



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL**

**Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la  
Producción**

**“Efecto de la aplicación de plasma frío en el proceso de  
germinado del arroz integral sobre el contenido de compuestos  
bioactivos y capacidad antioxidante”**

**PROYECTO DE TITULACIÓN**

**Previo a la obtención del Título de:**

**MAGÍSTER EN GESTIÓN DE PROCESOS Y SEGURIDAD DE  
LOS ALIMENTOS**

**Presentada por:**

**Galo Steven Cueva Vásquez  
Cristhian David Gavilanez Díaz**

**GUAYAQUIL – ECUADOR**

**Año: 2023**

# AGRADECIMIENTO

A Dios, a la Virgen María por darme la oportunidad de disfrutar cada logro con mi familia. A mis padres, por todo su apoyo que me han dado para poder seguir con mis estudios, seguramente es un logro compartido. A todas las personas que han hecho posible la elaboración de este trabajo, Ing. Priscila Castillo, Dr. Patricio Cáceres, Ing. Samantha Espinales.

Gratitud eterna a todos.

***Cristhian Gavilanez***

# AGRADECIMIENTO

A Dios, por guiar cada paso que doy. A mis padres por sus consejos y enseñanzas para motivarme cada día en lo que hago. A los docentes por instruirnos con esfuerzo y dedicación en todo momento. A mis compañeros por compartir sus conocimientos sin nada a cambio. A las personas que formaron parte de este proyecto, Ing. Priscila Castillo, Dr. Patricio Cáceres, Ing. Samantha Espinales.

***Galo Cueva***

# DEDICATORIA

A Dios y a la Virgen María,  
por haberme iluminado en  
todo el proceso de la  
maestría.

A mis padres, por su  
paciencia y sus  
enseñanzas cada día,  
quedo infinitamente  
agradecido por todo el  
esfuerzo que han hecho  
para darme un mejor vivir.

A los pueblos oprimidos  
de Latinoamérica,  
víctimas de la larga y triste  
noche neoliberal.

***Cristhian Gavilanez***

# DEDICATORIA

A Dios por darme la vida porque cada amanecer es un nuevo comienzo y por permitirme el privilegio de cumplir este gran sueño.

A mis queridos Padres por su amor, valores, sacrificio y esfuerzo en todo momento, logrando convertirme en la persona que soy. Mi familia quienes, con sus consejos, palabras de aliento y su apoyo incondicional, hicieron de mí una gran persona para seguir siempre adelante con mis metas.

***Galo Cueva***

# TRIBUNAL DE TITULACIÓN

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Priscila Castillo S.', positioned above a horizontal line.

---

**Priscila Castillo S., MSc.  
DIRECTORA DE PROYECTO**

---

**Patricio Cáceres C., Ph.D.  
VOCAL**

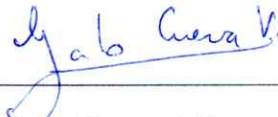
## DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de este proyecto de titulación, nos corresponden exclusivamente; y el patrimonio intelectual del mismo a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL”



---

Cristhian Gavilanez Díaz



---

Galo Cueva Vásquez

## RESUMEN

El arroz (*Oryza sativa* L.) es uno de los cereales refinados más consumidos en el mundo, sin embargo, el arroz integral ha despertado interés por su contenido en nutrientes y compuestos con valor biológico, provocando aumento en su demanda. La germinación del arroz integral ha demostrado ser un proceso de bajo costo que incrementa significativamente el valor funcional. Estudios señalan que la aplicación de plasma frío en semillas puede ser una alternativa para mejorar el proceso de germinación y a su vez permita el aumento de compuestos bioactivos.

Es por eso que en el presente trabajo se evaluó el efecto del plasma frío en el arroz integral germinado para el incremento del contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante mediante análisis espectrofotométricos. La investigación empezó con la germinación del arroz integral (INIAP 15) previamente sanitizado y remojado durante 24 h a 22°C. Las semillas remojadas se germinaron durante 24 y 72 h a 34°C. La aplicación del tratamiento de plasma frío se efectuó con 25 g de muestra de arroz colocadas en recipiente de polipropileno y cubiertas en bolsas de nylon coextruido. El tratamiento de plasma frío se aplicó antes y después de la germinación, con dos tipos de gases: aire y nitrógeno (N). Se determinó el contenido de ácido fítico y  $\gamma$ -oryzanol por espectrofotometría. El contenido total de compuestos fenólicos (TPC) por el método de Folin-Ciocalteu y la capacidad antioxidante por absorción de radicales de oxígeno (ORAC).



## ABSTRACT

Rice (*Oryza sativa* L.) is one of the most consumed refined cereals in the world; however, brown rice has awakened interest due to its nutritional content, rich in compounds with biological value, causing an increase in its demand. The germination of brown rice has proven to be a low-cost process that significantly increases its functional value. Studies indicate that the application of cold plasma on seeds can be an alternative to improve the germination process and at the same time allow the increase of bioactive compounds.

For this reason, in the present work, the effect of cold plasma on germinated brown rice was evaluated to increase the content of bioactive compounds and antioxidant capacity by means of spectrophotometric analysis. The investigation started with the germination of brown rice (INIAP 15) previously sanitized and soaked for 24 h at 22°C. The soaked seeds were germinated for 24 and 72 h at 34°C. Cold plasma treatment was applied with 25 g of rice sample placed in polypropylene container and covered in coextruded nylon bags. The cold plasma treatment was applied before and after germination, with two types of gases: air and nitrogen (N). Phytic acid and  $\gamma$ -oryzanol contents were determined spectrophotometrically. The total phenolic compound content (TPC) was determined by the Folin-Ciocalteu method and the antioxidant capacity by oxygen radical absorbance (ORAC).

# ÍNDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN.....	II
ÍNDICE GENERAL.....	IV
ABREVIATURAS.....	V
SIMBOLOGÍA.....	VI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VII
ÍNDICE DE TABLAS.....	VIII
<b>CAPÍTULO 1</b>	
<b>1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	1
1.1. Descripción del problema.....	1
1.2. Objetivos.....	1
1.2.1 Objetivo general.....	1
1.2.2 Objetivos específicos.....	1
1.3 Justificación.....	1
<b>CAPÍTULO 2</b>	
<b>2. MARCO TEÓRICO</b> .....	3
2.1 Arroz integral.....	3
2.1.1 Arroz integral germinado.....	3
2.1.2 Contenido de compuestos fenólicos totales.....	4
2.1.3 Contenido de capacidad antioxidante (ORAC).....	4
2.1.4 Contenido de $\gamma$ -oryzanol en arroz.....	4
2.1.5 Contenido de ácido fítico.....	5
2.2 Plasma frío.....	5
2.3 Aplicación de plasma frío en cereales.....	5
<b>CAPÍTULO 3</b>	
<b>3. METODOLOGÍA</b> .....	7
3.1 Germinación en muestras de arroz.....	7
3.2 Aplicación de plasma.....	8
3.3 Preparación de muestra.....	8
3.4 Extracción de compuestos bioactivos.....	8
3.5 Determinación de los compuestos fenólicos totales (TPC).....	9
3.6 Determinación de la capacidad antioxidante (ORAC).....	9
3.7 Determinación de $\gamma$ -oryzanol.....	10
3.8 Determinación de ácido fítico.....	10
3.9. Análisis estadístico.....	11
<b>CAPÍTULO 4</b>	
<b>4. RESULTADOS</b> .....	12
4.1 Contenido de compuestos fenólicos totales (TPC).....	12
4.2 Capacidad antioxidante (ORAC).....	13
4.3. $\gamma$ -oryzanol.....	15
4.4. Acido Fítico.....	16
<b>CAPÍTULO 5</b>	
<b>5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....	19
5.1 Conclusiones.....	19
5.2 Recomendaciones.....	19
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	

## ABREVIATURAS

ODS	Objetivos de desarrollo sostenible
DW	Dry weight
DBD	Descargar barrera eléctrica
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
TPC	Total phenolic content
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity
ANOVA	Análisis de varianza
AAPH	2,20-Azo-bis (2-amidinopropano) dihidrocloruro

## SIMBOLOGÍA

g	gramos
%	porcentaje
mg/L	miligramos/litros
mg/100g	miligramos/100 gramos
g/100g	gramos/100gramos
°C	grados Celsius
kV	kilo voltios
ml	mililitros
mbar	milibar
v/v	volumen/volumen
rpm	revoluciones por minuto
µg/ml	microgramos/mililitros
µl	microlitros
nm	nanómetros
mm	milímetros
M	Molar
HCl	Ácido clorhídrico
FeCl <sub>3</sub>	Cloruro férrico
ss	sólidos solubles
h	horas

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 3.1	Preparación inicial de muestras de arroz integral..... 7
Figura 3.2	Esquema de aplicación de plasma en arroz integral con diferentes tratamiento ..... 8
Figura 3.3	Ensayo de TPC en muestras de arroz integral (remojado y germinado) con aplicación de plasma..... 9
Figura 3.4	Ensayo de ORAC en muestras de arroz integral (remojado y germinado) con aplicación de plasma ..... 10
Figura 4.1	Contenido de compuestos fenólicos TPC de las muestras de arroz con diferentes tratamientos ..... 13
Figura 4.2	Capacidad antioxidante (ORAC) en muestras de arroz con diferentes tratamientos..... 14
Figura 4.3	Contenido de $\gamma$ -oryzanol en muestras de arroz con diferentes tratamientos..... 16
Figura 4.4	Contenido de ácido fítico en muestras de arroz con diferentes tratamientos..... 17

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1	Composición química del arroz integral ..... 3
Tabla 2	Contenido de Compuestos fenólicos totales en muestras de arroz con diferentes tratamientos (mg/100g ss)..... 12
Tabla 3	Capacidad Antioxidante (ORAC) en muestras de arroz con diferentes tratamientos (mg/100g ss)..... 14
Tabla 4.	Contenido de $\gamma$ -oryzanol en muestras de arroz con diferentes tratamientos (mg/100g ss)..... 15
Tabla 5	Contenido de ácido fítico en muestras de arroz con diferentes tratamientos (mg/100g ss)..... 17

## INTRODUCCIÓN

El arroz (*Oryza sativa* L.) es uno de los principales alimentos básicos que alimentan aproximadamente al 60% de la población mundial y desempeña un papel importante a la hora de satisfacer la creciente demanda de grano con el aumento de la poblacional. Es por eso que se considera uno de los cultivos alimentarios más importantes del mundo. La producción de arroz es estacional y el consumo es durante todo el año lo que significa que debe almacenarse durante cierto tiempo ocasionando así que el grano cambie sus propiedades físicoquímicas, composición química, actividad antioxidante, características del almidón, es decir que la calidad del arroz disminuye durante el almacenamiento (Gao et al., 2016).

