



INFORME TECNICO FINAL

Nombre del proyecto	Valorización del brócoli y sus sub-productos mediante la optimización de su cultivo para producir un extracto rico en sulforafano y antioxidantes que sea aplicable como nutraceutico.
Código del proyecto	PYT-2018-0316
Informe final	
Período informado (considerar todo el período de ejecución)	Marzo 2018 hasta febrero 2021
Fecha de entrega	

Nombre coordinador	Rodrigo Del Rio Troncoso
Firma	

INSTRUCCIONES PARA CONTESTAR Y PRESENTAR EL INFORME

- Todas las secciones del informe deben ser contestadas, utilizando caracteres tipo Arial, tamaño 11.
- Sobre la información presentada en el informe:
 - Debe dar cuenta de todas las actividades realizadas en el marco del proyecto, considerando todo el período de ejecución, incluyendo los resultados finales logrados del proyecto; la metodología utilizada y las modificaciones que se le introdujeron; y el uso y situación presente de los recursos utilizados, especialmente de aquellos provistos por FIA.
 - Debe estar basada en la última versión del Plan Operativo aprobada por FIA.
 - Debe ser resumida y precisa. Si bien no se establecen números de caracteres por sección, no debe incluirse información en exceso, sino solo aquella información que realmente aporte a lo que se solicita informar.
 - Debe ser totalmente consistente en las distintas secciones y se deben evitar repeticiones entre ellas.
 - Debe estar directamente vinculada a la información presentada en el informe financiero final y ser totalmente consistente con ella.
- Sobre los anexos del informe:
 - Deben incluir toda la información que complemente y/o respalde la información presentada en el informe, especialmente a nivel de los resultados alcanzados.
 - Se deben incluir materiales de difusión, como diapositivas, publicaciones, manuales, folletos, fichas técnicas, entre otros.
 - También se deben incluir cuadros, gráficos y fotografías, pero presentando una descripción y/o conclusiones de los elementos señalados, lo cual facilite la interpretación de la información.
- Sobre la presentación a FIA del informe:
 - Se deben entregar tres copias iguales, dos en papel y una digital en formato Word (CD o pendrive).
 - La fecha de presentación debe ser la establecida en el Plan Operativo del proyecto, en la sección detalle administrativo. El retraso en la fecha de presentación del informe generará una multa por cada día hábil de atraso equivalente al 0,2% del último aporte cancelado.
 - Debe entregarse en las oficinas de FIA, personalmente o por correo. En este último caso, la fecha válida es la de ingreso a FIA, no la fecha de envío de la correspondencia.

- El FIA se reserva el derecho de publicar una versión del Informe Final editada especialmente para estos efectos.

CONTENIDO

1.	ANTECEDENTES GENERALES.....	5
2.	EJECUCIÓN PRESUPUESTARIA DEL PROYECTO	5
3.	RESUMEN EJECUTIVO.....	6
4.	OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO.....	10
5.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS (OE).....	10
6.	RESULTADOS ESPERADOS (RE).....	11
7.	CAMBIOS Y/O PROBLEMAS DEL PROYECTO	17
8.	ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL PERÍODO	19
9.	POTENCIAL IMPACTO	21
10.	CAMBIOS EN EL ENTORNO.....	21
11.	DIFUSIÓN.....	22
12.	PRODUCTORES PARTICIPANTES	23
13.	CONSIDERACIONES GENERALES.....	24
14.	CONCLUSIONES	27
15.	RECOMENDACIONES.....	27
16.	ANEXOS.....	28
17.	BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA	28

1. ANTECEDENTES GENERALES

Nombre Ejecutor:	Pontificia Universidad Católica de Chile
Nombre(s) Asociado(s):	1.- Universidad de Santiago de Chile 2.- Teresa Hinojosa Arriagada 3.- Ximena Hinojosa Arriagada 4.- María Soledad Hinojosa Arriagada 5.- Evelyn Paz Quezada Bahamondez 6.- Iván Castillo Ibarra
Coordinador del Proyecto:	Rodrigo Del Rio Troncoso
Regiones de ejecución:	Metropolitana
Fecha de inicio iniciativa:	Marzo 2018
Fecha término Iniciativa:	Marzo 2021

