



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS, FUNCIONALES Y DE LAS INTERACCIONES CON DIFERENTES TIPOS DE ALMIDÓN DE UN POLVO OBTENIDO A PARTIR DE CARDO

TRABAJO FIN DE MÁSTER UNIVERSITARIO EN CIENCIA E
INGENIERÍA DE LOS ALIMENTOS

ALUMNO/A: Miguel Mirambell Sabater

TUTORA ACADEMICA: Noelia Betoret Valls
COTUTORAS: Ester Betoret Valls
Cristina Molina Rosell

VALENCIA, 25 DE NOVIEMBRE DE 2020

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue la determinación, tanto de las propiedades tecnológicas y funcionales de la planta *Cynara cardunculus* (cardo común), como de sus interacciones con el agua y el almidón para su utilización como ingrediente en productos derivados de cereales. Para ello, se escogieron muestras de *Cynara cardunculus* verde y blanco, y se estudiaron sus propiedades fisicoquímicas y funcionales, así como las interacciones que podían establecerse con el almidón de arroz o maíz al utilizarse como ingrediente de una suspensión acuosa. Se determinó la fibra, el contenido en sólidos solubles, la proteína y la capacidad antirradical en las muestras vegetales deshidratadas en polvo. En las suspensiones acuosas vegetales se calculó la composición, se determinó la transmitancia y se estableció el efecto de un tratamiento térmico de 50 °C durante 30 minutos sobre la capacidad antirradical. Se comprobó que las muestras vegetales deshidratadas y en polvo tienen un alto contenido en fibra y proteína. Además, la adición del almidón a una suspensión acuosa vegetal de *Cynara cardunculus* demostró tener un papel importante en la determinación de su capacidad antirradical y en el efecto del tratamiento térmico sobre los compuestos funcionales. Por otra parte, no se encontraron diferencias importantes entre las muestras de cardo verde y blanco.

Palabras clave: Cardo, *Cynara Cardunculus*, capacidad antirradical, almidón.

RESUM

L'objectiu d'aquest estudi ha sigut la determinació, tant de les propietats tecnològiques i funcionals de la planta *Cynara cardunculus* (card comú), com de les seues interaccions amb l'aigua i el midó per a la seua utilització com a ingredient en productes derivats de cereals. Per a això, s'han escollit mostres de *Cynara cardunculus* verd i blanc, i s'han estudiat les seues propietats fisicoquímiques i funcionals, així com les interaccions que poden establir-se amb el midó d'arròs o dacsà en utilitzar-se com a ingredient d'una suspensió aiguaosa. S'ha determinat la fibra, el contingut en sòlids solubles, la proteïna i la capacitat antiradical en les mostres vegetals deshidratades en pols. En les suspensions aiguaoses vegetals s'ha calculat la composició, s'ha determinat la transmitància i s'ha establert l'efecte d'un tractament tèrmic de 50 °C durant 30 minuts sobre la capacitat antiradical. S'ha comprovat que les mostres vegetals deshidratades i en pols tenen un alt contingut en fibra i proteïna. A més, l'addició de midó a

una suspensió aigua vegetal de *Cynara cardunculus* ha demostrat tindre un paper important en la determinació de la seua capacitat antiradical i en l'efecte del tractament tèrmic sobre els compostos funcionals. Per altra banda, no s'han trobat diferències importants entre les mostres de card verd i blanc.

Paraules clau: Card, *Cynara cardunculus*, capacitat antiradical, midó.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine both the technological and functional properties of the *Cynara cardunculus* (common thistle) plant, as well as its interactions with water and starch for its use as an ingredient in products derived from cereals. For this, green and white *Cynara cardunculus* samples were chosen, and their physicochemical and functional properties were studied, as well as the interactions that could be established with the rice / corn starch used as an ingredient in an aqueous suspension. The fiber, soluble solids content, protein and antiradical capacity were determined in the powdered dehydrated vegetable samples. In the aqueous vegetable suspensions, the composition was calculated, the transmission was determined and the effect of a heat treatment of 50 °C for 30 minutes on the antiradical capacity was established. Dehydrated and powdered vegetable samples were found to be high in fiber and protein. Furthermore, the addition of starch to an aqueous plant suspension of *Cynara cardunculus* proved to have an important role in determining its antiradical capacity and in the effect of heat treatment on functional compounds. On the other hand, no significant differences were found between the green and white thistle samples.