En los últimos años las dietas ricas en cereales integral han sido el centro de atención de los consumidores debido al potencial para reducir el riesgo de padecer enfermedades crónicas. El grano entero del arroz integral es considerado una fuente rica de compuestos bioactivos fácilmente solubles en agua, como polifenoles, ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), fibra dietética, vitaminas y oligoelementos (Cho y Lim, 2016). A pesar de esto se busca mejorar el valor nutricional del arroz integral, por lo que se han realizado investigaciones sobre la germinación sobre los cereales incluido el arroz, donde se ha observado que se activan las enzimas hidrolíticas como la  $\alpha$ -amilasa y degradan el almidón, la proteína y los polisacáridos no amiláceos, lo que conduce al aumento de los oligosacáridos y los aminoácidos (Ohtsubo, Suzuki, Yasui y Kasumi, 2005). En comparación con el arroz integral normal, el arroz integral germinado contiene niveles relativamente altos de ciertos nutrientes, como compuestos fenólicos,  $\gamma$ -oryzanol y GABA (Cáceres, Martínez-Villaluenga, Amigo y Frías, 2014).

El tratamiento térmico es eficaz para inactivar los patógenos, pero presenta efectos secundarios sobre las propiedades sensoriales, nutricionales y funcionales en productos frescos. Por eso es que recientemente se han desarrollado métodos no térmicos, como el tratamiento químico, los rayos ultravioletas, la radiación ionizante y el procesamiento a alta presión, sin embargo, estas tecnologías presentan un alto costo para su aplicación. Pero el plasma frío se ha propuesto como una técnica no térmica eficiente en el que puede aplicarse con éxito a los productos alimenticios e incrementar sus propiedades nutricionales, así también se ha convertido en una de las alternativas posibles para el tratamiento postcosecha. Por lo tanto, varias investigaciones destacan los fundamentos y el potencial del plasma frío como método para la mejora de la calidad del grano de arroz y la influencia de los parámetros de tratamiento como el voltaje y la potencia, el tipo de gas y el tiempo de tratamiento (Misnal et al., 2022).

El objetivo de esta investigación es evaluar la aplicación de plasma frío en el arroz integral germinado para el incremento del contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante mediante análisis espectrofotométricos.

# CAPÍTULO 1

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1. Descripción del problema

La industria alimentaria debe adaptarse continuamente para satisfacer las demandas de una población creciente, tanto en términos de nutrición como de expectativas de los consumidores. Esto debe lograrse dentro de los límites de los recursos disponibles y los requisitos reglamentarios. La innovación en materia de producción y transformación de alimentos es necesaria para hacer frente a los nuevos retos de la seguridad alimentaria mundial y a las complejidades de la cadena alimentaria moderna.

La alimentación se encuentra dentro de los 17 objetivos de desarrollo sostenible (ODS) donde se menciona que para poner fin al hambre hay que mejorar la nutrición y que los sistemas alimentarios sean sostenibles, es por eso que la alimentación ha ido evolucionando pero se ha visto afectada debido a la aparición de alimentos procesados dejando a un lado ciertos productos que son importantes para una buena alimentación como lo son los cereales, que deberían ser parte de la dieta diaria ya que éstos ayudan a satisfacer las necesidades energéticas y nutritivas y a prevenir enfermedades relacionadas con desequilibrios alimentarios. Las nuevas tendencias alimentarias han hecho que la población cada vez sea más exigente y seleccione alimentos por su composición nutricional, función de sus componentes y su incidencia en la salud.

### 1.2. Objetivos

#### 1.2.1 Objetivo general

Evaluar el efecto del plasma frío sobre los compuestos bioactivos y actividad antioxidante del arroz integral germinado

#### 1.2.2 Objetivos específicos

Aplicar plasma frío antes y después de la germinación con dos tipos de gases: nitrógeno y oxígeno.

Desarrollar los germinados de arroz integral a 24 y 72 horas.

Analizar a las diferentes muestras el contenido de compuestos bioactivos y actividad antioxidante.

### 1.3 Justificación

Actualmente, los consumidores prefieren alimentos con un alto contenido en nutrientes, calidad y frescos, sin conservantes ni productos químicos artificiales. También hay un subconjunto de consumidores que consideran el precio como una preocupación menor y están dispuestos a pagar más por sus deseos. Por lo tanto, el interés de la industria alimentaria por explorar una tecnología novedosa como el plasma frío atmosférico no se debe únicamente al factor de la seguridad alimentaria, sino también al del consumidor. La germinación también se plantea como otro método efectivo y natural para el procesamiento de granos donde la semilla por sí misma aumenta su valor nutritivo y ofrece una forma diferente de consumo para el ser humano (Dávila, Sangroni y Granito, 2003). Por consiguiente, el proceso de germinación se aplica con la finalidad



de generar cambios fisicoquímicos y que éstos incrementen el contenido nutricional y energético en los granos (Bravo et al., 2013).

Es por eso que el consumo de granos germinados ha aumentado en los últimos años ya que presentan una mejora en su calidad nutricional como por ejemplo en la biodisponibilidad de proteínas, aminoácidos esenciales, vitaminas, carbohidratos y minerales tales como calcio, hierro y magnesio (Sangronis y Machado, 2007). La germinación de las semillas comienza con la absorción de agua, durante este proceso se producen cambios significativos, incluyendo la inter conversión y síntesis de nuevos compuestos (Cevallos y Cisneros, 2010), también permite reducir anti nutrientes, aumentar la fibra dietaria, vitaminas del complejo B, ácido ascórbico y el contenido y digestibilidad de proteínas, digestibilidad del almidón, biodisponibilidad de minerales, y mejora la funcionalidad de las semillas debido al hecho de que aumentan los compuestos bioactivos.

# CAPÍTULO 2

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Arroz integral

El arroz integral es una semilla de arroz a la que se le ha quitado la cáscara exterior y que está formada principalmente por el endospermo, el embrión y el salvado (Wu et al., 2022). Es rico en nutrientes, como vitaminas, minerales, proteínas, lípidos y una variedad de sustancias bioactivas, como arabinoxilano,  $\beta$ -dextrano, ácido  $\gamma$ -aminobutírico, oryzanol, fenoles, fibra dietética, etc. (Mir, Shah, Bosco, Sunooj, y Farooq, 2020). A continuación, en la tabla 1 se presenta la composición química del arroz integral por cada 100 gramos de producto comestible.

Tabla 1. Composición química del arroz integral

Componentes	Unidad	Valor
Humedad	%	14,0
Proteína	g N x 6,25	7,3
Grasa cruda	g	2,2
Carbohidratos disponibles	g	71,1
Fibra dietética	g	4,0
Fibra insoluble en agua	g	2,7
Lignina	g	0,1
Cenizas crudas	g	1,4
Energía	Kcal	384

Fuente: Bienvenido (1994)

Elaborado por: Cueva y Gavilanez (2023)

#### 2.1.1 Arroz integral germinado

Se ha demostrado que el arroz integral germinado y el arroz con cáscara germinado tienen muchas funciones para prevenir problemas en la salud como obesidad, inflamaciones, alergias y tumores. (Wu et al., 2013). Pero el arroz integral tiene efectos beneficiosos sobre diversos problemas en la salud como lo son la diabetes y la obesidad, pero aún no es tan aceptado que el arroz blanco debido a su sabor y textura deficientes. Es por eso que se presenta la germinación como una estrategia biológica bien conocida y práctica para superar este problema. Este proceso no solo mejora significativamente el sabor, sino también la concentración de compuestos bioactivos. (Cáceres et al., 2014).

Además, la germinación del arroz integral tiene un impacto positivo en sus propiedades sensoriales proporcionando un sabor agradable (Makinen y Arendt, 2018). Durante el proceso de germinación se activan enzimas hidrolíticas del arroz integral, como las amilasas y las proteasas, provocando el aumento en el contenido de azúcares reductores, péptidos y aminoácidos que son los precursores aromáticos de los compuestos activos de olor que participan en el posterior metabolismo microbiano (Li et al., 2020). En conclusión, El arroz integral germinado se considera un alimento funcional debido a la presencia de nutrientes beneficiosos y compuestos bioactivos. Todas esta

ventajas son adquiridas en el proceso de germinación, la cual consiste en sumergir el grano de arroz integral en agua hasta que su embrión comienza a brotar (Moongngarm y Saetung, 2010) y es aquí donde el grano no sólo mejora su textura, sino que también aumenta sus propiedades nutricionales (Charoenthaikij et al., 2009).

### **2.1.2 Contenido de compuestos fenólicos totales**

Los compuestos fenólicos o también llamado hidroxibenceno son aquellos que engloban sustancias que poseen varias funciones fenol, que están unidas a estructuras aromáticas o alifáticas. Se conoce que algunos compuestos fenólicos no son polifenoles, sino mono fenoles y radican en casi todos los alimentos de origen vegetal ya que sus sustancias influyen en la calidad, aceptabilidad y estabilidad de los alimentos actuando como colorantes, antioxidantes y proporcionando sabor.

Existen varias propiedades beneficiosas para el cuerpo humano en los compuestos fenólicos que se encuentran en los alimentos, por ejemplo, ayudan a la prevención de enfermedades cardiovasculares, previene el cáncer, disminuyen la tasa de colesterol, ayuda a enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, entre otras (Gimeno, 2004).

### **2.1.3 Contenido de capacidad antioxidante (ORAC)**

La capacidad antioxidante se define como el potencial de un compuesto o sustancia que inhibe o dificulta la oxidación en cantidades muy pequeñas (< 1%, comúnmente 1-1,000 mg/L). El objetivo de la medición de este compuesto es útil porque sirve para evaluar la calidad de un alimento, la cantidad de antioxidantes, o la biodisponibilidad de compuestos antioxidantes en el cuerpo humano (Benítez et al. 2013).