2. EJECUCIÓN PRESUPUESTARIA DEL PROYECTO

Costo total del proyecto	
Aporte total FIA	
Aporte Contraparte	Pecuniario
	No Pecuniario
	Total

Acumulados a la Fecha		Monto (\$)
Aportes FIA del proyecto		
1. Total de aportes FIA entregados		
2. Total de aportes FIA gastados		
3. Saldo real disponible (Nº1 – Nº2) de aportes FIA		
Aportes Contraparte del proyecto		
1. Aportes Contraparte programado	Pecuniario	
	No Pecuniario	
2. Total de aportes Contraparte gastados	Pecuniario	
	No Pecuniario	
3. Saldo real disponible (Nº1 – Nº2) de aportes Contraparte	Pecuniario	
	No Pecuniario	

3. RESUMEN EJECUTIVO

3.1 Resumen del período no informado

Informar de manera resumida las principales actividades realizadas y los principales resultados obtenidos durante el período comprendido entre el último informe técnico de avance y el informe final. Entregar valores cuantitativos y cualitativos.

En la última etapa de este proyecto nos planteamos determinar la posible existencia de diferencias relacionadas al sexo sobre el impacto del extracto sobre la función cardíaca y la predisposición a arritmias. Para esto, administramos diariamente y durante 14 días una dosis de 3 mg/kg del extracto de sulforafano vía oral (gavage) a 6 ratas hembra adultas (aproximadamente 350 gr, 12 semanas de edad). Como controles utilizamos 6 ratas hembra a las que se le administro una solución salina (NaCl 0.9%). Finalizado el tratamiento evaluamos mediante un transductor de presión y volumen intracardiaco la función cardíaca sistólica y diastólica. Además, se utilizó un electrocardiograma de tres derivaciones para puntuar los eventos arrítmicos. Las mediciones fueron realizadas antes y después de la administración de isoproterenol (5mg/kg I.P.) en animal anestesiado. Similar a lo observado en ratas macho, la administración de isoproterenol en ratas hembra controles dio como resultado (antes y después): un aumento de 1,5 veces en la incidencia de eventos arrítmicos y un deterioro de la función diastólica cardíaca. En comparación con las ratas controles, las ratas con sulforafano mostraron menos eventos arrítmicos después de la administración de isoproterenol. Además, no se encontraron alteraciones en la función cardíaca por isoproterenol en ratas hembra. Por el contrario, las ratas con sulforafano posterior a la administración de isoproterenol se comportaron de manera similar a lo que se observó en las ratas controles previo a la administración del fármaco. Nuestros resultados indican que la dieta con sulforafano en ratas hembra pueden desempeñar un papel protector en el desarrollo de arritmias cardíacas y deterioro de la función cardíaca durante una actividad simpática elevada, similar a lo observado en animales machos.

3.2 Resumen del proyecto

Informar de manera resumida las principales actividades realizadas y los principales resultados obtenidos durante todo el período de ejecución del proyecto. Entregar valores cuantitativos y cualitativos.

Nuestro primer objetivo fue determinar las condiciones óptimas de siembra, cultivo y cosecha de brócoli para obtener altos niveles de sulforafano en la planta. Para esto, el día 14 de marzo del año 2018 se realizó la siembra de 64 almácigos de la variedad Avenger en un invernadero no calefaccionado de la Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Campus San Joaquín, de la P. Universidad Católica de Chile (PUC). EL día 02 de mayo se realizó el trasplante de cada planta a una unidad experimental la cual consistió en 4 plantas dispuestas en cuatro bloques (repeticiones). Durante el cultivo se realizaron cuatro tratamientos consistentes en distintas dosis de fertilizante (anexo 1), los que se aplicaron a cada maceta vía fertirrigación. Durante el mes de agosto del mismo año se lograron cosechar 3 plantas por cada bloque y el muestreo del material vegetal