Keywords: Thistle, *Cynara Cardunculus*, antiradical capacity, starch.

1. INTRODUCCIÓN

Los vegetales de la familia de la planta *Cynara cardunculus* (*Carduus*) se caracterizan por ser plantas perennes, con unos tallos altos, fibrosos y espinosos, además de generar rosetas compuestas por grandes hojas, las cuales dan lugar a flores tubulosas de un característico color violeta. La parte de la inflorescencia o el tallo es la que se utiliza para el consumo humano, pero como consecuencia del procesado se genera una gran cantidad de residuos vegetales que pueden alcanzar hasta el 20-30% del volumen de la planta, mayoritariamente hojas y tallos. Teniendo en cuenta que la reducción de los residuos agroalimentarios es uno de los principales objetivos de las Naciones Unidas para conseguir un mundo más sostenible en el 2030 (United Nations, 2015), resulta de gran interés aumentar el conocimiento sobre los mismos.

La planta *Cynara cardunculus*, más comúnmente conocida como cardo común, ha sido consumida por los humanos desde siempre. Se ha utilizado para realizar infinidad de platos en cocina y para fines medicinales, como por ejemplo a partir de infusiones de sus semillas, raíces y hojas. Según el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, en España la producción de *Cynara cardunculus* en el año 2018 fue de 19.134 toneladas anuales, siendo las principales zonas de cultivo Navarra, la Comunidad Valenciana y La Rioja. Es bien conocido el perfil de compuestos bioactivos de algunos cultivos de la familia *carduus* como la alcachofa, sin embargo existe mucha menos información sobre otros como *Cynara cardunculus*. La producción alimentaria sostenible ha reconsiderado el uso de residuos agroalimentarios o subproductos hacia el desarrollo de nuevos alimentos, además de la incorporación de nuevos ingredientes con compuestos nutritivos o bioactivos (fibra, proteína, vitaminas, minerales y compuestos antioxidantes). De hecho, ya se han realizado estudios que indican que los subproductos de alcachofa (Zuorro et al., 2015) o cardo salvaje (Rodríguez-López et al., 2020) pueden ser fuente de compuestos funcionales.

Una manera muy fácil de incorporar ingredientes vegetales en alimentos es mediante molienda previa, sin embargo, la heterogeneidad y las diferentes características macro-microestructurales y composicionales que pueden existir dentro de la misma planta, pueden limitar la obtención de polvos vegetales con adecuadas características fisicoquímicas, nutricionales y con elevada cantidad en compuestos bioactivos (Djantou et al., 2011). De hecho, resulta interesante conocer el tamaño de partícula en este tipo de productos, ya que influye sobre la degradación de los compuestos bioactivos durante el procesado y determina las interacciones que se establecen con el agua y otros ingredientes en mezclas complejas (Rosell y Betoret, 2020), lo cual finalmente afecta a la bioaccesibilidad y biodisponibilidad durante su consumo y digestión (Bornhorst & Singh, 2014).

Los polvos vegetales pueden incorporarse fácilmente como ingrediente en productos alimentarios como los de panadería y bollería (Betoret & Rosell, 2020), alimentos infantiles, helados, bebidas, sopas y smoothies, con el almidón y el agua como ingredientes comunes en todos ellos (Copeland, 2009). Por ello, es necesario conocer las interacciones del almidón con los diferentes compuestos funcionales en un medio acuoso. En el caso de los compuestos fenólicos, la interacción con el almidón se ha descrito mediante la formación de compuestos helicoidales con la amilosa, o bien mediante puentes de hidrógeno (Zhu, 2015). En cualquier caso, las condiciones de proceso como la temperatura afectan a las propiedades funcionales y tecnológicas de los productos desarrollados, incluyendo la degradación y transformación de los compuestos bioactivos y nutricionales, así como las interacciones entre los mismos.

