %) y Na₂SeO₄ (11,32 %). Sin embargo, tras el proceso de cocción Na₂SeO₄ presentó la menor disminución en la bioaccesibilidad de Se (reducción de 41,43 %), lo que sugiere una mayor resistencia a la pérdida de este elemento en comparación a SeMNF (76,36 %) y SeOrg (64,48 %). En la fase gástrica, Na₂SeO₄ presentó el mayor porcentaje bioaccesible (14,72%), seguido de SeMNF (12,98 %), SeOrg fue estadísticamente semejante a ambas fuentes de Se en el brócoli crudo.

Tras el proceso de cocción, se disminuyó la bioaccesibilidad en un 24,46, 31,92 y 40,65% para Na₂SeO₄, SeMNF y SeOrg, respectivamente. Finalmente, en la fase intestinal, los tratamientos crudos en cada una de las fuentes de Se fueron estadísticamente semejantes (media de 10,94 %). Sin embargo, tras el proceso de cocción aumentó el % bioaccesible para SeMNF y SeOrg en 91,68 y 40,11 %, respectivamente, este comportamiento no se observó en Na₂SeO₄ que disminuyó en un 2,71 % su bioaccesibilidad en comparación a los brócolis crudos.

En el porcentaje de zinc bioaccesible (Figura 6B) total en los brócolis crudos y cocidos en las tres fuentes de Se, no mostraron diferencias significativas, con un promedio de 46,09 y 34,15 %, respectivamente. Posterior al proceso de cocción, la bioaccesibilidad disminuyó en las tres fuentes, siguiendo el siguiente orden creciente SeOrg (2,22 %), Na₂SeO₄ (5.77 %) y SeMNF (10.27 %), en comparación a los brócolis crudos.

En la fase oral de Zn, en los brócolis crudos, SeMNF presentó el mayor porcentaje bioaccesible (27,41 %), SeOrg y Na₂SeO₄ fueron estadísticamente semejantes (promedio de 21,02 %). Los brócolis cocidos en esta fase fueron estadísticamente semejantes (promedio de 10.78%). Sin embargo, tras el proceso de cocción, la bioaccesibilidad en esta fase disminuyó en 35,25, 60,65 y 56,70 % en Na₂SeO₄, SeMNF y SeOrg, respectivamente.

En la bioaccesibilidad de la fase gástrica, los brócolis crudos (promedio de 11,16 %) y cocidos (promedio de 14,95 %) fueron estadísticamente semejantes en las tres fuentes de Se. Posterior al proceso de cocción, se aumentó la bioaccesibilidad en esta fase en un 31, 43,90 y 57,84 % para Na₂SeO₄, SeMNF y SeOrg, respectivamente. Finalmente, al igual que en la fase gástrica, en la fase intestinal los tratamientos crudos y cocidos en las tres fuentes fueron estadísticamente semejantes, con un promedio de 18,6 y 22,43 %, respectivamente. Sin embargo, tras el proceso de cocción aumentó el porcentaje bioaccesible en un 3,77, 38,35 y 20,60 % para Na₂SeO₄, SeMNF y SeOrg, respectivamente.

Para Magnesio (Figura 6C), en el porcentaje bioaccesible total en los brócolis crudos, SeMNF presentó el mayor valor (63,24 %), mientras que SeOrg y Na₂SeO₄ fueron estadísticamente semejantes entre sí (promedio de 56,33%). En los tratamientos cocidos de las tres fuentes no se observaron diferencias estadísticas significativas (promedio de 63,53 %). Debido al proceso de cocción, la bioaccesibilidad de Mg incrementó en 0,82, 7,09 y 18,34 % para SeMNF, SeOrg y Na₂SeO₄, respectivamente.

En la fase oral de Se, en los brócolis crudos, SeMNF presentó el mayor porcentaje bioaccesible (28,40 %), seguido de SeOrg (22,66 %) y Na₂SeO₄ (19,78 %), siendo estos

dos últimos estadísticamente semejantes. Sin embargo, tras el proceso de cocción, Na_2SeO_4 presentó la menor disminución en la bioaccesibilidad de Se (reducción de 14,21 %), en comparación de los brócolis crudos, lo que sugiere una mayor resistencia a la pérdida de este elemento en comparación a SeMNF (58,80%) y SeOrg (32,19 %). En la fase gástrica, los brócolis crudos y cocidos fueron estadísticamente semejantes en las tres fuentes de Se, con un promedio de 23,99 % y 31,65 %, respectivamente. Tras el proceso de cocción, se aumentó la bioaccesibilidad en 30,82, 41,85 y 23,41 % para Na_2SeO_4 , SeMNF y SeOrg, respectivamente. Finalmente, en la fase intestinal, los tratamientos crudos (11,01 %) y cocidos (17,21 %) fueron estadísticamente semejantes en las tres fuentes de Se. Tras el proceso de cocción, la bioaccesibilidad aumentó en un 54,37, 65,33 y 48,54 % para SeOrg, SeMNF y Na_2SeO_4 , respectivamente.

Para el Azufre (Figura 6D), en el porcentaje de S bioaccesible total en los brócolis crudos y cocidos para las tres fuentes de Se, no se mostraron diferencias significativas, con un promedio de 55,97 % para los brócolis crudos y del 45,66 % para los brócolis cocidos. Tras el proceso de cocción, la bioaccesibilidad disminuyó en las tres fuentes, en un 17,21, 24,24 y 13,72 % en SeOrg, SeMNF y Na_2SeO_4 , respectivamente.

En la fase oral de la bioaccesibilidad de S, los brócolis crudos con la fuente de SeMNF presentó el mayor porcentaje bioaccesible (23,42 %), seguido de SeOrg (19,82 %) y Na_2SeO_4 (19,58 %). Sin embargo, tras el proceso de cocción, Na_2SeO_4 presentó la menor disminución en la bioaccesibilidad de Se (reducción de 50,33 %), en comparación de los brócolis crudos, lo que sugiere una mayor resistencia a la pérdida de este elemento en comparación a SeMNF (79,60 %) y SeOrg (61,19 %).