de los distintos tratamientos fue enviado al laboratorio de análisis químico de la Universidad de Santiago de Chile (USACH) para el análisis del contenido de Sulforafano y Glucorafanina en distintas estructuras de las plantas, lo que incluyó la pella, hojas y tallo del brócoli. La cuantificación de Sulforafano y Glucorafanina se determinó mediante HPLC de fase reversa, según el método descrito en el anexo 1. De este análisis se logró determinar que independiente del tratamiento de fertilización, la pella de las plantas presentó en promedio hasta 5.6 y 7.8 veces más concentración de sulforafano que en las hojas y en el tallo, respectivamente (pella: 96.5 ± 24.8 ; hojas: 17.3 ± 4.1 ; tallo: 12.3 ± 1.9 mg/100gr de materia seca). Lo mismo ocurrió con la concentración de glucorafanina (precursor), donde en pella se alcanzó aproximadamente hasta 2.2 y 1.6 veces más concentración en comparación a las hojas y tallos, respectivamente (pella: 60.5 ± 21.3 ; hojas: 26.6 ± 5.5 ; tallo: 37.2 ± 5.4 mg/100gr de materia seca). Sin embargo, las pellas de las plantas sometidas al tratamiento de fertilización 3 (Nitrógeno 7 mM, Fósforo 0.5 mM, Potasio 3 mM, Calcio 2 mM, Magnesio 2mM y Azufre 2 mM) alcanzaron hasta un 60% más de contenido de sulforafano en comparación a los otros tratamientos (134.0 ± 30.3 mg/100gr materia seca). Por otra parte, se evaluó las condiciones óptimas de cultivo para 11 diferentes tipos de genotipos de brócoli. Se cultivaron los 11 genotipos en tres diferentes suelos y condiciones de cultivo: cultivares en sustrato, cultivares en parcelas de docencia, y cultivares en campo de agricultor (ver anexo 1). En las 2 primeras condiciones de cultivo se utilizó una fertilización estándar controlada cada dos semanas (anexo 1). De los genotipos estudiados en el ensayo en sustrato, encontramos que, en 3 de ellos; SV1810, SV1691 y HERITAGE, la cantidad de sulforafano en pella superó los 200 mg/100gr de materia seca. El resto de los genotipos obtuvieron en promedio una cantidad de 150.6 ± 28.9 mg/100gr de Sulforafano en materia seca. En el ensayo en cultivares de parcelas de docencia (campo PUC), 4 genotipos: SV1771LB, LIEUTENANT, SV1810 y SV1691 el contenido de Sulforafano en pella alcanzó en promedio los 250 mg/100gr de materia seca. El resto de los genotipos obtuvieron en promedio una cantidad de 111.6 ± 41.3 mg/100gr de Sulforafano en materia seca. Mientras que, en el campo de Peñaflor, donde el manejo del cultivo correspondió al mismo que realiza el agricultor en sus producciones de brócoli y otras básicas, solo 2 genotipos; OSPREY y SV1857LB, la cantidad de sulforafano en pella promedió los 200 mg/100gr de materia seca. El resto de los genotipos obtuvieron en promedio una cantidad de 85.4 ± 35.3 mg/100gr de Sulforafano en materia seca. Estos resultados nos indican que bajo condiciones experimentales y controladas de cultivo los genotipos SV1810 y SV1691 son las que alcanzaron la mayor cantidad de Sulforafano en pella. Además, indican que más que el genotipo, los tipos de suelos son determinantes para obtener una mayor cantidad de Sulforafano en la planta de brócoli.

Nuestro segundo objetivo fue determinar las condiciones de extracción necesarios para maximizar el rendimiento de sulforafano por unidad de biomasa en la planta de brócoli. En primer lugar, y en base factores de seguridad, tiempos de producción y productividad se determinó preliminarmente que una proporción de 20:80 (agua:etanol), con un tiempo

de extracción de 30 minutos a una razón sólido:líquido de 1:20 alcanza una recuperación de Sulforafano en el extracto de aproximadamente 318 mg/100gr de materia seca, lo cual corresponde a aproximadamente un 85% de recuperación (anexo 2). En base a estos resultados, se establecieron los factores y niveles a considerar en el diseño estadístico conducente a identificar las condiciones que maximizaran la extracción a nivel experimental, esto incluyó, el contenido de sulforafano, glucorafanina y capacidad antioxidante en términos de polifenoles totales. Mediante un diseño factorial multinivel fraccionado se determinó que el protocolo de extracción utilizando una razón sólido:líquido igual a 1:50, 80% de etanol en agua y 70 minutos de extracción produjo 1.07 mg de sulforafano a partir de 1 gramo de brócoli (anexo 2). Posteriormente, se realizaron pruebas piloto del proceso de extracción a un nivel tal que permita obtener las cantidades de sulforafano necesarias para conducir los experimentos *in vivo*. De 3 procesos ensayados, se concluyó que la alternativa que considera la extracción directa desde el vegetal pretratado utilizando dimetilsulfóxido (DMSO) como extractante tuvo mayores ventajas en relación con los otros 2 en términos de costo de producción, tiempos de procesamiento y pureza del extracto (anexo 2). Finalmente, el extracto acuoso de harina de brócoli se sometió a un proceso de liofilización obteniéndose 150 mg de sulforafano en 5 g de polvo liofilizado (anexo 2).