El objetivo de este trabajo fue la determinación de las propiedades físicoquímicas y funcionales del polvo de hojas y tallo de la planta *Cynara cardunculus*. Con el objetivo de conocer las interacciones que pudieran establecerse entre el polvo de hojas y tallos de *Cynara cardunculus* y el almidón en un medio acuoso, se evaluaron las propiedades físicoquímicas y funcionales de suspensiones acuosas que incluían el polvo y almidón de arroz o maíz en diferentes proporciones. Además, se determinó el efecto de la temperatura y el tiempo de procesado (50 °C durante 30 minutos) sobre la actividad antirradical de la suspensión.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materiales y reactivos

Se escogieron dos tipos de *Cynara Cardunculus*, el verde y el blanco. Se utilizó como material vegetal el tallo y las hojas de la parte externa, compuesta por los pecíolos y las hojas que crecen cerca del suelo. Estos subproductos del *Cynara cardunculus* fueron provistos por agricultores locales (Valencia, España).

El almidón de maíz fue adquirido de Miwon (Seúl, Corea) y el de arroz fue comprado a Sigma Aldrich (Madrid, España).

Los reactivos utilizados para la determinación de compuestos fenólicos y actividad antirradical fueron Folin y Ciocalteu (2M), 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico) (ABTS), ácido-6-Hydroxi-2,5,7,8-tetrametil-cromano-2-carboxílico (Trolox); Persulfato potásico ($K_2S_2O_8$), 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), ácido gálico y el ácido ascórbico, que se adquirieron de Sigma Aldrich (Madrid, España). Etanol absoluto (Histokit, Valladolid, España) y metanol absoluto para la determinación de la clorofila. En el ensayo para la determinación de la fibra, se utilizó la disolución MES-TRIS 0,05 M (Valencia, España), celita, enzima α -Amilasa obtenidas de Sigma Aldrich (Madrid, España), enzima alcalasa de Sigma Aldrich (Madrid, España), acetona de Sigma Aldrich (Madrid,

España) y ácido clorhídrico comprado también en Sigma Aldrich (Madrid, España). Éter de petróleo obtenido de PanReac (Barcelona, España), que se utilizó para la determinación de la grasa. Por último, para la determinación de la vitamina C se utilizaron $K_2Cr_2O_7$ (Sigma Aldrich (Madrid, España)) y H_2SO_4 (Sigma Aldrich (Madrid, España)). Todos los reactivos utilizados fueron de grado analítico.

2.2 Obtención de las muestras de cardo

Se prepararon 2 tipos de muestras: muestras en polvo y muestras en suspensión:

2.2.1 MUESTRA EN POLVO

Los subproductos del *Cynara Cardunculus* se cortaron en trozos de unos 4-5 cm de longitud y se lavaron 3 veces, cambiando las proporciones de subproducto-agua (1:3; 1:3 y 1:7). Las muestras lavadas se secaron en un secador industrial de ControlTecnica Instruments (Wodzislaw, Polonia) a 70 °C durante 24 h. El cardo se molió con un molino doméstico Moulinex A320R1 (Barcelona, España). Las fracciones obtenidas se empaquetaron en bolsas selladas y fueron almacenadas a 4 °C hasta su posterior análisis.

2.2.2 MUESTRA EN SUSPENSIÓN

Se prepararon 6 suspensiones acuosas con diferentes proporciones del polvo vegetal obtenido tras el secado y la molienda del subproducto, y almidón de arroz o maíz. En la tabla 1 se indica la composición en peso (g/ 100 g) de las suspensiones.

TABLA 1. Composición (g/ 100g) de las suspensiones acuosas preparadas con el polvo de *Cynara Cardunculus*.

(g/ 100 g)	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
Cynara cardunculus	2	4,5	2	4,3	2	4,3
Almidón	0	0	9 (maíz)	8,7 (maíz)	9 (arroz)	8,7 (arroz)
Agua	89	87	89	87	89	87

2.3 Tamaño de partícula

Para determinar el tamaño de partícula del polvo, se realizó un tamizado de la muestra utilizando un tamiz agitador (Haver & Boecker-UWL, Oelde, Alemania) dividido en 9 mallas. La luz de malla de cada tamiz

utilizado fue: 850, 710, 600, 500, 300, 250, 180, 100 y 45 μm . Una vez acabada la agitación, se calculó el porcentaje de muestra para cada tamaño de partícula a partir de la cantidad de polvo que quedó retenido en cada tamiz.

2.4 Actividad de agua

Para determinar la actividad de agua del polvo se utilizó un higrómetro de punto de rocío (Aqualab-3TE, Washington, EE.UU.).