La capacidad antioxidante tiene como función frenar las reacciones de oxidación en las células ya que en estas se generan los nocivos radicales libres. Esto ayuda a que se reduzcan varias enfermedades como: cardiovasculares, tumores y neurodegenerativas. Otra función que estas actúan para potenciar al sistema inmunológico (Vilaplana, 2007).

### **2.1.4 Contenido de $\gamma$ -oryzanol en arroz**

El  $\gamma$ -oryzanol es uno de los compuestos funcionales más importantes presentes en el arroz, es liposoluble y constituye el 1,5-2,9% del aceite de salvado y germen de arroz. (Okada and Yamaguchi, 1983). Es una mezcla de ferulados fitosterílicos con ferulados cicloartenílicos, ferulados 24-metilencicloartanílicos, ferulados campesterílicos y ferulados  $\beta$ -sitosterílicos como componentes principales (Cho et al., 2012) su contenido en el arroz integral es de 18-63 mg/100g (DW) y esto también depende de la variedad de arroz, el tiempo de molienda, el proceso de estabilización y los métodos de extracción (Gani et al., 2012).

Así también este compuesto posee muchos beneficios biológicos, como la reducción del colesterol, actividades antiinflamatorias anticancerígenas, antidiabéticas y antioxidantes (Chisayo et al., 2013). Debido a los numerosos beneficios para la salud y a la gran demanda de productos con  $\gamma$ -oryzanol, surge la necesidad de mejorar el nivel de esteril ferulados en genotipos de arroz mediante programas de mejora genética. ya que anteriormente, sólo se había informado de la presencia natural y el contenido total de  $\gamma$ -oryzanol en productos derivados del arroz (Moongngarm y Saetung, 2010).

### 2.1.5 Contenido de ácido fítico

El ácido fítico y sus sales son la principal forma de almacenamiento de fósforo en semillas de cereales y leguminosas. Sin embargo, en este sentido el fósforo permanece no disponible para el hombre, debido a que éstos no están provistos de suficiente actividad de fosfatasas endógenas o fitasas que sean capaces de liberar el grupo fosfato de la estructura del fitato. Es por eso que el ácido fítico es además un compuesto con actividad anti nutricional, debido a su capacidad de formar complejos insolubles con minerales y proteínas convirtiéndolos en la causa principal de su comportamiento anti nutricional que no son asimilables por el organismo. Por otro lado, también presenta también efectos positivos sobre la salud, si se encuentra en bajas dosis, como son su acción protectora frente al cáncer, reducción de la formación de cálculos renales y prevención de enfermedades cardiovasculares.

El lugar de acumulación del ácido fítico en las semillas de arroz es en la capa externa del salvado específicamente en la aleurona. El grano de aleurona contiene: globoides, donde se localiza el 80% de fitatos, y cuerpos proteico-carbohidratos. Los niveles de ácido fítico (g/100g) en arroz entero se encuentran entre el 0,86-0,99%. Dado que la mayor parte del ácido fítico se encuentra en las partes externas del grano, los distintos productos de la molienda contienen diferentes niveles de fitatos, aunque también el contenido de ácido fítico depende del cultivar, las condiciones climáticas y el año. (Hídvégi y Lásztity, 2003)

### 2.2 Plasma frío

El plasma es la interacción de un gas y una fuente eléctrica para la obtención de gas ionizado. Es el cuarto estado de la materia y los tratamientos en los que se utiliza el plasma suelen utilizar gases ecológicos como nitrógeno, hidrógeno, oxígeno o argón. Funciona a través de la emisión de partículas cargadas (electrones, iones positivos y negativos, radicales, oxígeno reactivo y especies de nitrógeno) que son capaces de romper los enlaces covalentes y, por lo tanto, iniciar numerosas reacciones químicas de importancia significativa (Mir et al., 2016).

El plasma frío se obtiene a presiones atmosféricas o reducidas (vacío) y requiere un menor aporte de energía. El plasma frío puede generarse mediante una descarga eléctrica en un gas a menor presión o utilizando microondas. Las ilustraciones típicas para la generación de plasma a presión atmosférica incluyen la descarga de corona, la descarga de barrera dieléctrica (DBD), el plasma de radiofrecuencia y la descarga de arco deslizante. Por el contrario, los plasmas térmicos se generan a presiones más altas y requieren aportes de alta potencia. (Misra et al., 2016)

Aunque el plasma frío se prueba principalmente en los alimentos para neutralizar microorganismos, su uso como pretratamiento antes de la extracción posterior también puede aumentar el contenido de compuestos bioactivos en el extracto (Pogorzelska-Nowicka et al., 2021). En los últimos años se han desarrollado varias gamas de sistemas de laboratorio de plasma frío para el tratamiento del grano de arroz (Amnuaysin et al., 2018). El tratamiento con plasma frío acaba provocando la disrupción de la pared celular, la destrucción del material polimérico extracelular, el daño del ADN y la disfunción de la proteína de la peroxidación lipídica (Bourke et al., 2018).

### 2.3 Aplicación de plasma frío en cereales

En los últimos años ha crecido el interés de la industria alimentaria por el procesado de alimentos con plasma debido a que existen investigaciones que demuestran los efectos positivos en la mejora de la calidad nutricional. En estos trabajos se ha estudiado los

compuestos bioactivos como son el ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), el contenido de fenoles y la capacidad antioxidante.

Sin embargo, sigue habiendo incertidumbre sobre el mecanismo de interacción de los compuestos orgánicos de bajo peso molecular y las especies reactivas del plasma. Esto se debe a la naturaleza altamente dinámica y vigorosa de las especies plasmáticas. La correcta interpretación de este mecanismo juega un papel decisivo a la hora de permitir el uso del plasma como auxiliar en el procesado de alimentos (Sruthi et al. 2022).

Zargachi y Saremnezhad (2019) obtuvieron que las semillas después de la aplicación del plasma frío a baja presión incrementan significativamente la absorción de agua, la tasa de germinación y el contenido de GABA, mientras que la concentración de fenoles y la actividad antioxidante disminuyen en comparación con el control. Así también Zeng et al (2023) mencionan que el plasma frío también ayuda a mejorar la vida útil y las condiciones del almacenamiento, además que las propiedades fisicoquímicas y bioactivas dependían en gran medida de la forma en la que se procesa el arroz integral.

# CAPÍTULO 3

## 3. METODOLOGÍA

El presente trabajo consiste en germinar las semillas de arroz integral variedad INIAP 15, previamente desinfectadas en solución de hipoclorito de sodio (0,1%), esto con el fin de evitar el desarrollo de microorganismos en la germinación, luego se deja en remojo durante 24 horas a 22°C, posterior a esto se llevó a cabo el proceso de germinación durante 24 y 72 horas a 34°C. El plasma frío se aplicó a 25 g de diferentes muestras de arroz antes y después de la germinación con dos tipos de gases: aire y nitrógeno. Finalmente se molieron las muestras para la extracción y determinación de los compuestos bioactivos y actividad biológica. Los resultados obtenidos se compararon con una muestra control a la cual no se le aplicó plasma frío.

### 3.1 Germinación en muestras de arroz.

La preparación de muestras de arroz integral (Figura 3.1.a) se realizó de acuerdo con la metodología descrita por Cáceres et al., (2014). 50 g de muestras de arroz integral (INIAP 15).

#### Desinfección

Las semillas fueron desinfectadas por inmersión durante 30 minutos con una solución de hipoclorito de sodio al 0.1% en una relación arroz-solución de 1:5. Una vez transcurrido el tiempo, estas fueron enjuagadas con agua destilada para remover cualquier residuo de cloro.

#### Remojo

Luego las semillas de arroz estuvieron en remojo durante 24 horas con agua destilada en una relación semilla-agua de 1:5. Fig. 3.1.b. Una vez culminado el remojo se drena el agua y se colocan en bandejas para su posterior germinación.

#### Germinación

El arroz se coloca en bandejas en una capa de papel filtro y son cubiertas con otra capa de papel filtro, el cual permanece húmedos durante el proceso de germinación. Las muestras se colocan en una cámara climática (Modelo ICH750L, Memmert, Alemania), Durante todo el experimento se humectó en varias ocasiones los recipientes con el fin de mantener el aire a una humedad del 90%. El proceso de germinación se llevó a cabo a una temperatura de 34°C durante 24 y 72 horas en oscuridad.

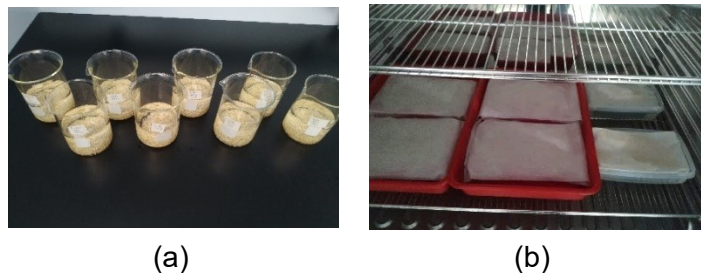


Figura 3.1 a. Preparación inicial de muestras de arroz integral

Figura 3.1 b. Remojo del arroz

Fuente: Cueva y Gavilanez (2022)

### 3.2 Aplicación de plasma

En un recipiente de polipropileno se colocaron 25 g de arroz integral (sin germinar, remojado, germinado 24 y 72 horas) y cubiertas en bolsas de nylon coextruido. El tratamiento con el equipo de plasma frío (Phenix Technologies, Inc., USA) se aplicó por 10 minutos a 90 kV antes y después de llevar a cabo el proceso de germinación con dos tipos gases: aire y nitrógeno. Luego de esto, las muestras se almacenaron a 4°C durante 24 horas para posterior preparación como se muestra en la figura 3.2.



Figura 3.2 Almacenamiento de las muestras de arroz  
Fuente: Cueva y Gavilanez (2022)

### 3.3 Preparación de muestra

Una vez transcurrido el proceso de germinación y/o de aplicación de plasma, las muestras fueron colocadas en vasos de precipitación de 100 ml y cubiertas con papel Parafilm; posteriormente fueron congeladas a -20°C durante 24 horas aproximadamente. Una vez congeladas las muestras, al papel Parafilm se le hizo agujeros antes de colocar los vasos de precipitación en los tubos del liofilizador para luego congelar nuevamente por 2 horas más. Los tubos con las muestras fueron colocados en el equipo previamente es programado a temperatura de -85°C y con presión de vacío de 0,003 mbar.