El último objetivo del proyecto establecía comprobar el potencial antioxidante del extracto de brócoli enriquecido en sulforafano y evaluar sus propiedades cardiovasculares en un modelo preclínico (ratas Sprague Dawley adultas). Con relación a la capacidad antioxidante encontramos que el extracto de brócoli rico en SFN contiene una alta capacidad de eliminación de radicales libres (FRSA) (5.3 ± 0.1 mg TE/d peso seco) medido por la concentración de radical estable 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH ·). Además, encontramos que la capacidad de reducción férrica (FRAP) del extracto fue de 2.9 ± 0.04 mg TE/d peso seco. También evaluamos la presencia de fenoles en la cabeza del brócoli, los cuales también se ha descrito su capacidad antioxidante, el cual arrojó un valor de 8.8 ± 0.5 mg GAE/g peso seco (anexo 3). Además, encontramos que el suplemento dietético de extracto de brócoli suministrado en ratas sanas adultas reduce el estrés oxidativo cardíaco basal. Esto fue evidenciado *in vitro* mediante la cuantificación de la producción de especies radicales de oxígeno, mediante la tinción de la sonda di-hidroetidio (DHE) (anexo 3). De manera interesante, el tejido cardíaco de los animales sin el tratamiento con sulforafano (controles) mostraron aproximadamente un 25% más de tinción de DHE en comparación con los corazones obtenidos de los animales tratados con sulforafano ($115,4 \pm 2,9$ vs $86,7 \pm 10,5$ au; CTRL frente a SFN, respectivamente). En lo que respecta al estudio del efecto del extracto de sulforafano sobre la función cardíaca en ratas macho, una dosis administrada vía oral de 3mg/kg/día durante 14 días no tuvo efectos negativos sobre la fisiología vascular y cardíaca en ratas sanas (Anexo 3). En comparación con los animales no tratados, las ratas tratadas con sulforafano mostraron valores similares de presión arterial media y de frecuencia cardíaca. Además, las ratas tratadas con sulforafano no mostraron cambios en

parámetros ecocardiográficos en comparación con las ratas controles (Anexo 3). Además, la función cardíaca, determinada mediante la cuantificación de las propiedades contráctiles y pasivas del corazón fueron similares entre los grupos. Por el contrario, el equilibrio cardíaco autónomico en animales tratados con SFN mostró un cambio significativo hacia la modulación vagal en comparación con las ratas no tratadas. De hecho, las ratas con sulforafano mostraron una disminución del componente espectral de baja frecuencia (LF) de la variabilidad del ritmo cardíaco (HVR) en comparación con el grupo control ($4,1 \pm 4,2$ frente a $13,4 \pm 8,0$ nu, SFN frente al grupo CTRL, respectivamente) y un aumento significativo en el componente de alta frecuencia (HF) de la HRV ($86,5 \pm 8,0$ frente a $95,9 \pm 4,2$ nu, CTRL frente a SFN, respectivamente). En consecuencia, la relación LF/HF disminuyó en los grupos SFN en comparación con el grupo CTRL. En términos clínicos, la dieta con sulforafano sugiere una predisposición al aumento del tono parasimpático por sobre el tono simpático a nivel cardíaco, lo cual podría impactar benéficamente sobre la alteración del balance autonómico, caracterizado por un incremento del tono simpático por sobre el parasimpático, y la función cardíaca en patologías cardiovasculares. De manera interesante, ambos grupos mostraron una incidencia de arritmias similar durante los registros basales ($12,0 \pm 9,9$ frente a $9,0 \pm 9,6$ eventos / hora, grupo CTRL frente a SFN, respectivamente). Sin embargo, la dieta con sulforafano protegió significativamente al corazón de la arritmogénesis cardíaca aguda inducida por isoproterenol, un agonista farmacológico de los β -receptores adrenérgicos, en aproximadamente en 3 veces. Es importante destacar que la Sulforafano no modificó la respuesta cronotrópica ni ionotrópica cardíaca a la estimulación β -adrenérgica y no comprometió la función cardíaca. A partir de estos resultados, y de los experimentos asociados a la extracción del sulforafano a partir del brocoli, hemos publicado un artículo de investigación en la revista indexada Journal of Functional Foods (Impact Factor = 3.7; Rank = Q1) titulado "Dietary supplementation of a sulforaphane-enriched broccoli extract protects the heart from acute cardiac stress" <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104267>.

4. OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO

Valorizar el cultivo de brócoli, subproductos y descartes, mediante la obtención de un extracto rico en sulforafano para ser aplicado como nutracéutico protector de la salud cardiovascular.

5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS (OE)

5.1 Porcentaje de Avance

El porcentaje de avance de cada objetivo específico se calcula luego de determinar el grado de avance de los resultados asociados a éstos. El cumplimiento de un 100% de un objetivo específico se logra cuando el 100% de los resultados asociados son alcanzados.

Nº OE	Descripción del OE	% de avance al término del proyecto ¹
1	Determinar las condiciones óptimas de siembra, cultivo y cosecha de brócoli para obtener altos niveles de sulforafano en la planta.	100
2	Determinar las condiciones de extracción necesarios para maximizar el rendimiento de sulforafano por unidad de biomasa en la planta de brócoli.	100
3	Estudiar el efecto de extractos de brócoli ricos en sulforafano sobre la función cardíaca y factores de riesgo de enfermedad cardiovascular en roedores.	100
4		
n		

¹ Para obtener el porcentaje de avance de cada Objetivo específico (OE) se promedian los porcentajes de avances de los resultados esperados ligados a cada objetivo específico para obtener el porcentaje de avance de éste último.

6. RESULTADOS ESPERADOS (RE)

Para cada resultado esperado debe completar la descripción del cumplimiento y la documentación de respaldo.

6.1 Cuantificación del avance de los RE al término del proyecto

El porcentaje de cumplimiento es el porcentaje de avance del resultado en relación con la línea base y la meta planteada. Se determina en función de los valores obtenidos en las mediciones realizadas para cada indicador de resultado.

El porcentaje de avance de un resultado no se define según el grado de avance que han tenido las actividades asociadas éste. Acorde a esta lógica, se puede realizar por completo una actividad sin lograr el resultado esperado que fue especificado en el Plan Operativo. En otros casos se puede estar en la mitad de la actividad y ya haber logrado el 100% del resultado esperado.

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado ² (RE)	Indicador de Resultados (IR)					Fecha alcance meta real ⁸	% de cumplimiento
			Nombre del indicador ³	Fórmula de cálculo ⁴	Línea base ⁵	Meta del indicador ⁶ (situación final)	Fecha alcance meta programada ⁷		
1	1	Método de cultivo optimizado para producción de sulforafano en brócoli. Esto incluye selección de genotipos, determinación de población y distribución óptima de plantas, momento de establecimiento y época de cultivo, recomendación de riego y fertilización, índice de cosecha.	Concentración de sulforafano por planta		100%	125%	4º trimestre 2018	4º trimestre 2018	100%
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									
Cada unidad experimental consistió en 4 plantas de brócoli de la variedad Avenger las cuales se le sometió a 4 distintos tratamientos de fertilización. Por otra parte, se cultivaron 11 genotipos de plantas de brócoli en distintos tipos de suelos para cultivo. Se realizó la cosecha de la totalidad de los cultivos y se realizó la determinación del contenido de sulforafano (SFN) y de glucorafanina en las distintas estructuras de la planta de brócoli. Se llegó a establecer la concentración de nutrientes, tipos de cultivares (suelos), genotipos y estructuras de la planta que presentaron mayor rendimiento en el contenido de SFN y glucorafanina. Con ello se cuenta con un 100% de cumplimiento del Objetivo Específico 1.									

² Resultado Esperado (RE): corresponde al mismo nombre del Resultado Esperado indicado en el Plan Operativo.

³ Nombre del indicador: corresponde al mismo nombre del indicador del Resultado Esperado descrito en el Plan Operativo.