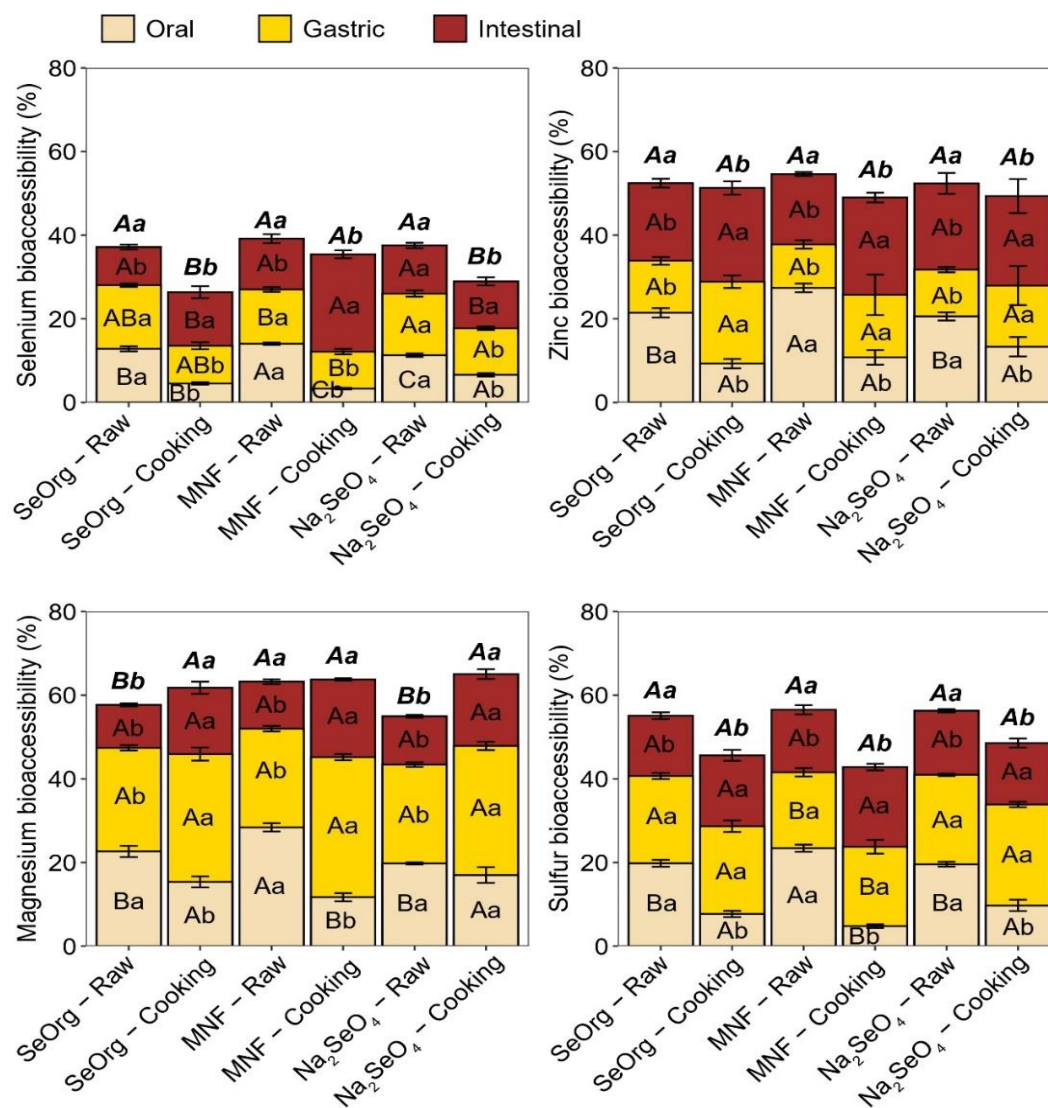
En la fase gástrica, Na_2SeO_4 y SeOrg fueron estadísticamente semejantes (21,13 %), mientras que la fuente de SeMNF presentó un 18,14 % en esta fase. Tras el proceso de cocción, la bioaccesibilidad disminuyó en un 12,97, 4,64 y 0,55 % para Na_2SeO_4 , SeMNF y SeOrg, respectivamente.

Finalmente, en la fase intestinal, los tratamientos en los brócolis crudos y cocidos en cada una de las fuentes de Se fueron estadísticamente semejantes, con una media de

14,90 % en las muestras crudas y del 16,89 % para los brócolis cocidos. Sin embargo, tras el proceso de cocción, aumentó el porcentaje bioaccesible para SeMNF, SeOrg en 27,40, 17,51 %, respectivamente, esto no se observó para Na_2SeO_4 que disminuyó en un 4,15 %.

Figura 6

Porcentajes de bioaccesibilidad por fase y residual de los floretes de brócoli



Nota. Porcentaje de Se, Zn, Mg y S bioaccesible en cada una de las fases oral, gástrica, intestinal y residual de los floretes de brócoli bajo diferentes fuentes de Se y procesamientos. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre las fuentes de Se ($p < 0,05$) en cada procesamiento (crudo y cocido) y letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre los procesamientos para cada fuente de Se, de acuerdo al test de Duncan ($p < 0,05$). Los datos son medias \pm SD ($n = 4$).

4.1.3. Estimación del consumo de Se, Zn, Mg y S al ingerir brócoli biofortificado con diferentes fuentes de Se y procesamiento.

En la Tabla 5 se presenta el consumo diario recomendado de brócolis en gramos, calculado de acuerdo con las diferentes fuentes de Se evaluadas en este estudio, tomando como referencia la ingesta diaria recomendada de Se ($70 \mu\text{g día}^{-1}$) (FNB-NASEM, 2025). Se puede observar que, independientemente de la fuente de Se aplicada, la cantidad de brócoli necesaria para alcanzar esta recomendación es considerablemente mayor en los tratamientos cocidos en comparación con los crudos. Esto sugiere una pérdida significativa de Se durante el proceso de cocción, lo que obliga a incrementar la cantidad de brócoli consumido para cubrir las necesidades diarias de este nutriente. Ya que se requiere aumentar el consumo en 104,7, 65,9 y 38 % en SeOrg, Na_2SeO_4 y SeMNF, respectivamente, tras la cocción para alcanzar la dosis diaria recomendada.

Tabla 4*Estimación de cantidad de nutrientes ingeridos (Zn, Mg y S)*

Tratamientos	Consumo	Cantidad consumida		
	recomendado de brócoli (g)	Zn (μg día^{-1})	Mg (mg día^{-1})	S (mg día^{-1})
SeOrg - Crudo	125,46	422,71	23,75	34,12
SeOrg - Cocido	256,80	692,11	41,54	40,90
SeMNF - Crudo	79,27	301,91	18,14	21,26
SeMNF- Cocido	109,36	227,90	17,52	14,97
Na ₂ SeO ₄ - Crudo	115,77	419,62	18,89	34,71
Na ₂ SeO ₄ - Cocido	192,01	485,84	34,17	35,43

Nota. Según el consumo diario sugerido de brócoli, calculado en función de la dosis diaria de selenio recomendada ($70 \mu\text{g día}^{-1}$).