El proceso de liofilización duró 2 días debido al bajo contenido de humedad de las muestras. Una vez que estas fueron liofilizadas se realizó la molienda en un molino de café (Modelo 80350R, Hamilton Beach Coffe Grinder, USA) y se midió la humedad en un medidor de infrarrojo (Sartorius, MA-37, Alemania). Finalmente, las muestras fueron almacenadas en fundas plásticas de vacío en el congelador a -20°C hasta proceder con los análisis.

### 3.4 Extracción de compuestos bioactivos

Para la extracción de compuestos fenólicos y antioxidantes en las muestras, se utilizó la metodología descrita por Cáceres et al., (2014). Se pesó 1 g de las muestras liofilizadas y molidas, luego se agregó 10 ml de una solución de metanol y ácido clorhídrico (1000:1) al 80% (v/v) en agua destilada. Las muestras en la solución estuvieron en agitación durante 16 horas a 200 rpm y después fueron centrifugadas a 5000 rpm durante 5 minutos a 5°C. Se almacenó a -20°C el extracto líquido en frascos de vidrio.

### 3.5 Determinación de los compuestos fenólicos totales (TPC)

El contenido total de los compuestos fenólicos se analizó utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu's phenol como se describe en Cáceres et al., (2014). Se preparó ácido gálico (450  $\mu\text{g/ml}$ ) en 5 ml de metanol absoluto y enrasado a 10 ml con agua destilada para la curva patrón como se indica en la Figura 3.3 a. Se preparó carbonato sódico al 7.5% como solución tampón y el reactivo Folin-Ciocalteu's utilizado para hacer la reacción colorimétrica con la presencia de compuestos fenólicos. Una vez con los reactivos y materiales listos, se procedió a realizar la curva de la calibración con el ácido gálico a diferentes concentraciones (4.5, 9, 22.5, 45, 67.5, 90 y 112,5)  $\mu\text{g/ml}$ .

Se trabajó con las diluciones de 1/5 y 1/10 para las muestras y los controles, tomando alícuotas de 100  $\mu\text{l}$  y colocándolas en tubos de eppendorf más 625  $\mu\text{l}$  de agua ultrapura, 250  $\mu\text{l}$  de carbonato sódico y 25  $\mu\text{l}$  del reactivo Folin como se indica en la Figura 3.3 b. Cada uno de los tubos se agitaron vortex (Fisher Scientific, USA) y luego se incubaron por 2 horas en oscuridad a temperatura ambiente ( $\sim 22\text{ }^\circ\text{C}$ ) y finalmente se depositaron 200  $\mu\text{l}$  por triplicado en los pocillos de una placa para espectro de luz visible (Fisher Scientific, USA) como se muestra en la Figura 3.3 c, posterior a esto se realiza la lectura en el software Gene 5™ versión 1.1. con el espectrofotómetro (BioTek Instruments, Winooski - USA).

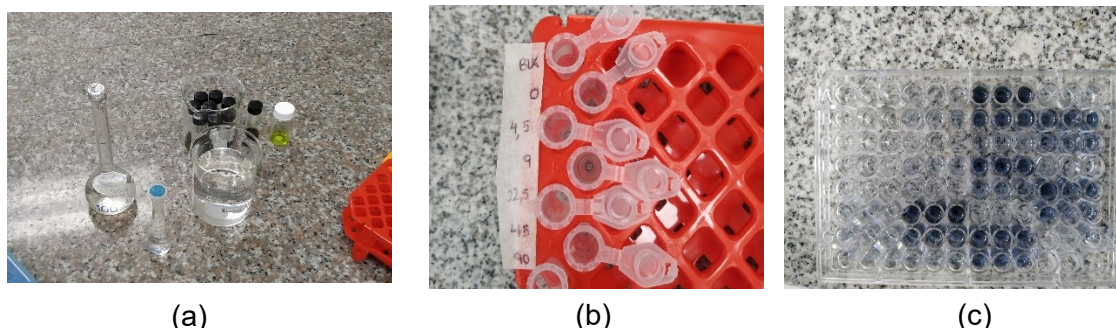


Figura 3.3 a. Preparación de ácido gálico (450  $\mu\text{g/ml}$ ) en 5 ml de metanol absoluto

Figura 3.3 b. Diluciones de las muestras en tubos eppendorf

Figura 3.3 c. Triplicado de las muestras en las placas para espectro de luz visible

Fuente: Cueva y Gavilanez (2022)

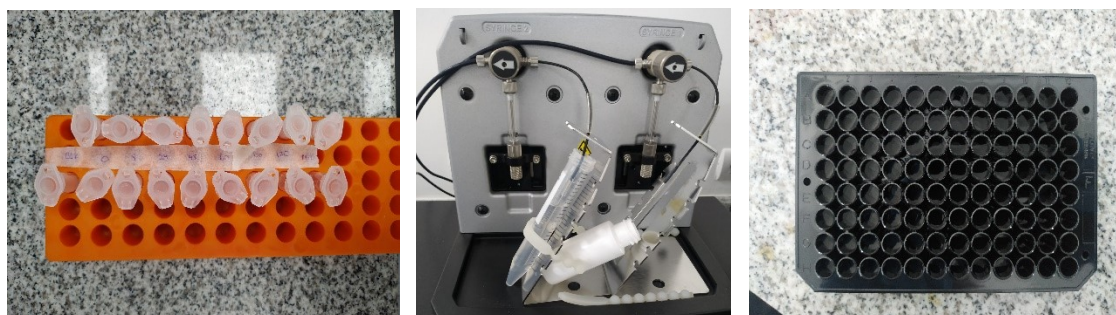
### 3.6 Determinación de la capacidad antioxidante (ORAC)

La actividad antioxidante se analizó evaluando la capacidad de absorción de radicales de oxígeno utilizando el reactivo AAPH, tal como se describe en el estudio de (Cáceres et al., 2014). La curva patrón se preparó con el reactivo 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilcromano-2 ácido carboxílico abreviado como Trolox y como solución tampón se utilizó una de fosfato sódico con un pH de 7.4. La solución de la fluoresceína fue preparada con una concentración final de 116.9  $\text{nm}$ , el cual era el indicador de la extensión de la oxidación en la reacción. Finalmente se preparó la solución AAPH de 40 mM, cuya función era ser el reactivo iniciador para generar el radical peroxil-ROO.

El ensayo fue realizado en oscuridad debido a que los reactivos utilizados son sensibles a la luz. Se elaboró la curva patrón de Trolox a diferentes concentraciones (0, 8, 24, 48, 60, 100, 120 y 160)  $\mu\text{M}$  utilizando como solvente el tampón fosfato. Se emplearon diluciones de 1/10, 1/20, 1/50 y 1/100 para los extractos de las muestras de arroz integral (remojado y germinado) con aplicación de plasma, después se procedió a colocar una



alícuota de 100  $\mu$ l en los tubos de eppendorf como se indica en la Figura 3.4 a. y 600  $\mu$ l de la solución fluoresceína. Se colocó en los pocillos de la placa oscura (Fisher Scientific, USA) 200  $\mu$ l de la solución de fluoresceína con la muestra. El equipo se preparó para que sea dispensado 90  $\mu$ l la solución de AAPH como se indica en la Figura 3.4 b. en los pocillos dentro del mismo espectrofotómetro (BioTek Instruments, Winooski - USA). Las muestras en los pocillos estuvieron aproximadamente 2 horas y 30 minutos en incubación dentro del equipo como se indica en la Figura 3.4 c. y la lectura se realizó en el software Gene 5™ versión 1.1. con el espectrofotómetro a 485 nm y a 528 nm.



(a)

(b)

(c)

Figura 3.4 a. Diluciones de las muestras en los tubos eppendorf

Figura 3.4 b. Preparación del equipo

Figura 3.4 c. Muestras en la placa que fueron incubadas

Fuente: Cueva y Gavilanez (2022)

### 3.7 Determinación de $\gamma$ -oryzanol

Inicialmente se realizó una extracción de este compuesto de acuerdo con la metodología descrita por (Srisaipet y Nuddagul, 2014). Se pesó 1 g de la muestra liofilizada y tamizada y se añadió 4 ml del solvente isopropanol absoluto. La extracción se realizó manteniendo en agitación la muestra con el solvente toda la noche en un agitador orbital marca Thermo Scientific, modelo MaxQ4450 a 200 rpm. Se realizó una centrifugación a 3000 rpm por 5 minutos y se recolectó el sobrenadante, el cual contenía el compuesto  $\gamma$ -oryzanol. De los sobrenadantes recolectados se midió el espectro de absorción del  $\gamma$ -oryzanol utilizando un lector de microplacas (BioTek Instruments, Winooski, VT, USA) controlado por el software Gene 5™ versión 1.1 (BioTek Instruments). Se preparó una curva estándar (0-50 mg/L) a partir de una solución de  $\gamma$ -oryzanol de 0,1 mg/mL, utilizando isopropanol absoluto como solvente (Srisaipet & Nuddagul, 2014).

### 3.8 Determinación de ácido fítico

Se realizó la determinación fotométrica de acuerdo con la metodología descrita por (Reichwald y Hatzack, 2008) con algunas modificaciones. Para la extracción se agregó 1 ml de HCl 1 M a los 0,05 g de una muestra en un vial con cierre hermético y se calentó durante 1 h en un baño de glicerol a 90°C bajo agitación constante a 10 g fuerza durante 45 minutos. La mezcla se enfrió en un baño de hielo y se centrifugó a 10 g fuerza durante 5 minutos y se diluyeron 0,250 ml del sobrenadante con 1 ml de agua destilada.