⁴ Fórmula de cálculo: corresponde a la manera en que se calculan las variables de medición para obtener el valor del resultado del indicador.

⁵ Línea base: corresponde al valor que tiene el indicador al inicio del proyecto.

⁶ Meta del indicador (situación final): es el valor establecido como meta en el Plan Operativo.

⁷ Fecha alcance meta programada: es la fecha de cumplimiento de la meta indicada en el Plan Operativo.

⁸ Fecha alcance meta real: es la fecha real de cumplimiento al 100% de la meta. Si la meta no es alcanzada, no hay fecha de cumplimiento.

Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra) Anexo 1

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					Fecha alcance meta real	% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada		
2	2	Metodología de extracción del sulforafano a partir de toda la planta del brocoli	Concentración sulforafano extraído/unidad de masa de planta de brocoli		100%	150%	2º trimestre 2019	2º trimestre 2019	100%

Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.

Se ensayaron tres procesos distintos para obtener un extracto de brócoli rico en sulforafano. Los tres procesos fueron escalados a nivel piloto y fueron comparados en términos de eficiencia, costo, recuperación de producto y calidad del producto final. La recuperación de sulforafano en el proceso elegido fue 250% mayor que la recuperación obtenida en los otros procesos, con lo cual se dió por cumplido el objetivo específico 2 con un indicador de resultado 3 veces mayor que el esperado en la propuesta inicial (150% con respecto a la condición base). En conclusión, se cuenta con un proceso para obtener extracto de brócoli rico en sulforafano escalable para su producción a nivel piloto. Además, se logró producir el extracto en cantidad suficiente para ejecutar las pruebas a nivel preclínico. Con ello se cuenta con un 100% de cumplimiento del Objetivo Específico 2.

Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)

Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.

Anexo 2

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					Fecha alcance meta real	% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada		
3	3	Comprobar potencial antioxidante del extracto de brócoli enriquecido en sulforafano	Producción de radical superóxido in vitro		100%	100%	3º trimestre 2020	3º trimestre 2020	100%
3	4	Comprobar propiedades cardiovasculares del extracto de sulforafano	función cardíaca sistólica/función cardíaca diastólica		100%	125%	4º trimestre 2020	4º trimestre 2020	100%
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									
En relación con el RE3 dimos término a los ensayos para comprobar el potencial antioxidante del extracto de brócoli rico en sulforafano. Esto incluyó la determinación química del contenido total de polifenoles, la capacidad de reducción de iones férricos y la capacidad de eliminación de radicales libres. Además, se comprobó el efecto protector de la administración de sulforafano sobre los niveles de estrés oxidativo cardíaco mediante medición de los niveles del radical superóxido. En relación con el RE4, realizamos los estudios para evaluar los efectos cardiovasculares de la administración del extracto de brócoli rico en Sulforafano en ratas adultas. Esto incluyó determinar los efectos de la dieta en parámetros ecocardiográficos, hemodinámicos, función cardíaca, función del control autonómico cardíaco y arritmogénesis cardíaca. Además, se comprobaron las propiedades cardiovasculares del extracto posterior a una sobrecarga de estrés cardíaco aguda inducida por fármaco. Con todos estos ensayos se da por cumplido el 100% del Objetivo Específico 3.									
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra) Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.									

Anexo 3

6.2 Análisis de brecha.

Cuando corresponda, justificar las discrepancias entre los resultados programados y los obtenidos.

7. CAMBIOS Y/O PROBLEMAS DEL PROYECTO

Especificar los cambios y/o problemas enfrentados durante el desarrollo del proyecto. Se debe considerar aspectos como: conformación del equipo técnico, problemas metodológicos, adaptaciones y/o modificaciones de actividades, cambios de resultados, gestión y administrativos.