Es importante destacar que, en base al consumo diario recomendado de brócoli (g), que además de aportar Se, también se contribuye a la ingesta de otros nutrientes esenciales como Zn, Mg y S, los cuales desempeñan funciones metabólicas y estructurales en el organismo. En Zn, Mg y S se observó que tras el proceso de cocción la ingesta de estos nutrientes aumentó. En Zn aumentó un 64 y 17 %, en Mg un 75 y 80.9 % y en S un 20 y 2 %, para SeOrg y Na₂SeO₄, respectivamente. No obstante, en SeMNF se observó una disminución de estos nutrientes en 23, 3.4 y 30 %, para Zn, Mg y S, respectivamente. La recomendación del consumo de cada nutriente se basó en las ingestas dietéticas de referencia de la Junta de Alimentos y Nutrición de las Academias Nacionales de Ciencias,

Ingeniería y Medicina (FNB-NASEM, 2025). Los datos presentados en la tabla 3, se calcularon utilizando la ecuación (1).

Sin embargo, es importante destacar que el consumo recomendado en la Tabla 6, para cada fuente de Se, es muy superior a la ingesta adecuada (40 g) y al consumo medio mundial de unos 10 gramos de brócoli al día (USDA, 2024). Si solamente se consumiera 40 g por día, como se muestra en la tabla 4, el consumo de Se estaría por debajo de la dosis recomendada por día. Siendo así que ninguna de las fuentes utilizadas llegaría a proporcionar el consumo recomendado de Se. En tal caso, la fuente de SeMNF en brócolis crudos (35,32 $\mu\text{g Se día}^{-1}$) y cocidos (25,60 $\mu\text{g Se día}^{-1}$) presentó los mayores valores en comparación a las otras fuentes de Se. Los datos presentados en la tabla 4 se calcularon utilizando la ecuación (2).

Tabla 5

Aporte de nutrientes (Se, Zn, Mg y S) con diferentes fuentes de Se

Tratamientos	Cantidad consumida			
	Se ($\mu\text{g día}^{-1}$)	Zn ($\mu\text{g día}^{-1}$)	Mg (mg día^{-1})	S (mg día^{-1})
SeOrg - Crudo	22,32	134,77	7,57	10,88
SeOrg - Cocido	10,90	107,81	6,47	6,37
SeMNF - Crudo	35,32	152,35	9,15	10,73
SeMNF- Cocido	25,60	83,35	6,41	5,48
Na ₂ SeO ₄ - Crudo	24,19	144,99	6,53	11,99
Na ₂ SeO ₄ - Cocido	14,58	101,21	7,12	7,38

Nota. Procesamiento para el consumo de 40 g diarios de brócoli biofortificado

Para estimar los datos de la Tabla 6, se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$\text{MF en mg kg}^{-1} = \text{MS en mg kg}^{-1} \frac{100-85\%}{100} \dots\dots\dots [1]$$

$$\text{Consumo de brocolis (g) en } 70 \mu\text{g día}^{-1} = \frac{70 \mu\text{g día}^{-1}}{MF}$$

Consumo de S, Mg y Zn

$$= \text{Consumo de brócoli (g) en } 70 \mu\text{g día}^{-1} \text{ de brócoli} \times MF \text{ en mg kg}^{-1}$$

Para calcular los datos de la tabla 4, se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$MF \text{ en mg kg}^{-1} = MS \text{ en mg kg}^{-1} \frac{100-85\%}{100} \dots\dots\dots [2]$$

Cantidad consumido de Se, S, Mg y Zn

$$= \text{Consumo medio de brocolis (40g)} \times MF \text{ en mg kg}^{-1}$$

4.1.4. Test de supuestos y ANOVA

4.1.4.1. Análisis de Varianza (ANOVA) y Test de Medias de Duncan

En el presente estudio, se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) para comparar las medias de diferentes grupos. Previo al análisis, se verificaron los supuestos necesarios para la validez del ANOVA.

Supuestos del ANOVA

Se plantearon las siguientes hipótesis para evaluar los supuestos del ANOVA:

Normalidad:

H0: Los datos siguen una distribución diferente a la normal.

H1: Los datos siguen una distribución normal.

Homocedasticidad:

H0: Los datos no son homogéneos (varianzas desiguales).

H1: Los datos son homogéneos (varianzas iguales).

Se utilizó la función `gvlma` en el software R para verificar el cumplimiento de los supuestos. Los resultados obtenidos demostraron que los residuos de los datos cumplían con los supuestos de normalidad, homocedasticidad, aditividad e independencia.

Análisis de Varianza (ANOVA)

Una vez confirmados los supuestos, se procedió a realizar el análisis de varianza (ANOVA). El ANOVA es una técnica estadística que permite comparar las medias de dos o más grupos. En este caso, el ANOVA se utilizó para determinar si existen diferencias significativas entre las medias de los grupos estudiados.

Test de medias de Duncan

En caso de encontrar diferencias significativas en el ANOVA, se realizó el test de medias de Duncan. Este test permite identificar cuáles grupos difieren significativamente entre sí. El test de Duncan es una prueba post hoc que se aplica después del ANOVA para realizar comparaciones múltiples entre las medias de los grupos.

Nivel de significancia

El nivel de significancia utilizado en este estudio fue de 0.05. Esto significa que se consideró que existían diferencias significativas entre los grupos si el valor p obtenido en el ANOVA y en el test de Duncan era menor a 0.05.

Resultados

Los resultados obtenidos del ANOVA y del test de Duncan se presentarán en detalle en la sección de resultados del informe. Se incluirán tablas y gráficos que resumen los hallazgos principales.

Tabla 6*Supuestos (hipótesis) para Selenio*

	Value	p-value	Decision
Global Stat	4.823e-01	0.9752	Assumptions acceptable.
Skewness	4.427e-02	0.8333	Assumptions acceptable.
Kurtosis	2.485e-01	0.6182	Assumptions acceptable.
Link Function	-2.524e-16	1.0000	Assumptions acceptable.
Heteroscedasticity	1.896e-01	0.6632	Assumptions acceptable.

Los resultados de la prueba gvlma mostrados en la Tabla 6, sugieren que **los residuos del modelo cumplen con los supuestos clave** para la validez del análisis. Esto incluye la normalidad (tanto en términos de asimetría como de curtosis), la correcta especificación de la función de enlace y la homocedasticidad.

Tabla 7*ANOVA para Selenio*

Analysis of Variance Table						
Response: Biodis						
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
trat	2	23.8777	11.9388	99.3438	1.883e-10	***
pro	1	17.4987	17.4987	145.6077	4.615e-10	***
trat:pro	2	0.1139	0.0569	0.4739	0.6301	
Residuals	18	2.1632	0.1202			

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1						

Efecto Principal de "trat": El valor p para "trat" es extremadamente bajo (1.883e-10), lo que indica que hay un efecto altamente significativo del factor "trat" sobre la variable "Biodis". En otras palabras, al menos uno de los niveles de "trat" produce un valor de "Biodis" diferente a los demás.

Efecto Principal de "pro": El valor p para "pro" es también muy bajo (4,615e-10), lo que sugiere que el factor "pro" tiene un efecto altamente significativo sobre

"Biodis". Los dos niveles de "pro" resultan en valores de "Biodis" significativamente diferentes.

Interacción "trat:pro": El valor p para la interacción es alto (0,6301), lo que indica que no hay una interacción significativa entre "trat" y "pro". Esto significa que el efecto de "trat" sobre "Biodis" no depende del nivel de "pro", y viceversa.

Tanto "trat" como "pro" tienen efectos principales altamente significativos sobre la variable "Biodis". Sin embargo, no hay evidencia de una interacción significativa entre estos dos factores.

DISCUSIONES

Una de las principales vías de incorporación de nutrientes al organismo es a través de los alimentos, especialmente mediante el consumo de vegetales, que representan una fuente importante de los elementos esenciales para el metabolismo humano (Días, 2012; Dong et al., 2021). Esto se debe en parte a que la eficiencia de absorción de Se por el cuerpo puede ser ligeramente mayor cuando proviene de cultivos enriquecidos con Se, en comparación a los suplementos alimenticios con este elemento (Lavu et al., 2016). Esto se debe a la mayor eficacia del cuerpo humano para metabolizar los nutrientes en formas orgánicas, lo que aumenta su absorción e incorporación a los procesos metabólicos humanos. Entre los vegetales destaca el brócoli, debido a que tiene el potencial de acumular elevados niveles de Se, un nutriente esencial en la salud humana (Bouranis et al., 2023). Este trabajo pretendió evaluar diferentes fuentes de Se (SeOrg, Na₂SeO₄ y SeMNF) y analizar cómo el posprocesamiento podría influir en la bioaccesibilidad del Se, a través de la simulación in vitro del sistema gastrointestinal.

La biofortificación es una estrategia para aumentar el contenido de ciertos elementos de interés en los cultivos, aumentando así su valor nutricional y económico (de Lima et al., 2023; Morais et al., 2024). En este estudio se observó que entre las fuentes de Se evaluadas, SeMNF presentó un mejor desempeño en comparación a las otras fuentes (Figura 6 y 7). SeMNF además de suministrar Se, también trae en su composición otros elementos como Zn y Mg. Por lo que la interacción de estos otros elementos con Se y viceversa podría haber mejorado la absorción/redistribución de Se en las plantas (Silva et al., 2023). Presentando niveles totales de 15,03 y 12,03 mg Se kg⁻¹ en floretes crudos y cocidos, respectivamente. En tomate se observó que tras la aplicación de un fertilizante multinutriente con Se (10 g de Se ha⁻¹) se aumentó la calidad nutricional, elevando el contenido de carotenoides, licopeno, actividad antioxidante, compuestos fenólicos totales y vitamina C, así como también la vida útil de los tomates (Morais et al., 2024). En el cultivo de soja, también fue aplicado un fertilizante multinutriente con Se, donde el rendimiento de grano fue mayor tras su aplicación foliar, así como también se aumentó el contenido de otros nutrientes como K, P, S, Mn y Fe en los granos (Silva et al., 2023).

Al igual que el Se, nutrientes como S, Mg y Zn, son esenciales en la dieta humana. La presencia simultánea de Zn y Mg en el SeMNF, podría haber influido en el contenido de Se y viceversa en los floretes de brócoli crudo y cocido (Figura 5 y 6). Así como fue encontrado en lechuga, que tras la presencia de Se condujo a una alta acumulación de molibdeno (Mo) y una reducción en la absorción de Cu y Fe, mientras que la acumulación de Zn y Mn no se vio influenciada por la presencia de Se. Con valores bioaccesibles de 71 %, 10 %, 52 %, 84 % y 86 % para Cu, Fe, Mn, Mo y Zn, respectivamente (do Nascimento da Silva and Cadore, 2019).

Para evaluar el éxito de esta estrategia, normalmente se evalúa el contenido total del elemento. No obstante, esto podría sobreestimar la cantidad realmente absorbida por el cuerpo (Ari et al., 2022). Por lo que es fundamental también analizar la fracción bioaccesible para comprender mejor la contribución real del nutriente al cuerpo (Delaqua et al., 2022; Sun et al., 2017). La fuente de SeMNF presentó contenidos bioaccesibles de 5.89 y 4.27 mg Se kg⁻¹, representando porcentajes de bioaccesibilidad del 39,18 % y 35,43 % en floretes crudos y cocidos, respectivamente. Así como también se encontraron diferentes fracciones bioaccesibles en los cultivos de arroz (66 %) (de Lima et al., 2023), trigo (77.54 %) (Santos et al., 2024), lechuga (71 %) (do Nascimento da Silva and Cadore, 2019), maíz, caupí y maní (66.6–78.2 %) (Muleya et al., 2021), maíz (49 - 89 %) (Mombo et al., 2016) y arroz cocido (67-76 %) (Sun et al., 2017) de la fracción total de Se. Por lo que mediante el ensayo de bioaccesibilidad se podría comprender realmente la cantidad suministrada de Se al cuerpo por el consumo de brócoli crudo o cocido tras simular el proceso de digestión gastrointestinal.

Las verduras frescas son muy comunes y ampliamente consumidas, aunque varias dietas típicamente someten a las verduras a algún proceso de cocción, como hervirlas (Agudo et al., 2002; Dong et al., 2021). Tras el procesamiento del brócoli, la bioaccesibilidad de Se disminuyó (27,52 a 51,14 %). Entre las fuentes de Se la que presentó menores pérdidas fue SeMNF con una reducción del 27,52 %, en comparación al brócoli crudo. La menor cantidad de Se presente en el brócoli puede atribuirse a que una fracción de Se podría perderse en el agua de cocción (lixiviación), como fue

encontrado en repollo por Funes-Collado et al. (2015), encontraron mayormente la presencia de Selenato en el agua hervida (90 %). Así también como, fue encontrado en tubérculos como la papa, ya que hervir durante 10 min provocó una pérdida del 38,5 % de Se, principalmente en la forma de SeMet (81 %) y Selenito (26 %) (Dong et al., 2021).