Luego, se añadió una alícuota de 0,4 ml de muestra, estándar (solución de ácido fítico en HCl 0,2 M) o blanco (HCl 0,2 M) a 0,8 ml de solución férrica (0,05 g de  $\text{FeCl}_3$  en 500 ml de HCl 0,2) en un vial con cierre hermético y se calentó durante 45 minutos en un baño de glicerina a 90°C con agitación a 10 g fuerza. La mezcla se enfrió en un baño de hielo durante 15 minutos y se centrifugó a 10 g durante 5 minutos a temperatura ambiente. Se añadió una alícuota de 0,6 ml del sobrenadante a 0,8 ml del reactivo

complejante (0,5 g de 2,20-bipiridina y 65 $\mu$ l de ácido tioglicólico disueltos en 50 ml de HCl 0,2 M) y se leyó la absorbancia a 540 nm utilizando un lector de microplacas (BioTek Instruments, Winooski, VT, EE. UU.) controlado por el software Gene 5TM versión 1.1. (BioTek Instruments).

### **3.9. Análisis estadístico**

Los resultados que se muestran en las tablas son los valores medios de tres mediciones para cada muestra con diferentes tratamientos germinación y plasma junto con sus controles  $\pm$  sus desviaciones estándar. Se utilizó un diseño factorial de AxBxC considerando como los siguientes factores: tiempo de germinación de arroz (remojado, germinado 24 y 72 horas), aplicación de plasma (antes y después) y tipo de gases (aire y nitrógeno). Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para comparar las medias mediante el software Statgraphics Centurion XVI, versión 16.1.17 (Statistical Graphics Corporation, Rockville, MD). Para determinar las diferencias significativas entre las variables, se aplicó una prueba de múltiples rangos, basados en la prueba de Fisher con un valor  $p \leq 0,05$ . Para las gráficas de columnas se utilizó el software Excel versión 2021 b.

# CAPÍTULO 4

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Contenido de compuestos fenólicos totales (TPC)

El contenido promedio de compuestos fenólicos totales en las muestras de arroz integral (remojado y germinado) con aplicación de plasma junto con sus desviaciones estándar se muestra en la tabla 2 y el gráfico de estos valores se pueden visualizar en la figura 4.1.

Tabla 2. Contenido de Compuestos fenólicos totales en muestras de arroz con diferentes tratamientos (mg/100g ss)

Plasma frío	Arroz	Códigos	Media		Desviación estándar
Control (Sin plasma)	Integral	C-A	22,435	±	0,449 <sup>a</sup>
	Remojado	C-AR	33,779	±	0,510 <sup>bc</sup>
	Germinado 24 h	C- AG24	36,468	±	1,043 <sup>c</sup>
	Germinado 72 h	C- AG72	57,057	±	2,681 <sup>e</sup>
Tratamiento de Plasma con Aire (Antes)	Integral	OPB-AI	30,750	±	1,446 <sup>b</sup>
	Remojado	OPB-AR	34,275	±	3,246 <sup>bc</sup>
	Germinado 24 h	OPB-AG24	43,427	±	4,166 <sup>d</sup>
	Germinado 72 h	OPB-AG72	90,049	±	0,787 <sup>l</sup>
Tratamiento de Plasma con Aire (Después)	Integral	OPA-AI	30,750	±	1,446 <sup>b</sup>
	Remojado	OPA-AR	46,053	±	2,168 <sup>d</sup>
	Germinado 24 h	OPA-AG24	67,636	±	5,041 <sup>g</sup>
	Germinado 72 h	OPA-AG72	134,513	±	5,380 <sup>n</sup>
Tratamiento de Plasma con Nitrógeno (Antes)	Integral	NPB-AI	77,059	±	2,251 <sup>h</sup>
	Remojado	NPB-AR	79,428	±	1,224 <sup>h</sup>
	Germinado 24 h	NPB-AG24	83,825	±	5,733 <sup>i</sup>
	Germinado 72 h	NPB-AG72	115,064	±	6,015 <sup>m</sup>
Tratamiento de Plasma con Nitrógeno (Después)	Integral	NPA-AI	77,059	±	2,251 <sup>h</sup>
	Remojado	NPA-AR	63,211	±	7,105 <sup>f</sup>
	Germinado 24 h	NPA-AG24	95,456	±	5,376 <sup>k</sup>
	Germinado 72 h	NPA-AG72	108,048	±	2,186 <sup>l</sup>

Fuente: Cueva y Gavilanez (2022)

Los valores reportados son el resultado de la media  $\pm$  desviación estándar de tres medidas independientes. Las diferentes letras presentadas como superíndices indican las diferencias significativas de la prueba ANOVA de una sola vía utilizando (LSD) Fisher  $\leq 0,05$ . Los valores que comparten las mismas letras indican que no existen diferencias estadísticamente entre ellos.

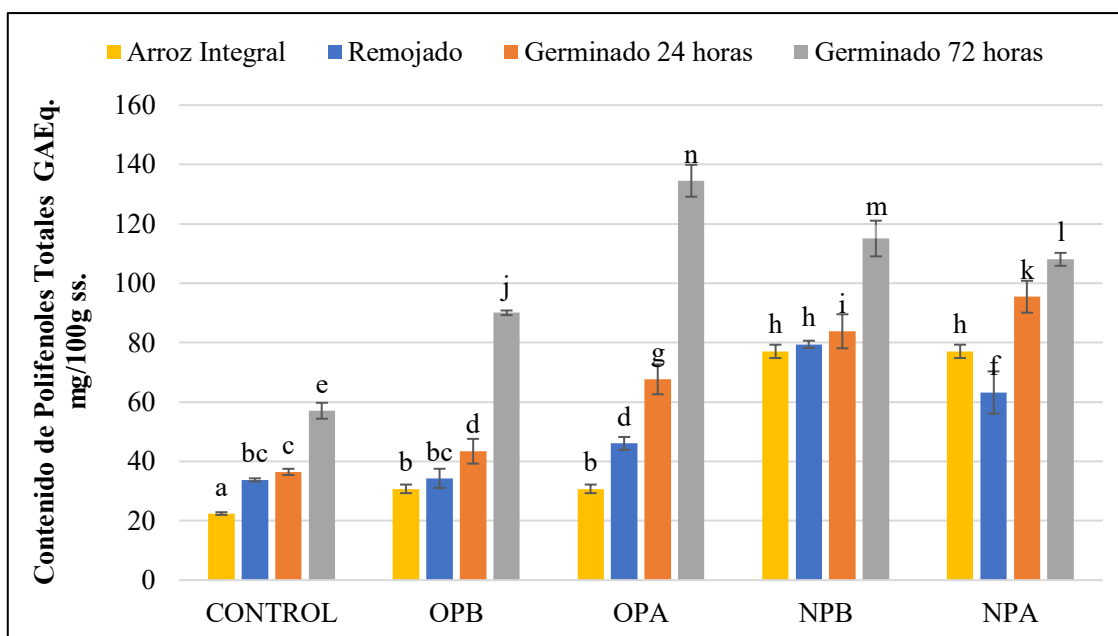


Figura 4.1 Contenido de Compuestos Fenólicos TPC de las muestras de arroz con diferentes tratamientos

Fuente: Cueva y Gavilanez (2022)

El contenido de polifenoles totales aumenta significativamente independientemente del tratamiento. El nivel fenólico más alto en arroz integral germinado fue en el tratamiento con aire después de la germinación por 72 horas, estos resultados coinciden con Li et al., (2022) que muestran una tendencia creciente en el contenido de fenoles en el tiempo de germinación de 36-72 h y que mejoraron en un 63,16% con relación a la muestra control y sin germinar. Yodpitak et al. (2019) obtuvo que el tratamiento con plasma frío influye positivamente al incremento de fenoles totales, quienes consideraron que el tratamiento con plasma frío estimula el estrés de la semilla que podría impulsar la acumulación de fenoles en las muestras. Se atribuyó a muchos factores, incluida la descomposición de los fenoles y la inactivación de la fenilalanina amoníaco lyasa (PAL) en GBR debido a la aplicación de plasma frío (Gómez et al., 2017). Sin embargo, la biosíntesis de compuestos fenólicos y la liberación de agliconas de los glucósidos durante la germinación podrían haber promovido la mejora del nivel fenólico en los granos germinados (Pradeep y Sreerama, 2015).

## 4.2 Capacidad antioxidante (ORAC)

La capacidad antioxidante promedio que se presentaron en las muestras de arroz integral (remojado y germinado) con aplicación de plasma junto con sus desviaciones estándar se muestra en la tabla 3 y el gráfico estos valores se pueden visualizar en la figura 4.2.

Los valores reportados son el resultado de la media  $\pm$  desviación estándar de tres medidas independientes. Las diferentes letras presentadas como superíndices indican las diferencias significativas de la prueba ANOVA de una sola vía utilizando (LSD) Fisher  $\leq 0,05$ . Los valores que comparten las mismas letras indican que no existen diferencias estadísticamente entre ellos.

Tabla 3. Capacidad Antioxidante (ORAC) en muestras de arroz con diferentes tratamientos (mg/100g ss)

Plasma frío	Arroz	Códigos	Media		Desviación E.
Control (Sin plasma)	Integral	C-A	902,661	±	57,910 <sup>a</sup>
	Remojado	C-AR	952,861	±	74,451 <sup>a</sup>
	Germinado 24 h	C- AG24	1354,950	±	167,014 <sup>b</sup>
	Germinado 72 h	C- AG72	1818,610	±	371,683 <sup>cd</sup>
Tratamiento de Plasma con Aire (Antes)	Integral	OPB-AI	1364,470	±	181,517 <sup>b</sup>
	Remojado	OPB-AR	1339,520	±	108,514 <sup>b</sup>
	Germinado 24 h	OPB-AG24	1391,150	±	83,269 <sup>b</sup>
	Germinado 72 h	OPB-AG72	1915,210	±	101,081 <sup>cd</sup>
Tratamiento de Plasma con Aire (Después)	Integral	OPA-AI	1364,470	±	181,517 <sup>b</sup>
	Remojado	OPA-AR	1409,040	±	110,667 <sup>b</sup>
	Germinado 24 h	OPA-AG24	1663,110	±	77,086 <sup>bc</sup>
	Germinado 72 h	OPA-AG72	3482,040	±	156,642 <sup>f</sup>
Tratamiento de Plasma con Nitrógeno (Antes)	Integral	NPB-AI	1676,700	±	50,468 <sup>bc</sup>
	Remojado	NPB-AR	3281,680	±	215,944 <sup>f</sup>
	Germinado 24 h	NPB-AG24	3821,870	±	541,882 <sup>g</sup>
	Germinado 72 h	NPB-AG72	6026,250	±	795,543 <sup>h</sup>
Tratamiento de Plasma con Nitrógeno (Después)	Integral	NPA-AI	1676,700	±	50,468 <sup>bc</sup>
	Remojado	NPA-AR	1951,200	±	184,708 <sup>cd</sup>
	Germinado 24 h	NPA-AG24	2046,340	±	54,666 <sup>d</sup>
	Germinado 72 h	NPA-AG72	2730,420	±	530,878 <sup>e</sup>

Fuente: Cueva y Gavilanez (2022)

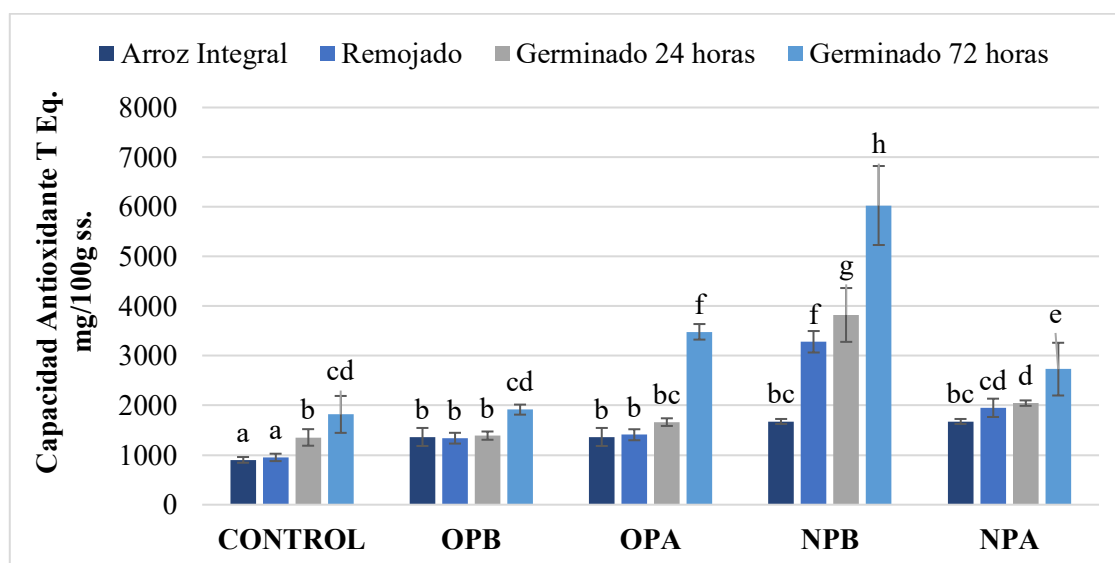


Figura 4.2 Capacidad Antioxidante (ORAC) en muestras de arroz con diferentes tratamientos

Fuente: Cueva y Gavilanez (2022)

Se observa un incremento significativo de la capacidad antioxidante (ORAC) en el tratamiento de plasma con nitrógeno después de la germinación de 72 h. El análisis es aumenta en los 5 tratamientos, sin embargo, el efecto se diferenció en el NPB donde aumentó significativamente. Esto se puede constatar con el trabajo propuesto por Toyoizumu et al. (2021), en su investigación en la cual obtuvo mayor capacidad antioxidante en la cocción de arroz integral cuando el tiempo y temperatura de germinación fueron mayores determinando así que los granos germinados son una excelente fuente de antioxidantes fenólicos (Cevallos y Cisneros, 2010).

### 4.3. $\gamma$ -oryzanol

El contenido de  $\gamma$ -oryzanol en las muestras de arroz integral (remojado y germinado) con aplicación de plasma se pueden visualizar en la Tabla 4 junto con sus desviaciones estándar y la gráfica, se muestra en la Figura 4.3.

Los valores reportados son el resultado de la media  $\pm$  desviación estándar de tres medidas independientes. Las diferentes letras presentadas como superíndices indican las diferencias significativas de la prueba ANOVA de una sola vía utilizando (LSD) Fisher  $\leq 0,05$ . Los valores que comparten las mismas letras indican que no existen diferencias estadísticamente entre ellos.

Tabla 4. Contenido de  $\gamma$ -oryzanol en muestras de arroz con diferentes tratamientos (mg/100g ss)

Plasma frío	Arroz	Códigos	Media		Desviación E.
Control (Sin plasma)	Integral	C-A	4,865	$\pm$	0,335 <sup>ef</sup>
	Remojado	C-AR	3,932	$\pm$	0,083 <sup>a</sup>
	Germinado 24 h	C- AG24	4,184	$\pm$	0,163 <sup>abcd</sup>
	Germinado 72 h	C- AG72	5,084	$\pm$	0,187 <sup>efg</sup>
Tratamiento de Plasma con Aire (Antes)	Integral	OPB-AI	4,013	$\pm$	0,353 <sup>ab</sup>
	Remojado	OPB-AR	4,650	$\pm$	0,075 <sup>cdef</sup>
	Germinado 24 h	OPB-AG24	4,792	$\pm$	0,237 <sup>def</sup>
	Germinado 72 h	OPB-AG72	5,869	$\pm$	0,479 <sup>hi</sup>
Tratamiento de Plasma con Aire (Después)	Integral	OPA-AI	4,013	$\pm$	0,353 <sup>ab</sup>
	Remojado	OPA-AR	4,051	$\pm$	0,332 <sup>abc</sup>
	Germinado 24 h	OPA-AG24	7,188	$\pm$	0,915 <sup>j</sup>
	Germinado 72 h	OPA-AG72	6,436	$\pm$	0,464 <sup>i</sup>
Tratamiento de Plasma con Nitrógeno (Antes)	Integral	NPB-AI	4,513	$\pm$	0,246 <sup>abcde</sup>
	Remojado	NPB-AR	5,068	$\pm$	0,325 <sup>efg</sup>
	Germinado 24 h	NPB-AG24	4,656	$\pm$	0,309 <sup>cdef</sup>
	Germinado 72 h	NPB-AG72	4,138	$\pm$	0,495 <sup>abc</sup>
Tratamiento de Plasma con Nitrógeno (Después)	Integral	NPA-AI	4,513	$\pm$	0,246 <sup>abcde</sup>
	Remojado	NPA-AR	5,506	$\pm$	0,377 <sup>gh</sup>
	Germinado 24 h	NPA-AG24	5,204	$\pm$	1,310 <sup>fg</sup>
	Germinado 72 h	NPA-AG72	4,573	$\pm$	1,117 <sup>bcde</sup>

Fuente: Cueva y Gavilanez (2022)

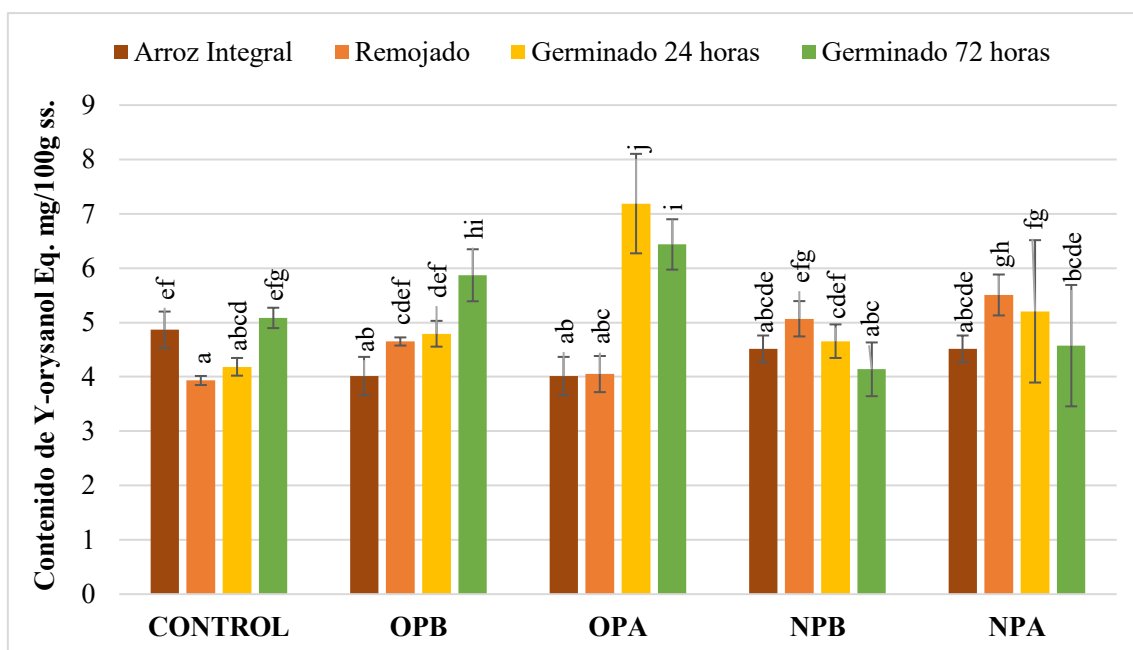


Figura 4.3 Contenido de  $\gamma$ -oryzanol en muestras de arroz con diferentes tratamientos  
Fuente: Cueva y Gavilanez (2022)

El contenido de  $\gamma$ -oryzanol durante todos los tratamientos fue aumentando y disminuyendo en todo el proceso. Sin embargo, el que alcanzó el mayor contenido de  $\gamma$ -oryzanol fue el tratamiento OPA con el germinado de 24 y 72 h. Esto es similar a lo presentado en la investigación propuesta por Yodpitak et al. (2019), en donde el nivel de  $\gamma$ -oryzanol varía en el transcurso del proceso. De igual manera, éste aumentó durante la germinación y posteriormente disminuyó. Por esta razón, ellos afirman que la reducción del contenido en  $\gamma$ -oryzanol después de alcanzar un nivel máximo, podría deberse a factores como el tiempo, temperatura y energía.

#### 4.4. Acido Fítico

El contenido de ácido fólico que en las muestras de arroz integral (remojado y germinado) con aplicación de plasma se pueden visualizar en la Tabla 5 junto con sus desviaciones estándar y la gráfica se muestra en la figura 4.4.

Los valores reportados son el resultado de la media  $\pm$  desviación estándar de tres medidas independientes. Las diferentes letras presentadas como superíndices indican las diferencias significativas de la prueba ANOVA de una sola vía utilizando (LSD) Fisher  $\leq 0,05$ . Los valores que comparten las mismas letras indican que no existen diferencias estadísticamente entre ellos.

Tabla 5. Contenido de ácido fítico en muestras de arroz con diferentes tratamientos (mg/100g ss)

Plasma frío	Arroz	Códigos	Media		Desviación E.
Control (Sin plasma)	Integral	C-A	194,598	±	15,433 <sup>j</sup>
	Remojado	C-AR	152,497	±	5,448 <sup>i</sup>
	Germinado 24 h	C- AG24	139,747	±	7,066 <sup>hi</sup>
	Germinado 72 h	C- AG72	53,430	±	19,592 <sup>a</sup>
Tratamiento de Plasma con Aire (Antes)	Integral	OPB-AI	142,229	±	9,795 <sup>i</sup>
	Remojado	OPB-AR	115,213	±	15,948 <sup>ef</sup>
	Germinado 24 h	OPB-AG24	96,042	±	8,164 <sup>d</sup>
	Germinado 72 h	OPB-AG72	66,110	±	10,255 <sup>ab</sup>
Tratamiento de Plasma con Aire (Después)	Integral	OPA-AI	142,229	±	9,795 <sup>i</sup>
	Remojado	OPA-AR	82,589	±	10,462 <sup>c</sup>
	Germinado 24 h	OPA-AG24	122,646	±	7,966 <sup>fg</sup>
	Germinado 72 h	OPA-AG72	109,637	±	13,500 <sup>ef</sup>
Tratamiento de Plasma con Nitrógeno (Antes)	Integral	NPB-AI	73,583	±	13,663 <sup>bc</sup>
	Remojado	NPB-AR	73,000	±	5,729 <sup>bc</sup>
	Germinado 24 h	NPB-AG24	72,239	±	12,765 <sup>bc</sup>
	Germinado 72 h	NPB-AG72	53,505	±	13,410 <sup>a</sup>
Tratamiento de Plasma con Nitrógeno (Después)	Integral	NPA-AI	73,583	±	13,663 <sup>bc</sup>
	Remojado	NPA-AR	128,987	±	6,886 <sup>gh</sup>
	Germinado 24 h	NPA-AG24	105,595	±	5,666 <sup>de</sup>
	Germinado 72 h	NPA-AG72	75,206	±	13,188 <sup>bc</sup>

Fuente: Cueva y Gavilanez (2022)

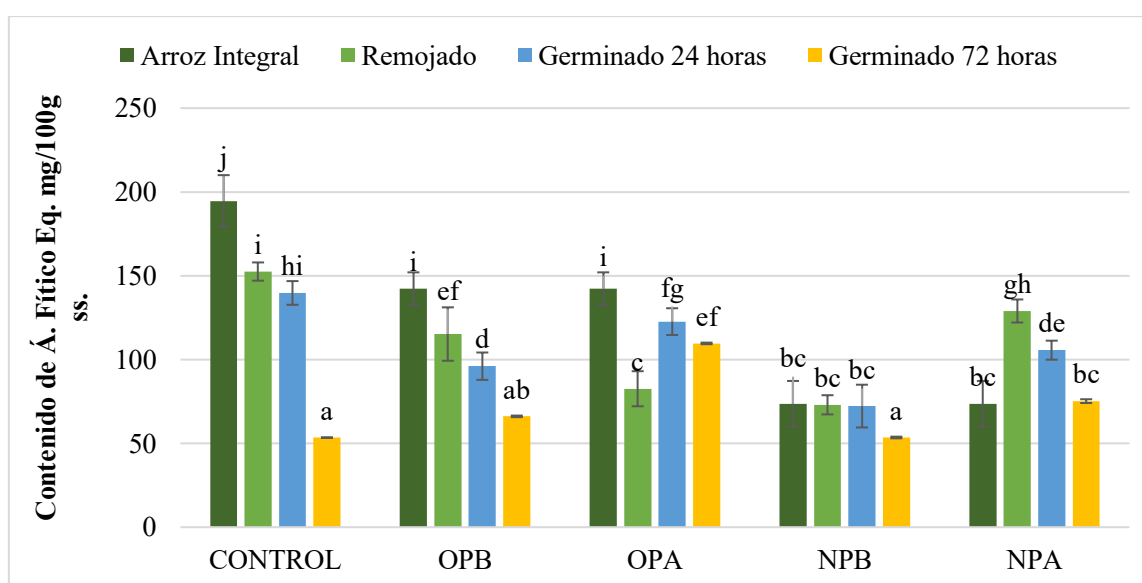


Figura 4.4 Contenido de ácido fítico en muestras de arroz con diferentes tratamientos  
Fuente: Cueva y Gavilanez (2022)



El contenido de ácido fítico disminuyó significativamente independientemente del tratamiento. Curiosamente, el contenido más bajo de ácido fítico se obtuvo en el tratamiento de plasma con nitrógeno del germinado a 72 horas, este efecto coincide con otras investigaciones en la que el ácido fítico se ve afectado por el tiempo de germinación (Cáceres et al., 2014).

Según El-Adawy et al., (2003) menciona que el efecto de la germinación influye a una mayor actividad de la fitasa endógena que libera fósforo y fosfatos más bajos y, adicionalmente a la lixiviación del ácido fítico y su posterior lixiviación al agua ocasionando que se disminuya el contenido de ácido fítico. El nivel de ácido fítico disminuye por el tratamiento de plasma frío del arroz integral antes de la germinación Li et al., (2022). Es importante reducir el contenido de ácido fítico debido a que es considerado un anti nutriente que afecta negativamente la absorción de minerales en el cuerpo. La disminución del contenido de ácido fítico en arroz integral germinado podría explicarse por la mejora de la actividad fitasa durante los procesos de germinación (Towo et al., 2006). Por lo tanto, se demostró que el contenido de ácido fítico se reduce por la aplicación de plasma frío por la actividad de fitasa estimulante en el arroz integral germinado.

# CAPÍTULO 5

## 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones

El estudio evaluó el efecto de la aplicación de plasma frío como pretratamiento de la germinación en compuestos fenólicos total (TPC), capacidad antioxidante (ORAC),  $\gamma$ -oryzanol y ácido fítico. Los resultados indican un incremento significativo en TPC,  $\gamma$ -oryzanol y ORAC. Por otro lado, se evidencia una disminución en el contenido ácido fítico al aplicar plasma antes del proceso de germinación utilizando nitrógeno como gas, lo cual es favorable por su actividad quelante y así poder degradar el ácido fítico. Así también con esto se concluye que efectivamente la germinación activa procesos metabólicos complejos que ocasionan profundos cambios en composición del arroz integral y que la aplicación de plasma frío es un proceso sostenible y rentable para mejorar la calidad nutricional del arroz.

Se concluye que en los compuestos fenoles totales hay tratamientos en los cuales las diferencias estadísticas no varían entre cada uno. Sin embargo, el que marcó diferencia fue el tratamiento con aire después de la germinación por 72 horas u *Oxygen Plasma After* (OPA), que tuvo un contenido de fenoles totales significativo en relación con los demás.

Para la capacidad antioxidante se concluyó que no existe diferencias estadísticas entre ellos, pero si en el tratamiento de plasma con nitrógeno después de la germinación de 72 h o *Nitrogen Plasma Before* (NPB) ya que tuvo mayor significancia en el análisis. Por esta razón, los granos germinados poseen una excelente fuente de antioxidantes.

Se concluyó que para el  $\gamma$ -oryzanol no se obtuvo mayores diferencias estadísticas entre ellos ya que aumentaron y disminuyeron en todo el proceso, aunque hubo dos que destacaron entre los demás los cuales fueron el tratamiento con aire después de la germinación por 24 y 72 horas u *Oxygen Plasma After* (OPA), teniendo mayor significancia en el análisis. Por otro lado, la variación del proceso podría ocurrir por factores externos como el tiempo, temperatura y energía.

Es importante que se tenga un bajo contenido en ácido fítico ya que se lo considera un anti nutriente para el cuerpo humano. Por ende, se llegó a la conclusión que se necesitó un germinado de 72 horas para que este disminuya significativamente. El tratamiento con nitrógeno después de la germinación u *Nitrogen Plasma Before* (NPB) fue el que logró cumplir con lo que se buscaba en esta investigación.

En general, si se tuviera que estandarizar el proceso, el mejor tratamiento a usar sería el de aplicación de plasma con nitrógeno antes de la germinación de 72 horas, debido a lo que se busca es disminuir el contenido de ácido fítico y así también incrementa el contenido de  $\gamma$ -oryzanol, fenoles y antioxidantes.

### 5.2 Recomendaciones

Se recomienda continuar con investigaciones para otra variedad de arroz, principalmente las que son más consumidas, con la finalidad de poder mostrar a la población una alternativa más para que contribuya a la nutrición y así también esta idea sea aprovechada por la industria de los alimentos como estrategia de negocio ya que la germinación y la aplicación de plasma son procesos rentables.