Describir cambios y/o problemas	Consecuencias (positivas o negativas), para el cumplimiento del objetivo general y/o específicos	Ajustes realizados al proyecto para abordar los cambios y/o problemas
En base a la revisión bibliográfica de estudios en el cual han usado el sulforafano (SFN) como tratamiento para diversas patologías crónicas en modelos murinos, determinamos que la concentración óptima a utilizar en este tratamiento será de 3mg/kg/día, lo cual será administrado durante un periodo de 2 semanas. En principio, decidimos que la vía de administración del compuesto sería intraperitoneal mediante bombas osmóticas debido a las ventajas que presenta esta técnica en relación al suministro continuo y que garantiza niveles constantes de compuestos en plasma o tejidos para maximizar la eficacia terapéutica y reducir los efectos adversos.	La administración de drogas vía gavage, además de dar un valor traslacional al tratamiento, tiene mayor ventaja sobre otros tipos de administración oral: Es más precisa y un método confiable para administrar sustancias en el tracto gastrointestinal, ya que elimina los riesgos de variabilidad en la ingesta entre animales individuales (que puede surgir cuando las sustancias se administran a través de entrega en alimentos y/o agua).	administración del compuesto (3mg/kg/día) fue vía oral por medio del procedimiento denominado <i>gavage</i> .

Sin embargo, debido al bajo volumen que soportan estos dispositivos y al tiempo de administración del compuesto no fue posible la disolución de nuestro extracto de SFN a la concentración requerida		

8. ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL PERÍODO

8.1 Actividades programadas en el plan operativo y realizadas durante el período de ejecución para la obtención de los objetivos.

- ✓ Muestreo de material vegetal representativo de distintos genotipos y condiciones productivas. Evaluación de su concentración de sulforafano.
- ✓ Ensayos de campo para optimizar producción de sulforafano en brócoli.
- ✓ Validación método producción sulforafano en campo.
- ✓ Diseño y pruebas piloto de metodología de extracción de sulforafano
- ✓ Puesta en marcha protocolo de extracción
- ✓ Ajustes y definición estrategia definitiva extracción
- ✓ Producción extractos enriquecidos en sulforafano
- ✓ Análisis de capacidad antioxidante.
- ✓ Caracterización de los componentes del extracto enriquecido
- ✓ Bioensayos de efectividad del extracto en mejora de la función cardíaca en ratas hembra y macho
- ✓ Estudios del impacto del extracto sobre la predisposición a arritmias en ratas hembra y macho
- ✓ Bioensayo de determinación de efectos adversos de la suplementación de la dieta con el extracto en ratas hembra y macho

8.2 Actividades programadas y no realizadas durante el período de ejecución para la obtención de los objetivos.

8.3 Analizar las brechas entre las actividades programadas y realizadas durante el período de ejecución del proyecto.

--

9. POTENCIAL IMPACTO

9.1 Resultados intermedios y finales del proyecto.

Descripción y cuantificación de los resultados obtenidos al final del proyecto, y estimación de lograr otros en el futuro, comparación con los esperados, y razones que explican las discrepancias; ventas y/o anuales (\$), nivel de empleo anual (JH), número de productores o unidades de negocio que pueden haberse replicado y generación de nuevas ventas y/o servicios; nuevos empleos generados por efecto del proyecto, nuevas capacidades o competencias científicas, técnicas y profesionales generadas.

Dentro del marco general del proyecto y el modelo de negocio sugerido, creemos que los resultados de este proyecto aumentarán el precio de venta del brócoli fresco, particularmente de aquellos con demostrado mayor potencial respecto del contenido de compuestos bioactivos a las industrias procesadoras de vegetales que se interesen en llevar a cabo el procesamiento de la materia orgánica para la posterior extracción de biocompuestos para el desarrollo de extractos liofilizados, ingredientes funcionales o nutraceuticos. Además, dada la tecnología obtenida/descrita como resultado de este proyecto, es posible además valorizar descartes y desechos del cultivo del brócoli (ej. Tallo, hojas) ya que fue posible extraer también componentes bioactivos de los mismos, lo que generaría un ingreso extra y previamente no considerado por hectárea de los productores de brócoli. Creemos que productores que decidan destinar hectáreas a la producción de brocolí para el desarrollo de alimentos/suplementos funcionales impactará también de manera positiva en el entorno social dado que se requiere un aumento de la mano de obra generando así nuevos o mejores empleos.

Creemos que nuestro proyecto sienta el precedente para la obtención de compuestos bioactivos con potencial uso en salud y con propiedad fisiológicas reales comprobadas experimentalmente. Esto actualmente no se realiza en nuestro país en donde la mayoría de las investigaciones del área se limitan a solo describir o mencionar las posibles propiedades de los extractos/compuestos basados solo en una caracterización bioquímica.

