

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA
ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA
AGRONÓMICA Y DEL MEDIO NATURAL



EXTRACCIÓN DE ANTIOXIDANTES DE LA PAJA
DE ARROZ. APLICACIÓN DE ULTRASONIDOS
CON TRATAMIENTO TÉRMICO.

TRABAJO FIN DE GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE
LOS ALIMENTOS

Alumna: Paula Jorda Tomas
Tutora: Amparo Chiralt Boix
Cotutor experimental: Pedro Vieira de Freitas

Curso Académico 2019/2020

VALENCIA, JULIO 2020

EXTRACCIÓN DE ANTIOXIDANTES DE LA PAJA DE ARROZ. APLICACIÓN DE ULTRASONIDOS CON TRATAMIENTO TÉRMICO.

RESUMEN

La paja de arroz es un residuo agroalimentario abundante y difícil de gestionar, cuya revalorización debe ser potenciada en el contexto de la economía circular generando productos de alto valor que compensen la conversión de otra parte de la biomasa en productos de menor valor añadido como biocombustibles, piensos para animales o compost. En este trabajo se analizan diferentes métodos de aprovechamiento de la paja de arroz, sus características composicionales y estructurales y la factibilidad de los procesos de extracción que permitan la obtención de productos de alto valor. La composición básicamente lignocelulósica de la paja de arroz la convierte en una fuente potencial de compuestos fenólicos ligados a la fracción de lignina y hemicelulosas, con actividad antioxidante y antimicrobiana de gran aplicación en alimentación, farmacia o medicina. El elevado contenido en sílice de la matriz vegetal y el fuerte ensamblado lignina-carbohidratos dificulta los procesos extractivos, por lo que es necesario un tratamiento eficiente para lograr una mayor ruptura celular en el tejido que favorezca la penetración del solvente en la matriz y aumente el rendimiento de extracción. La extracción acuosa, utilizando ultrasonidos y calentamiento a reflujo, se considera una alternativa ecológica a los procesos de extracción con solventes, evitando los residuos tóxicos y logrando tiempos de operación más cortos. Los resultados obtenidos reflejaron la eficacia del pretratamiento con ultrasonidos para favorecer la ruptura de la matriz vegetal y mejorar la penetración del solvente y el rendimiento de la extracción, a la vez que el tratamiento térmico con calentamiento a reflujo favoreció la liberación de los compuestos fenólicos de la matriz vegetal al medio acuoso, obteniendo un buen rendimiento sobre la capacidad antioxidante del extracto.

Palabras clave: Paja de arroz, revalorización, extracción acuosa, ultrasonidos, calentamiento a reflujo, contenido fenólico, capacidad antioxidante.

EXTRACCIÓ D'ANTIOXIDANTS DE LA PALLA D'ARRÒS. APLICACIÓ D'ULTRASONS AMB TRACTAMENT TÈRMIC.

RESUM

La palla d'arròs és un residu agroalimentari abundant i difícil de gestionar, la seua revaloració ha de ser potenciada en el context de l'economia circular generant productes d'alt valor que compensen la conversió d'una altra part de la biomassa en productes de menor valor afegit com a biocombustibles, pinsos per a animals o compost. En este treball s'analitzen diferents mètodes d'aprofitament de la palla d'arròs, les seues característiques composicionals i estructurals i la factibilitat dels processos d'extracció que permeten l'obtenció de productes d'alt valor. La composició bàsicament lignocelulósica de la palla d'arròs la converteix en una font potencial de compostos fenòlics lligats a la fracció de lignina i hemicel·luloses, amb activitat antioxidant i antimicrobiana de gran aplicació en alimentació, farmàcia o medicina. L'elevat contingut en sílice de la matriu vegetal i el fort acoblament lignina- carbohidrats dificulta els processos extractius, per la qual cosa és necessari un tractament eficient per a aconseguir una major ruptura cel·lular en el teixit que afavorisca la penetració del solvent en la matriu i augmente el rendiment d'extracció. L'extracció aquosa, utilitzant ultrasons i calfament a reflux, es considera

una alternativa ecològica als processos d'extracció amb solvents, evitant els residus tòxics i aconseguint temps d'operació més curts. Els resultats obtinguts van reflectir l'eficàcia del pretractament amb ultrasons per a afavorir la ruptura de la matriu vegetal i millorar la penetració del solvent i el rendiment de l'extracció, al mateix temps que el tractament tèrmic amb calfament a reflux va afavorir l'alliberament dels compostos fenòlics de la matriu vegetal al medi aquós, obtenint un bon rendiment sobre la capacitat antioxidant de l'extracte.

Paraules clau: Palla d'arròs, revaloració, extracció aquosa, ultrasons, calfament a reflux, contingut fenòlic, capacitat antioxidant.

EXTRACTION OF ANTIOXIDANTS FROM RICE STRAW. APPLICATION OF ULTRASOUND WITH HEAT TREATMENT.

ABSTRACT

Rice straw is an abundant agricultural waste that is difficult to manage, whose revaluation must be enhanced in the circular economy's context by generating high-value products that compensate for the conversion of the another part of the biomass into lower value added products such as biofuels, animal feed or compost. This paper analyses different methods of harvesting rice straw, its compositional and structural characteristics and the feasibility of extraction processes that allow high-value products to be obtained. The basically lignocellulosic composition of rice straw makes it a potential source of phenolic compounds linked to the fraction of lignin and hemicelluloses with antioxidant and antimicrobial activity of great application in food, pharmacy or medicine. The high silica content of the plant matrix and the strong lignin-carbohydrate assembly make extractive processes difficult, so it is necessary an efficient treatment to achieve a greater cellular rupture in the tissue that favors the penetration of the solvent in the matrix and increases the extraction performance. Aqueous extraction, using ultrasound and reflux heating, is considered an ecological alternative to solvent extraction processes, avoiding toxic waste and achieving shorter operating times. The results obtained reflected the efficiency of ultrasonic pretreatment to promote the rupture of the plant matrix and improve solvent penetration and extraction performance, while the heat treatment with reflux heating favored the release of phenolic compounds from the plant matrix to the aqueous medium, obtaining a good yield on the antioxidant capacity of the extract.

Keywords: Rice straw, valorization, aqueous extraction, ultrasound, reflux heating, phenolic content, antioxidant capacity.

Autora: Paula Jorda Tomas

Tutora: Amparo Chiralt Boix

Cotutor experimental: Pedro Vieira de Freitas

Valencia, Julio de 2020

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Amparo y Pedro, tutora y cotutor, por darme la oportunidad de formar parte del equipo. Gracias por la gran capacidad de adaptación frente a las circunstancias vividas, por el esfuerzo de trabajar desde la distancia a través de una pantalla. Gracias por lo aprendido y por haber confiado en mi.

Gracias a toda la gente que se ha cruzado durante el camino, por los conocidos que se convierten en familia y por el apoyo incondicional recibido durante estos cuatro años.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVO	1
3. LA PAJA DE ARROZ	2
3.1 PRODUCCIÓN DE ARROZ. LA PROBLEMÁTICA DE LA GESTIÓN DE LA PAJA.	2
3.2 ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN DE LA PAJA DE ARROZ	4
3.3 ESTUDIOS DE VALORIZACIÓN DE LA PAJA DE ARROZ	7
3.3.1 BIOREFINERIAS: PRODUCCIÓN DE BIOETANOL	7
3.3.2 ELABORACIÓN DE BIOCOMPOST	9
3.3.3 ALIMENTACIÓN ANIMAL	10
3.4 EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS ACTIVOS.....	11
4. ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LA EXTRACCIÓN ACUOSA DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS Y ANTIOXIDANTES DE LA PAJA	14
4.1. MATERIALES Y MÉTODOS	15
4.1.1 MATERIA PRIMA	15
4.1.2 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA EL PROCESO DE EXTRACCIÓN.....	15
4.1.3 TRATAMIENTOS EXTRACTIVOS	15
4.1.3.1 Tratamiento con ultrasonidos (US30 y US60).....	15
4.1.3.2 Tratamiento con calentamiento a reflujo (HT60).....	15
4.1.3.3 Tratamiento combinado ultrasónidos y calentamiento a reflujo (US30HT60)...	16
4.1.4 DETERMINACIONES ANALÍTICAS	16
4.1.4.1 Determinación del contenido en sólidos totales	16
4.1.4.2 Determinación del contenido fenólico: Método de Folin Ciocalteu.....	16
4.1.4.3 Determinación de la capacidad antioxidante: DPPH	17
4.1.4.4 Análisis estadístico.....	18
4.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
4.2.1 CONTENIDO SÓLIDOS TOTALES	19
4.2.2 CONTENIDO FENÓLICO: MÉTODO DE FOLIN CIOCALTEU	20
4.2.3 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE: MÉTODO DE DPPH	21
5. CONCLUSIONES	26
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Producción, utilización y existencias de arroz a nivel mundial	2
Figura 2. Distribución de la producción (t) de arroz por Comunidades Autónomas (2016/2017).....	3
Figura 3. Estructura esquemática de la fisiológica de la paja de arroz	4
Figura 4. Estructura del complejo carbohidrato-lignina en el tejido vegetal (celulosa, hemicelulosa y lignina).....	5
Figura 5. Efecto del pretratamiento sobre el complejo carbohidrato-lignina.....	8
Figura 6. Fenómeno de cavitación. (A) Desarrollo y colapso de cavitación de burbujas. (B) Colapso cavitacional en la interfaz sólido-líquido.....	12
Figura 7. Esquema del análisis experimental sobre el extracto acuoso de la paja de arroz. Diferentes tratamientos y determinaciones analíticas: ST (Sólidos Totales), Fenoles (Folin Ciocalteu) y DPPH.....	14
Figura 8. Molienda de paja	15
Figura 9. Mecanismo de acción del reactivo Folin Ciocalteu	17
Figura 10. Fundamento teórico de la reacción del radical DPPH con el antioxidante. ...	17
Figura 11. Variación de la absorbancia vs tiempo (min) empleando diferentes volúmenes de extracto de paja de arroz para el tratamiento US30	21
Figura 12. Variación de la absorbancia vs tiempo (min) empleando diferentes volúmenes de extracto de paja de arroz para el tratamiento US60	22
Figura 13. Variación de la absorbancia vs tiempo (min) empleando diferentes volúmenes de extracto de paja de arroz para el tratamiento HT60	22
Figura 14. Variación de la absorbancia vs tiempo (min) empleando diferentes volúmenes de extracto de paja de arroz para el tratamiento US30HT60	23
Figura 15. Reducción de DPPH después del tratamiento US30HT60. Cubetas con concentración creciente de extracto acuoso de paja (izquierda a derecha).....	23
Figura 16. Porcentaje de DPPH remanente cuando la reacción es estable frente a los mg de extracto seco/mg de DPPH para el tratamiento US30	24
Figura 17. Porcentaje de DPPH remanente cuando la reacción es estable frente a los mg de extracto seco/mg de DPPH para el tratamiento US60	24
Figura 18. Porcentaje de DPPH remanente cuando la reacción es estable frente a los mg de extracto seco/mg de DPPH para el tratamiento HT60	25
Figura 19. Porcentaje de DPPH remanente cuando la reacción es estable frente a los mg de extracto seco/mg de DPPH para el tratamiento US30HT60.....	25

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición (% en peso seco) de la paja de arroz según diferentes fuentes....	6
Tabla 2. Contenido en sólidos totales (ST), en polifenoles totales (TPC) y actividad antioxidante (EC50) de los extractos acuosos de la paja de arroz obtenidos con aplicación de ultrasonidos, calentamiento a reflujo y combinación de ambos	19

1. INTRODUCCIÓN

Los desechos agrícolas y agroindustriales son sustancias orgánicas que generalmente se descartan durante el procesamiento. En los últimos años, debido al aumento de generación de desechos se potencia la economía circular, como un modelo alternativo de producción y consumo de residuos y energía (Vaskalis *et al.*, 2019). En la actualidad, el modelo tradicional de economías lineales, basado en el uso y descarte de desechos y subproductos, ya no es viable. La economía circular proporciona un modelo de flujo diferente, donde no se desperdician recursos sino que estos se consideran fuentes de materia prima para su valorización, alargando la vida útil de los subproductos desde una perspectiva basada en el cero impacto ambiental (Figueroa *et al.*, 2019).

Los principales subproductos de las cosechas arroceras son la paja, la cáscara y el salvado. Con una gestión adecuada, cada subproducto puede utilizarse para mejores propósitos contribuyendo a alcanzar los objetivos de sostenibilidad, desde usos energéticos hasta producción de forrajes para animales (IRRI, 2018). Los cultivos de arroz generan toneladas anuales de paja, un residuo que constituye un problema medioambiental de difícil solución, a pesar de encontrar diferentes usos para este subproducto, la mayoría conllevan aspectos negativos en su procesado (Rojo, 2016). Por ello, las alternativas más recurrentes para eliminar los residuos de paja de arroz son la quema o su incorporación directa al suelo (fangueo), causando numerosos problemas medioambientales: emisión de humo, generación gases de efecto invernadero, contaminación por lixiviación,...entre otros (IVIA, 2017).

El uso de la paja de arroz para diferentes aplicaciones industriales radica en su composición que la convierte en material de interés para su revalorización, permitiendo un mejor aprovechamiento de la producción arroceras. La explotación de su potencial es posible mediante la extracción de moléculas biológicamente activas presentes en la matriz vegetal, su característica composición lignocelulósica destacable por el elevado contenido en lignina (compuestos fenólicos) y la estructura silicada, dificultando la extracción de compuestos.

2. OBJETIVO

El objetivo global de este trabajo consiste en el análisis bibliográfico del potencial de la paja de arroz para su aprovechamiento y revalorización y el análisis específico de su potencial como fuente de compuestos fenólicos antioxidantes, obtenidos por extracción acuosa, con diferentes métodos: aplicación de ultrasonidos, calentamiento a reflujo y el uso combinado de ambos tratamientos.

3. LA PAJA DE ARROZ

3.1 PRODUCCIÓN DE ARROZ: LA PROBLEMÁTICA DE LA GESTIÓN DE LA PAJA

El arroz es el cultivo más importante en toda Asia y el segundo cereal con mayor producción mundial. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la producción mundial anual de arroz en 2018 se estimó en 782 millones de toneladas, siendo el continente asiático el más productor, con más de 90% de esta producción en el mercado mundial (FAOSTAT, 2018). La producción de arroz a nivel global (Figura 1) se estima que va en aumento a causa del crecimiento de la población, baja economía y dominio de la pobreza. Además, es un alimento con una buena composición nutricional y un elevado aporte energético (Latham, 2002). Guerra *et al.*, (1998) indicaron que el arroz proporciona entre el 35 y el 60% de las calorías consumidas en la dieta de alrededor de 3.000 millones de personas que la demanda de arroz en el año 2025 aumentará un 60% respecto a la producción actual con la finalidad de satisfacer las necesidades de la población a nivel mundial.