Esto puede deberse a que el selenito o selenato y algunos selenocompuestos de bajo peso molecular, al no estar unidos a las proteínas, podrían lixiviarse con mayor facilidad en el agua de cocción (Funes-Collado et al., 2015; Pedrero et al., 2007). También parte del Se como resultado del procesamiento térmico podría volatilizarse en la forma de dimetilseleniuro o dimetildiseleniuro (Wang et al., 2024).

Sin embargo, no siempre se sigue este comportamiento, tras el proceso de cocción en papa se mejoró la bioaccesibilidad de Se, ya que se presentó un 18,3 % de bioaccesibilidad de Se en papa cruda y tras la cocción fue del 64,7 % (Dong et al., 2021). Es importante destacar que la bioaccesibilidad dependerá del tipo de cultivo, la fuente, forma del suministro de Se y del posprocesamiento al que es sometida la matriz alimentaria.

Mediante la bioaccesibilidad in vitro evaluada en cada fase, se pretendió conocer en qué fase del proceso digestivo el Se es más bioaccesible. Como se ha descrito anteriormente, entre las fuentes de Se utilizadas se destacó el papel del SeMNF debido a que presentó una mayor bioaccesibilidad. En el brócoli crudo en la fase oral, gástrica e intestinal se encontró porcentajes bioaccesibles del 14,06, 12,8, 12,14 %, respectivamente (Figura 6). Se sabe que el intestino es el principal responsable de la absorción de nutrientes, gracias a las enzimas pancreáticas, sales biliares y, además de poseer una estructura con vellosidades y microvellosidades lo que amplía la superficie de absorción, así como también, el tiempo de tránsito aseguran una absorción eficiente de los nutrientes (Cabañero et al., 2004; Lavu et al., 2016). Tras el posprocesamiento la bioaccesibilidad varió, en la fase oral fue 3,32 %, en la fase gástrica fue 8,84 % y en la fase intestinal fue 23,27 %, aumentando en un 54 % en comparación a los brócolis crudos en esta última fase. De acuerdo a lo reportado por de Lima et al. (2023), en arroz encontraron el 8,85 % en la fase oral, el 43,87 % en la fase gástrica y 8,40 % en la fase

intestinal, difiriendo de los resultados obtenidos en este trabajo. También se encontraron los siguientes porcentajes bioaccesibles para rábano en la fase oral, gástrica e intestinal de 20,8, 81,6 y 95,5 %, respectivamente del contenido total de Se en cada fase (Hu et al., 2019). Esto evidencia cómo el posprocesamiento puede modificar la bioaccesibilidad del Se en cada fase del proceso digestivo tras el consumo de brócolis.

El selenio (Se) es un nutriente esencial para los seres humanos, ya que desempeña un papel importante en la salud. Sin embargo, debido al estrecho rango entre la dosis inadecuada ($<40 \mu\text{g día}^{-1}$), esencial ($70 \mu\text{g día}^{-1}$) y tóxica ($>400 \mu\text{g día}^{-1}$), la ingesta excesiva o insuficiente del Se puede tener impactos negativos en la salud (FNB-NASEM, 2025). De acuerdo al consumo medio de 40 g día^{-1} de brócoli en la fuente de SeMNF se satisface con un poco más de la mitad de Se tras el consumo de brócoli crudo y la tercera parte en brócoli cocido (Tabla 5), y combinado con una dieta balanceada al ingerir otros alimentos también enriquecidos con Se, se podría llegar a la dosis recomendada de $70 \mu\text{g día}^{-1}$. Así también, en un trabajo realizado en lechuga biofortificada con selenito ($40 \mu\text{mol Se L}^{-1}$) considerándose un consumo de 30 g de lechuga (aproximadamente, cuatro hojas) por día, lleva a la ingesta de casi el 100 % del valor recomendado para Se, y de otros nutrientes como Cu, Fe, Mn, Mo, y Zn contribuyen con 0,9, 0,7, 4,8, 62 y 1 % de los valores recomendados (do Nascimento da Silva and Cadore, 2019). Por lo que, el consumo inadecuado de Se está relacionado a enfermedades cardiovasculares, diabetes, la enfermedad de Keshan e incluso puede causar la muerte de las personas (Kuria et al., 2021).

CONCLUSIONES

1. La biofortificación agronómica del brócoli mediante la fertilización foliar se revela como una estrategia prometedora para incrementar el contenido de selenio (Se) en este vegetal. De las fuentes de Se evaluadas, SeMNF demostró ser la más efectiva, alcanzando los mayores niveles de Se, lo que se traduce en una menor necesidad de consumo de brócoli en comparación con otras fuentes. La presencia simultánea de Se, zinc (Zn) y magnesio (Mg) en SeMNF podría haber potenciado la eficiencia de absorción y redistribución del Se, así como la de los demás elementos presentes, gracias a la interacción sinérgica entre ellos. SeMNF presentó porcentajes de bioaccesibilidad del 39,18 % en brócoli crudo y del 35,43 % en brócoli cocido.
2. El procesamiento posterior a la cocción afectó significativamente el contenido total y bioaccesible de Se en todas las fuentes evaluadas. Tras este proceso, el contenido total de Selenio se redujo a 12,03 mg Se kg⁻¹, y la bioaccesibilidad disminuyó un 27,52 %, alcanzando el 35,43 %.
3. Se concluyó que la cocción incrementa la bioaccesibilidad de Se en la fase intestinal en un 54 % en comparación con el brócoli crudo. En cuanto a los otros nutrientes evaluados en SeMNF, el Zn presentó una bioaccesibilidad del 54 % en brócoli crudo y del 49 % en brócoli cocido

RECOMENDACIONES

1. Promover el uso de SeMNF como fuente principal de selenio en la biofortificación de brócoli: Dado que SeMNF mostró los mejores resultados en términos de concentración de selenio, se recomienda su uso como la fuente principal para la biofortificación de brócoli. Esta recomendación está dirigida a los agricultores y productores de brócoli, quienes pueden adoptar esta estrategia para incrementar el contenido de selenio en sus cultivos. Al hacerlo, se facilitaría la inclusión de este micronutriente en la dieta humana, lo que podría contribuir a la reducción de deficiencias de selenio en la población.
2. Investigar métodos de cocción que minimicen la pérdida de selenio: Aunque la bioaccesibilidad de selenio es bastante alta en el brócoli crudo y posprocesado, es fundamental investigar cómo mantener o incluso mejorar estos valores tras el proceso de cocción. Esta recomendación está dirigida a investigadores en el campo de la nutrición y la ciencia de los alimentos, quienes podrían explorar métodos de cocción alternativos, como la cocción al vapor o el uso de microondas, que han demostrado ser más efectivos para preservar los nutrientes en los vegetales. Además, se sugiere realizar estudios que evalúen el impacto de diferentes tiempos y temperaturas de cocción en la retención de selenio.
3. Desarrollar campañas de educación nutricional sobre la importancia del selenio: Es crucial que se implementen campañas de educación nutricional dirigidas a la población en general, enfocándose en la importancia del selenio y cómo la biofortificación de brócoli puede ayudar a satisfacer las necesidades diarias de este micronutriente. Esta recomendación está dirigida a profesionales de la salud pública y nutricionistas, quienes pueden trabajar en colaboración con instituciones educativas y organizaciones comunitarias para aumentar la conciencia sobre la biofortificación y sus beneficios (Soto, 2024). Estas campañas podrían incluir talleres, folletos informativos y actividades interactivas que promuevan el consumo de brócoli enriquecido con selenio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ari, B., Öz, E., Can, S. Z., & Bakirdere, S. (2022). Bioaccessibility and bioavailability of selenium species in Se-enriched leeks (*Allium Porrum*) cultivated by hydroponically. *Food Chemistry*, 372. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131314>
- Astaneh, R. K., Bolandnazar, S., Nahandi, F. Z., & Oustan, S. (2018). The effects of selenium on some physiological traits and K, Na concentration of garlic (*Allium sativum* L.) under NaCl stress. *Information Processing in Agriculture*, 5(1), 156–161. <https://doi.org/10.1016/j.inpa.2017.09.003>
- Baek, K., & Skinner, D. Z. (2012). *Production of reactive oxygen species by freezing stress and the protective roles of antioxidant enzymes in plants*. 1(1), 34–40.
- Bañuelos, G. S., Arroyo, I. S., Dangi, S. R., & Zambrano, M. C. (2016a). Continued selenium biofortification of carrots and broccoli grown in soils once amended with Se-enriched *S. Pinnata*. *Frontiers in Plant Science*, 7(AUG2016). <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01251>
- Bañuelos, G. S., Arroyo, I. S., Dangi, S. R., & Zambrano, M. C. (2016b). Continued selenium biofortification of carrots and broccoli grown in soils once amended with Se-enriched *S. Pinnata*. *Frontiers in Plant Science*, 7(AUG2016). <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01251>
- Bouranis, D. L., Stylianidis, G. P., Manta, V., Karousis, E. N., Tzanaki, A., Dimitriadi, D., Bouzas, E. A., Siyiannis, V. F., Constantinou-Kokotou, V., Chorianopoulou, S. N., & Bloem, E. (2023). Floret Biofortification of Broccoli Using Amino Acids Coupled with Selenium under Diff Surfactants: A Case Study of Cultivating Functional Foods. *Plants*, 12(6). <https://doi.org/10.3390/plants12061272>
- Cipriano, P. E., da Silva, R. F., de Lima, F. R. D., de Oliveira, C., de Lima, A. B., Celante, G., Dos Santos, A. A., Archilha, M. V. L. R., Pinatto-Botelho, M. F., Faquin, V.,

- & Guilherme, L. R. G. (2022). Selenium biofortification via soil and its effect on plant metabolism and mineral content of sorghum plants. *Journal of Food Composition and Analysis*, *109*. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104505>
- De Lima, A. B., de Andrade Vilalta, T., Lessa, J. H. de L., Lopes, G., Guilherme, L. R. G., & Guerra, M. B. B. (2023). Selenium bioaccessibility in rice grains biofortified via soil or foliar application of inorganic Se. *Journal of Food Composition and Analysis*, *124*. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105652>
- Delaqua, D., Carnier, R., Cadore, S., Sanches, V. L., Berton, R. S., Corbi, F. C. A., & Coscione, A. R. (2022). In vitro bioaccessibility and bioavailability of selenium in agronomic biofortified wheat. *Journal of Food Composition and Analysis*, *105*. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104253>
- Dinh, Q. T., Cui, Z., Huang, J., Tran, T. A. T., Wang, D., Yang, W., Zhou, F., Wang, M., Yu, D., & Liang, D. (2018). Selenium distribution in the Chinese environment and its relationship with human health: A review. In *Environment International* (Vol. 112, pp. 294–309). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.12.035>
- Fernández-García, E., Carvajal-Lérida, I., & Pérez-Gálvez, A. (2009). In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. In *Nutrition Research* (Vol. 29, Issue 11, pp. 751–760). <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2009.09.016>
- Galić, L., Vinković, T., Ravnjak, B., & Lončarić, Z. (2021a). Agronomic biofortification of significant cereal crops with selenium—a review. *Agronomy*, *11*(5). <https://doi.org/10.3390/agronomy11051015>
- Galić, L., Vinković, T., Ravnjak, B., & Lončarić, Z. (2021b). Agronomic biofortification of significant cereal crops with selenium—a review. *Agronomy*, *11*(5). <https://doi.org/10.3390/agronomy11051015>

- Ghasemi, Y., Ghasemi, K., Pirdashti, H., & Asgharzadeh, R. (2016). *Effect of Selenium Enrichment on the Growth, Photosynthesis and Mineral Nutrition of Broccoli*. 8(May), 199–203. <https://doi.org/10.15835/nsb.8.2.9804>
- Gonnella, M., Renna, M., Imperio, M. D., Santamaría, P., & Serio, F. (2019). *Iodine Biofortification of Four Brassica Genotypes is Effective Already at Low Rates of Potassium Iodate*. 1–14. <https://doi.org/10.3390/nu11020451>
- Hernández-Díaz, J. A., & Garza-García, J. J. O. (2020). *Beneficial Elements Improve the Growth, Biomass Production, and Photosynthetic Pigments of Calendula officinalis L. Seedlings*. 717214, 413–423.
- Horner, N. S., & Beauchemin, D. (2013). The effect of cooking and washing rice on the bio-accessibility of As, Cu, Fe, V and Zn using an on-line continuous leaching method. *Analytica Chimica Acta*, 758, 28–35. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.11.011>
- Kipp, A. P., Strohm, D., Brigelius-Flohé, R., Schomburg, L., Bechthold, A., Leschik-Bonnet, E., & Hesecker, H. (2015). Revised reference values for selenium intake. In *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* (Vol. 32, pp. 195–199). Elsevier GmbH. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2015.07.005>
- Kumar Yadav, R., Asati, R., & Choudhary, R. (2024). *Biofortification: A Solution of Malnutrition and Hidden Hunger*. <https://www.researchgate.net/publication/377117152>
- Kuria, A., Tian, H., Li, M., Wang, Y., Aaseth, J. O., Zang, J., & Cao, Y. (2021). Selenium status in the body and cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 61, Issue 21, pp. 3616–3625). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1803200>

- Lopes, G., Ávila, F. W., & Guilherme, L. R. G. (2017). Comportamento de selênio no solo e sua implicação para a saúde humana. In *Ciencia e Agrotecnologia* (Vol. 41, Issue 6, pp. 605–615). Federal University of Lavras. <https://doi.org/10.1590/1413-70542017416000517>
- Manojlović, M. S., Lončarić, Z., Cabilovski, R. R., Popović, B., Karalić, K., Ivezić, V., Ademi, A., & Singh, B. R. (2019). Biofortification of wheat cultivars with selenium. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science*, 69(8), 715–724. <https://doi.org/10.1080/09064710.2019.1645204>
- Medrano-Macías, J., Leija-Martínez, P., González-Morales, S., Juárez-Maldonado, A., & Benavides-Mendoza, A. (2016). *Use of Iodine to Biofortify and Promote Growth and Stress Tolerance in Crops*. 7(August), 1–20. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01146>
- Moreda-Piñeiro, J., Moreda-Piñeiro, A., & Bermejo-Barrera, P. (2017). In vivo and in vitro testing for selenium and selenium compounds bioavailability assessment in foodstuff. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(4), 805–833. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.934437>
- Poblaciones, M. J., & Broadley, M. R. (2022a). Foliar selenium biofortification of broccolini: effects on plant growth and mineral accumulation. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 97(6), 730–738. <https://doi.org/10.1080/14620316.2022.2068458>
- Sohrabi, M., Mehrjerdi, M. Z., Karimi, S., & Tavallali, V. (2020). Using gypsum and selenium foliar application for mineral biofortification and improving the bioactive compounds of garlic ecotypes. *Industrial Crops and Products*, 154(June), 112742. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112742>
- Tian, M., Yang, Y., A, F. W., Fish, T., Yuan, H., Hui, M., & Pan, S. (2018). *Effects of Selenium Supplementation on Glucosinolate Biosynthesis in Broccoli*. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b03396>

- White, P. J. (2018). Selenium metabolism in plants. In *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects* (Vol. 1862, Issue 11, pp. 2333–2342). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2018.05.006>
- White, P. J., & Broadley, M. R. (2009). Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets - Iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. In *New Phytologist* (Vol. 182, Issue 1, pp. 49–84). <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02738.x>
- Yang, H., Yang, X., Ning, Z., Kwon, S. Y., Li, M. L., Tack, F. M. G., Kwon, E. E., Rinklebe, J., & Yin, R. (2022). The beneficial and hazardous effects of selenium on the health of the soil-plant-human system: An overview. In *Journal of Hazardous Materials* (Vol. 422). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126876>
- Zanandrea, I., Alves, J. D., Deuner, S., Goulart, P. D. F. P., Henrique, P. D. C., & Silveira, N. M. (2009). Tolerance of *Sesbania virgata* plants to flooding. *Australian Journal of Botany*, 57(8), 661–669. <https://doi.org/10.1071/BT09144>
- Zeng, J. Y., Guan, D. X., Dai, Z. H., Chen, J. Y., Dong, W. J., Ding, S., & Ma, L. Q. (2023). Selenium contents, speciation and bioaccessibility of Se-enriched rice grains from Chinese markets. *Soil and Environmental Health*, 1(3). <https://doi.org/10.1016/j.seh.2023.100037>
- Zhang, H., Zhao, Z., Zhang, X., Zhang, W., Huang, L., Zhang, Z., Yuan, L., & Liu, X. (2019a). Effects of foliar application of selenate and selenite at different growth stages on Selenium accumulation and speciation in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Food Chemistry*, 286(1), 550–556. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.185>
- Zhang, H., Zhao, Z., Zhang, X., Zhang, W., Huang, L., Zhang, Z., Yuan, L., & Liu, X. (2019b). Effects of foliar application of selenate and selenite at different growth stages on Selenium accumulation and speciation in potato (*Solanum tuberosum*

L.). *Food Chemistry*, 286(1), 550–556.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.185>

Bouranis, D., Stylianidis, G., Manta, V., Karousis, E., Tzanaki, A., Dimitriadi, D., ... & Bloem, E. (2023). Floret biofortification of broccoli using amino acids coupled with selenium under different surfactants: a case study of cultivating functional foods. *Plants*, 12(6), 1272. <https://doi.org/10.3390/plants12061272>

D'Amato, R., Regni, L., Falcinelli, B., Mattioli, S., Benincasa, P., Bosco, A., ... & Businelli, D. (2020). Current knowledge on selenium biofortification to improve the nutraceutical profile of food: a comprehensive review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(14), 4075-4097. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00172>

García, S. and Raghavan, V. (2022). Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from broccoli (*brassica oleracea*) stems, leaves, and florets: optimization, characterization, and comparison with maceration extraction. *Recent Progress in Nutrition*, 2(2), 1-1. <https://doi.org/10.21926/rpn.2202011>

Gui, J., Rao, S., Gou, Y., Xu, F., & Cheng, S. (2021). Comparative study of the effects of selenium yeast and sodium selenite on selenium content and nutrient quality in broccoli florets (*brassica oleracea* l. var. *italica*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(4), 1707-1718. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11511>

Shi, M., Hlaing, M., Ying, D., Ye, J., & Augustin, M. (2019). New food ingredients from broccoli by-products: physical, chemical and technological properties. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(4), 1423-1432. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14111>

Zandani, G., Anavi-Cohen, S., Tsybina-Shimshilashvili, N., Sela, N., Nyska, A., & Madar, Z. (2021). Broccoli florets supplementation improves insulin sensitivity and alters gut microbiome population—a steatosis mice model induced by high-fat diet. *Frontiers in Nutrition*, 8. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.680241>

- Castrillón-Lozano, J. (2023). Fístula enterocutánea: un enfoque desde las generalidades y el estado nutricional. *Revista Colombiana De Cirugía*. <https://doi.org/10.30944/20117582.2327>
- Fosch, X., Serra, J., Torres, P., Preda, L., González, R., & Mojer, F. (2022). Miocarditis aguda tras la tercera dosis de la vacuna bnt162b2 contra la covid-19. *Revista Española De Cardiología*, 75(7), 614-616. <https://doi.org/10.1016/j.recesp.2022.01.004>
- Lima, M., Lopes, I., Silva, K., Miranda, H., Almeida, A., & Duarte, E. (2020). Uso de aditivos em dietas para leitões em fase de creche: uma revisão. *Research Society and Development*, 9(12), e26491211081. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i12.11081>
- Lima, M., Moreira, M., Maynard, D., & Cruz, M. (2021). Alterações fisiológicas e comportamentais da mulher no ciclo menstrual e o impacto da suplementação nutricional. *Research Society and Development*, 10(16), e428101623925. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i16.23925>
- Álava-Vera, J. (2024). Efecto promotor de crecimiento en diferentes niveles de administración de un acidificante en lechonas destetadas. *Mqinvestigar*, 8(3), 2925-2938. <https://doi.org/10.56048/mqr20225.8.3.2024.2925-2938>
- Aloo, S., Ofosu, F., Kilonzi, S., Shabbir, U., & Oh, D. (2021). Edible plant sprouts: health benefits, trends, and opportunities for novel exploration. *Nutrients*, 13(8), 2882. <https://doi.org/10.3390/nu13082882>
- Du, M. (2024). De novo assembly and characterization of the transcriptome of morchella esculenta growth with selenium supplementation. *Peerj*, 12, e17426. <https://doi.org/10.7717/peerj.17426>
- Ebert, A. (2022). Sprouts and microgreens-novel food sources for healthy diets. *Plants*, 11(4), 571. <https://doi.org/10.3390/plants11040571>

- El-Ramady, H., Faizy, S., Abdalla, N., Taha, H., Domokos-Szabolcsy, É., Fári, M., ... & Brevik, E. (2020). Selenium and nano-selenium biofortification for human health: opportunities and challenges. *Soil Systems*, 4(3), 57. <https://doi.org/10.3390/soilsystems4030057>
- Gui, J., Rao, S., Gou, Y., Xu, F., & Cheng, S. (2021). Comparative study of the effects of selenium yeast and sodium selenite on selenium content and nutrient quality in broccoli florets (*brassica oleracea* l. var. *italica*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(4), 1707-1718. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11511>
- Liu, Y. (2024). Selenium treatment regulated the accumulation of reactive oxygen species and the expressions of related genes in postharvest broccoli. *Agronomy*, 14(5), 1047. <https://doi.org/10.3390/agronomy14051047>
- Skrypnik, L., Novikova, A., & Tokupova, E. (2019). Improvement of phenolic compounds, essential oil content and antioxidant properties of sweet basil (*ocimum basilicum* l.) depending on type and concentration of selenium application. *Plants*, 8(11), 458. <https://doi.org/10.3390/plants8110458>
- Reddy, B. (2024). A comprehensive review on biofortification in vegetable crops. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, 27(8), 1448-1458. <https://doi.org/10.9734/jabb/2024/v27i81267>

ANEXOS

ANEXO 01: PANEL FOTOGRÁFICO**Figura 7**

Crecimiento de Brócolis del cultivar avenger en invernadero

**Figura 8**

Cabezas de brócolis antes de la cosecha



Figura 9

Producción de brócolis con Se



ANEXO 02: CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividad	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6	Mes 7	Mes 8	Mes 9	Mes 10	Mes 11	Mes 12
Revisión de bibliografía	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Corrección del pH del suelo	x	x	x									
Plantación de las semillas			x	x								
Trasplante a vasos					x							
Aplicación de selenio					x							
Colecta de los flósculos de brócoli						x						
Realización de los análisis de Se total y bioaccesibilidad en brócolis						x	x					
Recolección de datos						x	x	x				

ANEXO 03: MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	INDICADORES	MÉTODO	INSTRUMENTO
<p>Problema general:</p> <p>¿Cuál será la bioaccesibilidad del Se, S, Mg y Zn en flósculos de brócoli a través de la biofortificación agronómica con Selenio?</p> <p>Problemas específicos:</p> <p>¿Cuál será la mejor fuente de Se en el cultivo de brócoli con el fin de desarrollar flósculos de brócoli biofortificados?</p> <p>¿Cómo afectan las estrategias de posprocesado del brócoli en la bioaccesibilidad de Se??</p> <p>¿En cuál de las fases: oral, gástrica o intestinal el Se es más bioaccesible?</p>	<p>Objetivo general:</p> <p>Determinar la bioaccesibilidad de Se, S, Mg y Zn en flósculos de brócoli para mejorar la nutrición humana a través de la biofortificación agronómica y enfrentar la inseguridad alimentar.</p> <p>Objetivos específicos:</p> <ol style="list-style-type: none"> Definir la mejor fuente de Se en el cultivo de brócoli con el fin de desarrollar flósculos de brócoli biofortificados. Evaluar cómo afectan las diferentes estrategias de posprocesado del brócoli cosechado al contenido en Se, de los flósculos biofortificados. Evaluar las cantidades bioaccesibles de Se en flósculos de brócoli biofortificados con Se. 	<p>Hipótesis general:</p> <p>La hipótesis del estudio es cómo la biofortificación con Se en brócoli y las estrategias de posprocesado influyen la bioaccesibilidad en los flósculos.</p> <p>Hipótesis específicas:</p> <ol style="list-style-type: none"> Definir la mejor fuente de Se con el fin de desarrollar floretes de brócoli biofortificados. Evaluar cómo afectan la estrategia de posprocesado del brócoli en la bioaccesibilidad de Se. Determinar en cuál de las fases: oral, gástrica o intestinal el Se es más bioaccesible. 	<p>VI: Independiente</p> <p>Aplicación de Se en los flósculos de brócoli.</p> <p>VD: Variable dependiente</p> <p>Fracción bioaccesible de Se, en cada una de las fases: oral, gástrica e intestinal</p>	<p>Fracción bioaccesible de selenio (Se):</p> <p>En la fase oral.</p> <p>En la fase gástrica.</p> <p>En la fase intestinal.</p>	<p>Diseño experimental con tratamiento de biofortificación agronómica (aplicación de selenio al cultivo de brócoli).</p> <p>Evaluación de la bioaccesibilidad mediante análisis químicos y simulaciones de digestión in vitro.</p>	<p>Simulador de digestión in vitro para evaluar las fases oral, gástrica e intestinal.</p> <p>Espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS): Para detectar el Se total y bioaccesible.</p>