## BIBLIOGRAFÍA

- Amnuaysin, N., Korakotchakorn, H., Chittapun, S., y Poolyarat, N. (2018). Seed germination and seedling growth of rice in response to atmospheric air dielectric-barrier discharge plasma. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 40(4), 819–823.
- Benítez, A., Villanueva, J., González, G., Alcantar, V., Díaz, R. y Quintero, A. (2013). Determination of the total antioxidant capacity of food and human plasma by photochemiluminescence: Correlation with spectrophotometric (FRAP) and fluorometric (ORAC) assays. *Tip. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*. 23.
- Bourke, P., Ziuzina, D., Boehm, D., Cullen, P. y Keener, K. (2018). The Potential of Cold Plasma for Safe and Sustainable Food Production. *Trends in Biotechnology*, 36(6), 615–626. <https://doi.org/10.1016/J.TIBTECH.2017.11.001>
- Bravo, M., Reyna, R., Gómez, I. y Huapaya H. (2013). Estudio químico y nutricional de granos andinos germinados de quinua (*Chenopodium quinoa*) y kiwicha (*Amarantus caudatus*). *Revista Peruana De Química E Ingeniería Química*, 16(1), 54–60. Recuperado a partir de <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/quim/article/view/6558>
- Cáceres, P., Martínez, C., Amigo, L. & Frias, J. (2014). Maximising the phytochemical content and antioxidant activity of Ecuadorian brown rice sprouts through optimal germination conditions. *Food Chemistry*, 152, 407–414. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2013.11.156>
- Cáceres, P., Martínez, C., Amigo, L. y Frias, J. (2014). Assessment on proximate composition, dietary fiber, phytic acid and protein hydrolysis of germinated ecuadorian brown rice. *Plant Foods for Human Nutrition*, 69(3): 261- 267.
- Cevallos, B. y Cisneros, L. (2010). Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. *Food Chemistry*, 119(4), 1485–1490. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2009.09.030>
- Charoenthakij, P., Jangchud, K., Jangchud, A., Piyachomkwan, K., Tungtrakul, P. y Prinyawiwatkul, W. (2009). Germination Conditions Affect Physicochemical Properties of Germinated Brown Rice Flour. *Journal of Food Science*, 74(9), C658–C665. <https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2009.01345.X>
- Chisayo, K., Kouichi, Y., Chitoshi, T., Masayuki, M., Michio, S. y Hiroaki, M. (2013). Natural food science based novel approach toward prevention and treatment of obesity and type 2 diabetes: Recent studies on brown rice and  $\gamma$ -oryzanol. *Obesity Research & Clinical Practice*. 7. 165-172. <https://doi.org/10.1016/j.orcp.2013.02.003>.
- Cho, D. y Lim, S. (2016). Germinated brown rice and its bio-functional compounds. *Food Chemistry*, 196, 259–271. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.09.025>
- Cho, J., Lee, H., Kim, G., Kim, G., Lee, Y., Shin, S., Park, K. y Moon, J. (2012). Quantitative analyses of individual  $\gamma$ -Oryzanol (Steryol Ferulates) in conventional and organic brown rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Cereal Science*, 55(3). 337-343.

- Dávila, M., Sangronis, E., Granito, M. (2003). Germinated or fermented legumes: food or functional food ingredients. *Arch Latinoam Nutr.* 53(4). 348-354.
- El-Adawy TA, Rahma EH, El-Bedawey AA, El-Beltagy AE. (2003) Nutritional potential and functional properties of germinated mung bean, pea and lentil seeds. *Plant Foods Hum Nutr.* 58. 1-13
- Gani, A., Wani, S., Masoodi, F. y Hameed, G. (2012). Whole-grain cereal bioactive compounds and their health benefits: a review. *J Food Process Technol*, 3(3), 146-156.
- Gao, J., Fu, H., Zhou, X., Chen, Z., Luo, Y., Cui, B., Chen, G. y Liu, J. (2016). Comparative proteomic analysis of seed embryo proteins associated with seed storability in rice (*Oryza sativa* L) during natural aging. *Plant Physiol Biochem.* 103:31-44. Doi: 10.1016/j.plaphy.2016.02.026.
- Gimeno, E. (2004). Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *Elsevier.* 23(6), 80-84. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-compuestos-fenolicos-un-analisis-sus-13063508>
- Gómez, M., Gutiérrez, R., Cuevas, E., Canizalez, V., del Rosario, C., Milán, J., y Reyes, C. (2017). Improvement of chia seeds with antioxidant activity, GABA, essential amino acids, and dietary fiber by controlled germination bioprocess. *Plant Foods for Human Nutrition*, 72(4), 345—352. <https://doi.org/10.1007/s11130-017-2090631-4>
- Hídvégi, M. y Lásztity, R. (2003). Phytic acid content of cereals and legumes and interaction with proteins. *Periodica polytechnica ser. Chem. Eng.*, 46, 1-2.
- Li, P. L., Zhu, Y., Li, S. H., Zhang, A. X., Zhao, W., Zhang, J. L., Cao Chen, Q., Ren, S. F., Liu, J. K., y Wang, H. J. (2020). Variation Patterns of the Volatiles during Germination of the Foxtail Millet (*Setaria Italica*): The Relationship between the Volatiles and Fatty Acids in Model Experiments. *Molecules*, 25(5), 1238. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25051238>
- Li, R., Li, Z., Wu, N.-N. y Tan, B (2022). The effect of cold plasma pretreatment on GABA, -oryzanol, phytic acid, phenolics and antioxidant capacity in brown rice during germination. *Cereal Chemistry*, 1-12: <https://doi.org/10.1002/cche.10609>
- Mäkinen, O. E., y Arendt, E. K. (2018). Nonbrewing Applications of Malted Cereals, Pseudocereals, and Legumes: A Review. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2015-0515-01>, 73(3), 223–227. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2015-0515-01>
- Mir, S. A., Shah, M. A., y Mir, M. M. (2016). Understanding the Role of Plasma Technology in Food Industry. *Food and Bioprocess Technology*, 9(5), 734–750. <https://doi.org/10.1007/S11947-016-1699-9/FIGURES/2>
- Mir, S. A., Shah, M. A., Bosco, S. J. D., Sunooj, K. V., y Farooq, S. (2020). A review on nutritional properties, shelf life, health aspects, and consumption of brown rice in comparison with white rice. *Cereal Chemistry*, 97(5), 895–903. <https://doi.org/10.1002/CCHE.10322>

- Misnal, M. F. I., Redzuan, N., Zainal, M. N. F., Ahmad, N., Raja Ibrahim, R. K., y Agun, L. (2022). Cold Plasma: A Potential Alternative for Rice Grain Postharvest Treatment Management in Malaysia. *Rice Science*, 29(1), 1–15. <https://doi.org/10.1016/J.RSCI.2021.12.001>
- Misra, N. N., Schlüter, O., y Cullen, P. J. (2016). Plasma in Food and Agriculture. *Cold Plasma in Food and Agriculture: Fundamentals and Applications*, 1–16. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801365-6.00001-9>
- Moongngarm, A., y Saetung, N. (2010). Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germinated rough rice and brown rice. *Food Chemistry*, 122(3), 782–788. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2010.03.053>
- Ohtsubo, K., Suzuki, K., Yasui, Y. y Kasumi, T. (2005). Bio-functional components in the processed pre-germinated brown rice by a twin-screw extruder. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(4), 303–316. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2004.10.003>
- Okada, T. y Yamaguchi, Y. (1983). Antioxidative effect and pharmacology of oryzanol. *J. Jpn. Oil Chem. Soc.* 32. 305
- Pogorzelska-Nowicka, E., Hanula, M. M., Brodowska-Trębacz, M., Górská-Horczyk, E., Jankiewicz, U., Mazur, T., Marcinkowska-Lesiak, M., Póltorak, A., y Wierzbicka, A. (2021). The Effect of Cold Plasma Pretreatment on Water-Suspended Herbs Measured in the Content of Bioactive Compounds, Antioxidant Activity, Volatile Compounds and Microbial Count of Final Extracts. 10(11), 1740. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX10111740>
- Pradeep, P. M., y Sreerama, Y. N. (2015). Impact of processing on the phenolic profiles of small millets: Evaluation of their antioxidant and enzyme inhibitory properties associated with hyperglycemia. *Food Chemistry*, 169, 455–463. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.010>
- Reichwald, K., y Hatzack, F. (2008). Application of a modified Haug and Lantzsch method for the rapid and accurate photometrical phytate determination in soybean, wheat, and maize meals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(9), 2888–2891. <https://doi.org/10.1021/jf0730690>
- Sangronis, E. y Machado, C. (2007). Influence of germination on the nutritional quality of Phaseolus vulgaris and Cajanus cajan. *Lebensm-wis. Technol.* 40: 116-120.
- Srisaipet, A., y Nuddagul, M. (2014). Influence of Temperature on Gamma-Oryzanol Stability of Edible Rice Bran Oil during Heating. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 5(4), 303–306. <https://doi.org/10.7763/ijcea.2014.v5.398>
- Sruthi, N., Josna, K., Pandiselvam, R., Kothakota, A., Gavahian, M. y Khaneghah, A. (2022). Impacts of cold plasma treatment on physicochemical, functional, bioactive, textural, and sensory attributes of food: A comprehensive review, *Food Chemistry*, Volume 368. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130809>.
- Towo, E., Matuschek, E., y Svanberg, U. (2006). Fermentation and enzyme treatment of tannin sorghum gruels: Effect of phenolic compounds, phytate and in vitro accessible iron. *Food Chemistry*, 94, 369–376. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.11.027>

- Toyoizumu, T., et al. (2021) Efectos de la cocción a alta temperatura sobre el contenido de ácido gamma-aminobutírico y la capacidad antioxidante del arroz integral germinado (*Oryza sativa* L.). *CyTa*, 19, 360-36
- Vilaplana, M. (2007). Antioxidantes presentes en los alimentos. Vitaminas, minerales y suplementos. *Elsevier*. 26(10), 79-86. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-antioxidantes-presentes-alimentos-vitaminas-minerales-13112893#:~:text=Lo%20que%20hacen%20los%20antioxidantes,tumores%20y%20de%20enfermedades%20neurodegenerativas>.
- Wu, F., Yang, N., Touré, A., Jin, Z., y Xu, X. (2013). Germinated Brown Rice and Its Role in Human Health. <Http://Dx.Doi.Org/10.1080/10408398.2010.542259>, 53(5), 451–463. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.542259>
- Wu, N. N., Li, R., Li, Z. J. y Tan, B. (2022). Effect of germination in the form of paddy rice and brown rice on their phytic acid, GABA,  $\gamma$ -oryzanol, phenolics, flavonoids and antioxidant capacity. *Food Research International*, 159, 111603. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2022.111603>
- Yodpitak, S., Mahatheeranont, S., Boonyawan, D., Sookwong, P., Roytrakul, S. y Norkaew, O. (2019). Cold plasma treatment to improve germination and enhance the bioactive phyto- chemical content of germinated brown rice. *Food Chemistry*, 289, 328—339. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.061>
- Zargarchi, S. y Saremnezhad, S. (2019). Gamma-aminobutyric acid, phenolics and antioxidant capacity of germinated indica paddy rice as affected by low-pressure plasma treatment. *LWT*. 102. Pages 291-294, ISSN 0023-6438, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.014>.
- Zeng, Z., Wang, Y., Xu, G., Zhou, L., Liu, C. y Luo, S. (2023). Peroxidase inactivation by cold plasma and its effects on the storage, physicochemical and bioactive properties of brown rice, *Food Bioscience*. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102383>.