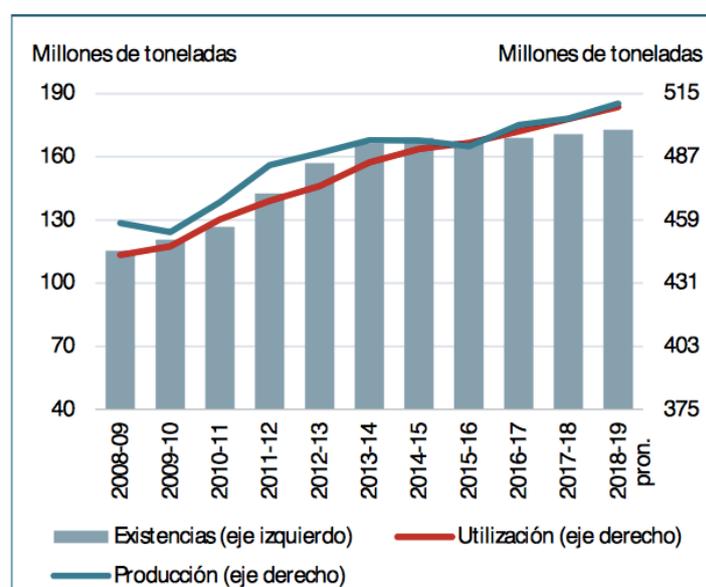


Figura 1. Producción, utilización y existencias de arroz a nivel mundial. Fuente: FAO (2018)

La superficie destinada a la producción de arroz en **España** en la campaña 2018 fue de 105.012 ha con una producción de 808.167 toneladas. Es el segundo productor de la Unión Europea con un 28 % de la producción, solo por detrás de Italia (MAPAMA, 2016). Entre las diferentes comunidades autónomas, la Comunidad Valenciana ocupa la cuarta posición con una producción de 116.836 t (14%), según los datos ofrecidos por el Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (Figura 2). En cuanto a la distribución de superficie empleada para este cultivo, la Comunidad Valenciana presenta una distribución de 15.087 ha, quedando por detrás de Andalucía (37%), Extremadura (23%) y Cataluña (19%) (MAPAMA, 2016). La mayor superficie empleada para el cultivo de este cereal en la Comunidad Valenciana se sitúa en Parque Natural de l'Albufera, que consta de 21.000 ha. Dentro de este espacio protegido, el hábitat destinado a la plantación recibe el nombre del Marjal y se dedican 15.000 ha a la siembra de arroz. La recolección de la cosecha se lleva a cabo durante el mes de septiembre y se alcanza una producción unas 75.000 - 90.000 t de paja por año (8 t de arroz / ha) (Ribó *et al.*, 2017).

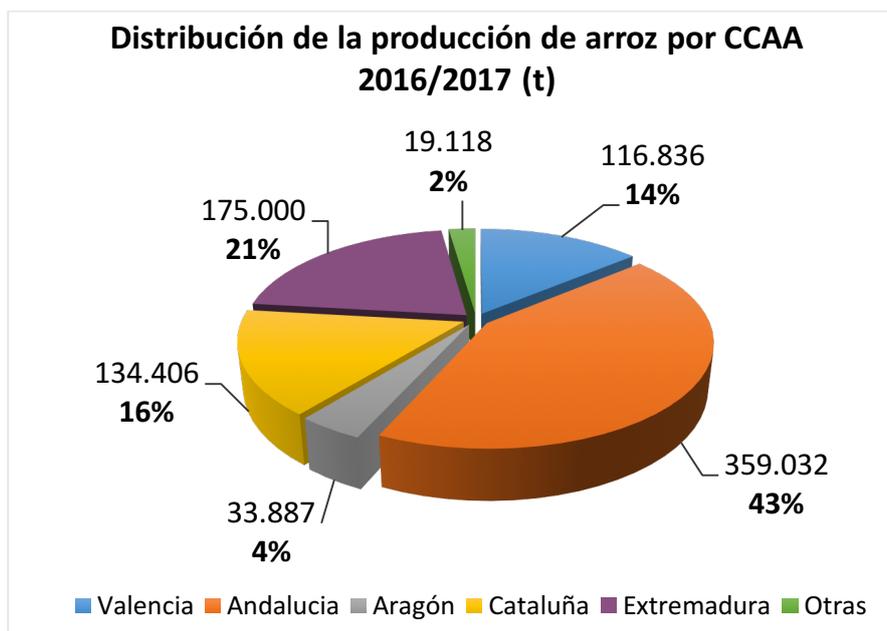


Figura 2. Distribución de la producción (t) de arroz por Comunidades Autónomas (2016/2017).
Fuente: MAPAMA (2016) (Avances de superficies y producciones julio 2016)

La paja de arroz es un producto de segundo orden, ya que el principal aprovechamiento de este cereal son sus granos. No obstante, los cultivos de arroz dan lugar a muchas toneladas anuales de paja; un residuo difícil de gestionar y sin valor monetario. El destino que tradicionalmente se le ha dado a este subproducto es la quema, por la facilidad de llevarla a cabo y por sus efectos fitosanitarios, pero conlleva problemas graves de salubridad en las zonas cercanas al área de cultivo y genera emisiones de altas concentraciones de contaminantes, principalmente dióxido de carbono (CO₂) y metano (CH₄) (Ribò *et al.*, 2017). Además, la quema de la paja de arroz no soluciona todo el problema debido a que queda un remanente conocido como ceniza de paja, otro residuo que se debe tratar (Maguyon *et al.*, 2020).

En el año 2018 se creó un acuerdo entre la Conselleria de Agricultura y las asociaciones de agricultores de la Comunidad Valenciana por el que la quema de la paja de arroz se puede llevar a cabo únicamente en la mitad de L'Albufera, dividiendo el parque natural en dos áreas, en las que solamente en una de ellas se puede proceder a la quema de la paja de forma rotatoria. El principal problema de esta solución radica en el elevado coste del empacado y el transporte de la paja desde los campos de arroz para darle usos alternativos. Por ello, la Conselleria ha establecido una línea económica para retirar la paja de la zona donde no se permite la quema cada año (DOGV, 2019)

Como alternativas a la quema de la paja, existen otras opciones de gestión como puede ser el entierro de la paja en los mismos campos, más conocido como "fangueo". Consiste en realizar un laboreo del suelo a poca profundidad después de haber recogido la cosecha. Esto permite por un lado, trocear la paja ayudando a su descomposición y, por otro, favorece una adecuada aireación y como consecuencia una oxigenación de estos restos orgánicos, que quedan mezclados con el suelo. De este modo, se evita parte de la toxicidad y de los problemas que se originan con la descomposición anaerobia de la paja, y por lo tanto se pueden disminuir las emisiones de metano. Esta opción debe realizarse tomando las medidas adecuadas, teniendo en cuenta el momento de la incorporación del residuo o la cantidad de paja que se tritura y mezcla. Si se produce un exceso, puede producirse toxicidad por azufre, afectando al rendimiento de los cultivos y aumentando las emisiones de H₂S a la atmosfera (Ribò *et al.*, 2017).

Aunque estas sean las soluciones más conocidas y tradicionalmente más usadas, desde hace unos años se buscan alternativas que puedan desplazar estas prácticas para minimizar el problema, tanto medioambiental como para la salud pública. La paja, por lo tanto, debe ser vista como un recurso de interés, ya que se pueden proponer diferentes aplicaciones y usos de la misma (Viñals *et al.*, 2012). Los inconvenientes más destacados cuando se opta por la retirada de la paja como modelo de gestión son: la baja demanda y el reducido aprovechamiento que se hace de ella actualmente, así como la escasa maquinaria especializada que pueda ayudar a minimizar los costes de la recolección y la retirada de la paja de los arrozales, siendo precisamente el alto coste de esta práctica uno de los factores más determinantes. Además, otra limitación puede ser el hecho de que retirando la paja se produzca una rápida disminución de algunos nutrientes del suelo como son el potasio y el silicio. A todo esto, se une el escaso interés de los agricultores por realizar esta labor adicional. Por tanto, es recomendable el fomento y creación de industrias capaces de generar usos alternativos y económicos que permitan compensar el coste de la recogida y almacenamiento de la paja (Ribò *et al.*, 2017).

3.2 ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN DE LA PAJA DE ARROZ

La estructura de la paja de arroz, a diferencia del tallo de madera, carece de cambium, pero posee una estructura tridimensional con numerosos haces vasculares en capas diferenciadas (exterior a interior): cutícula cerosa, epidermis silicada, córtex (colénquima), una capa gruesa lignificada (esclerénquima), y tejido parenquimático (parénquima), tal como muestra la Figura 3. Una de las características de la paja de arroz es su elevado contenido en sílice, que junto a la lignina conforma una barrera física para el transporte de materiales, reduciendo la susceptibilidad a la degradación enzimática y dificultando la extracción de compuestos presentes en la matriz vegetal (Seo y Sakoda, 2014)

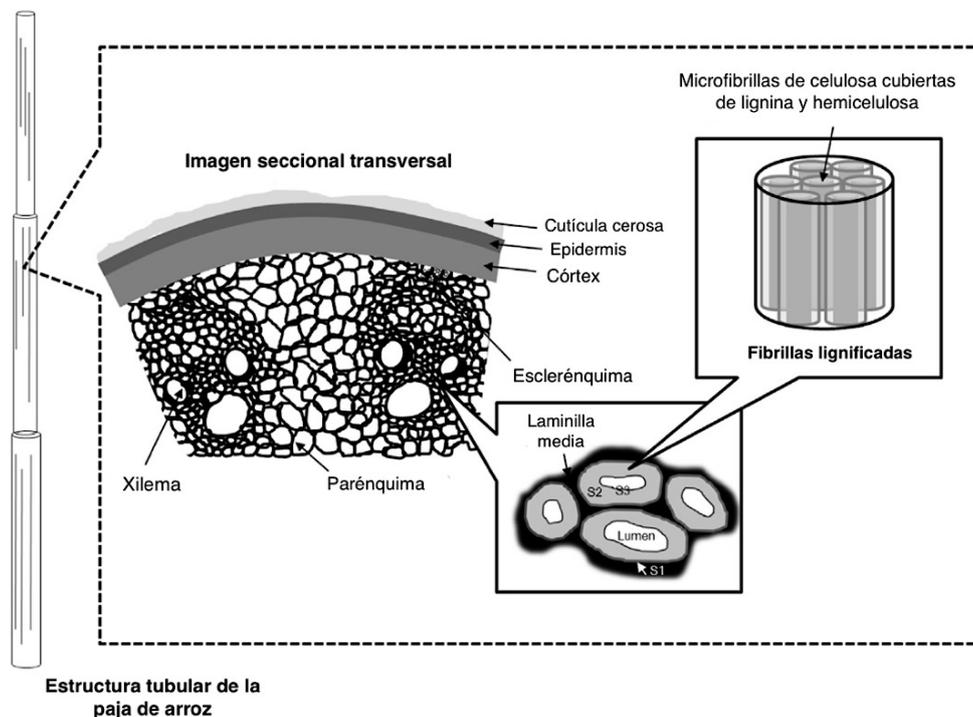


Figura 3. Estructura esquemática de la fisiológica de la paja de arroz. Fuente: Adaptada de Seo y Sakoda (2014)

La paja de arroz se considera una biomasa lignocelulósica que se encuentra químicamente compuesta por 31-47% de celulosa, 15-35% de hemicelulosa y 5-24% de lignina. La composición química de este residuo cambia según la estación y la variedad. Estas posibles variaciones de composición quedan reflejadas en la Tabla 1. La variación se considera una desventaja, ya que afecta a la consistencia y el rendimiento de los productos finales. Los análisis de composición, así como la caracterización estructural, pueden ser los factores clave que afectan a la eficiencia de su revalorización (She *et al.*, 2012).

La celulosa es el componente principal de la pared celular y es un polímero regular de alto peso molecular, formado por unidades de glucosa favorables para la producción de etanol por fermentación (Venkatesh *et al.*, 2010). La hemicelulosa está formada por cadenas cortas de polisacáridos compuestos de pentosas y hexosas. El tercer componente es la lignina, un polímero amorfo compuesto por tres monolignoles: alcohol p-cumarílico, alcohol coniferílico y alcohol sinapílico. La lignina confiere rigidez estructural al endurecer y sostener las fibras de polisacáridos y también participa en el transporte interno de agua, nutrientes y metabolitos. Es más recalcitrante a la degradación enzimática que la celulosa y hemicelulosa y está unida a ambas formando una barrera impermeable que dificulta el ataque enzimático (Howard *et al.*, 2003). La Figura 4 muestra la ubicación estructural de estos compuestos en el tejido vegetal.

Los complejos carbohidrato-lignina de la paja de arroz contienen 63.9% de carbohidratos, 2.8% de ácido urónico, 27.7% de lignina Klason, 4.2% de contenido de acetilo, 4% de ácido trans-p-cumarico y 0.8% de ácido trans-ferúlico (Azuma y Koshimjima, 1988). Por su composición, la biomasa lignocelulósica es una de las materias primas potenciales más atractivas para la producción de bioetanol debido a su fácil disponibilidad, bajo precio y alto contenido de azúcar (Zhang *et al.*, 2017).

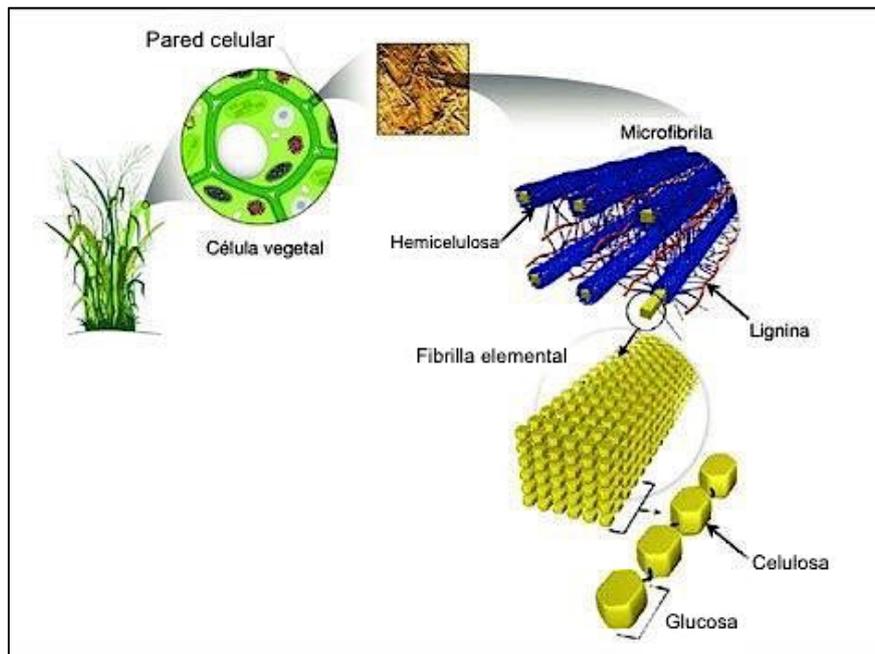


Figura 4. Estructura del complejo carbohidrato-lignina en el tejido vegetal (celulosa, hemicelulosa y lignina). Fuente: Adaptada de Passaretti y Menezes (2009)

Los compuestos fenólicos en la paja de arroz se encuentran principalmente en forma de ácido benzoico o derivados del ácido cinámico, así como ésteres glucosídicos. La paja de arroz contiene niveles más altos de ácido p-cumárico y ácidos ferúlicos en su forma esterificada y eterificada en comparación con el maíz y el trigo, mientras que el ácido cafeico es el que presenta los valores más bajos en su composición (Sun y Tomkinson, 2002). Estos compuestos fenólicos presentan actividad antioxidante y antimicrobiana y su obtención a partir de la paja, para diferentes aplicaciones en alimentación o farmacología representa una de las posibilidades de revalorización del producto (Buranov y Mazza, 2008).

La composición elemental de la paja de arroz es elevada en sílice y otros agronutrientes que presentan gran importancia en el abonado y cuidado del suelo (Abril *et al.*, 2009). La sílice representa un 67-82% de las cenizas (Gummert *et al.*, 2019) y su importancia radica en que mientras el resto de nutrientes pueden ser incorporados al suelo a través del abonado, el SiO₂ puede ser incorporado directamente a los campos a través del "fangueo". El fitolito derivado de la paja de arroz, una estructura de sílice formada a través de la precipitación de silicio en el tejido vegetal (Parr y Sullivan, 2005), ha sido ampliamente reconocido como una fuente potencial para mantener las reservas de sílice del suelo (Dobermann y Fairhurst, 2000). Sin embargo, existe una falta de información sobre la incorporación del fitolito derivado de la paja en los suelos y en qué medida este conjunto de nutrientes puede beneficiar a los cultivos.

Tabla 1. Composición (% en peso seco) de la paja de arroz según diferentes fuentes.

Celulosa	Hemicelulosa	Lignina	Minerales	SiO ₂	Fuente
38	25	12			Gummert <i>et al.</i> (2019)
32-47	19-27	5-24			Binod <i>et al.</i> (2010)
40,65	20,59	12,32			Morone <i>et al.</i> (2017)
39	21,64	16,2	18		Singh <i>et al.</i> (2014)
31,91	15,32	22,03	11,35		Devendra y Pandey (2016)
34-36	24-30	22-23	17-19		Wiselogel <i>et al.</i> (1996)
36,1	24,7	16,4	22,8		Zhang <i>et al.</i> (2017)
40	35			15	Kogo <i>et al.</i> (2017)
33,54	15,92	11,27		8,60	Seo y Sakoda (2014)
35,49		14,84	6,99		Pan <i>et al.</i> (2017)
40	35	10		5	Kahar (2013)
		17,34	13,38		Ji <i>et al.</i> (2018)
		19,1	11,3		Chen <i>et al.</i> (2017)
				15-23	Abril <i>et al.</i> (2009)
31-47	15-35	5-24	11-23	5-23	Rango

A nivel nutricional, la paja de arroz no está valorada a causa de los bajos valores de proteína cruda que presenta, alrededor de 3,2-4,6%. Como consecuencia del déficit proteico esta no es apta para el consumo directo de animales. Para lograr que un rumiante adulto mantenga su peso se necesita una dieta con un mínimo de un 8% de proteína bruta. Por otro lado, la paja de arroz contiene entre 68-83% de FDN (Fibra Detergente Neutro) con alto contenido de sílice, lo cual afecta negativamente su digestibilidad. Además, este subproducto es sumamente deficiente en los macrominerales (calcio, fósforo, sodio) y especialmente en vitamina A.

Comparando con las fuentes de alimentos dirigidas al sector de alimentación de los rumiantes, este residuo presenta déficit proteico y baja digestibilidad por lo que no es apto para el consumo directo en aras a lograr un mantenimiento saludable del animal. A pesar de esto, presenta un elevado potencial para su revalorización, obteniendo mayores beneficios del cultivo de arroz (Bartaburu *et al.*, 2008).

3.3 ESTUDIOS DE VALORIZACIÓN DE LA PAJA DE ARROZ

La paja de arroz presenta un alto potencial para su revalorización por lo que se barajan posibles opciones para lograr su aprovechamiento como la exploración en biorefinerías para la producción de bioetanol, el compostaje, la alimentación de los rumiantes, la fabricación de papel o la obtención de ácido levulínico utilizado en la industria química para la fabricación de plásticos, aditivos y herbicidas, entre otros (Abril *et al.*, 2009). Otra alternativa que se estudia es el uso de este residuo para la construcción de monumentos falleros como alternativa al corcho blanco. Además, cabe destacar que *BioCompost*, *Sost-Rice* o *EcoRice* son los tres proyectos LIFE de la Unión Europea que se han esforzado en maximizar el uso de este residuo pero sin demasiado éxito (Escrivà, 2017).

A continuación se revisan algunos estudios realizados con el objetivo de revalorizar este subproducto agrícola.

3.3.1 BIOREFINERÍAS: PRODUCCIÓN DE BIOETANOL

Las biorefinerías surgen con el objetivo de reducir el empleo de recursos fósiles para la producción de combustibles, es por ello que sus procesos son similares a las refinerías de petróleo. La principal diferencia entre ambas radica en el elección de biomasa como materia prima, mediante la optimización de los recursos, minimización de desechos y maximización del rendimiento y los beneficios. Para obtener el mayor rendimiento en estos procesos, la materia prima debe ser sometida a una serie de transformaciones biológicas, termoquímicas y químicas que permitan el aprovechamiento, tanto de los componentes de la biomasa, como de los productos intermedios para maximizar el valor de la materia prima. Los productos obtenidos a través de estas instalaciones son diversos entre los que destacan los combustibles, las sustancias químicas y la energía. Esta diversidad en los productos aumenta la rentabilidad de las plantas debido a la flexibilidad de producción, que permite generar productos de alto valor y bajo volumen y compensarlos con productos de bajo valor y alto volumen que permitan cubrir la demanda de energía, como sería el caso de la producción de bioetanol (Amith *et al.*, 2016)

El bioetanol presenta las mismas características y composición química que el etanol, pero la diferencia radica en su proceso de producción, ya que el bioetanol se obtiene a partir de la fermentación de productos vegetales que contengan hidratos de carbono fermentables (cereales, remolacha, caña de azúcar o biomasa) mientras que el etanol se obtiene mediante derivados del petróleo. Dependiendo de la composición, la materia prima para producir bioetanol puede ser azucarada (azúcares directamente fermentables), amilácea (rica en almidón) o lignocelulósica (rica en celulosa, hemicelulosa y lignina). En el caso de la paja de arroz, se trata de biomasa lignocelulósica en la cual la extracción de azúcares es más compleja que en las otras dos fuentes de hidratos de carbono, lo que provoca que la tecnología de conversión se encarezca, a pesar de que el costo del material lignocelulósico es menor (Barroso, 2010).

El bioetanol producido a partir de materias lignocelulósicas, también llamado bioetanol de segunda generación, se presenta como alternativa de futuro a los biocombustibles de primera generación, elaborados a partir de cultivos básicos que pueden destinarse a la alimentación humana o del ganado. El arroz es un alimento básico en muchos países; la utilización de los residuos de paja de arroz como combustible y productos químicos puede ser muy conveniente, ya que no compite con el mercado alimentario y al estar ampliamente distribuida, su coste es menor, lo que contribuye a disminuir el precio final del biocombustible. En este residuo lignocelulósico, la celulosa y la hemicelulosa se hidrolizan a azúcares simples para luego ser fermentados y obtener etanol, pero la lignina con su contenido fenólico no puede ser fermentada (Abril y Navarro, 2012).

En primer lugar, se lleva a cabo un pre-tratamiento con el objetivo es disminuir la cristalinidad de la celulosa, disociar el complejo lignina-celulosa y aumentar el área superficial del material. Es importante que el proceso tenga un bajo consumo energético, reactivos baratos, fácilmente recuperables y que sea aplicable a diversos sustratos. En la Figura 5, se muestra el efecto del pretratamiento en la biomasa lignocelulósica (Barroso, 2010)

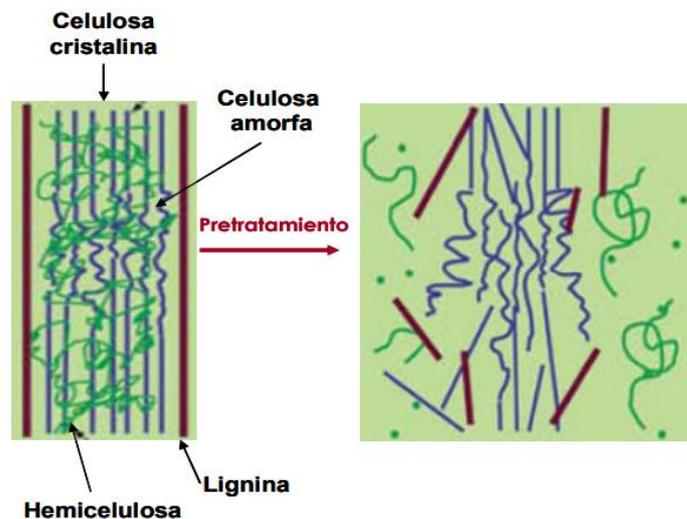


Figura 5. Efecto del pretratamiento sobre el complejo carbohidrato-lignina. Fuente: Barroso, 2010

La segunda etapa es la hidrólisis, que consiste en romper los carbohidratos complejos en azúcares simples para utilizarlos como sustrato en la posterior fermentación. Se realiza una purificación del hidrolizado, en caso de que sea necesario (Rodríguez, 2016). La tercera etapa es la fermentación y, por último, la destilación para separar la mezcla etanol-agua en base a la mayor volatilidad del etanol (Barroso, 2010).

Las biorrefinerías son el futuro del procesamiento de biomasa, ya que pueden obtener múltiples productos con generación cero de residuos (Amith *et al.*, 2016). El principal reto en la producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósica es el pretratamiento e hidrólisis de la materia prima (Sánchez *et al.*, 2010). Estas etapas son cruciales para maximizar la extracción y valorización de la biomasa lignocelulósica (Zhang *et al.*, 2017). Devendra y Pandey (2016) usaron **hidrótrópos** de sulfonato de cumeno y sodio (NaCS) y sulfonato de xileno y sodio (NaSX) como solventes para obtener una mayor deslignificación de la paja de arroz, dado el carácter hidrófobo de la lignina cuya solubilidad en agua se mejoró con estos agentes. El NaCS dio lugar a un mayor rendimiento en la liberación de azúcar, debido a una mejor eliminación de la lignina, pudiendo reutilizarse de manera eficiente durante múltiples ciclos y reduciendo el impacto ambiental del pretratamiento químico.

El **OrganoCat** fue otro de los pretratamientos estudiados, en condiciones optimizadas de 148° C y 20 bar durante 25 minutos, con una máxima recuperación (98,99 %) de celulosa, un 88,79 % de solubilización de hemicelulosa y 71,46 % de eliminación de lignina. Esto dio lugar a un fraccionamiento eficaz y la degradación de la pared celular, mejorando así la accesibilidad a la celulosa (Morone *et al.*, 2017). Otro método sostenible estudiado (Pan *et al.*, 2017) es el uso de **mezclas eutécticas**, de cloruro de colina y urea, cuyos resultados exhibieron una solubilidad eficiente de la lignina, pero niveles bajos α -celulosa.

El pretratamiento empleado **microorganismos** presentó gran eficiencia. Zhang *et al.* (2017) estudiaron la incorporación de una bacteria (*Escherichia sp.* HHQ-1) al pretratado alcolino de la paja de arroz para detoxificar in situ los inhibidores de ácido ferúlico de los hidrolizados. Se logró una destrucción del tejido de la paja, reduciendo su cristalinidad y degradando mejor la lignina. Xue *et al.* (2017) se utilizaron **enzimas** para un mejor aprovechamiento de los compuestos de la paja de arroz. Se analizó el efecto de celulasas en la liberación de ácidos fenólicos (ferúlico y p-cumárico) durante el proceso de sacarificación, observando una mayor rendimiento en la extracción de estos compuestos. Los ácidos fenólicos se encontraron ligados o libres dependiendo del enzima utilizado y se observó que una elevada cantidad de ácidos fenólicos libres conllevaba una mayor actividad antioxidante y antirradical, potenciando el producto como fuente de compuestos bioactivos.

Otro pretratamiento destacado como una alternativa ecológica es el uso de **procesos hidrotérmicos**. Consisten en tratar la biomasa con agua y someterla a alta temperatura y presión, evitando el uso de productos tóxicos y corrosivos en el pretratamiento. Requena *et al.* (2019) comparó la aplicación de procesos hidrotérmicos respecto a la extracción alcalina tradicional y demostró una mayor extracción de compuestos con actividad antioxidante y antimicrobiana presentes la cascarilla de arroz cuando se emplearon tratamientos hidrotérmicos.

3.3.2 ELABORACIÓN DE BIOCUMPOST

Las explotaciones agrícolas van ligadas a una elevada producción de residuos orgánicos cuyo tratamiento se convierte en un problema (restos de poda, de cosecha, de post-cosecha, estiércol, pasto, fruta caída, entre otros). Las soluciones más rápidas son la quema, el enterramiento o el abonado del material hasta su pudrición pero no se toman estas decisiones con el debido rigor, por falta de un espacio adecuado o de tiempo para realizar un correcto análisis del tratamiento. El fundamento del compostaje se basa en transformar de una manera segura los residuos orgánicos en insumos para la producción agrícola.

Según la FAO el compostaje es la mezcla de materia orgánica en descomposición, bajo condiciones aeróbicas, que se emplea para mejorar la estructura del suelo y proporcionar nutrientes. Los parámetros que se deben gestionar para obtener un compost óptimo son principalmente la temperatura, la aireación y la humedad para asegurar una transformación higiénica de los restos orgánicos en un material homogéneo y asimilable por las plantas (Rebollido *et al.*, 2008). La elaboración de compostaje se define como el sumatorio de procesos metabólicos complejos realizados por parte de diferentes microorganismos, que en presencia de oxígeno, aprovechan el nitrógeno (N) y el carbono (C) presentes para producir su propia biomasa. En este proceso, los microorganismos generan calor y un sustrato sólido, con menos C y N, pero más estable, que recibe el nombre de compost (Román *et al.*, 2013).

Un proceso de compostaje, bajo unas condiciones adecuadas, reduce la humedad, peso y volumen de los residuos tratados y conduce a un producto estabilizado, almacenable, transportable y utilizable en un suelo agrícola o de otro tipo. El compost, al incorporarse en el suelo puede mejorar la infiltración y retención de agua, disminuir las fluctuaciones de temperatura, reducir la erosión, mejorar la sanidad de los cultivos al favorecer un control natural de plagas y aportar nutrientes para el sustento de las plantas. Es un proceso productivo versátil y relativamente fácil de llevar a cabo, si se siguen las condiciones de trabajo adecuadas. En caso contrario, dejaría de ser viable económica y ecológicamente (Moreno *et al.*, 2008). Así pues, la materia sin tratamiento previo que se incorpora al suelo de forma natural se degrada por acción de la microflora, produciendo metabolitos intermedios que no son adecuados para el desarrollo vegetal, pudiendo ser fitotóxicos (Kaur *et al.*, 2019). A su vez, existe una competición por el N entre los microorganismos y las raíces de las plantas, altos ratios C/N y la producción de amoníaco en el suelo. Por ello, el compost se postula como un sistema que supera todos estos problemas y produce un fertilizante orgánico beneficioso para el desarrollo vegetal sin fitotoxicidad (Moreno, 2008).

El proyecto LIFE Biocompost (2001-2004) fue llevado a cabo para evitar la quema de arroz en la zona de l'Albufera de València. Esta iniciativa se desarrolló a través de la recogida y reciclado de paja y lodos de depuradoras con el objetivo de transformar estos residuos en abono orgánico, un producto de alta calidad a bajo coste para el sector agrario. La aplicación del compost elaborado favorece la reincorporación de materia orgánica al ciclo biológico, mejorando la estructura físico-química de los suelos y aportando nutrientes a los cultivos, permitiendo reducir el uso de abonos químicos (LIFE ALBUFERA, 2016).

3.3.3 ALIMENTACIÓN ANIMAL

Los residuos agrícolas tienen un gran potencial para su aplicación en alimentación animal pero los requerimientos de la agricultura y ganadería intensiva actual han limitado su uso para lograr un adecuado desarrollo del ganado. La paja de arroz presenta unas características nutricionales desequilibradas y de baja calidad. Las soluciones para mejorar este residuo agrícola se basan en utilizar suplementos correctivos o realizar tratamientos de la paja (Bartaburu *et al.*, 2008).

La suplementación con fuentes proteicas, como expeller de soja o de girasol, es una alternativa para mejorar la dieta de los animales y su comportamiento productivo. Según el estudio desarrollado por el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (ANIA, 2018) las vaquillonas que consumían 1-1,2 kg diario de paja de arroz suplementada con un 40% de proteína, tuvieron ganancias de peso de 800 gramos/cabeza/día, mientras que el lote testigo (sin suplemento proteico) perdió 200 gramos/cabeza/día.

Otra solución son los tratamientos mecánicos (molienda/picado de la paja) de arroz, para aumentar el área de exposición y facilitar el acceso de los microorganismos para el ataque de la fibra. También se contempla la posibilidad de tratamientos con urea (aminificación) cuyo objetivo es degradar la estructura de la fibra y aportar nitrógeno. Con dicho tratamiento se logra un aumento de la proteína bruta de un 4% a un 8%, con un aumento de la digestibilidad de la paja (Bartaburu *et al.*, 2008).

El proyecto Life Low Carbon Feed (2018) se ha basado en desarrollar prácticas innovadoras para la valorización efectiva de residuos agrícolas (cítricos y paja de arroz), convirtiéndolos en un nuevo alimento animal capaz de reducir entre un 8 y 22% las emisiones de metano (CH₄) en rumiantes. Además de la paja de arroz y las hojas de cítricos, incluyen otros ingredientes que

permiten satisfacer las necesidades nutricionales para el correcto desarrollo del animal (Life Low Carbon Feed, 2018).

3.4 EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS ACTIVOS

Estudios previos demuestran que los residuos de paja de arroz son una fuente valiosa para la extracción de compuestos fenólicos solubles. Para la extracción y caracterización de compuestos fenólicos de la paja de arroz, Menzel *et al.* (2020) utilizaron una relación paja:disolvente de 1:10 durante 1 hora a temperatura ambiente. Se probaron tres solventes: agua, 80% de MeOH en agua y 80% de EtOH en agua. Se analizó el contenido fenólico total empleando el reactivo Folin-Ciocalteu y se cuantificaron por cromatografía los principales ácidos fenólicos: el ferúlico, p-cumárico y protocatecuico. También se estudió la actividad antirradicalaria del extracto de paja de arroz usando el ensayo DPPH. Las caracterizaciones mostraron que el agua fue el solvente más eficiente para extraer compuestos fenólicos, resultando en 225 mg de ácido gálico equivalente (GAE) / 100 g de paja de arroz seca. La posterior extracción del material (segunda y tercera extracción) mostró una extracción adicional de los compuestos fenólicos restantes, pero a bajas concentraciones. Además, el extracto acuoso mostró la mayor capacidad antioxidante con los valores más bajos del parámetro EC50 (153 mg paja de arroz seca/ mg DPPH).

La actividad antioxidante depende del tipo y la polaridad del disolvente de extracción que afecta a la cantidad y tipo de compuestos fenólicos extraídos (Moure *et al.*, 2001). La incorporación de estos extractos en la fabricación de materiales de envase podría prolongar la vida útil de productos alimenticios a través de su efecto antioxidante o antimicrobiano, en el marco de una economía circular al reciclar un residuo agrícola. Por otro lado, Collazo *et al.* (2019) demostraron que también se podían mejorar las propiedades de las películas de almidón termoplástico mediante la incorporación de extractos lignocelulósicos activo, obtenidos de cascarilla de arroz y café.

Elzaawely *et al.* (2017) evaluaron la actividad antioxidante de los fenoles solubles totales y los flavonoides extraídos de paja de arroz con acetato de etilo después del tratamiento alcalino. Se demostró que los fenoles totales eran 221,6 mg GAE/g extracto, mientras que los flavonoides totales eran 4,9 mg de rutina equivalente (RE). La actividad antioxidante fue estudiada a través de tres métodos: método DPPH, blanqueo de β -caroteno y poder reductor con ferricianuro potásico. El análisis por HPLC indicó que este extracto contenía siete ácidos fenólicos: protocatecuico, cafeico, siringico, p-cumárico, ferúlico, rosmarinico y cinámico, además de dos flavonoides: quercetina y kaempferol. Los resultados indicaron que los ácidos ferúlico y p-cumárico fueron los principales ácidos fenólicos solubles en la paja de arroz y sus concentraciones fueron 3,9 y 2,9 mg/g materia seca, respectivamente. La fuerte actividad antioxidante del extracto en acetato de etilo estuvo altamente correlacionada con su alto nivel de compuestos fenólicos.

En un estudio realizado por Karimi *et al.* (2014) se identificaron y cuantificaron los componentes fenólicos y flavonoides en la paja y la cáscara de algunas variedades de arroz utilizando metanol como solvente. Los resultados mostraron que el ácido gálico, pirogalol, apigenina y rutina fueron los principales compuestos fenólicos y flavonoides en todas las variedades estudiadas. Además, las actividades antioxidantes de los extractos se evaluaron usando los ensayos DPPH y óxido nítrico, siendo las variedades iraníes las que mostraron mayor actividad antioxidante, destacando la variedad Hashemi con la mayor capacidad de eliminación de radicales libres.

Chen *et al.* (2017) analizaron las diferencias entre el proceso de extracción hidrotérmica en flujo continuo y discontinuo para la extracción y recuperación de xilano y lignina presentes en la paja de arroz. Se demostró que mediante un proceso continuo, en condiciones optimizadas de 200 °C y un caudal de 160 ml/min durante 10 minutos se lograba una mejor recuperación de xilosa presente en las hemicelulosas y una mayor eliminación de la lignina, con un rendimiento de azúcar total máximo de 84%.

La obtención de compuestos de las matrices biológicas depende en gran medida de la efectividad y eficiencia de la técnica de extracción empleada (Ojha *et al.*, 2020). La aplicación de ultrasonidos en los procesos extractivos ha demostrado ser efectiva en una gran variedad de aplicaciones, para mejorar los rendimientos de extracción con daño mínimo o nulo en los compuestos obtenidos. El potencial de los ultrasonidos puede observarse tanto en la aplicación directa como en pretratamientos, mejorado el rendimiento de extracción al facilitar la penetración de solventes. Según Machado *et al.* (2019) las ondas de ultrasonidos inducen cavitación (Figura 6) generando ciclos fluctuantes de alta presión (compresión) y de baja presión (rarefacción) con velocidades que dependen de la frecuencia. Las altas temperaturas dentro de las burbujas generan un colapso cavitacional (Figura 6A). La alta presión que se da durante la implosión de las microburbujas, mejora la penetrabilidad y el transporte del solvente dentro de las partículas sólidas, aumentando la solubilidad del analito. Además, la cavitación origina la fragmentación de las partículas (Figura 6B) aumentando la superficie de contacto y dando lugar a que mayor cantidad de analito entre en contacto con el solvente.

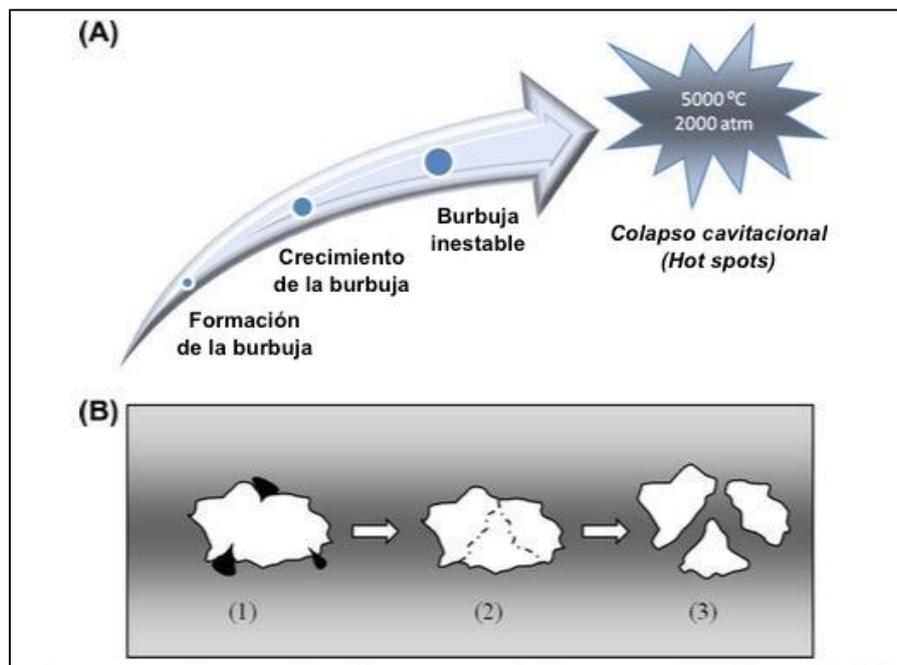


Figura 6. Fenómeno de cavitación. (A) Desarrollo y colapso de cavitación de burbujas. (B) Colapso cavitacional en la interfaz sólido-líquido. La secuencia (1), (2) y (3) muestra un esquema de fragmentación de la partícula sólida debido al gas atrapado en la superficie, dando lugar a la reducción de su tamaño y aumentando el área de la superficie de contacto.

Fuente: Adaptado de Bendicho *et al.* (2012)

La aplicación de los ultrasonidos a los procesos de extracción representa una alternativa más ecológica que los otros métodos clásicos, donde se usan grandes cantidades de solventes, largos tiempos de operación y produciendo desechos tóxicos y corrosivos. La aplicación de ultrasonidos se considera un método basado en la utilización de energía limpia que mejora el rendimiento de extracción de diferentes matrices. Esto es importante en el contexto actual, debido a una mayor concienciación en los aspectos ecológicos a la hora de desarrollar nuevos procesos bajo el concepto de la Química Verde (Bendicho *et al.*, 2012).

Estudios sobre la valorización de las semillas de baobab, a través de la extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos, mostraron una importante reducción del tiempo de extracción y una mejora en la eficiencia de extracción del contenido total de flavonoides y contenido total de polifenoles, lo que potenció la actividad antioxidante del extracto en comparación con otros métodos de extracción como maceración y extracción asistida por calor (Ismail *et al.*, 2019).

Pan *et al.* (2012) también estudiaron la extracción de antioxidantes de la cáscara de granada mediante extracción asistida con ultrasonidos en modo continuo (CEUA) y pulsado (PEUA), comparando los resultados con los obtenidos por extracción convencional. CEUA Y PEUA (con pulsos de 5 s) tuvieron rendimientos en antioxidantes de 14.5% y 14.8%. Ambos tratamientos aumentaron el rendimiento antioxidante en un 24% y 22% y redujeron el tiempo de extracción en un 90% y 87%, respectivamente, respecto al tratamiento convencional. Además, PEUA ahorró el 50% de la energía eléctrica en comparación con CEUA.

En otro estudio realizado por Pingret *et al.* (2012) se estudió la recuperación de los polifenoles totales del orujo de manzana y se analizó el efecto ultrasónico. Se observó un aumento de la profundidad y la velocidad de penetración del solvente en canales y poros de las matrices vegetales, que dio lugar a una mayor eficiencia de extracción durante los primeros 10 minutos. Se confirmó una mayor absorción de agua en la matriz al comienzo de la extracción, lo que justifica el aumento del rendimiento durante los tiempos iniciales.

La aplicación de ultrasonidos al material sólido suspendido en un solvente apropiado requiere la optimización previa de varios factores, como la cantidad de muestra, el tamaño de partícula, el tipo de solvente, el tiempo de extracción y la temperatura, entre otros. Además, el tipo de muestra estudiada y los pretratamientos como la molienda, tienen un gran impacto en el índice de extracción (Machado *et al.*, 2019). En el proceso de extracción, algunos compuestos orgánicos podrían degradarse a través de diversos mecanismos que ocurren durante la cavitación, como la termólisis y el ataque por radicales OH reactivos. Este comportamiento es más probable cuando se aplican ultrasonidos con sonda en lugar de la sonicación en baño, debido a la mayor intensidad generada con la sonda que ocasiona una mayor ruptura de la matriz vegetal. No obstante, la mejora en la eficiencia del proceso puede compensar estos posibles efectos negativos. Por otro lado, aunque la sonda está compuesta por titanio, resistente al calor y a condiciones corrosivas, con el tiempo se produce erosión que puede transferir partículas metálicas al medio de extracción (Bendicho *et al.*, 2012). Con todo, Chemat *et al.* (2016) califican la extracción asistida por ultrasonidos como una alternativa ecológica y económicamente viable frente a las técnicas convencionales. Los principales beneficios son la disminución del tiempo de extracción y procesado, la reducción en energía y solventes utilizados evitando la formación de residuos tóxicos y mostrando un alto potencial de rendimiento extractivo.

Además, estudios previos han demostrado la eficacia de tratamientos empleando temperatura elevada para favorecer la ruptura de la matriz vegetal y así facilitar la extracción de los compuestos bioactivos. Hayat *et al.* (2019) mostraron una mayor extracción de compuestos fenólicos aplicando calentamiento mediante microondas durante 10 minutos. No obstante, cambio cuando se prolongó el tiempo de tratamiento a 15 minutos se observó una disminución en la extracción. La cantidad de ácido cafeico extraído de semillas de hinojo se incrementó de 0.525 mg /g a 1.490 mg /g materia seca, calentando a 300 W durante 10 min pero se redujo hasta 1.290 mg /g cuando se amplió el tiempo hasta 15 minutos, trabajando a la misma potencia. Por tanto, un tiempo de calentamiento prolongado y temperaturas excesivamente altas disminuyeron el rendimiento en la extracción debido a las pérdidas por sobrecalentamientos. Ghafoor *et al.* (2018) reportaron un aumento del contenido en componentes fenólicos de las semillas de chía después del proceso de tostado. Este resultado está de acuerdo con los obtenidos por Xu *et al.* (2007) para el contenido de ácidos fenólicos de pieles de cítricos, que aumentó después del calentamiento en horno. Por el contrario, Ghafoor *et al.* (2019) demostraron que, en general, el tostado con microondas y horno de semillas de amapola resultó en una menor extracción de compuestos fenólicos. Estas diferencias pueden atribuirse a las variaciones en el proceso de tostado y al material tostado en sí.

4 ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LA EXTRACCIÓN ACUOSA DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS Y ANTIOXIDANTES DE LA PAJA.

Adicionalmente al análisis bibliográfico realizado en relación a la valorización y aprovechamiento de la paja de arroz, se plantea el objetivo experimental de estudiar el potencial de la paja de arroz como fuente de compuestos fenólicos antioxidantes mediante la aplicación de ultrasonidos en comparación a la extracción por calentamiento a reflujo y la combinación de ambos métodos en medio acuoso.

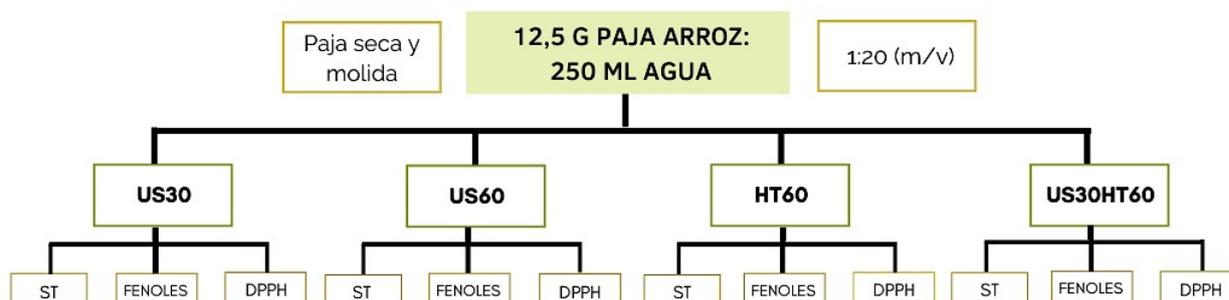


Figura 7. Esquema del análisis experimental sobre el extracto acuoso de la paja de arroz. Diferentes tratamientos y determinaciones analíticas: ST (Sólidos Totales), Fenoles (Folin Ciocalteu) y DPPH.

4.1. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1.1 MATERIA PRIMA

Paja de arroz de los campos de la Albufera de Valencia suministrada por el Banco de Paja de la Generalitat Valenciana. El ácido gálico, el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y el reactivo de Folin-Ciocalteu (2N) se adquirieron de Sigma-Aldrich (Saint Louis, EE. UU.). Todos los demás reactivos y disolventes fueron de grado analítico procedentes de PanReac Quimica S.L.U. (Castellar del Vallés, Barcelona, España).

4.1.2 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA EL PROCESO DE EXTRACCIÓN

La paja fue secada a una temperatura de 50 ± 2 °C a vacío durante 16 h. El proceso de molienda fue realizado utilizando un molino (IKA, modelo M20, Germany) en 3 ciclos de 90 s cada uno. Los tamaños de partículas seleccionados fueron menores que 500 μm , por tamizado del polvo.



Figura 8. Molienda de paja

4.1.3 TRATAMIENTOS EXTRACTIVOS

La extracción fue realizada con una proporción de paja de arroz molida y solvente de 1:20 (m/v). Las cantidades de paja y solvente fueron 12,5 g y 250 mL, respectivamente. Se empleó agua como disolvente. Se realizaron cuatro tratamientos diferentes de extracción en base a estudios previos (Vieria, 2020)

4.1.3.1 Tratamiento con ultrasonidos (US30 y US60)

La extracción asistida por sonicación (US) se llevó a cabo utilizando un homogeneizador ultrasónico (Vibra Cell, Sonics & Material, Inc., Newtown, CT, USA), equipado con una sonda de alta intensidad que funciona en modo continuo. Las mezclas paja:solvente se homogenizaron con una varilla de forma manual y sonicaron cada una durante 30 minutos o 60 minutos, a 25 °C y 40% de amplitud de sonicación, frecuencia: 20 kHz.

4.1.3.2 Tratamiento con calentamiento a reflujo (HT60)

El método de calentamiento a reflujo consistió en calentar la suspensión preparada a 100°C durante 60 minutos usando un montaje de reflujo típico.

4.1.3.3 Tratamiento combinado ultrasónidos y calentamiento a reflujo (US30HT60)

Se utilizó el método de sonicación (US30) como pretratamiento de la muestra y posteriormente se llevó a cabo el calentamiento a reflujo (HT60). Ambos tratamientos se realizaron siguiendo las mismas condiciones indicadas anteriormente.

Para todos los procesos, la dispersión después del tratamiento se filtró utilizando un filtro cualitativo (Filterlab). Se recogió el volumen total del extracto y se almacenó en una botella oscura a 4 ± 2 ° C hasta su uso.

Posteriormente, con cada uno de los 4 extractos se determinó el rendimiento de sólidos totales mediante evaporación del disolvente, el contenido fenólico por el método de Folin y la cantidad de antioxidantes a través del método de DPPH, tal como se detalla a continuación.

4.1.4 DETERMINACIONES ANALÍTICAS

4.1.4.1 Determinación del contenido en sólidos totales

El rendimiento de los sólidos totales se determinó secando los extractos de paja de arroz a 70 ± 2 ° C a vacío durante 6 h hasta peso constante. Las determinaciones se realizaron por triplicado para cada extracto.

4.1.4.2 Determinación del contenido fenólico: Método de Folin Ciocalteu

Para el método de Folin Ciocalteu se utilizaron las muestras de cada extracto filtradas con jeringas de 0,45 µm. A continuación, 0,5 ml de extracto (para el blanco se usó solamente el disolvente) se mezclaron con 6 ml de agua destilada y se agregó 0,5 ml de reactivo Folin (2N). Después de un minuto, se añadieron 1,5 ml de disolución al 20 % de Na_2CO_3 y se enrasaron hasta 10 ml con agua destilada. Después se agitaron y se mantuvieron en oscuridad durante 2 horas (Menzel *et al.*, 2019). Transcurrido el tiempo, se midió la absorbancia a 725 nm usando un espectrofotómetro UV-Vis (Evolution 201, Thermo Scientific).

Previamente se obtuvo la recta de calibrado con ácido gálico preparado a diferentes concentraciones (0-200 mg/L), utilizando el mismo procedimiento. A partir de la absorbancia de los extractos se obtuvo el contenido en fenoles mediante la curva de calibrado (ecuación 1), expresando los resultados en mg de ácido gálico equivalente (GAE) por 100 g de muestra seca. Todas las caracterizaciones se realizaron por triplicado para cada extracto.

$$\text{Abs}_{725 \text{ nm}} = 0.099 [\text{ac.gálico}] + 0.043 \quad (1)$$
$$R^2 = 0.9991$$

El fundamento de la reacción está basado en que el reactivo de Folin contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico, formado por las dos sales en el medio ácido, presenta un color amarillo que al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que se mide para evaluar el contenido en polifenoles. El mecanismo de acción queda reflejado en la Figura 9 (García *et al.*, 2015). Esta reacción es una oxidorreducción, por lo que también se puede considerar como un método de medida de la actividad antioxidante.

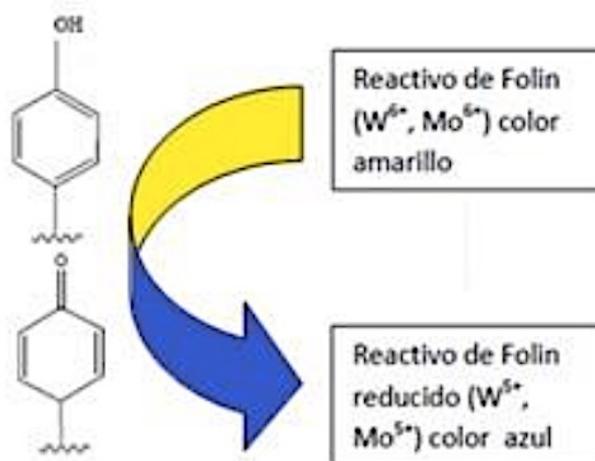


Figura 9. Mecanismo de acción del reactivo Folin Ciocalteu. Fuente: García et al. (2015)

4.1.4.3 Determinación de la capacidad antioxidante: DPPH

La capacidad antioxidante del extracto acuoso de la paja de arroz se determinó utilizando el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) con algunas modificaciones (Brand-Williams *et al.*, 1995). El fundamento de este método se basa en la reducción del radical DPPH en una solución alcohólica por un antioxidante dador de hidrógeno, como se observa en la Figura 10. El DPPH ha sido ampliamente utilizado para evaluar la eficacia de eliminación de radicales libres de diferentes sustancias antioxidantes (Ozcelik *et al.*, 2003). Este radical contiene un electrón desapareado, el cual es responsable de la absorbancia a 515 nm y también del característico color morado. Cuando el DPPH acepta el electrón cedido por el compuesto antioxidante, el DPPH se decolora, lo cual puede ser cuantitativamente medido por los cambios en la absorbancia (Hasan *et al.*, 2009)

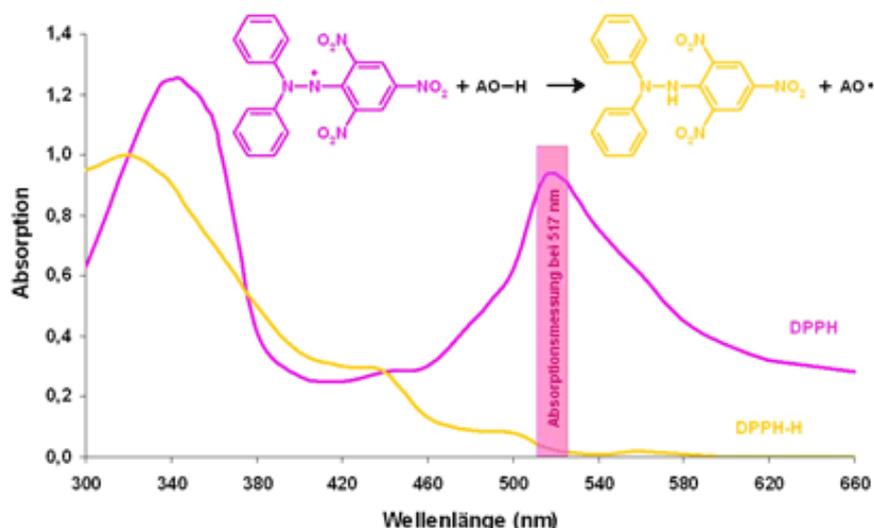


Figura 10. Fundamento teórico de la reacción del radical DPPH con el antioxidante. Fuente: Dangles, 2006.

Previamente a las mediciones de las muestras, se preparó una curva patrón de DPPH utilizando las siguientes concentraciones de radical DPPH: 0.1 mM, 0.02 mM, 0.04 mM, 0.06 mM y 0.08 mM. Se realizó por duplicado y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 515nm, para obtener la recta de calibrado (ecuación 2) que relaciona la absorbancia con la cantidad de DPPH· disuelto, representada en la Figura 11.

$$\text{Abs}_{515 \text{ nm}} = 11.324 [\text{DPPH}] - 0.038 \quad (2)$$

$$R^2 = 0.9992$$

Para determinar el tiempo de reacción entre el DPPH y los compuestos del extracto con actividad antioxidante se utilizaron las muestras de cada extracto acuoso filtradas con jeringas de 0,45 µm y se incorporaron en diferentes cantidades (de 0 a 0,4 mL) a la cubeta espectrofotométrica, donde se enrasaron hasta 4 mL con la solución metanólica de DPPH previamente preparada ($\text{Abs}_{515 \text{ nm}} = 0.7 \pm 0.2$). La absorbancia se midió cada 15 min a 515 nm, usando un espectrofotómetro (ThermoScientific, Evolution 201 UV visible Spectrophotometer) y se utilizó metanol como blanco. Las cubetas se taparon para evitar la evaporación de metanol durante su análisis. Los tiempos de estabilización de la reacción fueron 180 min para los tratamiento US30 y US60, en cambio, se necesitaron 45 min para los métodos HT60 y US30HT60. El valor del DPPH remanente se determinó mediante la ecuación (3).

$$[\text{DPPH}]_{\text{rem}} = \frac{\text{DPPH}_{t=0} - \text{DPPH}_{t=\text{reacción estable}}}{\text{DPPH}_{t=0}} \quad (3)$$

A partir de estos valores, se determinó la actividad antirradical que fue evaluada por el parámetro EC_{50} (concentración eficiente), que se define como la cantidad de antioxidante necesaria para disminuir la concentración inicial de DPPH en un 50% cuando se ha alcanzado la estabilidad de la reacción. Para obtener los valores de EC_{50} , se representó % $[\text{DPPH}]_{\text{remanente}}$ frente a la relación g extracto sólido/g de DPPH. Las determinaciones se realizaron por triplicado para cada tratamiento.

4.1.4.4 Análisis estadístico

Los datos obtenidos para cada uno de los métodos de extracción fueron sometidos al Análisis de Varianza (ANOVA) para determinar si hay diferencias significativas en las medias. Antes del ANOVA, se verificaron los supuestos para usarlo como método adecuado de análisis estadístico. Si hay diferencias significativas entre las medias, se aplicará el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher con un nivel de 95% de confianza. El programa estadístico utilizado para analizar los datos fue el Programa Statgraphics Centurion XVII, puesto a disposición por la Universidad Politécnica de Valencia.

4.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 2 presenta los valores obtenidos para los contenidos en sólidos, contenido en polifenoles totales y capacidad antioxidante de los extractos para cada método de extracción. Los valores del contenido en fenoles y la actividad antioxidante (EC50) se han referido por unidad de masa de extracto y de paja seca para su mejor comparación. Los resultados expresados por masa de paja permiten comparar la cantidad de compuestos activos extraídos en cada tratamiento en base a su actividad antioxidante por el método Folin-Ciocalteu o DPPH. En cambio, los resultados por g de extracto permiten comparar la riqueza de estos compuestos en el extracto final donde hay, además, otros componentes no activos.

Tabla 2. Contenido en sólidos totales (ST), en polifenoles totales (TPC) y actividad antioxidante (EC50) de los extractos acuosos de la paja de arroz obtenidos con aplicación de ultrasonidos, calentamiento a reflujo y combinación de ambos. Los valores TPC y EC₅₀ están referidos al extracto y a la paja.

Proceso	ST (g solidos/100 g paja)	TPC ₁ (mg GAE/ 100 g paja)	TPC ₂ (mg GAE/g extracto)	EC ₅₀ ⁽¹⁾ (mg extracto/ mg DPPH)	EC ₅₀ ⁽²⁾ (g paja/ mg DPPH)
US30	7.48 ± 0.05 ^a	342 ± 10 ^a	45.7 ± 1.0 ^b	9.35 ± 0.18 ^c	12.5 ± 0.1 ^d
US60	9.48 ± 0.17 ^b	354 ± 12 ^a	37.4 ± 1.8 ^a	9.30 ± 0.30 ^c	9.9 ± 0.3 ^c
HT60	9.70 ± 0.50 ^b	459 ± 6 ^b	48.0 ± 3.0 ^b	7.49 ± 0.05 ^b	7.8 ± 0.5 ^b
US30HT60	13.95 ± 0.13 ^c	486 ± 4 ^c	34.8 ± 0.5 ^a	6.37 ± 0.40 ^a	4.6 ± 0.3 ^a

4.2.1 CONTENIDO SÓLIDOS TOTALES

Según Vinatoru *et al.* (2017) es necesario un tratamiento eficiente para extraer componentes químicos de la matriz vegetal sin sobrepasar el límite de descomposición de los compuestos; un tiempo excesivamente largo o una temperatura elevada pueden producir efectos negativos sobre los sólidos totales extraídos. Otro estudio realizado por Nie *et al.* (2013) mostró como la preparación de la materia prima contribuyó a aumentar los rendimientos de extracción. En este caso experimental se ha secado y molido la paja previamente a la aplicación de los tratamientos, generando una mayor disgregación de la matriz.

El efecto del tiempo de proceso puede observarse comparando los tratamientos US30 y US60 donde se detecta una mayor extracción de sólidos totales con un tratamiento más prolongado. Toma *et al.* (2001) demostraron que durante la aplicación de ultrasonidos durante tiempos más largos se produjo una mayor fragmentación de la matriz y con ello una mejor hidratación y penetración del solvente, lo que conllevó un mayor rendimiento de extracción de compuestos. Se demostró la eficacia de la cavitación ultrasónica respecto al tratamiento tradicional realizado por maceración, logrando una mayor extracción de clorofila en las hojas de espinacas.

En cambio, el efecto de cavitación (US60) a 25°C, respecto al tratamiento con calor (HT60), durante el mismo periodo de tiempo, mostró valores similares de sólidos totales. La aplicación de ultrasonidos y un tratamiento térmico a reflujo (100°C) tuvieron una eficacia análoga en la extracción de compuestos con el medio acuoso utilizado. La mayor extracción de compuestos se logra mediante la combinación de la cavitación ultrasónica como pretratamiento y posterior tratamiento a reflujo, debido a una mayor ruptura celular y una mejor penetración del solvente en la matriz vegetal.

4.2.2 CONTENIDO FENÓLICO: MÉTODO DE FOLIN CIOCALTEU

El método se basa en la reacción de los compuestos fenólicos con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul capaz de ser determinada espectrofotométricamente (725 nm) en base a una recta patrón de ácido gálico.

En la Tabla 2 se dan los diferentes valores de contenido de fenólicos totales, expresados en mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de paja seca o por gramo de extracto, para los diferentes métodos de extracción. Do *et al.* (2014) realizaron estudios relacionados con la extracción de fenoles empleando distintos solventes y métodos de extracción, afirmaron que los compuestos fenólicos presentes en la paja de arroz son más solubles en solventes polares y desciende el contenido extraído a medida que disminuye la polaridad del disolvente. Según los resultados de Menzel *et al.* (2020), el extracto acuoso también mostró el contenido más alto de compuestos fenólicos respecto a los extractos metanólicos y etanólicos. Consecuentemente, se aconseja el uso del agua como solvente de extracción, lo que supone notables ventajas debido al bajo coste del disolvente y su carácter no tóxico ni contaminante.

Estudios realizados previamente postulan que los ácidos fenólicos representan un tercio de los compuestos fenólicos en las matrices vegetales. Además se presentan en formas libres y conjugadas, siendo mayoritarios los fenólicos unidos covalentemente a través de enlaces éster, éter o acetal. Se han empleado tratamientos para liberarlos y mejorar la capacidad antioxidante del extracto (Hayat *et al.*, 2019). Según Gulati *et al.* (2003) el calentamiento de la muestra aumenta la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos libres al extraerlos de la matriz de la planta. Esta misma idea quedó reforzada por Wayno *et al.* (2014), confirmando que los enlaces covalentes de los polifenoles podrían romperse mediante calor transformándolos en fenólicos de bajo peso molecular. Consecuentemente, se observa una mayor extracción de compuestos fenólicos aplicando calentamiento a reflujo (HT60) respecto al tratamiento de sonicación (US60) para un mismo tiempo de tratamiento, a pesar de lograr una extracción similar de sólidos totales con ambos métodos. Por otro lado, la aplicación de US durante 60 min incrementa la extracción de sólidos totales de la paja respecto al de 30 minutos, pero los extractos correspondientes no se enriquecen significativamente en compuestos fenólicos antioxidantes, lo cual es atribuible a la baja temperatura del proceso (25°C). Por consiguiente, es importante elegir una temperatura adecuada acorde a los compuestos objetivo de extracción, evitando la degradación de los compuestos termolábiles.

En el tratamiento combinado (US30HT60) se obtuvo la máxima tasa de extracción de compuestos fenólicos de la paja, aunque en relación al contenido total de sólidos del extracto el contenido de compuestos fenólicos fue menor que en el tratamiento a reflujo. Esto indica que el pretratamiento de ultrasonidos promovió la extracción total, aumentando el rendimiento en sólidos, pero no tan específicamente el de los fenoles con poder antioxidante, determinados por el método Folin-Ciocalteu. La aplicación de ultrasonidos logra una fragmentación de la matriz vegetal causada por las colisiones entre partículas y las ondas de choque creadas por el colapso de las burbujas de cavitación en el líquido, dando lugar a la posible reducción del tamaño de las partículas y aumentando el área de superficie de contacto sólido-solvente (Chemat *et al.*, 2017), pero no libera de manera específica los compuestos fenólicos. Por tanto, su aplicación como pretratamiento es efectiva para potenciar la extracción pero el tratamiento térmico mejora la extracción de antioxidantes, dando lugar a extractos más ricos en estos compuestos. Pérez *et al.* (2017) estudiaron la extracción de compuestos bioactivos en la Pitaya Roja aplicando ultrasonidos como pretratamiento; el rendimiento máximo de extracción se obtuvo al aplicarlo 15 min sobre la matriz vegetal.

4.2.3 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE: MÉTODO DE DPPH

Para cada tratamiento, se determinó el tiempo de estabilidad de reacción con el DPPH. En las Figuras 11-12-13-14 se muestra la variación típica de la absorbancia para diferentes concentraciones de extracto en solución de DPPH en función del tiempo, mostrando la estabilización de la reacción (absorbancia constante) a partir de un tiempo determinado. Dependiendo del tratamiento aplicado, el tiempo de estabilidad de la reacción fue diferente. Para los tratamientos US30 y US60, el tiempo de estabilización fue de 180 min, en cambio para HT60 y US30HT60 fue de 45 min. Este resultado está relacionado con la diferente composición fenólica de los extractos obtenidos con US o con tratamiento térmico.

Xu *et al.* (2007) observaron que el ácido ferúlico están interactuando con componentes de la matriz vegetal (celulosa, hemicelulosa y lignina) y sometiendo el extracto a altas temperaturas se degrada la estructura más rápidamente que con la sonicación, liberándose los compuestos con actividad antioxidante. Otros estudios (Hayat *et al.*, 2019) confirman la eficiencia del tratamiento térmico para lograr una mayor solubilización de los polisacáridos de la pared celular, permitiendo la obtención de oligosacáridos con posibles propiedades bioactivas. El tratamiento con US parece permitir la extracción de compuestos activos ligados que se van liberando durante un tiempo más largo para ejercer su actividad antioxidante. Por contra, el calentamiento a reflujo logra una ruptura más eficiente de los enlaces durante la extracción mostrando una mayor disponibilidad de compuestos activos que actúan más rápidamente en la reacción, dando lugar a un tiempo de estabilización menor.

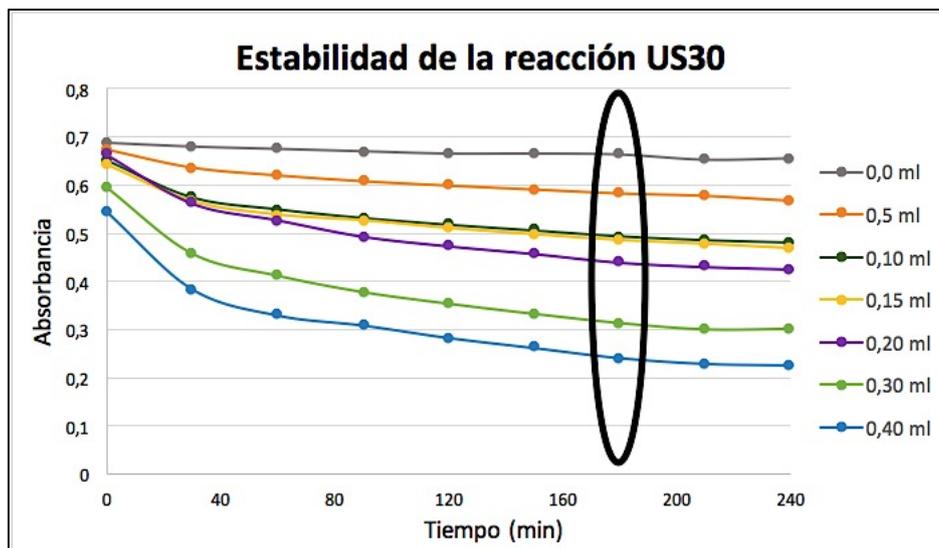


Figura 11. Variación de la absorbancia vs tiempo (min) empleando diferentes volúmenes de extracto de paja de arroz para el tratamiento US30

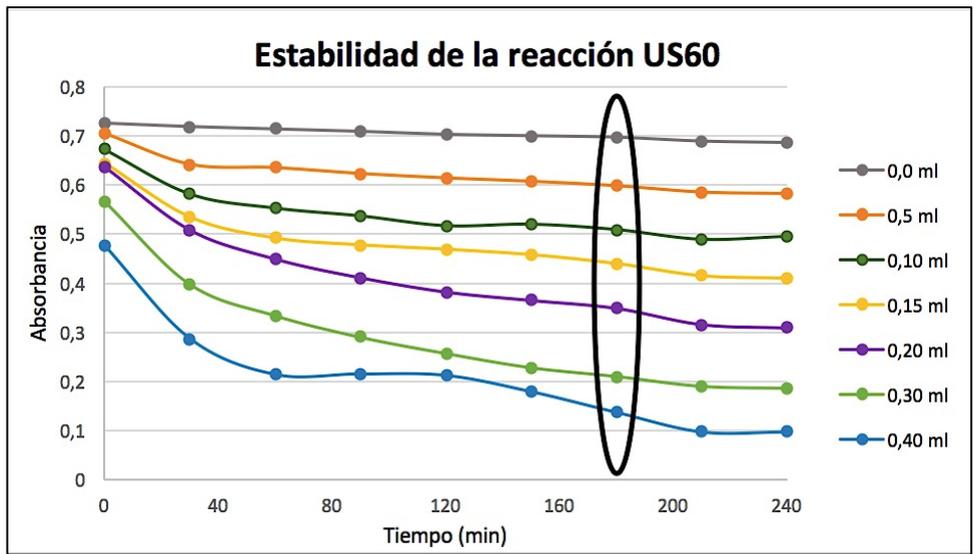


Figura 12. Variación de la absorbancia vs tiempo (min) empleando diferentes volúmenes de extracto de paja de arroz para el tratamiento US60

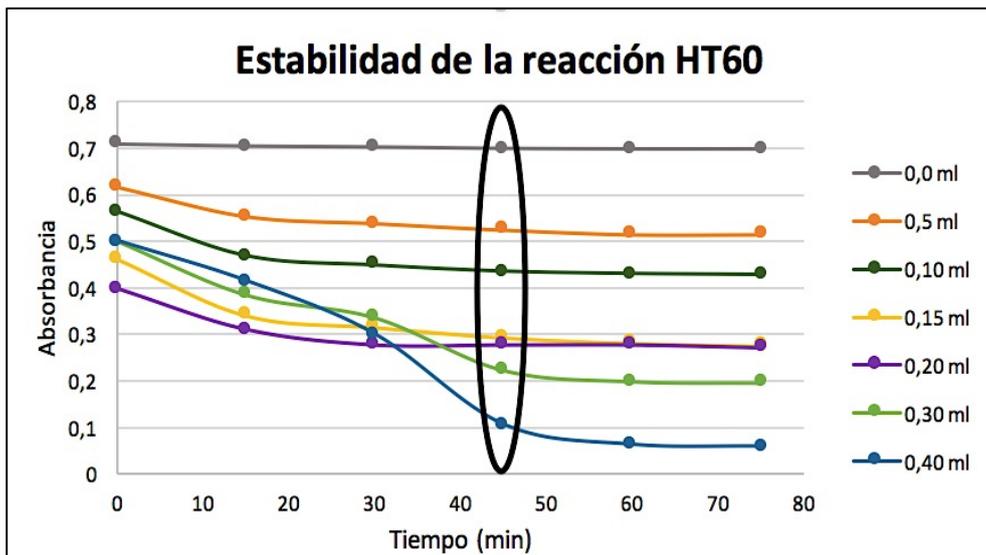


Figura 13. Variación de la absorbancia vs tiempo (min) empleando diferentes volúmenes de extracto de paja de arroz para el tratamiento HT60

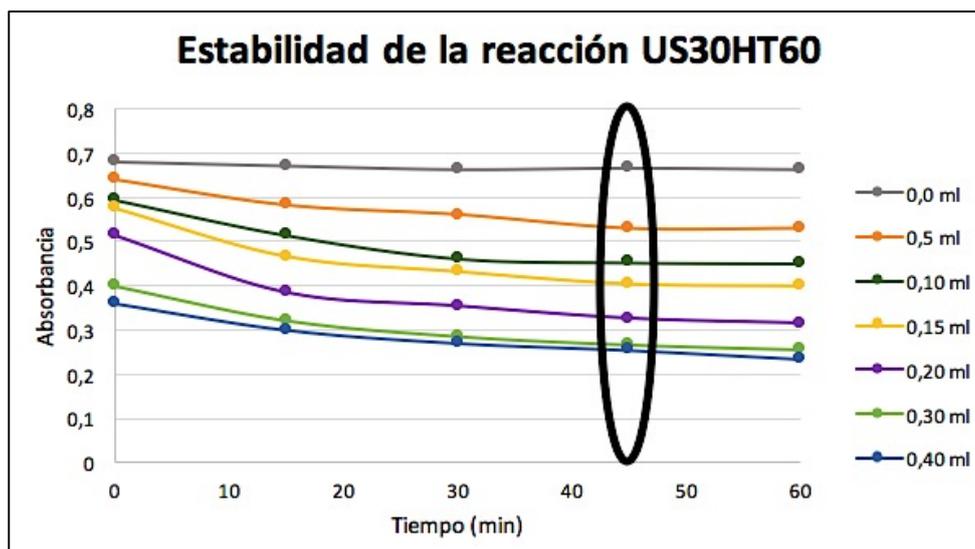


Figura 14. Variación de la absorbancia vs tiempo (min) empleando diferentes volúmenes de extracto de paja de arroz para el tratamiento US30HT60

El fundamento teórico se basa en que a mayor captación del radical libre por parte del antioxidante habrá una mayor disminución de la absorbancia por parte del radical DPPH, lo que conlleva una decoloración del color violeta (Jiménez *et al.*, 2012). La diferencia de absorbancia indica la capacidad antioxidante del extracto acuoso estudiado. Puede observarse en las figuras que, a medida que aumenta la concentración del extracto acuoso, mayor es la variación de absorbancia como resultado de la reacción del radical DPPH que pierde la coloración violeta característica. Las concentraciones de extractos en las cubetas que presentan coloración amarilla en la Figura 15 exhiben mayor capacidad antioxidante, por lo que existe menor cantidad de DPPH residual ya que ha reaccionado con los compuestos antioxidantes del extracto.

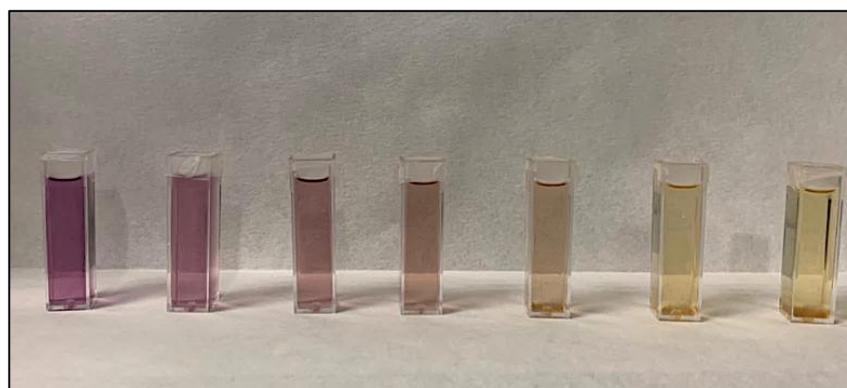


Figura 15. Reducción de DPPH después del tratamiento US30HT60. Cubetas con concentración creciente de extracto acuoso de paja (izquierda a derecha)

A partir de los datos de absorbancia de las soluciones de DPPH y extracto a tiempo cero de reacción y en el tiempo de estabilización se calculó el porcentaje de DPPH remanente, sin reaccionar (Ecuación 3), para cada una de las concentraciones de extracto. Las Figuras 16-17-18-19 representan para cada tratamiento el porcentaje de DPPH remanente vs. la relación entre mg de sólidos por mg de DPPH. Los puntos se ajustaron a un polinomio para poder calcular el parámetro EC50, correspondiente al valor de la relación mg extracto/mg DPPH que reduce al 50 % el DPPH.

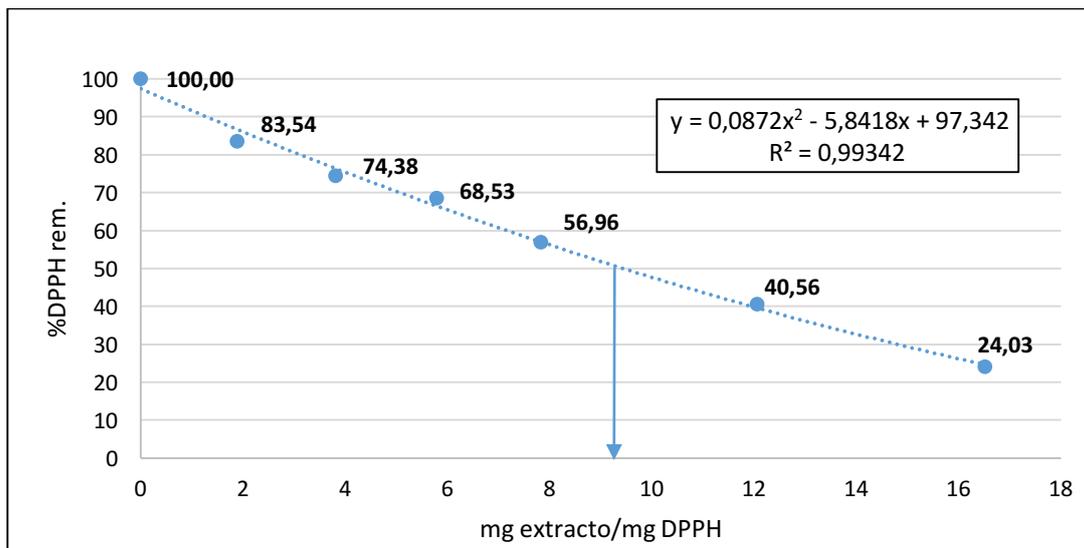


Figura 16. Porcentaje de DPPH remanente cuando la reacción es estable frente a los mg de extracto seco/mg de DPPH para el tratamiento US30

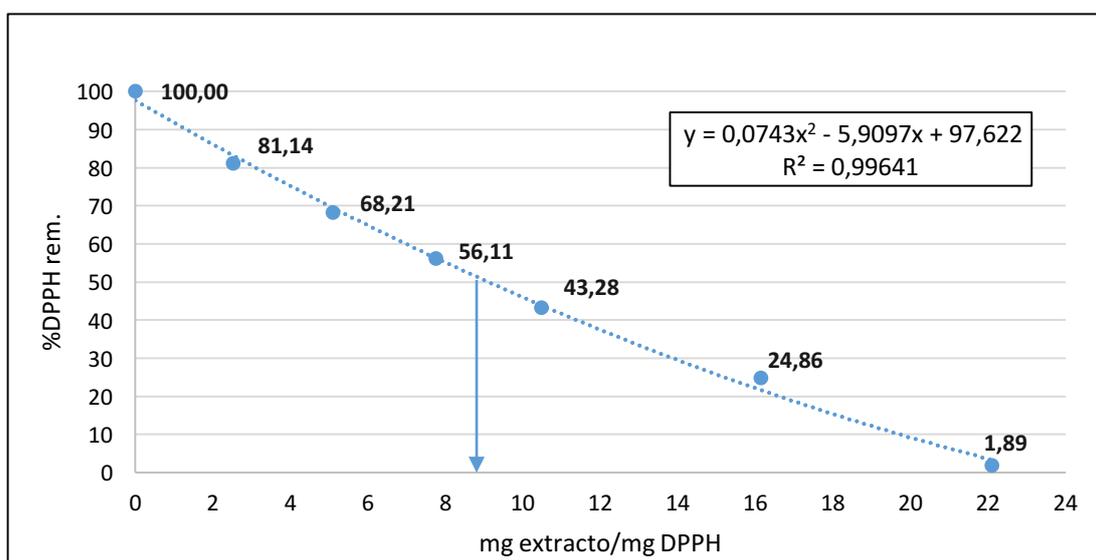


Figura 17. Porcentaje de DPPH remanente cuando la reacción es estable frente a los mg de extracto seco/mg de DPPH para el tratamiento US60

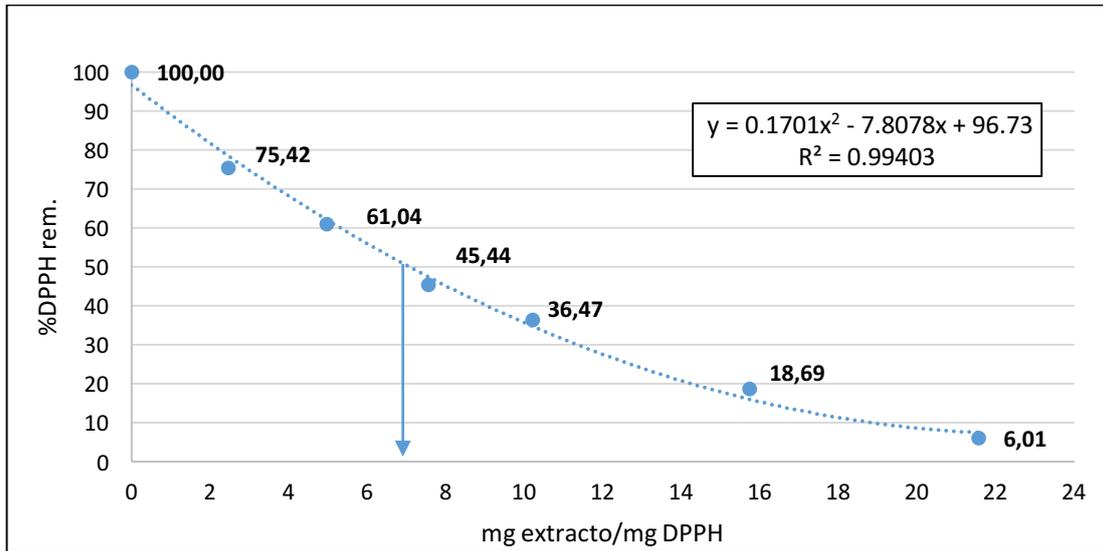


Figura 18. Porcentaje de DPPH remanente cuando la reacción es estable frente a los mg de extracto seco/mg de DPPH para el tratamiento HT60

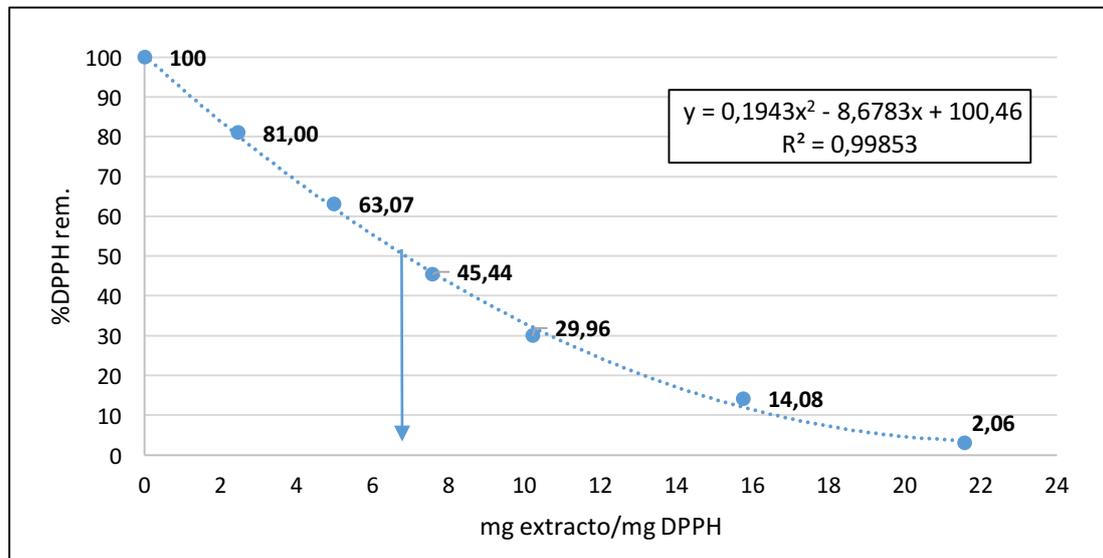


Figura 19. Porcentaje de DPPH remanente cuando la reacción es estable frente a los mg de extracto seco/mg de DPPH para el tratamiento US30HT60

La Tabla 2 presenta los datos de la actividad antioxidante en base al parámetro EC50 expresados en términos de mg extracto/ mg DPPH y g paja/ mg DPPH, para las diferentes tratamientos. Un menor valor de EC50 implica una mayor actividad antioxidante, correspondiente a una elevada cantidad de compuestos con una alta actividad frente a los radicales DPPH. Los resultados mostraron que la aplicación de temperaturas elevadas (HT) favoreció la extracción de antioxidantes debido a la mayor liberación de compuestos activos de la matriz vegetal. Resultados similares obtenidos por Wayno *et al.* (2014) validan el uso del tratamiento térmico como óptimo para mejorar la extracción compuestos fenólicos y antioxidantes de los subproductos del arroz.

El proceso de cavitación ultrasónica (US) resulta menos efectivo para la extracción de antioxidantes si se utiliza como tratamiento único a baja temperatura. Por el contrario, si se utiliza como pretratamiento al tratamiento térmico puede favorecer la extracción total, lográndose una mayor liberación de compuestos antioxidantes al extracto acuoso. Durante la sonicación se produce la fragmentación de la matriz vegetal, con mayor penetración del solvente y, posteriormente, las altas temperaturas favorecen la capacidad de extracción de los compuestos antioxidantes. Menzel *et al.* (2019) afirmaron que los ácidos fenólicos más abundantes en el extracto acuoso de paja de arroz fueron ferúlico, p-cumárico y protocatecuico. Según Li *et al.* (2015) para lograr la extracción de estos ácidos hidroxicinámicos fue necesario disgregar los enlaces éster formados con los polisacáridos y los enlaces éter con la lignina.

En general, cuando los resultados se expresan por masa de paja seca, hay una buena correlación entre el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante. No obstante, cuando se expresan por masa de extracto, la correlación es menor debido a la diferente riqueza del extracto final en compuestos activos. La capacidad antioxidante frente al DPPH obtenida para el extracto del tratamiento combinado fue la mayor, por encima de la obtenida por el tratamiento térmico, con menor contenido en polifenoles totales. Esto sugiere que los componentes extraídos son diferentes en cada caso y presentan diferente actividad antirradical. En resumen, el tratamiento combinado (US30HT60) respecto al calentamiento térmico (HT) favoreció la extracción de compuestos antioxidantes de la paja de arroz, logrando un enriquecimiento de los mismos en el extracto.

5. CONCLUSIONES

La paja de arroz es un residuo agroalimentario abundante y difícil de gestionar, cuya revalorización debe ser potenciada en el contexto de la economía circular que representa un modelo alternativo de producción y consumo de residuos, promoviendo el desarrollo sostenible y potenciando los desechos como fuente de materia prima, desde una perspectiva basada en el cero impacto ambiental. En este contexto, es necesario obtener productos de alto valor que refuercen la viabilidad económica del proceso, que compensen el bajo coste de otra parte de la biomasa utilizable para obtener biocombustibles.

La composición lignocelulósica característica de la paja de arroz permite su valorización a través de la extracción acuosa de compuestos bioactivos de alto valor, ya que es una fuente potencial de compuestos fenólicos con actividad antioxidante y antimicrobiana, de gran aplicación en alimentación, farmacia o medicina. El elevado contenido en sílice y el fuerte ensamblado lignina-carbohidratos dificultan los procesos extractivos, por lo que es necesario un tratamiento eficiente para lograr una mayor ruptura celular y una mejor penetración del solvente en la matriz vegetal, maximizando el rendimiento de extracción.

La extracción acuosa, utilizando ultrasonidos y calentamiento a reflujo, se considera una alternativa ecológica a los procesos de extracción con solventes, evitando los residuos tóxicos con tiempos más cortos de operación. Los resultados obtenidos reflejaron la eficacia de la cavitación ultrasónica (US) como pretratamiento, favoreciendo la ruptura de la matriz vegetal, mejorando la penetración del solvente y aumentando el rendimiento de la extracción, a la vez que el tratamiento térmico con calentamiento a reflujo (HT) favoreció la liberación de los compuestos fenólicos de la matriz vegetal al medio acuoso, obteniendo un buen rendimiento sobre la capacidad antioxidante del extracto.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRIL, A.; NAVARRO, E. A. (2012). *Etanol a partir de biomasa lignocelulósica*. Editorial Aleta. España. 103 pp.
- ABRIL, D.; NAVARRO, E.A.; ABRIL, A.J. (2009). La paja de arroz. Consecuencias de su manejo y alternativas de aprovechamiento. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 17(2):69-79.
- AMITH, A.; ANIL, M. K. ; RAVEENDRAN, S.; ASHOK, P.; BPARAMESWARAN, B. (2016). Potential of rice straw for bio-refining: An overview. *Bioresource Technology*, 215: 29-36.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and technology*, 28 (1): 25-30.
- BARROSO M, (2010). Pretratamiento de biomasa celulósica para la obtención de etanol en el marco de una biorrefinería. Tesis en la Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Forestal de la Universidad Politécnica de Madrid. 115 pp
- BARTABURU, D.; ESTEBAN MONTES, E.; PEREIRA, M. (2008) Utilización de la paja de arroz en la alimentación animal. Instituto Plan Agropecuario. *Alternativas tecnológicas para enfrentar situaciones de crisis forrajeras*. Montevideo (Uruguay): INIA, 18-19.
- BENDICHO, C.; DE LA CALLE, I.; PENA, F.; COSTAS, M.; CABALEIRO, N.; LAVILLA, I. (2012). Ultrasound-assisted pretreatment of solid samples in the context of green analytical chemistry. *Trends in Analytical Chemistry*, 31.
- BURANOV AU, MAZZA G. Lignin in straw of herbaceous crops (2008). *Industrial Crops and Products*, 28:237-259.
- BINOD, B.; RAVEENDRAN, S.; SINGHANIA, R.; VIKRAM, S.; GOTTUMUKKALA, L.; KARRI, S.; KURIAN, N.; SUKUMARAN, R.; PANDEY, A. (2009). Bioethanol production from rice straw: An overview. *Bioresource Technology*, 101(13): 4767-4774.
- CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A.; MEULLEMIESTRE, A.; FABIANO, A.; VIAN, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34: 540-560.
- CHEN, W-H.; HSU, M-H.; WU, A-Y.; HWANG, W-S. (2017). Efficient extraction and recovery of xylan and lignin from rice straw using a flow-through hydrothermal system. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineer*, 79: 103–109.
- COLLAZO, S; ORTEGA, R; CHIRALT, A. (2019). Improving properties of thermoplastic starch films by incorporating active extracts and cellulose fibres isolated from rice or coffee husk. *Food Packaging and Shelf Life*, 22.
- CURRIE, HA; PERRY CC. (2007) Silica in plants: biological, biochemical and chemical studies. *Ann Bot.*, 100(7): 1383-1389.
- DANGLES, O. (2006). Propriétés chimiques des polyphénols, en: *Les polyphénols en agroalimentaire*. Editorial Tec & Doc, Lavoisier: 29-54.

DEVENDRA, L.P; PANDEY, A. (2016). Hydrotropic pretreatment on rice straw for bioethanol production. Centre for Biofuels, National Institute for Interdisciplinary Science and Technology (CSIR). *Renewable Energy*, 98: 2-8.

DO, Q.; ANGKAWIJAYA, A.; NGUYEN, P.; HUYNH, L.; SOETAREDJO, F.; ISMADJI, S.; JU, J. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drugs analysis*, 22: 296-302.

DOBERMANN, A.; FAIRHURST, T. (2000). Rice: Nutrient Disorders and Nutrient Management. International Rice Institute (IRRI). Filipinas. 191pp

ELZAAWELY, A.; MASWADA, H.F.; EL-SAYED, M.E.A.; AHMED, M.E. (2017). Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Rice Straw Extract. *International Letters of Natural Sciences*, 64: 1-9.

ESCRIVÀ, A. (2017). La paja de arroz: Una solución más allá del humo. *El Mundo*. Visto el 24/03/2020.

<https://www.elmundo.es/comunidad-valenciana/2017/10/01/59cfd23eca4741795d8b45d0.html>

FIGUEROA, A; VINGUERAS, G; HERNÁNDEZ, M. (2019). Valorización de residuos lignocelulósicos: materiales, biomoléculas, azúcares fermentables y enzimas, en: *Biorrefinerías y Economía Circular*. 1ª Edición. Universidad Autónoma Metropolitana: Unidad Xochimilco. México.

Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO) (2017). Seguimiento del Mercado del Arroz de la FAO (SMA). Visto el 01 de marzo de 2020.

<http://www.fao.org/economic/est/publicaciones/publicaciones-sobre-el-arroz/seguimiento-del-mercado-del-arroz-sma/es/>

Food and Agriculture Organization of the United (FAO) Datos de la producción mundial. Visto el 01 de marzo de 2020.

<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>

GARCÍA, E.; FERNÁNDEZ, I.; FUENTES, A. Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. *Universitat Politècnica de Valencia. ETSIAMN. Departamento de Tecnología de Alimentos.*, 9 pp. Visto el 10 de mayo de 2020.

<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%ADnez%20et%20a1.pdf?sequence=1>

GHAFOOR, K.; ALJUHAIMI, F.; MUSA, M.; USLU, N.; HUSSAIN, S.; BABIKER, E.; FADIMU, G. (2018). Effects of roasting on bioactive compounds, fatty acid, and mineral composition of chia seed and oil. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42 (10).

GHAFOOR, K.; MUSA, M.; FAHAD, J.; BABIKER, E.; FAMIDU, G. (2019). Changes in quality, bioactive compounds, fatty acids, tocopherols, and phenolic composition in oven and microwave-roasted poppy seeds and oil. *Food Science and Technology*, 99: 490-496.

GUANYA, J; WEIHUA, X; CHONGFENG, G; YAOYAO, C; YANG, Z; LUJIA, H (2018). Mechanical fragmentation of wheat and rice straw at different scales: Energy requirement in relation to microstructure properties and enzymatic hydrolysis. *Energy Conversion and Management.*, 171: 38-47.

- GULATI, A., RAWAT, R., SINGH, B., RAVINDRANATH, S.D. (2003) . Application of microwave energy in the manufacture of enhanced-quality green tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 4764–4768.
- GUMMERT, M.; VAN HUNG, N.; CHIVENGE, P.; DOUTHWAITE, B. (2020). *Rice straw management*. Editorial Springer. Suiza. 205 pp
- HASAN, S. R.; HOSSAIN, M. M.; AKTER, R.; JAMILA, M.; MAZUMDER, M.; RAHMAN, S. (2009). DPPH free radical scavenging activity of some Bangladeshi medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(11), 875-79.
- HAYAT, K.; ABBAS, S.; HUSSAIN, S.; SHAHZAD, S.; USMAN, TAHIR. (2019). Effect of microwave and conventional oven heating on phenolic constituents, fatty acids, minerals and antioxidant potential of fennel seed. *Industrial Crops and Products*, 140
- HOUDKOVA, M.; RONDEVALDOVA, J.; DOSKOCIL, I.; KOKOSKA, L. (2017). Evaluation of antibacterial potential and toxicity of plant volatile compounds using new broth microdilution volatilization method and modified MTT assay. *Fitoterapia*, 118: 56-62
- INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE. Rice Straw Management (2018). Visto el 20 de marzo de 2020
<https://www.irri.org/rice-straw-management>
- INSTITUTO VALENCIANO DE INVESTIGACIONES AGRARIAS. (2017). Alternativas de gestión de la paja de arroz en la albufera de Valencia. Visto el 9 de febrero de 2020.
http://www.ivia.gva.es/documents/161862582/162455759/Nota+t%C3%A9cnica_Alternativas+de+gesti%C3%B3n+de+la+paja+de+arroz+en+la+Albufera+de+Valencia.pdf/cc127504-cf3c-4142-9345-d33e5c56c649
- ISMAIL, B.; MINGMING, G.; YUNFENG, P.; WENJUN, W.; , XINGQIAN, Y.; DONGHONG, L. (2019). Valorisation of baobab (*Adansonia digitata*) seeds by ultrasound assisted extraction of polyphenolics. Optimisation and comparison with conventional methods. *Ultrason Sonochem.*, 52: 257-267.
- JIMÉNEZ MONREAL A.M., SÁNCHEZ MANZANERA, M., MARTÍNEZ TOMÉ, M. Optimización del método captación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) para evaluar actividad antioxidante en bebida de café (2012), 28: 67-78
- KAHAR, P. (2013). Synergistic effects of pretreatment process on enzymatic digestion of rice straw for efficient ethanol fermentation, en: *Environmental biotechnology: new approaches and prospective applications*. Editorial: Marian Petro. Romania.
- KARIMI, K.; KHERADMANDINIA, S.; TAHERZADEH, M.J. (2006). Conversion of rice straw to sugars by dilute-acid hydrolysis. *Biomass Bioenergy.*, 30: 247-253.
- KAUR, P.; SINGH, G.; SACHDEVA, M. (2019) Enhanced bio-composting of rice straw using agricultural residues: an alternate to burning. *Recycl Org Waste Agricult.*, 8: 479–483
- KOGO, T.; YOSHIDA, Y.; KOGANEI, K.; MATSUMOTO, H.; WATANABE, T.; OGIHARA, J.; KASUMI, T. (2017). Production of rice straw hydrolysis enzymes by the fungi *Trichoderma reesei* and *Humicola insolens* using rice straw as a carbon source. *Bioresource Technology*, 233: 67–73.

LATHAM, MC , "Nutrición humana en el mundo en desarrollo". Colección FAO: Alimentación y nutrición N° 29, Roma, 2002.

LIFE ALBUFERA (2016). Humedales artificiales en L'Albufera de Valencia. Reservas Naturales al Servicio de la Biodiversidad y la Canlidad de las Aguas. Visto el 30 de mayo de 2020. <http://www.lifealbufera.org>

PROYECTO LIFE. Albufera de València. Visto el 29 de mayo de 2020. <http://albufera.valencia.es/es/protégela/proyectos-life>

LIFE LOW CARBON FEED (2018). LIFE16/CCM/000088. Visto el 22 de mayo de 2020. <https://lifelowcarbonfeed.com>

MACHADO, I.; FACCIÒ, R; PISTÓN, M. Characterization of the effects involved in ultrasound-assisted extraction of trace elements from artichoke leaves and soybean sedes (2019). *Ultrasonics Sonochemistry*, 59.

MAHESHWARI, D. (2014). *Composting for Sustainable Agriculture*. Editorial Springer. Suiza. 290pp

MAGUYON, M; MIGO, M; NGUYEN, H; GUMMERT, M. (2020). Thermochemical Conversion of Rice Straw, en: *Sustainable Rice Straw Management*. Ediciones Springer. Suiza. 43-64.

MAPAMA, (2016). Secretaria general de agricultura y alimentación. Distribución de la superficie y producción de arroz en España por Comunidades Autónomas. Visto el 02 de marzo de 2020. http://www.mapama.gob.es/es/agricultura/temas/producciones-agricolas/distribsuperf_prodarrozenespanaporccaa_tcm30-135393.pdf

MENZEL, C.; GONZÁLEZ, C.; VILAPLANA, F.; CHIRALT, A. (2019). Antioxidant starch films containing sunflower hull extracts. *Carbohydrate Polymers*, 214: 142-151.

MENZEL, C.; GONZÁLEZ, C.; VILAPLANA, F.; DIRETTO, G.; CHIRALT, A. (2020). Incorporation of natural antioxidants from rice straw into renewable starch films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 146: 976–986.

MOURE, A.; CRUZA, J.M; FRANCO, D.; DOMÍNGUEZ, J.M.; SINEIRO, J.; DOMÍNGUEZ, H.; NÚMEZ, J.M.; PARAJÓ, J.C. Natural antioxidants from residual sources (2001). *Food Chemistry*, 72 (2): 145-171

MORENO, J.; MORAL, R. (2008). *Compostaje*. Editorial Mundi-Prensa. Madrid. 570pp.

MORENO, J.; MORAL, R.; GARCÍA-MORALES, J.L.; PASCUAL, J.A.; BERNAL, M.P. (2014). *De residuo a recurso: El camino hacia la sostenibilidad*. Editorial Mundi-Prensa. Madrid. 257 pp.

MORONE, A.; PANDEY, R.A.; CHAKRABARTI, T. (2017). Evaluation of OrganoCat process as a pretreatment during bioconversion of rice straw. *Industrial Crops and Products.*, 99: 7–18.

NIE, X.; LIU, J.; SHE, D.; SUN, R. XU, F. (2013). Physicochemical and Structural Characterization of Hemicelluloses Isolated by Different Alcohols from Rice Straw. *BioResources*, 8(3): 3817-3832.

OJHA, S.; MASON, T.; O'DONNELL, C.; KERRY, J.; BRIJESH, T. (2017). Ultrasound technology for food fermentation applications. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34: 410-417.

- OZCELIK, B.; LEE, J. H.; MIN, D. B. (2003). Effects of Light, Oxygen, and pH on the Absorbance of 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl. *Journal of Food Science*, 68 (2)
- PAN,Z.; QU, W.; MA, H.; GRIFFITHS G.; ATUNGULU, T.; HUGH, T. (2012). Continuous and pulsed ultrasound-assisted extractions of antioxidants from pomegranate peel. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19: 365–372
- PAN, M.; ZHAO, G.; DING, C.; WU, B.; LIAN, Z.; LIAN, H. (2017). Physicochemical transformation of rice straw after pretreatment with a deep eutectic solvent of choline chloride/urea. *Carbohydrate Polymers*, 176: 307–314.
- PARR. J.F.; SULLIVAN, L.A. (2005). Soil carbón sequestration in Phytoliths. *Soil Boil. Chem.*, 37: 117-124
- PÉREZ, M.; HERNÁNDEZ, L.; BARRAGÁN, B. (2017). Extracción de compuestos bioactivos de pitaya roja (*Stenocereus Stellatus*) aplicando pretratamientos con microondas, ultrasonido y enzimáticos. *Agrociencia*, 51: 135-151.
- PINGRET, D.; FABIANO, A.; BOURELLEC, C.; RENARD, M.; CHEMAT, F. (2012). Lab and pilot-scale ultrasound-assisted water extraction of polyphenols from apple pomace. *Journal of Food Engineering*, 11 (1): 73-81
- DOGV (2019). RESOLUCIÓN de 17 de octubre de 2019, de autorización de excepción de quema de rastrojos del arroz en la campaña 2019. Parque Natural de La Albufera (Corbera, Llaurí, Sueca, Riola, Massanassa, Silla, Fortaleny, Sedavi). [2019/9990]. Visto el 04 de marzo de 2020 <http://www.dogv.gva.es/es/resultat-dogv?signatura=2019/9990&L=0>
- REBOLLIDO, R.; MARTÍNEZ, J.; AGUILERA, Y.; MELCHOR, K.; Körner, I. (2007). Microbial populations during composting process of organic fraction of municipal solid waste. *Applied Ecology and Environmental Research*, 6 (3)
- REQUENA,R.; JIMÉNEZ, A.; VARGAS, M.; MORIANA, R.; CHIRALT, A.; VILAPLANA, F. (2019). Integral Fractionation of Rice Husks into Bioactive Arabinoxylans, Cellulose Nanocrystals, and Silica Particles. *Sustainable Chem. Eng.*, 17: 6275-6286
- RIBÒ. M; ALBIACH. R.; POMARES.F, y CANET. R. (2017). Alternativas de gestión de la paja de arroz en la albufera de Valencia. Nota técnica IVIA, 9 pp.
- RODRÍGUEZ, I. (2016). *Pretratamiento de hidrólisis hidrotérmicas para la degradación de los carbohidratos complejos de residuos de frutas para la obtención de bioetanol*. Trabajo fin de Máster de la Facultad de Química en la Universidad de Oviedo. 87 pp.
- ROMÁN, P.; MARTINEZ, M.M.;PANTOJA, A. (2013). Manual de compostaje para el agricultor. *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Oficina Regional para América Latina y el Caribe.*, 112pp.
- SÁNCHEZ, A. M.; GUTIÉRREZ, A. I.; MUÑOZ, J.A.; RIVERA, C.A. (2010) Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos. *Tumbaga*, 1 (5): 61-91

- SARNKLONG, C.; CONE, J.; PELLIKAAN, W.F.; HENDRIKS, W. (2010). Utilization of Rice Straw and Different Treatments to Improve Its Feed Value for Ruminants: A Review. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(5): 680-692.
- SINGH, R.; TIWARI, S.; SRIVASTAVA, M.; SHUKLA, A. (2014). Microwave Assisted Alkali Pretreatment of Rice Straw for Enhancing Enzymatic Digestibility. *Journal of Energy*. 7 pp
- SEO, D.J.; SAKODA, A. (2014) Assessment of the structural factors controlling the enzymatic saccharification of rice straw cellulose. *Biomass and Bioenergy*, 71: 47-57
- SUN, R.C.; TOMKINSON, J. (2002). Characterization of Hemicelluloses Obtained by Classical and Ultrasonically Assisted Extractions from Wheat Straw. *Carbohydrate Polymers*, 50: 263-271.
- TAKASHI, K.; YUKI, Y.; KEISUKE, K.; HITOSHI, M.; TAISUKE, W.; JUN OGIHARA, TAKAFUMI KASUMI (2017) Production of rice straw hydrolysis enzymes by the fungi *Trichoderma reesei* and *Humicola insolens* using rice straw as a carbon source. *Bioresource Technology*, 233: 67-73.
- TOMA, M.; VINATORU, M.; L. PANIWNKY, L.; MASON, J. (2001) Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction, *Ultrason. Sonochem.*, 8: 137–142.
- VASKALIS, V; SKOULOU, G; STAVROPOULOS; ZABANIOTOU, A. (2019). Towards Circular Economy Solutions for The Management of Rice Processing Residues to Bioenergy via Gasification. *Sustainability*, 11.
- VINATORU, M.; MASON, T.; CALINESCU, I. (2017). Ultrasonically Assisted Extraction (UAE) and Microwave Assisted Extraction (MAE) of Functional Compounds from Plant Materials. *Trends in Analytical Chemistry*.
- VIÑALS-VERDE, M.; BELL-GARCÍA, A.; MICHELENA-ALVAREZ, G.; RAMILL-MESA, M. (2012). Obtención de etanol a partir de biomasa lignocelulósica. *ICIDCA: Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 46 (1): 7-16.
- WAYNO, P.; MEESO, N.; SIRIAMORNPNUN, S. (2014). Effects of different treatments on the antioxidant properties and phenolic compounds of rice bran and rice husk. *Food Chemistry*, 157: 457-463.
- WISELOGEL, A.; AGBLEVOR, F.A.; JOHNSON, D.K.; DEUTCH, D.; FENNELL, J.A.; SANDERSON, M.A. (1996). Compositional changes during storage of large round switchgrass bales. *Bioresour. Technol.*, 56: 103–109.
- XU, G.; YE, X.; CHEN, J.; LIU, D. (2017). Effect of Heat Treatment on the Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Citrus Peel Extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 330–335.
- ZHANG, Q.; HUANG, H.; HAN, H.; QIU, Z.; ACHAL, V. (2017). Simulatory effect of in-situ detoxification on bioethanol production by rice staw. *Energy*, 135: 32-39.