10. CAMBIOS EN EL ENTORNO

Indique si existieron cambios en el entorno que afectaron la ejecución del proyecto en los ámbitos tecnológico, de mercado, normativo y otros, y las medidas tomadas para enfrentar cada uno de ellos.

--

11. DIFUSIÓN

Describa las actividades de difusión realizadas durante la ejecución del proyecto. Considere como anexos el material de difusión preparado y/o distribuido, las charlas, presentaciones y otras actividades similares.

	Fecha	Lugar	Tipo de Actividad	Nº participantes	Documentación Generada
1	11 diciembre 2018	F. Ciencias Biológicas PUC	Lanzamiento del proyecto	30 personas	Folleto de invitación a evento; Invitación formal a evento
2	02 junio de 2019	Isla Creta, Grecia	Conferencia Internacional	50 personas	Publicación del material presentado en el Proceedings del evento
3					
4					
5					
n					
			Total participantes	80	

12. PRODUCTORES PARTICIPANTES

Complete los siguientes cuadros con la información de los productores participantes del proyecto.

12.1 Antecedentes globales de participación de productores

Debe indicar el número de productores para cada Región de ejecución del proyecto.

Región	Tipo productor	N° de mujeres	N° de hombres	Etnia (Si corresponde, indicar el N° de productores por etnia)	Totales
Metropolitana	Productores pequeños				
	Productores medianos-grandes				
	Productores pequeños				
	Productores medianos-grandes				
	Totales				

12.2 Antecedentes específicos de participación de productores

Nombre	Ubicación Predio			Superficie Há.	Fecha ingreso al proyecto
	Región	Comuna	Dirección Postal		

13. CONSIDERACIONES GENERALES

13.1 ¿Considera que los resultados obtenidos permitieron alcanzar el objetivo general del proyecto?

Si, habiendo cumplido la totalidad de los objetivos específicos y analizando los resultados obtenidos hemos concluido que el objetivo general del proyecto fue alcanzado. Lo más relevante en términos generales es que logramos mejorar la metodología de extracción del Sulforafano maximizando la producción del compuesto por masa de planta, obteniendo una concentración que nos permitió comprobar a nivel preclínico sus efectos cardioprotectores.

13.2 ¿Cómo fue el funcionamiento del equipo técnico del proyecto y la relación con los asociados, si los hubiere?

El funcionamiento del equipo fue el adecuado debido a que cada integrante cumplió con sus compromisos establecidos en el plan operativo.

13.3 A su juicio, ¿Cuál fue la innovación más importante alcanzada por el proyecto?

Generar un extracto liofilizado del compuesto a una concentración que permitiera la suplementación dietética y que mostrara efectos protectores en la función autónoma cardíaca y en estrés oxidativo cardíaco agudo en ratas sanas. Esto es muy relevante para el proyecto debido a que podríamos generar un nutracéutico en base a los compuestos anti-inflamatorios/oxidantes del brócoli para su futura comercialización, dándole un valor agregado al brócoli, como alimento saludable y cardioprotector, lo cual podría aumentar la demanda de consumo beneficiando pequeños y medianos agricultores.



13.4 Mencione otros aspectos que considere relevante informar, (si los hubiere).

14. CONCLUSIONES

Realice un análisis global de las principales conclusiones obtenidas luego de la ejecución del proyecto.

En Chile, es factible de cultivar subespecies de brócoli con alto contenido en compuestos bioactivos antioxidantes para su posterior procesamiento en vías de producir un extracto enriquecido en compuesto antiox. Estos extractos son eficaces en la reducción de eventos adversos cardiovasculares, validando su uso para prevención y salud cardiovascular.

15. RECOMENDACIONES

Señale si tiene sugerencias en relación a lo trabajado durante el proyecto (considere aspectos técnicos, financieros, administrativos u otro).

Creemos que el trabajo realizado presenta evidencia suficiente para continuar con una etapa de escalamiento que busque generar un prototipado de un producto enriquecido en sulforafano extraído del brocoli para su formulacion como alimento funcional para uso humano y animal. El levantamiento de fondos para esto si bien es complejo, creemos que va en estricta relación con los obejtivos de diversas agencias gubernamentales que buscan valorizar la producción agrícola.

16. ANEXOS

17. BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA