



**Efecto de cinco niveles de zinc sobre los parámetros fisiológicos y de producción  
en germinados de *Lens culinaris*.**

López Veloza, Yessica Yhoana

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria

Ing. Landázuri Abarca, Pablo Aníbal, Mgtr.

27 de enero del 2023



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

**Carrera de Ingeniería Agropecuaria**

**Certificación:**

Certifico que el trabajo de titulación: **Efecto de cinco niveles de zinc sobre los parámetros fisiológicos y de producción en germinados de *Lens culinaris***, fue realizado por la señorita: **López Veloza Yessica Yhoana**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 27 de enero del 2023



Firmado electrónicamente por:  
PABLO ANIBAL  
LANDAZURI ABARCA

**Ing. Landázuri Abarca, Pablo Aníbal, Mgtr.**

C.C 1708262348

# Resultados de la herramienta para la verificación y/o análisis de similitud de contenidos

1/27/23, 12:26 PM  
VELOZA-TESIS

YESSICA YHOANA LOPEZ

## Informe de originalidad

---

NOMBRE DEL CURSO

TESIS 2023 UTILIZACIÓN

NOMBRE DEL ALUMNO

YESSICA YHOANA LOPEZ VELOZA

NOMBRE DEL ARCHIVO

YESSICA YHOANA LOPEZ VELOZA - TESIS

SE HA CREADO EL INFORME

27 ene 2023

---

Resumen		
Fragmentos marcados	2	0,7 %
Fragmentos citados o entrecuillados	3	0,8 %
Coincidencias de la Web		
unas.edu.pe	3	0,9 %
revistametrociencia.com.ec	1	0,3 %
puce.edu.ec	1	0,3 %

---



Firmado electrónicamente por:  
PABLO ANIBAL  
LANDAZURI ABARCA

Ing. Landázuri Abarca, Pablo Anibal, Mgtr.

C.C 1708262348



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Responsabilidad de Autoría

Yo, **López Veloza, Yessica Yhoana**, con cédula de ciudadanía No. 1729717379 declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo titulación: **Efecto de cinco niveles de zinc sobre los parámetros fisiológicos y de producción en germinados de *Lens culinaris***, es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 27 de enero del 2023

López Veloza, Yessica Yhoana  
C.C.: 1729717379



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Autorización de Publicación

Yo, **López Veloza, Yessica Yhoana**, con cédula de ciudadanía No. 1729717379 autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **Efecto de cinco niveles de zinc sobre los parámetros fisiológicos y de producción en germinados de *Lens culinaris***, en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios es de mi responsabilidad.

Sangolquí, 27 de enero del 2023

*Yessica López*

**López Veloza, Yessica Yhoana**

C.C. 1729717379

## DEDICATORIA

El trabajo va dedicado a la persona que me inspiro a seguir mi carrera y la misma que no alcanzo a ver mi logro, mi abuelo Carlos.

Mis padres Martha y Luis, mis guías en la vida, mi principal motor día a día

Mi hermano y hermanas, Anderson, Danna y Allison; cada llamada de ellos era una inspiración más para alcanzar la meta.

En cada reto, caída, felicidad y tristeza tanto de la vida como de mi carrera, mi amigo fiel mi esposo Santiago, siendo una compañía constante y la mano que siempre estaba para mi para seguir en mi camino.

## **AGRADECIMIENTOS**

A lo largo de mi carrera universitaria son muchas las personas que de una u otra forma han contribuido con mi proceso y conclusión profesional. En primer lugar, a mi tutor de tesis Ing. Pablo Landázuri, que con su apoyo constante y sus conocimientos impartidos impulsaron a que el presente proyecto tuviera los mejores resultados posibles. A mis amigas y familia universitaria Andrea Benalcázar, Kelin Velasco, Robetsy Mora, Celena Chaves y Brayan Ruíz; personas presentes en mi vida que nunca me dejaron desfallecer sola y siempre creer en mí.

Mi familia y mi más grande motor, mi madre Martha, mi padre Luis, mis hermanos mi fortaleza constante Anderson, Danna, Allison.

La persona que siempre estuvo en todo momento, creyó en mi sin ninguna duda mi amado esposo Santiago.

## Índice de contenidos

Carátula.....	1
Certificación: .....	2
Resultados de la herramienta para la verificación y/o análisis de similitud de contenidos.....	3
Responsabilidad de Autoría .....	4
Autorización de Publicación: .....	5
DEDICATORIA .....	6
AGRADECIMIENTOS.....	7
Índice de contenidos.....	8
Índice de tablas.....	12
Índice de figuras.....	13
RESUMEN .....	15
ABSTRACT .....	16
CAPÍTULO I .....	17
INTRODUCCIÓN .....	17
Antecedentes .....	17
Justificación.....	19
Objetivos .....	20
Objetivo General .....	20
Objetivos Específicos .....	20
Hipótesis .....	20
H0:.....	20

H1:.....	20
CAPÍTULO II .....	21
REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	21
Germinados o brotes .....	21
Fases de la germinación.....	21
Fase de hidratación o remojo: .....	21
Fase de germinación: .....	21
Fase de cosecha:.....	21
Índices de la germinación .....	22
Ácido Indol Acético (AIA) .....	22
Producción de germinados .....	23
Uso de semillas germinadas en el consumo humano .....	23
Lenteja.....	24
Composición nutricional de germinados de lenteja .....	25
Condiciones para los germinados de lenteja .....	25
Zinc y Funciones.....	26
Fortificación de alimentos .....	27
Tipos de fortificación .....	27
Compuestos de zinc para la fortificación.....	28
Biodisponibilidad de zinc en el organismo .....	28
Ácido fítico.....	29

Análisis de minerales .....	30
Microscopio electrónico de barrido.....	30
CAPÍTULO III .....	32
METODOLOGÍA .....	32
Preparación de las semillas.....	32
Variables a evaluar .....	34
Porcentaje de germinación.....	34
Longitud del germinado .....	34
Materia seca.....	34
Rendimiento biológico .....	35
Contenido de zinc .....	35
Análisis de Ácido fítico .....	35
Biodisponibilidad de zinc .....	36
Concentración de Ácido Indol acético .....	37
Mapeo y composición elemental .....	37
Análisis de datos.....	38
CAPÍTULO IV .....	39
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
Variables agronómicas .....	39
Porcentaje de germinación.....	39
Longitud del germinado .....	39

Rendimiento Biológico y Materia seca .....	41
Contenido de ácido indol acético (AIA) .....	41
Contenido de zinc .....	42
Contenido de ácido fítico .....	43
Biodisponibilidad de zinc .....	43
Mapeo y composición elemental .....	45
Discusión.....	48
CAPÍTULO V.....	54
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	54
Conclusiones.....	54
Recomendaciones .....	54
BIBLIOGRAFÍA .....	55

## Índice de tablas

<b>Tabla 1</b> Descripción de los tratamientos para el presente estudio .....	<b>33</b>
<b>Tabla 2</b> Relación molar entre el ácido fítico (AF) y la biodisponibilidad de zinc (%) .....	<b>36</b>
<b>Tabla 3</b> Promedio y error estándar del porcentaje de germinación y longitud del germinado (cm) en germinados de lenteja ( <i>Lens culinaris</i> ) tratados con 5 diferentes dosis .....	<b>40</b>
<b>Tabla 4</b> Promedio y error estándar del rendimiento biológico y materia seca en germinados de lenteja <i>Lens culinaris</i> tratados con 5 diferentes dosis.....	<b>41</b>
<b>Tabla 5</b> Promedio y error estándar del contenido de ácido indol acético en germinados de lenteja tratados con 5 diferentes dosis.....	<b>42</b>
<b>Tabla 6</b> Promedio y error estándar del contenido de ácido fítico (mg/kg) en germinados de lenteja.....	<b>43</b>
<b>Tabla 7</b> Promedio y error estándar de la relación mMolar de ácido fítico y zinc en germinados de lenteja.....	<b>44</b>

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b> <i>Relación entre los minerales en el organismo y su biodisponibilidad</i> .....	<b>29</b>
<b>Figura 2</b> <i>Disposición de los tratamientos en estudio para la biofrotificación de germinados <i>Lens culinaris</i> a diferentes dosis de Zinc</i> .....	<b>33</b>
<b>Figura 3</b> <i>Germinados de <i>Lens culinaris</i> a los tres días de la aplicación con 5 diferentes dosis de zinc</i> .....	<b>39</b>
<b>Figura 4</b> <i>Longitud de germinados de <i>Lens culinaris</i> tratadas con 5 diferentes dosis de zinc</i> .....	<b>40</b>
<b>Figura 5</b> <i>Concentración de Zinc mg.kg<sup>-1</sup> en germinados de lentejas tratadas con 5 diferentes dosis de zinc</i> .....	<b>42</b>
<b>Figura 6</b> <i>Relación molar de Ácido fítico: Zinc en germinados de lenteja tratados con cinco diferentes dosis de zinc</i> .....	<b>44</b>
<b>Figura 7</b> <i>Mapeo elemental de radícula molida en muestras de germinados de lenteja tratados con 200 µM. L<sup>-1</sup></i> .....	<b>45</b>
<b>Figura 8</b> <i>Espectroscopia de energía dispersa de Rayos X (EDS) en radícula molida de germinados de zinc tratados con 200 µM. L<sup>-1</sup></i> .....	<b>46</b>
<b>Figura 9</b> <i>Mapeo elemental de radícula molida en muestras de germinados de lenteja tratados con 0 µM.L<sup>-1</sup></i> .....	<b>46</b>
<b>Figura 10</b> <i>Espectroscopia de energía dispersa de Rayos X (EDS) en radícula molida de germinados de zinc tratados con 0 µM. L<sup>-1</sup></i> .....	<b>47</b>
<b>Figura 11</b> <i>Mapeo elemental de la plúmula molida en muestras de germinados de lenteja tratados con 200 µM. L<sup>-1</sup> y Espectroscopia de energía dispersa de Rayos X (EDS)</i> .....	<b>50</b>
<b>Figura 12</b> <i>Mapeo elemental de la plúmula molida en muestras de germinados de lenteja tratados con 0 µM. L<sup>-1</sup> y Espectroscopia de energía dispersa de Rayos X (EDS)</i> .....	<b>51</b>

**Figura 13** *Mapeo elemental del cotiledón molido en muestras de germinados de lenteja tratados con 200  $\mu$ M. L-1 y Espectroscopia de energía dispersa de Rayos X (EDS).....52*

**Figura 14** *Mapeo elemental del cotiledón molido en muestras de germinados de lenteja tratados con 0  $\mu$ M. L-1 y Espectroscopia de energía dispersa de Rayos X (EDS).....53*

## RESUMEN

El zinc constituye un microelemento esencial en todas las formas de vida, participando en un sinnúmero de funciones biológicas, a nivel mundial constituye un elemento con problemas de deficiencias nutrimentales, focalizándose en los niños en etapa de desarrollo y mujeres gestantes, caracterizándose por el retraso de crecimiento y la reducción de talla. Actualmente a nivel mundial se ha buscado estrategias para combatir la deficiencia de zinc, una de las técnicas más utilizadas es la fortificación de alimentos usada por su relación costo beneficio, para lo cual se considera la selección del alimento, la forma y el tipo de compuesto de zinc que será añadido. Esta técnica es útil para cumplir los requerimientos sugeridos en la ingesta diaria recomendada de zinc, es por eso que en la presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de 5 concentraciones de zinc (0, 25, 50, 100, 200  $\mu\text{M. L}^{-1}$ ) sobre los parámetros fisiológicos y de producción en germinados de lenteja (*Lens culinaris*). Los resultados obtenidos en el ensayo demostraron que fortificar con 50  $\mu\text{M. L}^{-1}$  mejoró los parámetros productivos y fisiológicos, estabilizando el rendimiento biológico del germinado 190.42 y la cantidad de ácido fítico 31.15  $\text{mg.kg}^{-1}$ , para lo cual la cantidad de zinc biodisponible fue mayor a 50%. Con respecto al AIA la cantidad promedio fue de 433.89  $\mu\text{g.ml}^{-1}$  esto se relacionó con los resultados del mapeo y composición elemental semicuantitativa donde se encontró que la mayor cantidad de zinc se concentró en la radícula del germinado; con esta dosis se podría llegar a suministrar 2.57 mg de zinc en 100g de germinado de lenteja; en conclusión utilizar la técnica de fortificación de zinc en germinados de lenteja ayuda a mejorar las características fisiológicas y de producción, ofreciendo una alternativa viable y moderna para suministrar un alimento fortificado con niveles óptimos de zinc.

**Palabras clave:** germinados, fortificación, *Lens culinaris*, zinc

## ABSTRACT

Zinc is an essential microelement in all forms of life, participating in a number of biological functions, worldwide is an element with nutritional deficiency problems, focusing on children in the development stage and pregnant women, characterized by stunted growth and reduced height. Currently, worldwide, strategies have been sought to combat zinc deficiency, one of the most used techniques is the fortification of foods used for its cost-benefit relation, for which the selection of the food, the form and type of zinc compound to be added are considered. This technique is useful to meet the requirements suggested in the recommended daily intake of zinc, that is why in the present investigation the objective was to evaluate the effect of 5 concentrations of zinc (0, 25, 50, 50, 100, 200  $\mu\text{M. L}^{-1}$ ) on the physiological and production parameters in lentil (*Lens culinaris*) sprouts. The results obtained in the trial showed that fortifying with 50  $\mu\text{M. L}^{-1}$  improved the productive and physiological parameters stabilizing the biological yield of the sprout 190.42 and the amount of phytic acid 31.15  $\text{mg.kg}^{-1}$ , for which the amount of bioavailable zinc was greater than 50%. With respect to AIA the average amount was 433.89  $\mu\text{g.ml}^{-1}$  this was related to the results of mapping and semiquantitative elemental composition where it was found that the highest amount of zinc was concentrated in the radicle of the sprout; with this dose it could be possible to supply 2.57 mg of zinc in 100 g of lentil sprouts; in conclusion, using the technique of zinc fortification in lentil sprouts helps to improve physiological and production characteristics, offering a viable and modern alternative to supply a fortified feed with optimal levels of zinc.

**Keywords:** sprouts, fortification, *Lens culinaris*, zinc

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

### Antecedentes

El zinc siendo un micronutriente se encuentra participando en un sin número de procesos, tales como la estabilización de membranas encontradas en estructuras celulares y en relación con procesos de elevada complejidad en los metabolismos de los hidratos de carbono, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. La deficiencia de zinc constituye un problema a nivel mundial, afectando aproximadamente al 20% de la población humana, dando problemas de deficiencia tipo II que se caracteriza por el retraso de crecimiento y reducción de la talla en quienes lo padecen, Hernández F *et al.* (2010).

Con respecto a la fortificación se ha demostrado ser una de las maneras más efectivas para aumentar los niveles de micronutrientes en los alimentos, esta práctica consiste en agregar el o los micronutrientes con mayor déficit en el alimento utilizado como un transporte, lo cual para el consumidor es más aceptable ya que no hay ninguna modificación de la forma de consumo del alimento, Boccio & Monteiro (2004).

Los germinados son un proceso agroindustrial, donde el grano en cuestión aporta los elementos nutritivos, se llama germinación en el proceso en que la enzima de la semilla transforma los almidones presentes en azúcares, este proceso inicia con el crecimiento embrionario después de una fase de reposo. En esta fase es donde se puede sacar la mayor cantidad de beneficios en la planta, siendo un alimento delicado, fresco y con un sabor agradable; por su textura y aceptación los germinados con mayor demanda son de leguminosas o cereales, Arrieta Miranda (2021).

Una de las estrategias más claras para combatir la deficiencia de zinc en alimentos es la fortificación ya que la misma es más efectiva para enfrentar la deficiencia y teniendo en cuenta la relación de costo beneficio que la aplicación de esta técnica tiene, Hernández F *et al.* (2010). Existen un sin número de ensayos y pruebas realizadas en alimentos fortificados con zinc, llegando a la misma conclusión que para tener resultados favorables se debe considerar la estrategia de consumo en cantidades relativamente constantes, la selección de la forma química y cantidad del compuesto de zinc para ser añadido al alimento, López de Romaña *et al.* (2010).

Según la GRAS (*Generally Recognized as Safe*), Hernández F *et al.* (2010) se enlista los compuestos utilizados como seguros en la fortificación de alimentos, el óxido de zinc y el sulfato de zinc son compuestos de menor costo, y con resultados que ambos compuestos tienen absorciones similares, incrementando su ingesta diaria de zinc y la absorción del mismo microelemento. En cuanto a la germinación de semillas con diferentes concentraciones, en el caso de sulfato de zinc puede aumentar de forma significativa la concentración de zinc en la semilla, con la técnica de remojo de la semilla como medio de fortificación permite la impregnación del elemento a las semillas, con resultados de alta acumulación de zinc en germinados de leguminosas y cereales, Baczek-Kwinta *et al.* (2020); Boccio & Monteiro (2004); López de Romaña *et al.* (2010); Salvatierra Valdez (2022).

Sida *et al.* (2012) realizaron un estudio en el efecto de la aplicación de quelatos y sulfatos de hierro y zinc para la biofortificación en cultivo de frijol definiendo la forma y dosis de aplicación en estos dos elementos en forma de sulfatos y quelatos con dosis de 0, 25, 50 y 100  $\mu\text{M} \cdot \text{L}^{-1}$ ; con respecto a la distribución del Zinc la forma con mayor concentración y absorción fue en Sulfato en la semilla, con una dosis de 50 $\mu\text{M}$  de Sulfato de Zinc con un incremento de 30% en comparación al Quelato de zinc.

García Casal *et al.* (2013) publicaron una revisión de las recomendaciones de diferentes nutrientes y energía para la población de Venezuela entre los nutrientes evaluados se tomó en cuenta el zinc, en los datos de requerimiento RDA (Ingesta Dietética Recomendada) de Zinc publicaron: 2-3 mg. día<sup>-1</sup> < 1 año, 3-5 mg. día<sup>-1</sup> niños hasta los 10 años, 8-11 mg. día<sup>-1</sup> adolescentes y hombres, 8-9 mg. día<sup>-1</sup> adolescentes y mujeres, 12 mg. día<sup>-1</sup> para embarazadas y 13 mg. día<sup>-1</sup> durante la lactancia. Y en cuanto a la toxicidad de este elemento no se reportaron efectos adversos por el consumo excesivo de Zinc proveniente de alimentos.

### **Justificación**

Se sabe que el zinc es un elemento con una gran distribución en la naturaleza, siendo uno de los más abundantes en el cuerpo humano, oscilando en el adulto de 1 a 2.5 gr; concentradas en los riñones, huesos, páncreas, músculos, ojos, próstata, espermatozoides pelo, piel y uñas, Rubio *et al.* (2007).

Las lentejas germinadas en diferentes condiciones idóneas aportan grandes propiedades para combatir diferentes problemas en la salud humana, como hipertensión arterial, aportando en gran cantidad con carbohidratos, fibra, vitaminas y un alto contenido de compuestos fitoquímicos con efecto bioactivos como actividad antidiabética, anticancerígena, antioxidante; con una amplia gama de aplicaciones y resultados favorables los germinados de lenteja son utilizados por la innovación de alimentación para la producción de productos funcionales, Salas-Pérez *et al.* (2018); Świeca & Baraniak (2014); Torres Acosta *et al.* (2011).

El déficit de zinc se ha relacionado con trastornos referentes al intelecto de la persona y en el desarrollo sexual, también un déficit severo puede conducir al hipogonadismo reversible. En tratamientos con empleo de zinc han ayudado en afecciones a la piel, en el caso de acrodermatitis ententeropática tratados con sulfato de zinc, también ha sido utilizado como inmunomodulador en pacientes con tratamientos de desórdenes cutáneos, Odalis de la Guardia Peña *et al.* (2011). Es por ello que se ha demostrado que la mejor estrategia para mejorar el

perfil nutricional en países latinoamericanos es la biofortificación llegando a alcanzar mejorías de un 12-48%, En Latinoamérica y el Caribe, pueden contribuir 42%, 28% y 21% más hierro, zinc y vitamina A a la dieta nutricional en infantes y mujeres embarazo, FAO (2001); Pachón & Agrosalud (2008)

La presente investigación pretende evaluar el efecto de cinco diferentes concentraciones de zinc (0, 25, 50, 100 y 200  $\mu\text{M. L}^{-1}$ ) en germinados de lentejas sobre los parámetros de crecimiento y potencial de fortificación, de buena palatabilidad y principalmente rico en contenido de zinc.

## **Objetivos**

### ***Objetivo General***

Evaluar el efecto de cinco niveles de zinc sobre los parámetros fisiológicos y de producción en germinados de lenteja (*Lens culinaris*)

### ***Objetivos Específicos***

Evaluar el efecto de cinco concentraciones de zinc en los parámetros productivos en germinados de lenteja.

Determinar las variables fisiológicas en germinados de lenteja tratados con cinco diferentes concentraciones.

## **Hipótesis**

***H0:*** El contenido de zinc en germinados de lenteja tratados con sulfato de zinc es similar al contenido de zinc en germinados de lentejas que no son tratados.

***H1:*** El contenido de zinc en germinados de lenteja tratados con sulfato de zinc difiere al contenido de zinc en germinados de lentejas que no son tratados.

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LA LITERATURA

#### **Germinados o brotes**

La germinación es el proceso en el que la semilla deja su periodo de reposo e inicia su crecimiento nuevamente del embrión, siempre y cuando cuente con las condiciones necesarias para su proceso agua, oxígeno, humedad y temperatura adecuada; justo en este momento de germinación es cuando la semilla posee una gran cantidad de clorofila, vitaminas, minerales y en su mayoría ácido fólico, Santos Chavarría (2017).

#### **Fases de la germinación**

Según, Jensen Bernard (2010), la germinación se puede sintetizar en tres fases: hidratación o remojo, germinación y cosecha.

**Fase de hidratación o remojo:** se trata del remojo de las semillas secas en agua limpia, dándose la absorción de agua la cual desactiva las enzimas inhibidoras estabilizadoras de la semilla, pero se da la activación de otras enzimas que aumentan la respiración, hay aumento del volumen de la semilla llegan a duplicar o triplicar el volumen de las mismas. El tiempo de hidratación dura dependiendo del tipo de semillas, que pueden ir desde dos horas para semillas “suaves” hasta doce horas para semillas más duras o resistentes a la hidratación.

**Fase de germinación:** ocurren transformaciones metabólicas, las cuales realizan la fase de crecimiento donde se desarrolla la plántula, baja la absorción del agua y hay una estabilización del consumo de oxígeno; la duración de esta fase depende del tipo de semilla y condiciones de germinación.

**Fase de cosecha:** cuando la radícula comienza a emerger, se marca el fin de la germinación es aquí donde se debe realizar la cosecha aprovechando los nutrientes y evitando el crecimiento de la plántula, con métodos como deshidratación y congelación

## **Índices de la germinación**

Desde el punto de vista agronómico, una semilla germinada es aquella que origina una planta adulta capaz de alcanzar la fase reproductiva; la *International Seed Testing Association* (ISTA) asociación internacional de entidades relacionadas al análisis de semillas, que busca desarrollar métodos y servicios con el fin de la germinación de semillas, considera que este proceso es un establecimiento de un estado fisiológicamente activo; con lo cual la primera expresión de dicho proceso es la emergencia de la radícula, Rodríguez *et al.* (2018)

Estos tipos de análisis permite determinar el potencial máximo de germinación y estimar el valor potencial para la siembra en campo, proporcionando información de primera para la calidad de la semilla hacia el productor.

Los eventos que conlleva la semilla en el proceso de germinación son: inhibición de las semillas secas, activación enzimática, iniciación del crecimiento del embrión, ruptura de cubierta de la semilla (testa) y por último la emergencia de la radícula; todo este proceso comienza con el contacto del agua lo cual produce el hinchamiento de la semilla lo cual da paso a los demás pasos mencionados, Rosabal Ayan *et al.* (2014).

## **Ácido Indol Acético (AIA)**

Este ácido proviene del aminoácido L-triptófano el cual debe pasar por procesos de descarboxilación y desaminación para alcanzar la forma de ácido indolacético; el AIA controla la diferenciación de tejidos, procesos fisiológicos tanto de elongación y división celular, además es de suma importancia en la formación del xilema y la raíz de la planta, Licto Guano (2017).

Para la cuantificación de detección de AIA, el método más utilizado es el colorimétrico de Salkowski, este reactivo es una mezcla de cloruro férrico de 0.5 M ( $\text{FeCl}_3$ ) y ácido perclórico al 35% ( $\text{HClO}_4$ ) que al reaccionar con el AIA produce un color rosado, debido a la formación de los complejos del AIA y la reducción de  $\text{Fe}^{3+}$ , este color característico indica la presencia de

diversos compuestos indólicos que son producto del metabolismo del triptófano, Abad Arce (2021).

### **Producción de germinados**

Un germinado es una semilla cosechada desde los 3 a 7 días después de que esta haya germinado dependiendo de la especie, siendo un producto listo para consumir y actualmente popularizado por la facilidad de obtención y la gran aportación nutricional que se adecuan con gran facilidad al consumidor, Solorzano Sánchez *et al.* (2018).

La producción de germinados requiere un uso de baja cantidad de semillas, obteniendo un producto listo para su consumo y con fácil digestión. Existen diferentes tipos de germinados y su recolección debe ser en el tiempo correcto para aprovechar el valor nutricional, al no ser recolectados en el tiempo establecido ya no serían llamados germinados y hay cambio en su sabor, consistencia y porcentaje de nutrientes que puedan aportar, Arrieta Miranda (2021).

### **Uso de semillas germinadas en el consumo humano**

Dadas las enfermedades desarrolladas principalmente por la mala alimentación de las personas, con alimentos con alto contenido de conservantes y gran cantidad de sustancias tóxicas para el organismo los germinados presentan una opción de alimento principalmente por su fácil digestión, representan alimentos económicos y su producción se la puede realizar de forma masiva. Es indispensable tener en cuenta la inocuidad de la producción del germinado evitando la formación de contaminantes y patógenos que dañen a la semilla, Arrieta Miranda (2021).

Es muy popular encontrar leguminosas germinadas en países asiáticos, en países subdesarrollados el proceso de germinación es utilizado a nivel doméstico, mejorando las carencias nutricionales de la población y ofreciendo una alternativa de consumo a base de leguminosas, Torres *et al.* (2018).

El beneficio que han mostrado el uso de leguminosas germinadas en la salud, en relación con la reducción del estrés oxidativo y la hiperglicemia, al ser mezcladas con otros granos, logra mejor notablemente la composición de la dieta suministrada con foco principal en países con riesgo de malnutrición, Adenekan *et al.* (2014); Uchegbu & Ishiwu (2016).

### **Lenteja**

La lenteja tiene tallos de 30 a 40 cm, son endebles y estriados, con hojas lanceoladas estipuladas, flores blancas con nervaduras moradas y con un fruto en forma de vaina pequeña conteniendo de 3 a 2 semillas pardas en forma de disco aplanadas, Lara Bone (2013).

Este cultivo es uno de los más importantes en la dieta de grupos de población con bajos recursos, debido a que representa un producto con una gran sustitución de proteína de origen animal y gran efecto benéfico en el consumo de la salud humana, Cárdenas Travieso *et al.* (2014).

Con contenidos de proteína que oscila entre los 23-30% llegando a superar la proteína contenida en la carne, con respecto a los hidratos de carbono puede llegar a un contenido de 10 a 17% siendo bajos porcentajes por lo cual puede ser consumida y empleada en la alimentación de diabéticos; aporta con gran contenido de ácido fólico necesaria en la formación de proteínas estructurales y hemoglobina llegando a suministrar el requerimiento diario al cuerpo aproximadamente 75 miligramos, Ayala Lindao & Siche Mora (2014).

La lenteja contiene una buena fuente de microelementos entre ellos: el hierro 90 mg/kg y zinc 30 mg/kg; pero con deficiencia en calcio, sodio, cloro y magnesio; entre ellos el fósforo se encuentra en diferentes componentes como ácido fítico y fitatos, Tisalema Yumbopatin (2017)

### ***Composición nutricional de germinados de lenteja***

Las lentejas germinadas contienen grandes propiedades nutricionales a diferencia de la semilla seca multiplicando los contenidos de vitaminas, minerales, oligoelementos y enzimas; el consumo fresco de germinados aporta hidratos, fibra, vitaminas y altos contenidos de compuestos fitoquímicos con un gran efecto bioactivo que son útiles en actividades antidiabéticas, anticancerígenas, antioxidantes y demás. Estas propiedades se deben a la acción de metabolitos secundarios encontrados en el germinado como lo son los compuestos fenólicos utilizados como antioxidantes que se pueden aplicar en procesos innovativos para la producción de alimentos, Gonzáles Calvo & García López (2011); Salas-Pérez *et al.* (2018).

Con respecto al contenido de minerales en leguminosas en general esta entre 2,5 y 4,2%, el potasio es uno de los elementos más abundantes, seguido por fósforo, magnesio, calcio y hierro, pero este último solo se absorbe por debajo del 10% debido a la presencia de ácido fítico que dificulta la absorción; en general los minerales encontrados en las leguminosas tienen baja disponibilidad, por la presencia de macro compuestos que forman compuestos los cuales comprometen la disposición de estos elementos, Ayala Lindao & Siche Mora (2014).

### ***Condiciones para los germinados de lenteja***

El lavado de las semillas es de suma importancia ya que reduce significativamente la presencia de patógenos, suciedades e impurezas que puedan alterar al germinado preservando la inocuidad del producto; Según Martínez (2019), sugiere realizar limpieza con agua limpia a temperatura ambiente por lo menos 3 veces, luego de esto se realiza la inmersión de la semilla en una solución con agua clorada al 2% durante dos horas, esto con el objetivo de bajar la carga microbiológica presente en las semillas; luego de esto es necesario escurrir la semilla y lavar varias veces para eliminar residuos de hipoclorito de sodio, seguido de esto se deja en remojo a las semillas en remojo por 12 horas para generar activación a la semilla.

Según Andrade Lee (2010), determino el método más apropiado para la obtención tanto de germinados de lenteja como de haba evitando la alteración de las cualidades ya sean físicas y/o químicas en el proceso de germinación; definió que la mejor técnica para la lenteja es el remojo de la semilla durante doce horas en agua, luego dejarlos en depósitos de vidrio por un periodo de cuatro días realizando remojos diarios, al obtener los brotes de aproximadamente de 3cm de largo, son almacenados en bolsas de polietileno hasta completar los 9 días.

## **Zinc y Funciones**

El zinc forma parte esencial de la nutrición de las plantas y está implicado en diferentes sistemas enzimáticos, contribuye parte de la producción de energía, síntesis de proteína y regulación del crecimiento. En la alimentación y nutrición humana se estima que aproximadamente más del 30% de los 6 millones de personas en el mundo sufren deficiencia de zinc por deficiencia en los alimentos consumidos. El requerimiento humano de zinc está oscilando entre 10 a 15 mg. día<sup>-1</sup> en la dieta humana, Morales Morales *et al.* (2016).

Según Álvarez Restrepo (2014), este elemento es esencial para los humanos en el sistema inmune para que funcione normalmente, interviene en el metabolismo de proteínas y carbohidratos, en las percepciones de gusto y olfato, actuando en la cicatrización de heridas y cofactor en la síntesis de ADN; con respecto a la ingesta recomendada diaria es de 5-10mg, cantidad proporcionada por una dieta normal (6-22mg zinc. día<sup>-1</sup>), la deficiencia de este elemento provoca graves trastornos.

Con respecto a la toxicidad que tiene la ingesta excesiva de zinc en el cuerpo, tiene consecuencias en la reducción en una enzima que contiene Cobre, la cual altera la función del hierro, con ingesta de aproximadamente de 60 mg/día de zinc siendo una ingesta moderada. Las alteraciones de toxicidad de zinc suelen ir desde efectos adversos a nivel gastrointestinal, hematológico y respiratorio hasta lesiones leves como vómitos, dolores de cabeza y diarrea, Rosas Romero & Covarrubias Gómez (2020). El zinc en muchos estudios con altas dosis vía

oral ha resultado relativamente inofensivo, con intoxicaciones muy leves y raras por dosis de zinc; pero al existir altas dosis y a largo plazo interfiere con la absorción de cobre, por lo tanto, existirá una deficiencia de cobre, Lin *et al.* (2006); Mekky *et al.* (2018)

### **Fortificación de alimentos**

Este tipo de técnica representa un sistema atractivo de implementar en las plantas comestibles, ya que es una fuente exitosa para regular la ingesta de elementos con déficit nutricional en el humano y animales; para este proceso se incorpora cantidades supra-fisiológicas de los elementos en interés directamente al medio de crecimiento, pero con poco control de la cantidad acumulada de dicho elemento en la planta, ya que depende de muchos factores (especie, condiciones de crecimiento y el tipo de elemento para la fortificación). Esta técnica asegura que el nutriente quede biodisponible para la absorción en el organismo, Martínez Magaña *et al.* (2018).

El zinc es un nutriente esencial en las plantas y está comprometido en diferentes sistemas enzimáticos, comprometido en la producción de energía, síntesis de proteína y la regulación del crecimiento, debido a que la técnica de biofortificación con aplicaciones de soluciones de Sulfato de Zinc ( $ZnSO_4$ ), aumenta notablemente los contenidos de microelementos con gran déficit en la población y que son de alta prioridad en la alimentación, se ha utilizado los germinados de leguminosas que han sido acogidos por su alto contenido de calcio, magnesio, potasio y fósforo, Morales Morales *et al.* (2016).

### ***Tipos de fortificación***

Las diferentes tipos de fortificación se debe a que o a quien va dirigido, es decir, si son alimentos que van a ser consumidos de forma amplia y por la población general se denomina Fortificación Masiva, donde se adiciona uno o más micronutrientes a los elementos a los alimentos más consumidos usualmente esta fortificación es regularizada por el sector gubernamental; la Fortificación Localizada se fortifica alimentos específicos dirigidos a

subgrupos de la población, generalmente dichos alimentos se utilizan para proporcionar requerimientos diarios de micronutrientes a un grupo objetivo (ejemplo: niños pequeños o lactantes, madres embarazadas) y por último la Fortificación Orientada por el Mercado generalmente el fabricante del alimento parte de una motivación comercial para agregar cantidades específicas de uno o más microelementos procesados, Allen *et al.* (2017).

### **Compuestos de zinc para la fortificación**

Para la fortificación de los alimentos la *Food and Drug Administration* (FDA) se consideran compuestos de zinc utilizados para la fortificación: el óxido de zinc que es usado para fortificar cereales, polvo blanco, de bajo costo, pero posee baja biodisponibilidad su uso es bajo desde este punto nutricional; el sulfato de zinc tiene mejor absorbancia a diferencia del óxido de zinc, pero un poco más costoso y puede tener leves cambios a nivel organoléptico en el alimento fortificado y con poco éxito por el drástico cambio en el sabor del alimento es el citrato de zinc, ya que por esta razón es poco usado en la industria alimentaria por su sabor difícil de disimular, Boccio & Monteiro (2004).

### **Biodisponibilidad de zinc en el organismo**

El zinc y su biodisponibilidad se puede ver afectada y comprometido principalmente por los fitatos que se encuentran presentes en alimentos de origen vegetal tal como en cereales y harinas sin refinar, Berné Peña *et al.* (2008); en diversos estudios se han reportado que con la reducción de fitatos en la dieta, se incrementa sustancialmente la cantidad y absorción de zinc en el organismos, acompañados con diversos aminoácidos como el glutamato, histidina y aminoácidos sulfurados incrementan la absorción del zinc, Rosas Romero & Covarrubias Gómez (2020).

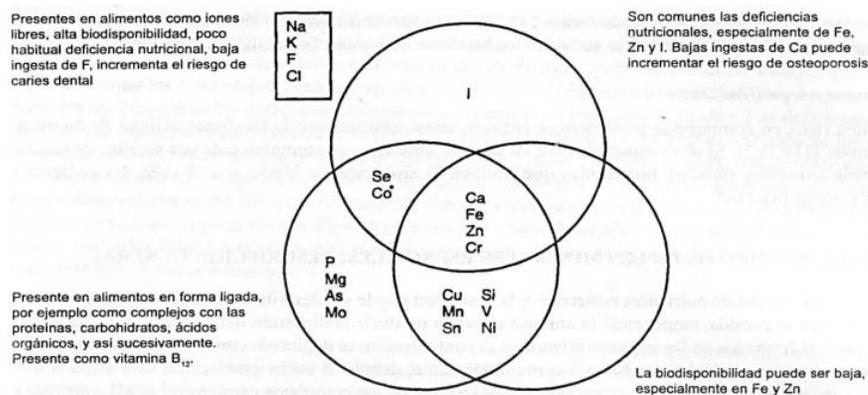
## Ácido fítico

El ácido fítico está contenido en varias de las legumbres pero se lo conoce como un compuesto tóxico natural, comportándose como compuesto antinutritivo, es un metabolito termoestable por su estructura única ya que este elemento tiene la capacidad de quelar fuertemente a varios cationes, como el Calcio, Magnesio, Hierro y Zinc el cual forma sales insolubles denominados fitatos, generando un efecto adverso en la absorción intestinal de estos elementos en el humano ocasionando la deficiencia en el organismo, Rodríguez-Blanco *et al.* (2018).

Muchos de los minerales se encuentran en los alimentos, pero su disponibilidad es muy baja, causando una deficiencia en el organismo, con ello la presencia de ácido fítico hace que se formen complejos insolubles, lo cual hace que la absorción de vea afectada, en la figura 1 se puede apreciar la relación que existen entre los minerales y su relación en el organismo.

### Figura 1

#### Relación entre los minerales en el organismo y su biodisponibilidad



*Nota.* El gráfico representa la relación de los elementos con respecto al ácido fítico y su absorción en el organismo, Autores: Fennema *et al.* (2010).

## **Análisis de minerales**

La ciencia que estudia los alimentos entre estas las cualidades nutricionales se denomina bromatología, básicamente se encarga de la determinación de los nutrientes inorgánicos; para ello se utiliza la química analítica para el análisis de estos minerales de manera cuantitativo y cualitativo, entre los métodos utilizados se tiene la espectrometría que utiliza concentraciones muy pequeñas para el análisis de elementos inorgánicos, Álvarez de la Torre (2016); Skoog Douglas A *et al.* (2007).

La espectrofotometría de absorción atómica se basa en la respuesta óptica causada por la radiación absorbida por átomos libres del metal al incidir radiación en ellos, Álvarez de la Torre (2016). Esta técnica se basa en la absorción de radiación de átomos libres, estos átomos se encuentran en estado fundamental, por lo cual ocurre una configuración electrónica específica; pero al absorber energía esto permite que ocurran transiciones electrónicas y los átomos pasan a un estado de excitación, estos electrones pasan a niveles superiores de energía y regresan al estado fundamental, Araújo (2018); Skoog Douglas A *et al.* (2007). En este tipo de transiciones se presentan ondas específicas formando espectros de absorción y emisión que se identifican y cuantifican los elementos para que la muestra pueda ser analizadas.

### ***Microscopio electrónico de barrido***

Este tipo de instrumento se utiliza principalmente por su alta resolución y la capacidad de analizar materiales y mostrar sus características morfológicas, estructurales y químicas que están en estudio. Es un análisis de tipo topográfico, estructural y composicional usado en varios tipos de muestras que van desde nanopartículas, películas delgadas, semiconductoras y demás; este equipo permite tomar una imagen de la muestra en estudio con el uso de la respuesta del material con el impacto de un haz de electrones, pero no se registra los fotones como en la microscopía óptica, esta muestra produce una serie de señales que son receptadas

por diferentes detectores en el equipo, estos detectores ofrecen información independiente de la topografía, composición y pudiendo llegar hasta la conductividad eléctrica de la muestra, Clavijo (2013).

### CAPÍTULO III

#### METODOLOGÍA

La investigación se realizó en el laboratorio de Fisiología Vegetal y Principios Activos de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I, ubicada en la Hacienda “El Prado”, parroquia Sangolquí, cantón Rumiñahui, provincia de Pichincha.

#### **Preparación de las semillas**

Para el experimento, se utilizaron 4000 semillas de lenteja sin fungicidas ni insecticidas para evitar efectos adversos en el consumidor de germinados. Se lavaron las semillas durante 15 minutos en inmersión con hipoclorito de sodio (NaClO) a una concentración de 1%, luego se enjuagaron y se escurrieron varias veces con agua estéril para eliminar el exceso de hipoclorito de sodio (NaClO), Salas-Pérez *et al.*, (2018). Para favorecer la germinación las semillas se mantuvieron en inmersión en agua durante 24 horas para después escurrir y aplicar los respectivos tratamientos.

Para dosificar los tratamientos, se realizó una solución madre de 1000 mg. L<sup>-1</sup> de sulfato de zinc (ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O), Sida *et al.*, (2012). Para la concentración 0 µM. L<sup>-1</sup> las semillas se las remojó con agua estéril para luego drenar el exceso de humedad. La unidad experimental en estudio fue un recipiente plástico de 200 ml con tapa con 200 semillas y en total se utilizarán 20 unidades experimentales. Se evaluaron cinco concentraciones de sulfato de zinc (Tabla 1), los cuales se aplicaron al segundo día de la desinfección, controlando la humedad en cada recipiente hasta la cosecha del germinado (9 días).

Para mantener la inocuidad en el ensayo los recipientes utilizados fueron esterilizados en remojo en una solución de agua con hipoclorito de sodio al 3% y luego se dejaron bajo luz UV a 15 minutos. Cada recipiente estuvo en condiciones homogéneas en una incubadora BIOBASE a 20°C durante 9 días de total oscuridad (Salas-Pérez *et al.*, 2018).

**Tabla 1**

*Descripción de los tratamientos para el presente estudio*

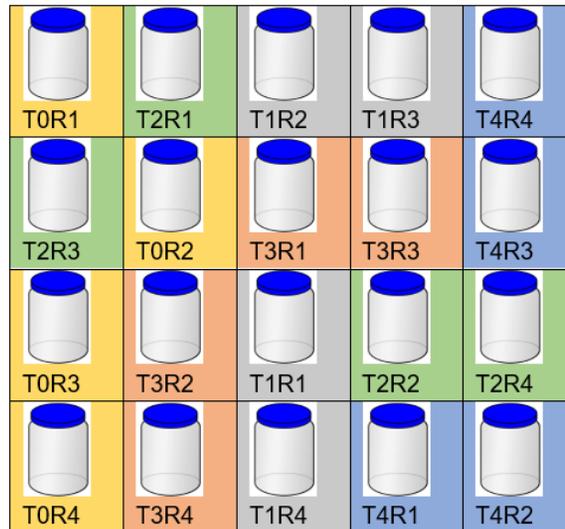
Tratamiento	Concentración de Zn ( $\mu\text{M. L}^{-1}$ )
T0	0
T1	25
T2	50
T3	100
T4	200

*Nota.* Descripción de las dosis asignadas para cada tratamiento evaluadas en el presente ensayo. Autoría propia.

Las concentraciones se asignaron de forma aleatoria a las unidades experimentales, bajo un diseño completamente al azar (DCA) con tres repeticiones. La disposición del experimento en campo se puede apreciar en la Figura 2:

**Figura 2**

*Disposición de los tratamientos en estudio para la biofortificación de germinados de Lens culinaris a diferentes dosis de Zinc*



*Nota.* Autoría propia.

## **Variables a evaluar**

Con respecto a las variables agronómicas se tomó en cuenta: porcentaje de germinación, longitud de germinado y rendimiento biológico; en cuanto a las variables de laboratorio se estudiaron: materia seca, contenido de zinc, contenido de ácido fítico, ácido indolacético, biodisponibilidad de zinc, mapeo de zinc elemental y Energía Dispersiva de Rayos X (EDS).

### ***Porcentaje de germinación***

El porcentaje de germinación se evaluó a los tres días de instalado el ensayo, una sola vez al comenzar el estudio, se tomó una muestra de 10 semillas por cada unidad experimental, utilizando la siguiente fórmula:

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

### ***Longitud del germinado***

Para la longitud del germinado se utilizó el software ImageJ y una cámara de 48 megapíxeles, esta medida se tomó al noveno día iniciado el ensayo Salas-Pérez *et al.*, (2018). Para la medición de la longitud de germinado se la tomo la medida desde el inicio del hipocótilo hasta el final de la radícula, con un total de 10 semillas por unidad experimental.

### ***Materia seca***

La materia seca se evaluó al final del ensayo con 10 semillas de cada unidad experimental, se drenaron para colocarlas en bolsas de papel, se pesaron y se llevaron a un horno con una temperatura de 60°C por 36 horas para ser pesadas nuevamente.

### **Rendimiento biológico**

Para el rendimiento biológico se tomó en cuenta 10 semillas por unidad experimental, utilizando el cálculo propuesto por Zou *et al.*, (2014) :

$$\% \text{ rendimiento biológico} = \left( \frac{Fw}{M} \right) * 100 \text{ Donde:}$$

Fw= peso fresco total de la semilla

M= peso de las semillas utilizadas tanto para el tratamiento y repetición, al momento de la cosecha.

### **Contenido de zinc**

Para el Contenido de zinc se utilizaron 75 semillas por unidad experimental, se secaron y se molieron en un molino ultracentrífuga ZM 200 Retsch, luego las muestras se calcinaron en una mufla a 600°C durante 4 horas y posterior a esto se agregó 10 ml de ácido clorhídrico (HCl) y 2 ml de agua destilada, para llevarlo a la estufa hasta ebullición. Después de enfriar se filtró en matraces de 50 ml, se aforó con agua desionizada y se filtró por segunda vez con filtros de membrana de 0,22 µm, para proceder a la determinación el zinc mediante la espectrometría de absorción atómica, Wei *et al.*, (2012).

### **Análisis de Ácido fítico**

Para cuantificar el contenido de ácido fítico, en brotes de lenteja previamente liofilizadas, se utilizaron 2 gramos de muestra, para mezclarlas con 50 ml ácido clorhídrico (HCl) al 2% en matraces de 125 ml. Luego, se llevaron a una incubadora agitador SHELL LAB orbital durante 3 horas a 120 revoluciones a 22°C, y luego se filtraron con papel filtro número 1. Luego se mezcló con 2.5 ml de reactivo tiocianato de amonio (NH<sub>4</sub>SCN) al 0,3% y se completó con 27 ml de agua destilada Abulude (2005); Salvatierra, (2022).

A continuación, se tituló con cloruro férrico (FeCl<sub>3</sub>) a una concentración de 1.95 mg.ml<sup>-1</sup>, se agitó la muestra para obtener una coloración amarilla intensa. Para calcular la concentración se utilizó la siguiente ecuación, Abulude (2005):

$$IP6(mg/100gr) = vt * 1,95;$$

$$Fitato (mg/100gr) = IP6 * 3,55$$

Donde:

IP6= Fitato de fósforo

Vt= Valor de titulación

### **Biodisponibilidad de zinc**

La Biodisponibilidad de zinc (Zn) se calculó mediante los datos obtenidos del contenido de zinc y ácido fítico, y para su análisis se usó la relación molar de ácido fítico y zinc, el resultado de esta operación se interpretó con los datos de la Tabla 2, Wei *et al.*, (2012):  $AF: Zn = \frac{mmol AF}{mmol Zn}$

**Tabla 2**

*Relación molar entre el ácido fítico (AF) y la biodisponibilidad de zinc (%)*

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

*Nota.* Porcentaje de zinc biodisponible para el organismo humano, con relación molar entre el ácido fítico y la cantidad de zinc en la semilla, Autores: Borelli *et al.*, (2007).

### **Concentración de Ácido Indol acético**

Para determinar la concentración de ácido indolacético (AIA) se utilizó la metodología propuesta por Salkowski, modificado para raíces por Licto (2017). El reactivo de Salkowski fue preparado con 0.5M de FeCl<sub>3</sub>, 49 ml de agua y 49 ml de ácido perclórico. Se analizaron 10 radículas de los germinados de lenteja por unidad experimental en oscuridad, para evitar la degradación del AIA. Se colocaron en tubos de ensayo 80% de acetona, a -4 °C por 24 horas.

Previo a la lectura en el espectrofotómetro a 535 nM, se pesó 1 gr de raíz para macerarlas en un mortero, se filtró con papel filtro número 1 y este fue transferido a tubos de ensayo con 2.5-3 ml de reactivo Salkowski, se cubrieron con papel aluminio y fueron centrifugados a 530 RPM por cinco minutos, para su medición en cuarto oscuro.

Para calcular la cantidad de AIA en  $\mu\text{g. ml}^{-1}$  se utilizó la ecuación:

$\text{Concentración de AIA } (\mu\text{g/ml}) = \frac{Y - 0.002}{0.0009}$ , donde Y es la concentración de zinc obtenido por la absorbancia.

### **Mapeo y composición elemental**

Para el análisis del mapeo y la composición elemental semicuantitativa se utilizaron 20 semillas germinadas secas tanto del testigo como del tratamiento 4 (200  $\mu\text{M. L}^{-1}$ ) para luego separarlas en 3 partes: embrión, radícula, plúmula. Las muestras fueron pulverizadas con nitrógeno líquido en un mortero, para luego ubicarlas en un pin propio para microscopía electrónica de barrido de aluminio. En el pin se coloca dos capas de cinta de carbono doble faz para ubicar las muestras molidas previamente.

Luego las muestras fueron cubiertas con oro, para esto se utilizó un evaporizador de oro Sputter Coating Quorum Q105R por 30 segundos generando una capa de aproximadamente 20 nm. Las muestras metalizadas se llevaron al microscopio electrónico de barrido (SEM) de marca Tescan modelo Mira 3 utilizando la técnica de Espectroscopia de Energía Dispersiva de

Rayos X (EDS) usando el detector Bruker, X-Flash 6|30 con una resolución de 123 eV a Mn K $\alpha$ , (A. Debut y K. Vizuite, comunicación personal, 23 de enero de 2023) \*

\*Dr. Alexis Debut jefe y la Ing. Karla Vizuite, Mgtr. técnico de Laboratorio de Caracterización de Nanomateriales del Centro de Nanociencia y Nanotecnología de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.

### **Análisis de datos**

Para las variables agronómicas y de laboratorio los datos fueron analizados mediante estadística descriptiva (promedio y desviación estándar). Para comparar las variables entre tratamientos se realizó un análisis de la varianza (ANAVA) bajo un DCA, con el siguiente modelo matemático:

$$Y_{ij} = u + Z_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$ = Variable de respuesta

$u$ = Media general

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

$\varepsilon_{ij}$ = Error experimental

Para la comparación de medias se utilizó la prueba de Duncan al 5%. Todos los análisis se realizaron con el programa estadístico INFOSTAT

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Variables agronómicas

##### *Porcentaje de germinación*

Los tratamientos que presentaron mayor porcentaje de germinación fueron los tratamientos 4 (200  $\mu\text{M. L}^{-1}$ ) y 3 (100  $\mu\text{M. L}^{-1}$ ), ( $F_{4,15}= 35.12$ ;  $p<0.0001$ ) (Tabla 3) (Figura 3).

#### Figura 3

*Germinados de Lens culinaris a los tres días de la aplicación con 5 diferentes dosis de zinc*



*Nota.* T0: 0  $\mu\text{M. L}^{-1}$ , T1: 25  $\mu\text{M. L}^{-1}$ , T2: 50  $\mu\text{M. L}^{-1}$ , T3: 100  $\mu\text{M. L}^{-1}$  y T4: 200  $\mu\text{M. L}^{-1}$  de Zinc. Autoría propia.

##### *Longitud del germinado*

La longitud promedio de los germinados de lenteja presentaron diferencias significativas entre tratamientos ( $F_{4,195}=16.02$ ;  $p>0.0001$ ). El tratamiento de 50  $\mu\text{M. L}^{-1}$  de zinc (T2) presentó mayor longitud de germinación con una media de 6.30 cm en comparación con el testigo (Figura 4) (Tabla 3).

#### Figura 4

*Longitud de germinados de Lens culinaris tratadas con 5 diferentes dosis de zinc*



*Nota.* Fotografía tomada a los tres días de comenzado el ensayo, T0: 0  $\mu\text{M. L}^{-1}$ , T1: 25  $\mu\text{M. L}^{-1}$ , T2: 50  $\mu\text{M. L}^{-1}$ , T3: 100  $\mu\text{M. L}^{-1}$  y T4: 200  $\mu\text{M. L}^{-1}$  de Zinc. Autoría propia.

#### Tabla 3

*Promedio y error estándar del porcentaje de germinación y longitud del germinado (cm) en germinados de lenteja (Lens culinaris) tratados con 5 diferentes dosis*

Tratamiento	Germinación (%)	Longitud del germinado
T0: 0 $\mu\text{M. L}^{-1}$	25 $\pm$ 5.77 a	3,61 $\pm$ 0.14 a
T1: 25 $\mu\text{M. L}^{-1}$	42 $\pm$ 5.00 b	4.57 $\pm$ 0.15 b
T2: 50 $\mu\text{M. L}^{-1}$	45 $\pm$ 2.89 b	6.30 $\pm$ 0.24 c
T3: 100 $\mu\text{M. L}^{-1}$	50 $\pm$ 8.16 bc	4.44 $\pm$ 0.20 b
T4: 200 $\mu\text{M. L}^{-1}$	60 $\pm$ 8.16 c	4.49 $\pm$ 0.20 b

*Nota.* Medias con letras diferentes difieren significativamente ( $p>0.05$ ) con la prueba de comparación de medias de Duncan. Autoría propia.

### **Rendimiento Biológico y Materia seca**

Con respecto a la materia seca y rendimiento biológico no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ( $F_{\text{materia seca}_{4,15}}=0.12$ ,  $p_{\text{materia seca}}=0.2993$ ;  $F_{\text{rendimiento biológico}_{4,19}}=16.2$ ,  $p_{\text{rendimiento biológico}}=0.2020$ ) (Tabla 4). Sin embargo, con una dosis de  $100 \mu\text{M. L}^{-1}$  se obtuvo un promedio de 211.99% de rendimiento biológico.

**Tabla 4**

*Promedio y error estándar del rendimiento biológico y materia seca en germinados de lenteja *Lens culinaris* tratados con 5 diferentes dosis*

<b>Tratamiento</b>	<b>Rendimiento biológico (%)</b>	<b>Materia seca (g)</b>
T0: $0 \mu\text{M. L}^{-1}$	197.44 $\pm$ 6.47 ab	33,29 $\pm$ 1.53
T1: $25 \mu\text{M. L}^{-1}$	196.20 $\pm$ 8.77 ab	35.51 $\pm$ 1.07
T2: $50 \mu\text{M. L}^{-1}$	190.42 $\pm$ 7.33 a	36.61 $\pm$ 0.24
T3: $100 \mu\text{M. L}^{-1}$	211.99 $\pm$ 2.68 b	31.79 $\pm$ 19.5
T4: $200 \mu\text{M. L}^{-1}$	205.30 $\pm$ 5.22 ab	31.91 $\pm$ 11.45

*Nota.* Medias con letras diferentes difieren significativamente ( $p>0.05$ ) con la prueba de comparación de medias de Duncan. Autoría propia.

### **Contenido de ácido indol acético (AIA)**

Para el contenido de AIA se encontraron diferencias significativas ( $F_{4,15}=365.88$ ,  $p>0.0001$ ), los tratamientos T1 ( $25 \mu\text{M. L}^{-1}$ ) y T2 ( $50 \mu\text{M. L}^{-1}$ ) presentaron mayor cantidad de ácido indol acético con promedio de 431.11 y 433.89  $\mu\text{g.ml}^{-1}$  respectivamente, a diferencia de los otros tratamientos (Tabla 5).

**Tabla 5**

*Promedio y error estándar del contenido de ácido indol acético en germinados de lenteja tratados con 5 diferentes dosis*

<b>Tratamiento</b>	<b>Contenido de ácido indol acético (<math>\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}</math>)</b>
T0: 0 $\mu\text{M}\cdot\text{L}^{-1}$	389.44 $\pm$ 1.16 a
T1: 25 $\mu\text{M}\cdot\text{L}^{-1}$	431.11 $\pm$ 1.20 d
T2: 50 $\mu\text{M}\cdot\text{L}^{-1}$	433.89 $\pm$ 1.16 d
T3: 100 $\mu\text{M}\cdot\text{L}^{-1}$	399.72 $\pm$ 0.70 b
T4: 200 $\mu\text{M}\cdot\text{L}^{-1}$	421.94 $\pm$ 0.83 c

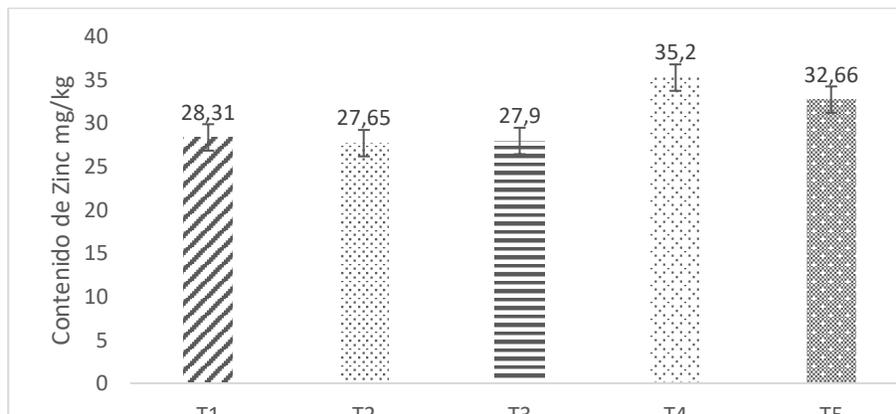
*Nota.* Medias con letras diferentes difieren significativamente ( $p>0.05$ ) con la prueba de comparación de medias de Duncan. Autoría propia.

**Contenido de zinc**

El promedio de contenido de zinc en los germinados de lenteja no presentó diferencias significativas ( $F_{4,15}=1.63$ ;  $p=0.2188$ ), sin embargo, a medida que aumenta la dosis de zinc, presenta un incremento de zinc en el germinado de lenteja (Figura 5).

**Figura 5**

*Concentración de Zinc  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  en germinados de lentejas tratados con 5 diferentes dosis de zinc*



*Nota.* Donde: T0: 0  $\mu\text{M}\cdot\text{L}^{-1}$ , T1: 25  $\mu\text{M}\cdot\text{L}^{-1}$ , T2: 50  $\mu\text{M}\cdot\text{L}^{-1}$ , T3: 100  $\mu\text{M}\cdot\text{L}^{-1}$  y T4: 200  $\mu\text{M}\cdot\text{L}^{-1}$  de Zinc. Autoría propia.

### **Contenido de ácido fítico**

Con respecto a los datos obtenidos en el contenido de ácido fítico se encontraron diferencias significativas ( $F_{4,15}=21.31$ ;  $p=0.0001$ ), el testigo presenta valores más altos de ácido 112.49 mg.kg<sup>-1</sup> mientras que el tratamiento 2 (50 µM. L<sup>-1</sup>) presenta los valores más bajos de ácido fítico 31.15 mg.kg<sup>-1</sup> (Tabla 6).

**Tabla 6**

*Promedio y error estándar del contenido de ácido fítico (mg/kg) en germinados de lenteja tratados con diferentes dosis de zinc.*

<b>Tratamiento</b>	<b>Contenido de Ácido Fítico (mg.kg<sup>-1</sup>)</b>
T0: 0 µM. L <sup>-1</sup>	112.49 ±9.53 c
T1: 25 µM. L <sup>-1</sup>	69.23 ±7.48 b
T2: 50 µM. L <sup>-1</sup>	31.15 ±3.46 a
T3: 100 µM. L <sup>-1</sup>	60.57 ±5.91 b
T4: 200 µM. L <sup>-1</sup>	48.46 ±4.89 ab

*Nota.* Medias con letras diferentes difieren significativamente ( $p>0.05$ ) con la prueba de comparación de medias de Duncan. Autoría propia.

### **Biodisponibilidad de zinc**

Con los resultados obtenidos mediante la relación molar, ácido fítico: zinc (AF:Zn), se pudo relacionar su biodisponibilidad (Tabla 2). Encontrando diferencias significativas en la relación molar AF:Zn ( $F_{4,15}=12.51$ ;  $p=0.0001$ ) entre las dosis de zinc. El testigo tuvo mayor relación molar que los demás tratamientos (Tabla 7) (Figura 6).

**Tabla 7**

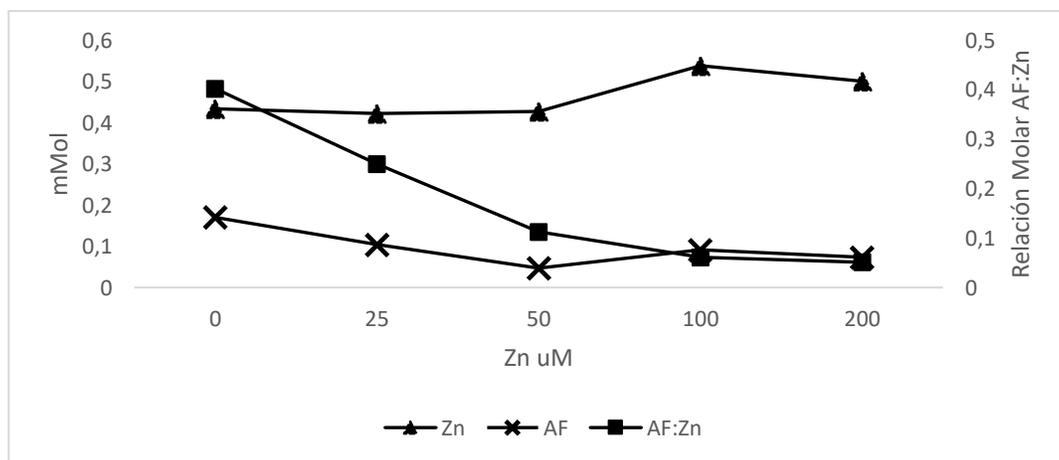
*Promedio y error estándar de la relación mMolar de ácido fólico y zinc en germinados de lenteja tratados con 5 diferentes dosis de zinc*

Tratamiento	Contenido de zinc(mg.kg <sup>-1</sup> )	Relación molar AF:Zn
T0: 0 μM. L <sup>-1</sup>	28.31 ±1.79	0.402 ±0.049 c
T1: 25 μM. L <sup>-1</sup>	27.65 ±1.02	0.250 ±0.031 b
T2: 50 μM. L <sup>-1</sup>	27.9 ±3.26	0.113 ±0.013 a
T3: 100 μM. L <sup>-1</sup>	35.20 ±4.06	0.061 ±0.031 ab
T4: 200 μM. L <sup>-1</sup>	32.66 ±2.06	0.051 ±0.026 ab

*Nota.* Medias con letras diferentes difieren significativamente ( $p>0.05$ ) con la prueba de comparación de medias de Duncan. Autoría propia.

**Figura 6**

*Relación molar de Ácido fólico: Zinc en germinados de lenteja tratados con cinco diferentes dosis de zinc*



*Nota.* Relación de la cantidad de zinc (mg.kg<sup>-1</sup>), ácido fólico y relación molar AF:Zn.

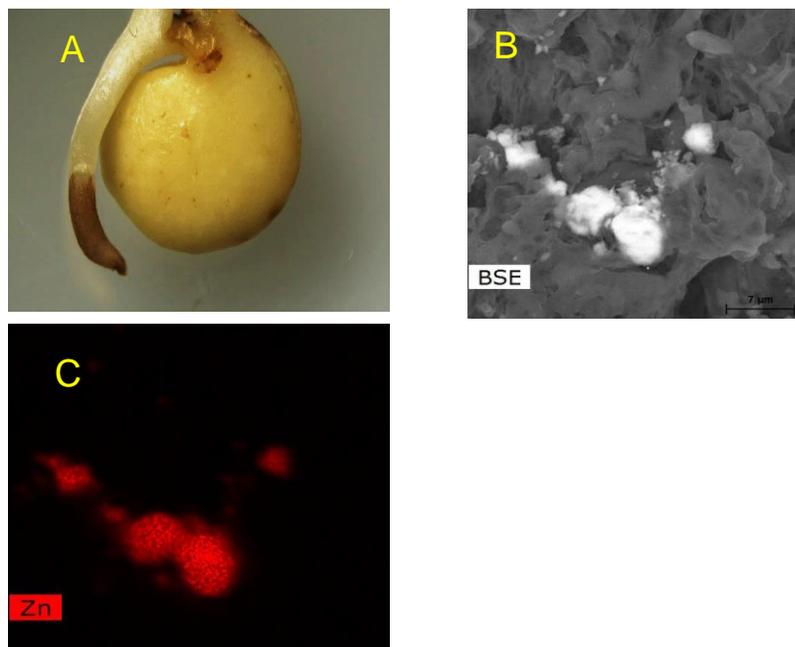
Autoría propia.

### ***Mapeo y composición elemental***

Para el mapeo de la composición elemental mediante el microscopio electrónico de barrido, y para una mejor visualización de la muestra, se analizaron plúmula, cotiledón y radícula por separado, diferenciando la caracterización del mapeo del zinc entre el testigo y la dosis de  $200 \mu\text{M} \cdot \text{L}^{-1}$  (T4). Cuando se encuentra zinc en la muestra, la ubicación del elemento se focaliza en un solo lugar (Figura 7C), al contrario del testigo que produce blancos en el rastreo (Figura 9C). Al realizar el análisis EDS de mapeo, en radícula pulverizada, la dosis  $200 \mu\text{M} \cdot \text{L}^{-1}$  (T4) tuvo una concentración aproximada de 2.43%, a diferencia del testigo con 0% (Figura 8).

### **Figura 7**

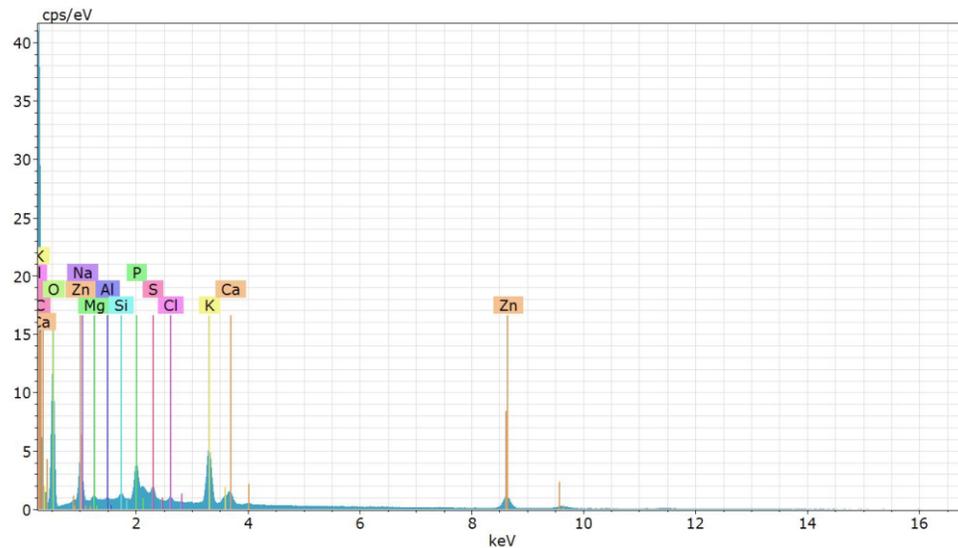
*Mapeo elemental de radícula pulverizada en muestras de germinados de lenteja tratados con  $200 \mu\text{M} \cdot \text{L}^{-1}$*



*Nota.* En la figura 8A se muestra parte de la radícula del germinado de semilla con dosis de  $200 \mu\text{M} \cdot \text{L}^{-1}$ , en la figura 8B es una muestra por el mapeo cualitativo simple con énfasis en Zinc y la figura 8C es la coloración del mapeo de zinc.

### Figura 8

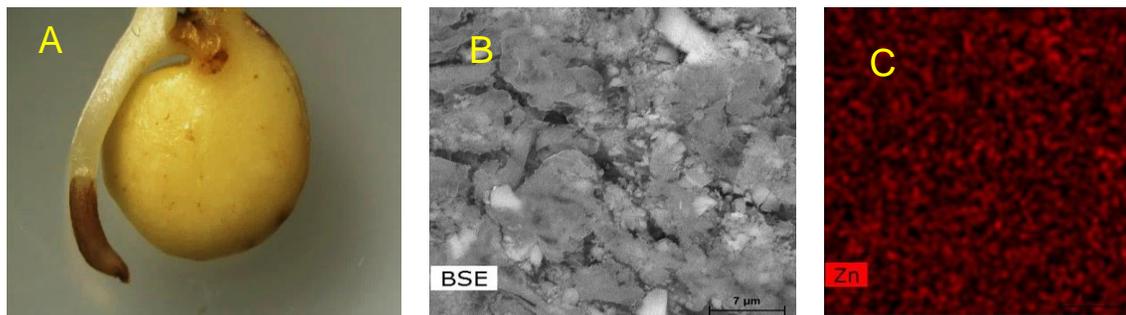
*Espectroscopia de energía dispersa de Rayos X (EDS) en radícula pulverizada de germinados de zinc tratados con 200  $\mu\text{M} \cdot \text{L}^{-1}$*



*Nota.* Los picos evidencian presencia de zinc en la muestra

### Figura 9

*Mapeo elemental de radícula pulverizada en muestras de germinados de lenteja tratados con 0  $\mu\text{M} \cdot \text{L}^{-1}$*

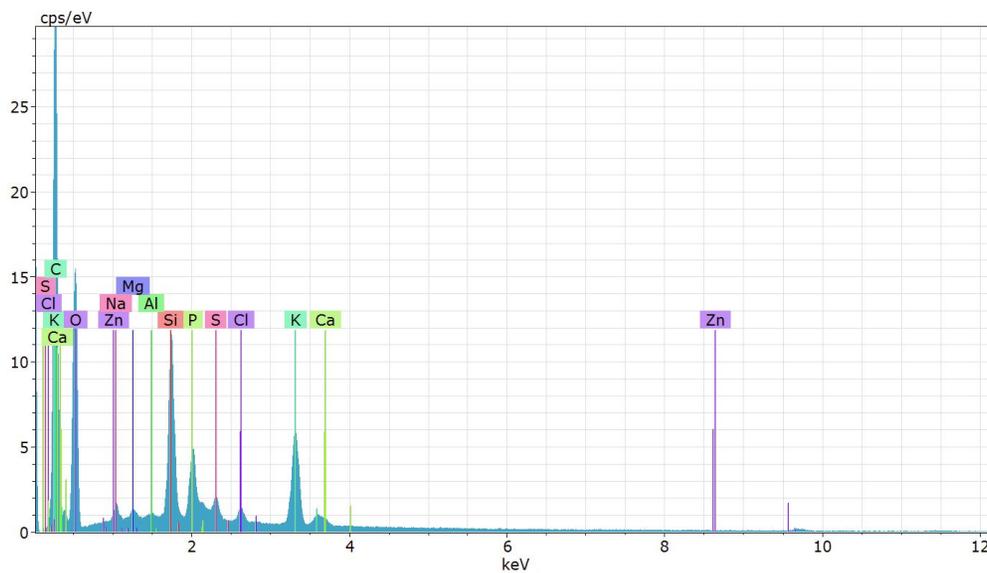


*Nota.* En la figura 9A se muestra parte de la radícula del germinado de semilla con dosis de 0  $\mu\text{M} \cdot \text{L}^{-1}$ , en la figura 9B es una muestra por el mapeo cualitativo simple con énfasis en Zinc y la figura 9C es la coloración del mapeo de zinc.

Al realizar el análisis EDS de mapeo, se pudo evidenciar que en la radícula pulverizada del tratamiento testigo no se encontró zinc, por lo que se producen blancos en la lectura de la muestra (Figura 9C).

### Figura 10

*Espectroscopia de energía dispersa de Raxos X (EDS) en radícula pulverizada de germinados de zinc tratados con 0  $\mu\text{M}$ .  $\text{L}^{-1}$*



*Nota.* Al no presentar zinc en la muestra, no hay registros de picos en el EDS

## Discusión

La dosis de zinc de germinados de lenteja fortificados, incrementó el porcentaje de germinación y la longitud de germinado a diferencia de las semillas que solo fueron tratadas con agua (T0). Las dosis de 100  $\mu\text{M. L}^{-1}$  y de 200  $\mu\text{M. L}^{-1}$  presentaron mejores porcentajes de germinación y en la longitud de germinado la dosis fue de 50  $\mu\text{M. L}^{-1}$  tuvo los mejores valores a diferencia del testigo. En el caso de germinados de soja tratados con sulfato de zinc con dosis de 0 a 100  $\text{mg. L}^{-1}$ , Zou *et al.* (2014) observaron una mejoría en la germinación y longitud de los germinados tratados con alguna dosis de zinc. Al contrario de las semillas de arroz integral fortificadas, que con el uso de sulfato de zinc en soluciones de hasta 150  $\text{mg. L}^{-1}$ , Wei *et al.* (2012) no observaron ningún efecto sobre la germinación de la semilla.

Con respecto a la materia seca y rendimiento biológico no se encontraron diferencias significativas entre las dosis suministradas, con respecto a la materia seca, hubo una disminución en los germinados pero el rendimiento biológico aumentó. La dosis de 50  $\mu\text{M. L}^{-1}$  tuvo 36.61 g de materia seca con 190.42% de rendimiento biológico, siendo la dosis con promedio más alto en las dos variables; teniendo en cuenta que el peso de 200 semillas secas de lenteja era de 43.2g. Zou *et al.* (2014), comprobaron que en germinados de soja con dosis de 0 a 100  $\text{mg. L}^{-1}$  aumentó el rendimiento biológico, pero presentaron una ligera disminución en el peso seco de los germinados. En el estudio Hanif *et al.* (2017) utilizaron dosis bajas de zinc (0.2 -0.009  $\text{mg. L}^{-1}$ ) similares al presente estudio, pero en albahaca dulce obteniendo diferencias en la altura de planta y el rendimiento biológico con respecto al control (0  $\text{mg. L}^{-1}$ ). Said-Ahl & Omer (2009) sugieren que una aplicación combinada de Zn 400 ppm y Fe 200 ppm en cilantro, registran aumento de la altura de la planta como del rendimiento.

Bernal & Espinosa (2003) afirma que, la aplicación de zinc en la planta aumenta el contenido de Ácido Indol acético (AIA) en la planta; este compuesto aumenta el crecimiento de la planta y su elongación, también interviene en la síntesis de auxinas y de triptófano. Al aplicar

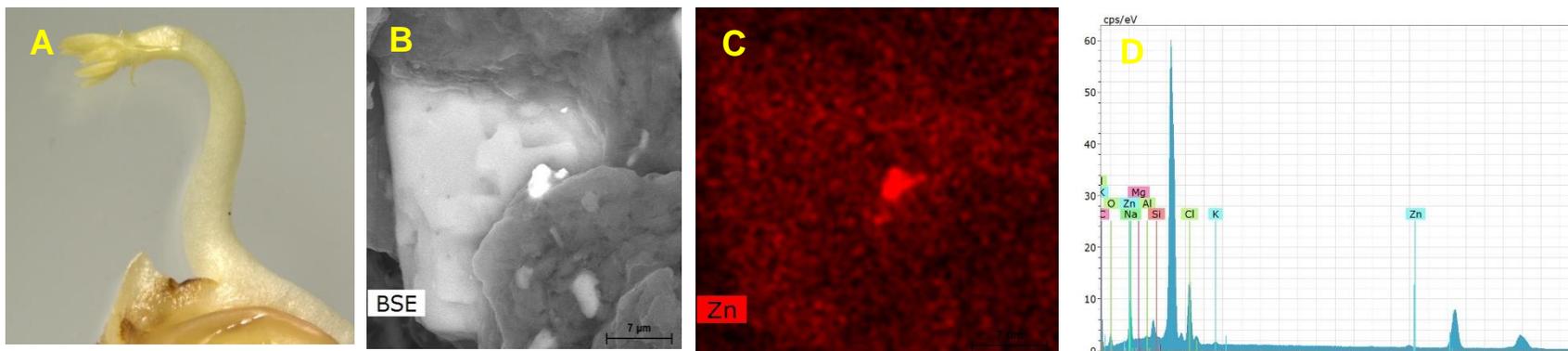
200  $\mu\text{M}$ .  $\text{L}^{-1}$  se obtiene una concentración promedio de 421.94  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  de AIA que al contrastar con el testigo tratado con agua, la concentración promedio es de 389.44  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ; dichos resultados se pueden comprobar con la técnica de mapeo elemental y EDS, donde localizó la mayor concentración de zinc en las muestras de raíz pulverizada (Figura 7 a,b,c y Figura 9 a,b,c).

En los germinados de lenteja fortificados con las diferentes dosis de zinc en estudio, no mostraron diferencias significativas con respecto al contenido de zinc. Pero la cantidad de ácido fítico y zinc con la dosis de 50  $\mu\text{M}$ .  $\text{L}^{-1}$  tuvo un promedio de 27.9  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  Zn y 31.15  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  de ácido fítico, estimando una biodisponibilidad de zinc mayor al 50% (Tabla2) (Figura 6). La relación molar promedio reportado por Wei *et al.* (2012) en semillas de arroz tratadas con zinc reportaron una relación molar alta en semillas sin germinar, con una cantidad de zinc biodisponible del 27%, en semillas expuestas a 100  $\text{mg}$ .  $\text{L}^{-1}$  de zinc la relación se redujo considerablemente a casi el 75%, deduciendo que al aumentar el zinc con la técnica de la fortificación la relación molar AF:Zn baja y hay un aumento de la biodisponibilidad.

Con respecto a los datos de requerimientos de la ingesta recomendada de zinc García Casal *et al.* (2013) publicaron valores sugeridos de zinc para: 2-3  $\text{mg}$ .  $\text{día}^{-1}$  < 1 año, 3-5  $\text{mg}$ .  $\text{día}^{-1}$  niños hasta los 10 años, 8-11  $\text{mg}$ .  $\text{día}^{-1}$  adolescentes y hombres, 8-9  $\text{mg}$ .  $\text{día}^{-1}$  adolescentes y mujeres, 12  $\text{mg}$ .  $\text{día}^{-1}$  para embarazadas y 13  $\text{mg}$ .  $\text{día}^{-1}$  durante la lactancia, en cuanto a los datos obtenidos en el ensayo con 50  $\mu\text{M}$ .  $\text{L}^{-1}$  de zinc, por cada 100g de materia de germinados de lenteja fortificada en promedio hay 2.79  $\text{mg}$  de zinc, cubriendo los requerimientos de los niños menores de un año y hasta los 10 años.

## Figura 11

Mapeo elemental de la plúmula pulverizadas en muestras de germinados de lenteja tratados con  $200 \mu\text{M. L}^{-1}$  y Espectroscopia de energía dispersa de Rayos X (EDS)

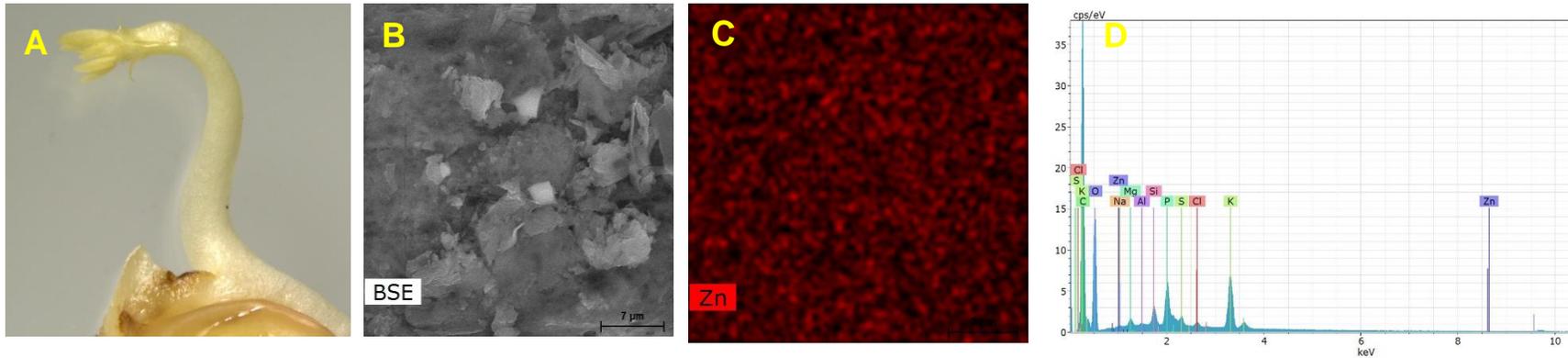


Nota. En la figura 11A se muestra parte de la plúmula del germinado de semilla con dosis de  $200 \mu\text{M. L}^{-1}$ , en la figura 11B es una muestra del mapeo cualitativo simple con énfasis en Zinc, la figura 11C es la coloración del mapeo de zinc y en la figura 11D Espectroscopia de energía dispersa de Rayos X (EDS) que no presenta picos de zinc por la baja concentración contenida en la muestra.

Las plúmulas pulverizadas presentaron bajos niveles de zinc por lo que la tinción (Figura 11C) presentó blacos en la imagen, por lo cual no hay picos en el zinc arrojados en el EDS (Figura 11D).

## Figura 12

Mapeo elemental de la plúmula pulverizada en muestras de germinados de lenteja tratados con  $0 \mu\text{M. L}^{-1}$  y Espectroscopia de energía dispersa de Rayos X (EDS)

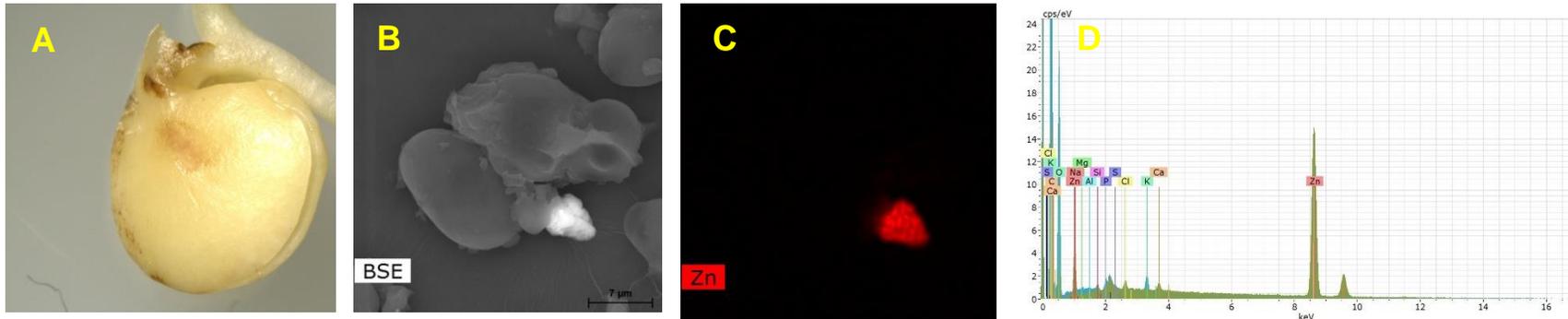


Nota. En la figura 12A se muestra parte de la plúmula del germinado de semilla con dosis de  $0 \mu\text{M. L}^{-1}$ , en la figura 12B es una muestra del mapeo cualitativo simple con énfasis en Zinc, la figura 12C es la coloración del mapeo de zinc y en la figura 12D Espectroscopia de energía dispersa de Rayos X (EDS)

Con respecto a las plumulas pulverizadas del testigo, no se encontró zinc en la muestra, arrojando blancos (Figura 12C) y sin registro de picos en zinc (Figura 12D)

### Figura 13

Mapeo elemental del cotiledón pulverizado en muestras de germinados de lenteja tratados con  $200 \mu\text{M} \cdot \text{L}^{-1}$  y Espectroscopia de energía dispersa de Rayos X (EDS)

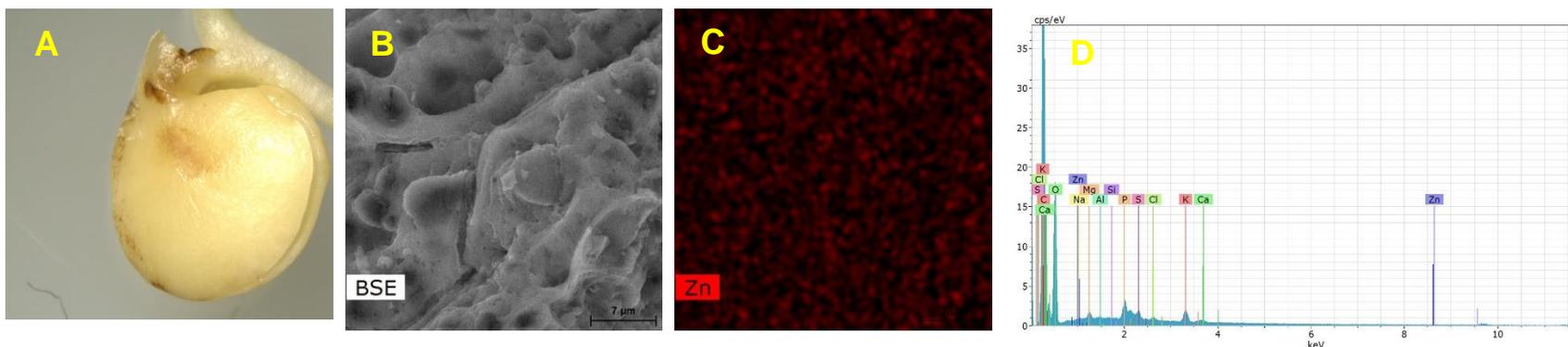


Nota. En la figura 13A se muestra parte del cotiledon del germinado de semilla con dosis de  $200 \mu\text{M} \cdot \text{L}^{-1}$ , en la figura 13B es una muestra del mapeo cualitativo simple con énfasis en Zinc, la figura 13C es la coloración del mapeo de zinc y en la figura 13D Espectroscopia de energía dispersa de Rayos X (EDS)

En el cotiledón pulverizado con dosis de  $200 \mu\text{M} \cdot \text{L}^{-1}$  se encontro una pequeña cantidad de zinc (Figura 13C), pero no es válida por los picos arrojados en el EDS, ya que hay superposición de picos (Figura 13D).

## Figura 14

Mapeo elemental del cotiledón pulverizadas en muestras de germinados de lenteja tratados con  $0 \mu\text{M. L}^{-1}$  y Espectroscopia de energía dispersa de Rayos X (EDS)



Nota. En la figura 14A se muestra parte del cotiledon del germinado de semilla con dosis de  $0 \mu\text{M. L}^{-1}$ , en la figura 14B es una muestra del mapeo cualitativo simple con énfasis en Zinc, la figura 14C es la coloración del mapeo de zinc y en la figura 14D Espectroscopia de energía dispersa de Rayos X (EDS)

La concentración de zinc en los cotiledones pulverizados con  $0 \mu\text{M. L}^{-1}$  no fue posible realizar su lectura por la baja cantidad de concentración, por lo que hay blancos en la imagen (Figura 14C) y no hay picos existentes (Figura 14D).

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### Conclusiones

- La biofortificación de zinc con una dosis de  $50 \mu\text{M} \cdot \text{L}^{-1}$  (T3) en germinados de lenteja, presentó los mejores resultados en la evaluación de los parámetros productivos de rendimiento biológico y materia seca (190.42%; 36.61g), frente a los demás tratamientos.
- Las dosis aplicadas de zinc, no presentan diferencias significativas con respecto a los parámetros fisiológicos de porcentaje de germinación, longitud del germinado y contenido de zinc. Con la dosis de  $50 \mu\text{M} \cdot \text{L}^{-1}$  (T3) se obtuvo la mayor biodisponibilidad de zinc (0.061) y menor cantidad de ácido fítico ( $60.57 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ).
- La dosis de  $50 \mu\text{M} \cdot \text{L}^{-1}$  (T3) de zinc en germinados de lenteja, fue la más adecuada para lograr las mayores concentraciones de zinc en la radícula del germinado.

#### Recomendaciones

- Para mejorar la biodisponibilidad de zinc se recomienda el uso de  $50 \mu\text{M} \cdot \text{L}^{-1}$  de zinc en la fortificación de germinados de lenteja.
- Para tener un detalle del movimiento y localización de zinc en el germinado es importante usar la técnica de análisis de mapeo y composición elemental semicuantitativa, mediante el microscopio de barrido y EDS (Energía dispersiva de Rayos X).
- Se recomienda usar germinados de lenteja fortificados con  $50 \mu\text{M} \cdot \text{L}^{-1}$  de zinc con en niños menores de un año hasta los 10.
- Con la finalidad de mejorar la biodisponibilidad de zinc e incrementar la calidad nutricional, se recomienda biofortificar con zinc cereales con mayor contenido de ácido fítico.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abad Arce, M. E. (2021). *“Aislamiento e identificación de bacterias endófitas productoras de ácido indolacético a partir de plantas de lenteja de agua del género Spirodela”* [ Tesis de Pregrado, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE] Sangolquí, Ecuador.  
<http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/23781>
- Abulude, F. (2005). Effect Of Processing On Nutritional Composition, Phytate And Functional Properties Of Rice (&i&gt;Oryza sativa&lt;/i&gt; L) Flour. *Nigerian Food Journal*, 22(1), 28–38. <https://doi.org/10.4314/nifoj.v22i1.33573>
- Adenekan, M. K., Odunmbaku, L. A., & Nupo, S. S. (2014). Effect of sprouted pigeon pea (cajanus cajan) on proximate composition and sensory value of tuwo. *Journal of Sciences and Multidisciplinary Research*, 6, 17–20.  
[https://www.researchgate.net/publication/282085903\\_EFFECT\\_OF\\_SPROUTED\\_PIGEON\\_PEA\\_CAJANUS\\_CAJAN\\_ON\\_PROXIMATE\\_COMPOSITION\\_AND\\_SENSORY\\_VALUE\\_OF\\_TUWO](https://www.researchgate.net/publication/282085903_EFFECT_OF_SPROUTED_PIGEON_PEA_CAJANUS_CAJAN_ON_PROXIMATE_COMPOSITION_AND_SENSORY_VALUE_OF_TUWO)
- Allen, L., de Benoist, B., Dary, O., & Hurrell, R. (2017). *Guías para la fortificación de alimentos con micronutrientes* (FAO; OMS). <https://apps.who.int/iris/handle/10665/255541>
- Álvarez de la Torre, D. M. (2016). *Determinación de sodio, potasio, hierro, calcio y zinc en arveja, lenteja y harina de haba, por espectrofotometría de absorción atómica de llama* [Tesis de Pregrado, Pontificia Universidad Católica del Ecuador] Quito, Ecuador.  
<http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/11454>
- Álvarez Restrepo, C. (2014). *Formulación de una materia prima con competencia tecnológica para ser aplicada en el diseño de alimentos libres de gluten mejorados nutricionalmente* [Tesis de Posgrado, Universidad de Antioquia] Medellín, Colombia.  
<https://hdl.handle.net/10495/2772>

- Andrade Lee, X. (2010). *Método para la obtención de germinados de haba y lenteja (Vicia faba L y Lens esculenta)* [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional de Colombia] Bogotá, Colombia. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/70513>
- Araújo, M. (2018). *Espectrofotometría de Absorción Atómica - Knoow*.  
<https://knoow.net/es/ciencias-tierra-vida/biologia-es/espectrofotometria-absorcion-atmica/>
- Arrieta Miranda, A. (2021). *Importancia de los Germinados Para el Consumo Humano* [Tesis de Pregrado, Universidad de Santander] Bucaramanga, Colombia.  
<https://repositorio.udes.edu.co/server/api/core/bitstreams/360e06e6-ea5b-4857-acf2-efbfe71698b6/content>
- Ayala Lindao, A., & Siche Mora, M. A. (2014). *Las propiedades nutricionales de la lenteja y su influencia en la alimentación escolar de los estudiantes de décimo año de educación general básica del colegio aurora estrada de ramirez. Propuesta: elaboración y guía de preparación para el consumo de la mermelada de lenteja indispensable en el desarrollo físico intelectual de los adolescentes*. [Tesis de Pregrado, Universidad de Guayaquil] Guayaquil, Ecuador. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/12565>
- Baczek-Kwinta, R., Baran, A., Simlat, M., Lang, J., Bieniek, M., & Florek, B. (2020). Enrichment of different plant seeds with zinc and assessment of health risk of Zn-fortified sprouts consumption. *Agronomy*, 10(7). <https://doi.org/10.3390/agronomy10070937>
- Bernal, J., & Espinosa, J. (2003). *Manual De Nutrición Y Fertilización De Pastos - Alternativa Para el Trópico*. <https://infopastosyforrajes.com/libros-y-manuales-pdf/manual-de-nutricion-y-fertilizacion-de-pastos/>
- Berné Peña, Y., Papale, J. F., Torres, M., Mendoza, N., Dellan Rodríguez, G., Rodríguez, D., Briceño, Z., & Moreno, J. M. (2008). Zinc sérico en menores de 15 años de una comunidad rural del estado Lara. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 21(2), 77–84.

[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-07522008000200004&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-07522008000200004&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

Boccio, J., & Monteiro, J. B. (2004a). Food fortification with iron and zinc: pros and cons from a dietary and nutritional viewpoint. En *Rev. Nutr* (Vol. 17, Issue 1).

Boccio, J., & Monteiro, J. B. (2004b). Fortificación de alimentos con hierro y zinc: pros y contras desde un punto de vista alimenticio y nutricional. *Revista de Nutrição*, 17(1), 71–78.

<https://doi.org/10.1590/S1415-52732004000100008>

Cárdenas Travieso, R. M., Ortiz Pérez, R. H., Miranda Rodríguez, O., de la Fé Montenegro, C. F., & Lamz Piedra, A. (2014). Comportamiento agronómico de la lenteja (*lens culinaris medik.*) en la localidad de tapaste, cuba. *Ministerio de Educación Superior. Cuba Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas*, 35, 92–99.

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362014000400012](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362014000400012)

Clavijo, J. (2013). *Caracterización de materiales a través de medidas de microscopía electrónica de barrido (SEM)*.

FAO. (2001). *Perfiles Nutricionales por Países-ECUADOR Junio 2001, FAO Roma FAO-PERFILES NUTRICIONALES POR PAISES ECUADOR ECUADOR*.

Fennema, O., Parkin, K., & Domodaran, S. (2010). *Química de los Alimentos* (ARIBIA S.A., Ed.; Tercera).

Florencia Del Carmen Borelli, M., Ramón, A. N., & de La Vega, S. M. (2007). Interacción calcio-folato-cinc en yogures con cereales. En *Rev Esp Nutr Comunitaria* (Vol. 13, Issue 1).

García Casal, M. N., Landaeta, M., Adrianza de Baptista, G., Murillo, C., Rincón, M., Bou, L., Bilbao, A., Anderson, H., Garcia, D., & Franquiz, J. (2013). Valores de referencia de hierro, yodo, zinc, selenio, cobre, molibdeno, vitamina C, vitamina E, vitamina K, carotenoides y

polifenoles para la población venezolana. En *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* (ALAN, Vol. 63, pp. 338–356).

[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222013000400010](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222013000400010)

González Calvo, G., & García López, D. (2011). EJERCICIO FÍSICO Y RADICALES LIBRES, ¿ES NECESARIA UNA SUPLEMENTACIÓN CON ANTIOXIDANTES? *Revista Internacional de Medicina y Ciencias de La Actividad Física*, 12, 369–373.

<https://www.redalyc.org/pdf/542/54224389012.pdf>

Hanif, M. A., Nawaz, H., Ayub, M. A., Tabassum, N., Kanwal, N., Rashid, N., Saleem, M., & Ahmad, M. (2017). Evaluation of the effects of Zinc on the chemical composition and biological activity of basil essential oil by using Raman spectroscopy. *Industrial Crops and Products*, 96, 91–101. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2016.10.058>

Hernández F, Tesán, F., Weill R, Mj, S., & Boccio, J. 1. (2010). Estrategias para la fortificación de alimentos con zinc. *Revista Chilena de Nutrición*, 11, 178–185.

<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182010000200014>

Jensen Bernard. (2010). *Semillas y Germinados*. <https://doi.org/631.521.J4Y>

Lara Bone, J. M. (2013). *Obtención de hojuelas a partir de la lenteja* [Tesis de pregrado, Universidad de Guayaquil] Guayaquil, Ecuador.

<http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/3646>

Licto Guano, S. E. (2017). *“Estudio de la fortificación foliar con diferentes concentraciones de zinc en Rye grass perenne (Lolium perenne) variedad amazon”* [Tesis de Pregrado, Universidad de las Fuerzas Armadas] Sangolquí, Ecuador.

<http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/14410>

- Lin, C.-C., Huang, J.-F., Tsai, L.-Y., & Huang, Y.-L. (2006). Selenium, iron, copper, and zinc levels and copper-to-zinc ratios in serum of patients at different stages of viral hepatic diseases. *Biological Trace Element Research*, 109(1), 015–024.  
<https://doi.org/10.1385/BTER:109:1:015>
- López de Romaña, D., Castillo, C., & Diazgranados, D. (2010). El Zinc en la salud Humana - II. *Revisión Chilena Nutricional*, 37, 240–245. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182010000200013>
- Martinez, M. E. (2019). “Contenido de hierro, calcio y magnesio durante el proceso de producción de germinados de lentejas (*Lens culinaris*) bajo cultivo aeropónico” [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional de Cuyo] Mendoza, Argentina.  
<http://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/3101103>
- Martínez Magaña, N. D., Wrobel, K., Wrobel, K., Corrales Escobosa, A. R., & Yañez Barrientos Eunice. (2018). Evaluación de la aplicación de Se(iv) en procesos de bifortificación de germinados. *Revista de Divulgación Científica*, 4, 1170–1174.  
<http://repositorio.ugto.mx/handle/20.500.12059/5199>
- Mekky, M. A., Hasanain, A. F., Abdel-Naiem, M., Orabi, H. H., & Osman, A. M. (2018). Trace Elements Status among Patients with Hepatocellular Carcinoma: A Case-Control Study. *Annals of Digestive and Liver Disease*, 1(1).
- Morales Morales, A. E., Márquez Quiroz, C., de la Cruz Lázaro, E., & Sánchez Chávez, E. (2016). Calidad nutrimental de germinados de *Vigna unguiculata* L (Walp.) biofortificados con Zinc y Hierro (NUVE, Vol. 6). <https://www.researchgate.net/publication/320024593>
- Odalís de la Guardia Peña, D., Ustáriz García, C., María de los Ángeles García García, D., & Luz Morera Barrios, L. (2011). Algunas aplicaciones clínicas del zinc y su acción sobre el sistema inmune. En *Inmunología y Hemoterapia* (Vol. 27, Issue 3). <http://scielo.sld.cu>

- Pachón, H., & Agrosalud, P. (2008, julio). Biofortificación de Cultivos: Una Estrategia para Abordar la Deficiencia de Micronutrientes. *Seminario de Actualización de Micronutrientes*. <https://vdocuments.pub/biofortificacion-de-cultivos-una-estrategia-para-lac-marco-conceptual-cultivos.html?page=21>
- Rodríguez, I., Adam, G., & Durán, J. M. (2018). Ensayos de germinación y análisis de viabilidad y vigor en semillas. *Nueva Agricultura*, 2, 836–840.
- Rodríguez-Blanco, L., Lucas-Florentino, B., Miranda-Cruz, E., & Guerrero-Olazarán, M. (2018). Content of phytic acid and inorganic phosphorus in vigna unguiculata and phaseolus vulgaris germinated at different temperatures. *Informacion Tecnologica*, 29(3), 39–46. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642018000300039>
- Rosabal Ayan, L., Martínez González, L., Reyes Guerrero, Y., Dell'Amico Rodríguez, J., & Núñez Vázquez, M. (2014). Aspectos fisiológicos, bioquímicos y expresión de genes en condiciones de déficit hídrico. Influencia en el proceso de germinación. *Cultivos Tropicales*, 35(3), 24–35. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362014000300003&lng=es&nrm=iso&tlng=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362014000300003&lng=es&nrm=iso&tlng=pt)
- Rosas Romero, R., & Covarrubias Gómez, A. (2020). El papel del zinc en la salud humana. *Revista Médica Del Instituto Mexicano Del Seguro Social*, 58, 477–485. <https://www.redalyc.org/journal/4577/457768632015/html/>
- Rubio, C., González, D., Martín-Izquierdo, R. E., Revert, C., Rodríguez, I., & Hardisson, A. (2007). Alimentos funcionales El zinc: oligoelemento esencial. *Nutr Hosp*, 22, 101–107.
- Said-Ahl, A., & Omer, E. A. (2009). Effect of spraying with zinc and / or iron on growth and chemical composition of coriander (*Coriandrum sativum* L.) harvested at three stages of development. *Journal of Medicinal Food Plants*, 1(2), 30–46. [www.jmedfoodplants.com](http://www.jmedfoodplants.com)

- Salas-Pérez, L., Monserrat, J., Delgado, G., Preciado-Rangel, P., Antonio, J., Fuentes, G., Velia, A., Garay, A., Ángel, M., & Castruita, S. (2018). La aplicación de ácido cítrico incrementa la calidad y capacidad antioxidante de germinados de lenteja. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 20, 4301–4306.  
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.29312/remexca.v0i20.999>
- Salvatierra Valdez, X. E. (2022). *Efecto de diferentes concentraciones de zinc sobre parámetros de crecimiento en germinados de alfalfa (Medicago sativa) y su potencial fortificación para consumo humano*. [Tesis de Pregrado, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE] Sangolquí, Ecuador.
- Santos Chavarría, W. G. (2017). *"Elaboración de queso fresco fortificado con germinados de sésamo (Sesamun indicum), y lenteja (Lens culinaris), su análisis sensorial y bromatológico"*. [Tesis de Pregrado, Universidad Dr. José Matías Delgado] La libertad, El Salvador.
- Sida, JP., Sánchez, E., García, M., Ojeda, D., Soto, J., Muñoz, E., & Guevara, A. (2012). *Biofortificación de hierro y Zinc en frejol, como sulfatos y quelatos* (Universidad Autónoma, pp. 86–90).
- Skoog Douglas A, Holler F. James, & Crouch Stanley R. (2007). Principios de análisis instrumental. En *Principios de análisis instrumental* (Vol. 6, pp. 15–18).  
[https://www.academia.edu/43268766/Principios\\_de\\_an%C3%A1lisis\\_instrumental\\_Skoog\\_Douglas\\_A\\_Holler\\_F\\_James\\_Crouch\\_Stanley\\_R\\_Sexta\\_Edici%C3%B3n\\_Cengage\\_Learning\\_Editores\\_2008\\_M%C3%A9xico](https://www.academia.edu/43268766/Principios_de_an%C3%A1lisis_instrumental_Skoog_Douglas_A_Holler_F_James_Crouch_Stanley_R_Sexta_Edici%C3%B3n_Cengage_Learning_Editores_2008_M%C3%A9xico)
- Solorzano Sánchez, A. J., Ruiz Nieto, J. E., Sansón Gómez, D., Hernández Ruiz, J., Javier Ulises, S. G., & Mireles Arriga, A. I. (2018). Evaluación de actividad antioxidante de germinados de lenteja (*Lens culianris*) producidos bajo luz artificial en distintos rangos

nanométricos. En *Revista de Divulgación Científica* (Vol. 4, pp. 12–16). Verano de la investigación científica.

<http://www.repositorio.ugto.mx/bitstream/20.500.12059/3873/1/Evaluaci%C3%B3n%20de%20Actividad%20Antioxidante%20en%20Germinados%20de%20Lenteja%20%28Lens%20Culinaris%29%20Producidos%20Bajo%20Luz%20Artificial%20en%20Distintos%20Rangos%20Nanometricos.pdf>

Świeca, M., & Baraniak, B. (2014). Nutritional and Antioxidant Potential of Lentil Sprouts Affected by Elicitation with Temperature Stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(14), 3306–3313. <https://doi.org/10.1021/jf403923x>

Tisalema Yumbopatin, A. E. (2017). “Efecto de soluciones nutritivas a base de semillas germinadas de maíz (*Zea mays*) y lenteja (*Lens culinaris*) en el cultivo de fresa (*Fragaria annanasa*.)” [Tesis de Pregrado, Universidad Técnica de Ambato] Ambato, Ecuador. <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/26380>

Torres, A., Cova, A., Valera, D., Simón, U., Venezuela, B., & Dirigir Correspondencia, T. A. (2018). Efecto del proceso de germinación de granos de Cajanuscajan en la composición nutricional, ácidos grasos, antioxidantes y bioaccesibilidad mineral. *Revista Chilena de Nutrición*, 45(4), 323–330. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182018000500323>

Torres Acosta, R., Félix, L., Calvo, M., & li, A. (2011). Enfermedad hipertensiva del embarazo y el calcio Pregnancy hypertensive disease related to calcium. En *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología* (Vol. 37, Issue 4). <http://scielo.sld.cu551>

Uchegbu, N. N., & Ishiwu, C. N. (2016). Germinated Pigeon Pea (*Cajanus cajan*): a novel diet for lowering oxidative stress and hyperglycemia. *Food Science & Nutrition*, 4(5), 772–777. <https://doi.org/10.1002/FSN3.343>

Wei, Y., Shohag, M. J. I., Wang, Y., Lu, L., Wu, C., & Yang, X. (2012). Effect of Zinc Sulfate Fortification in Germinated Brown Rice on Seed Zinc Concentration, Bioavailability, and Seed Germination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(7), 1871–1879.

<https://doi.org/10.1021/jf205025b>

Zou, T., Xu, N., Hu, G., Pang, J., & Xu, H. (2014). Biofortification of soybean sprouts with zinc and bioaccessibility of zinc in the sprouts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *94*(14), 3053–3060. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6658>