2.5 Composición química del polvo

2.5.1 HUMEDAD

Se determinó la humedad del polvo siguiendo el método oficial AOAC 950.46. Para ello, las muestras se secaron en una estufa (Vaciotem, J.P. Selecta, Barcelona, España) a vacío termostataada a 60 °C hasta que alcanzaron un peso constante.

2.5.2 DETERMINACIÓN DE GRASA

La determinación del contenido de grasa del polvo de *Cynara cardunculus* se realizó con un equipo extractor (Foss-Soxhlet, Hilleroed, Dinamarca) basado en el método Soxhlet. Se utilizaron 4 réplicas de 3 g de cada uno de los cardos y éter de petróleo como disolvente. Una vez acabado, se determinó la masa de la grasa en los recipientes.

2.5.3 DETERMINACIÓN DE FIBRA

Se determinó la fibra total y la insoluble del polvo a partir del método modificado por Lee *et al.*, (1992). Se realizaron 4 réplicas para cada muestra (2 para fibra total y 2 para insoluble) y se hicieron 4 blancos, uno para cada tipo de muestra y ensayo.

Se prepararon 0,5 g de muestra y se mezclaron con 20 mL de disolución MES-TRIS 0,05 M que posteriormente se homogeneizaron en un Polytron (PT 2500 E, Zaragoza, España) y se les añadió 100 μL de α -amilasa (Sigma_Aldrich, Madrid, España). A continuación, las muestras se calentaron a 95 °C durante 35 minutos, y pasado este tiempo se enfriaron en hielo durante 10 minutos. A continuación, se añadieron 50 μL de alcalasa 2,4 L FG (Sigma_Aldrich, Madrid, España) y se volvieron a calentar a 60 °C durante 30 minutos, con el posterior enfriamiento en hielo durante 10 min. Seguidamente, se ajustaron los pH de las réplicas a unos valores comprendidos entre 4,1 y 4,8.

Para la determinación de la fibra total se añadió a cada muestra 91,2 mL de etanol al 95% a 60 °C, se tapó con aluminio y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 60 minutos. En el siguiente paso, se emplearon crisoles de extracción FOSS para la filtración de la muestra, con

0,5 g de Celita fijados mediante 5 mL de etanol al 78%. Después, se añadió la muestra para eliminar el sobrenadante y obtener el precipitado de interés. A cada muestra se le realizó un lavado doble con 7,5 mL de etanol al 78%, 7,5 mL de etanol al 95% y 7,5 mL de acetona. El resultado se introdujo en una estufa durante 24 horas.

Para la determinación de la fibra insoluble, se siguió el procedimiento anterior, pero en la filtración de la muestra, se le realizaron 2 lavados con agua destilada a 70 °C. Una vez se obtuvo el precipitado, se le hizo un lavado doble con 5 mL de etanol al 95% y 5 mL de acetona y se mantuvo en una estufa durante 24 h.

Con el objetivo de obtener el porcentaje de fibra real, se llevó a cabo la determinación de las cenizas en la muestra de *Cynara cardunculus*. Posteriormente, se realizó un tratamiento térmico de 5 horas a 495 °C en una mufla (T-LongEquipment-BR12N, Zhengzhou, China) y se mantuvo en una estufa durante 24 h. El dato obtenido se restó al resultado final del tratamiento junto con la proteína y el blanco. Se obtuvo así el porcentaje de fibra real.

La fibra que contenía la muestra líquida se determinó mediante cálculos a partir de datos que se obtuvieron de este mismo experimento con la muestra en polvo.

2.5.4 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA

Se determinó la cantidad de proteína de las muestras de *Cynara cardunculus* mediante el método Dumas (Serrano et al., 2013) en un equipo de determinación de contenido de nitrógeno (LECO-TruMac, Michigan, EE.UU). Se utilizó 6,25 como factor de corrección para muestras vegetales.

2.5.5 DETERMINACIÓN DE CENIZAS

Para la determinación de las cenizas se utilizó el método 920.153 por la AOAC (2005) modificado. Para ello, se prepararon 2 réplicas de polvo de *Cynara cardunculus* de 4 gramos de masa cada una, las cuales se sometieron a una temperatura de 550 °C durante 2 horas. A continuación, las muestras fueron sometidas a un proceso de carbonización con un soplete. Por último, se volvieron a introducir las muestras en la mufla 550 °C durante 5 horas hasta obtener las cenizas.

2.5.6 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES

Para la determinación de los sólidos solubles, se introdujeron 5 réplicas de cada muestra de un peso de 0,15 g cada una, las cuales se introdujeron en probetas cónicas de plástico, se mezclaron con 2 mL de agua destilada, después fueron homogeneizadas en un Vórtex durante 30 segundos, y posteriormente centrifugadas a 700 xg durante 3 minutos (SBS-LZ-4000, Steinberg, Alemania). El siguiente paso fue la

determinación de la concentración de sólidos solubles con ayuda de un refractómetro portátil (AQ-Hanna, Barcelona, España).

En el caso de las muestras líquidas, se introdujeron las mismas con las concentraciones anteriormente nombradas para cada una de las réplicas. Por último, se siguieron los mismos pasos que para la muestra vegetal *Cynara cardunculus* en polvo.

2.6 Propiedades de interacción con el agua y el aceite

La capacidad de retención de agua (WHC) se midió siguiendo el método de Cornejo y Rosell (2015). Se mezclaron 1 g de polvo de *Cynara cardunculus* y 10 mL de agua destilada y se dejaron en reposo a temperatura ambiente durante 24 h. A continuación, se separó el sobrenadante y se pesó. La WHC fue calculada aplicando la ecuación 1:

$$WHC \left(\frac{g}{g} \right) = \frac{\text{masa del sedimento después de eliminar el sobrenadante} - \text{masa de la muestra}}{\text{masa de la muestra}} \quad (1)$$

El volumen de hinchamiento (SV) fue determinado de acuerdo por el método descrito por Gularte y Rosell (2011). Se mezcló 1 g de la muestra en polvo y 10 mL de agua destilada y se mantuvo en reposo a temperatura ambiente durante 24 h. El volumen total de la muestra hinchada fue dividido por la masa de la muestra en polvo.

La humectabilidad (WBC) fue determinada como se describe en el método estándar (AACC, 2010). 1 g de polvo de *Cynara Cardunculus* se mezcló con 10 mL de agua destilada y después fue centrifugado a 2000 xg durante 10 minutos. Se separó el sobrenadante y la WBC se expresó como gramos de agua retenida por gramo de sólido.

Para la capacidad de absorción del aceite (OAC) se mezclaron 100 mg de polvo de *Cynara cardunculus* con 1 mL de aceite vegetal. El contenido se mantuvo en agitación durante 30 minutos y a continuación se centrifugó a 3000 xg y 4 °C durante 10 minutos. Una vez eliminado el sobrenadante, los tubos fueron invertidos durante 25 minutos para eliminar el aceite residual. La OAC fue calculada con la ecuación 2:

$$OAC \left(\frac{g}{g} \right) = \frac{\text{masa del sedimento después de eliminar el aceite} - \text{masa de la muestra}}{\text{masa de la muestra}} \quad (2)$$

Todos los análisis se realizaron por triplicado.

2.7 Contenido fenólico y actividad antirradical

Para la determinación del contenido fenólico y la actividad antirradical de las muestras y las suspensiones de *Cynara Cardunculus* se llevaron a cabo tres métodos distintos, para los que la preparación de las muestras de polvo fue la misma. Se dispusieron 6 réplicas de cada muestra, de 1 g cada una, en tubos cónicos de centrífuga. Después, se les añadieron 5 mL de etanol al 96%, se mezclaron en un Vórtex (Corning-

LSE, Madrid, España) a una potencia de 1482 xg durante 3 minutos. Posteriormente, se filtraron con embudos y papel de filtro, obteniendo así el extracto sobre el que se realizaron las determinaciones.

El ensayo de ABTS se basó en el método propuesto por Polydera *et al.*, (2005) modificado, usando una muestra de 30 μL . Se preparó una disolución de ABTS 7 mM y $K_2S_2O_8$ 2,45 mM y se mantuvo durante 16 horas en la oscuridad para garantizar la formación de radicales con carácter reductor. Después se realizó una curva de calibrado de ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox) en el rango de concentración de 0 - 500 mg/L. A continuación, se introdujeron 30 μL de la muestra, 3.000 μL de etanol y 30 μL de ABTS en 6 cubetas (3 réplicas por cada tipo de *Cynara Cardunculus* y se midió la absorbancia con un espectrofotómetro a 734 nm (Shimadzu-Uvmini 1240, Kyoto, Japón). Los resultados fueron expresados como mg/g de Trolox.

El ensayo de DPPH se basó en el método propuesto por Re *et al.*, (1999) modificado, usando un volumen de 50 μL de muestra. Se preparó una disolución de 0,5 mg/L de DPPH disolviendo el compuesto en etanol mediante agitación magnética (JOANLAB-Hotplate Stirrer SH2, Zhejiang, China). Una vez hecha, se trasvasó la disolución a un matraz topacio de 100 mL y se mantuvo en la oscuridad. Se obtuvo también, una curva de calibrado con ácido ascórbico. Para realizar la determinación se mezclaron 150 μL de la muestra, 1650 μL de etanol y 1500 μL de DPPH. La absorbancia fue medida con el espectrofotómetro a 515 nm a los 30 minutos. Los resultados se expresaron como mg/g de ácido ascórbico.

El contenido total fenólico se determinó siguiendo el método Folin Ciocalteu con las modificaciones propuestas por Singleton *et al.*, (1999) y Moraes-de-Souza *et al.*, (2008) y sobre un volumen de 80 μL de muestra. Se preparó una curva de calibrado con ácido gálico y las concentraciones en las cubetas fueron de 80 μL de la muestra, 2720 μL de Na_2CO_3 y 500 μL del reactivo Folin. Finalmente, se midió la absorbancia con un espectrofotómetro a 765 nm. Los resultados se expresaron como mg/g equivalentes de ácido gálico.

Para la suspensión, el ensayo se realizó sobre una muestra expuesta a un tratamiento térmico de 50 °C durante 30 minutos y sobre una muestra a temperatura ambiente. Se dispusieron 6 réplicas de cada muestra, de 1 g cada una, en tubos cónicos de centrifuga, pero esta vez se introdujo 1 mL de etanol al 96%, ya que la muestra de por sí era líquida. Se centrifugó la mezcla a 1500 rpm y posteriormente se agitó el sobrenadante a 24 rpm en un Vórtex durante otros 3 minutos, obteniendo así el extracto necesario para ser analizado en el espectrofotómetro.

2.8 Determinación de la vitamina C

Se realizó de acuerdo con el método Fadhel D.H., (2012) modificado. La preparación de las muestras fue la misma que en el ensayo del contenido fenólico y la actividad antirradical. Primero se preparó una disolución de $K_2Cr_2O_7$ de 500 ppm en una disolución acuosa de 100 mL de

agua. Para ello se disolvieron 0,05 g de $K_2Cr_2O_7$ en H_2SO_4 5 M y se completó el volumen con agua destilada. Las concentraciones en las cubetas fueron las siguientes: 20 μ L de muestra, 1452 μ L de agua destilada y 1650 μ L de disolución de $K_2Cr_2O_7$. La absorbancia fue medida con el espectrofotómetro a una longitud de onda de 530 nm. Para la realización de la curva de calibrado se utilizó ácido ascórbico y los resultados del ensayo se expresaron como mg/g de este componente.

2.9 Determinación de la clorofila

Este ensayo se realizó siguiendo el método propuesto por Dere *et al.*, (1997). Primeramente, se mezclaron 7 mL de metanol con 0,14 g de muestra y se homogeneizó el contenido a 112 xg durante un minuto. A continuación, la mezcla se filtró y se centrifugó a 700 rcf durante 10 minutos. Se separó el sobrenadante y se midió la absorbancia en el espectrofotómetro.

Se calcularon las distintas concentraciones según las fórmulas de Lichtenthaler y Wellburn (1985) para el metanol (3, 4 y 5):

$$C_a = 15,65 \cdot A_{666} - 7,34 \cdot A_{653} \quad (3)$$

$$C_b = 27,05 \cdot A_{653} - 11,21 \cdot A_{666} \quad (4)$$

$$C_{x+c} = \frac{(1000 \cdot A_{470} - 2,86 \cdot C_a - 129,2 \cdot C_b)}{245} \quad (5)$$

Donde C_a , C_b y C_{x+c} corresponden a las concentraciones de clorofila a, clorofila b y carotenoides totales respectivamente, y A_{666} , A_{653} y A_{470} las absorbancias a distintas longitudes de onda.

2.10 Determinación de la transmitancia

Se prepararon 3 réplicas de 10 mL para cada una de las suspensiones y se midió la transmitancia en un espectrofotómetro (Shimadzu-Uvmini 1240, Kyoto, Japón).

2.11 Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados obtenidos se llevó a cabo utilizando el programa estadístico Statgraphics Centurion XVI (Statpoint Technologies, Virginia, Estados Unidos). Para la muestra en polvo se hizo un análisis estadístico del tipo ANOVA Simple, y con los resultados de las suspensiones se realizó un ANOVA Multifactorial. En todos los casos se aceptó un nivel de confianza del 95%.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Composición química del polvo de *Cynara cardunculus*.

En la tabla 2 se muestran los valores de la composición química de las muestras vegetales de *Cynara Cardunculus* verde y blanco expresados como porcentaje en peso. El análisis estadístico de la varianza simple puso de manifiesto con un 95 % de probabilidad que, las diferencias entre los valores de composición química obtenidos para el verde y el blanco no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$), excepto en el contenido en humedad y en los sólidos solubles. Los valores de humedad obtenidos, 4,05 y 5,98 g de agua/100 g de polvo de *Cynara Cardunculus*, fueron lo suficientemente bajos como para asegurar la estabilidad del producto. Estos valores son similares a valores obtenidos para otros vegetales en polvo deshidratados como las hojas y el tallo de colinabo (4 - 9 %) (Sánchez y Betoret, 2019) y la zanahoria (4 – 6,9 %) (Chantaro *et al.*, 2008) (3,2 - 3,7 %) (Bas-Bellver *et al.*, 2020). Además, según el Decreto 2484/1967 de 21 de septiembre, por el que se aprueba el texto del Código Alimentario Español, que regula el contenido máximo de agua de los productos vegetales deshidratados en polvo que se comercializan en la actualidad, la canela en polvo, por ejemplo, no debe superar el 14 % de humedad, el azafrán el 15 %, el pimentón el 14 % y la pimienta de Cayena el 9 %. Los valores de fibra total y fibra insoluble obtenidos fueron similares a los obtenidos por Villanueva-Suárez *et al.*, (2019) que fueron del 46,1 y 31,2 % respectivamente, en tallos deshidratados de alcachofa. El contenido en proteínas obtenido para los dos tipos de *Cynara Cardunculus* fue similar al contenido de proteína de algas deshidratadas. Así por ejemplo, el contenido de proteína del alga verde desecada *Ulva Pertusa* se encuentra entre 13 y 19 % (Jadeja y Tewari, 2008). El alga Wakame deshidratada comercial, tiene un contenido en sales cercano al 25 %. El contenido en sólidos solubles que incluyen las sales de *Cynara Cardunculus* deshidratado en polvo fue mayor, llegando al 34 %. Según la Base de Datos Española de Composición de Alimentos, el cardo fresco contiene 220 mg de sodio y 93,9 gramos de agua por cada 100 g de porción comestible, teniendo en cuenta este dato, se calculó el contenido teórico de sales que podría tener el *Cynara Cardunculus* deshidratado en polvo, conociendo la humedad de nuestras muestras del verde (0,04 g/g) y blanco (0,06 g/g), y considerando como hipótesis que todos los sólidos solubles correspondían a las sales. Se obtuvo como resultado una cantidad de sales teórica del 28,57 % para el verde y 26,86 % para el blanco. Las diferencias entre esta cantidad de sales teórica y el valor obtenido de forma experimental se debe fundamentalmente a dos razones: en primer lugar, el dato obtenido de la composición de alimentos hace referencia al contenido en sodio, sin embargo, en la medición experimental no se consideró únicamente el sodio, sino todas las sales solubles del *Cynara Cardunculus*; en segundo lugar, características propias de la variedad, así

como del cultivo del *Cynara cardunculus* (características del suelo, agua de irrigación, temperaturas máximas y mínimas del cultivo...) justificarían las diferencias obtenidas entre el contenido teórico de sales calculado y el determinado experimentalmente.

TABLA 2. Humedad, fibra total e insoluble, proteína, sólidos solubles, cenizas y grasas de las muestras en polvo. Los resultados están expresados en g/100 g de polvo de *Cynara cardunculus* con una media y desviación estándar obtenidas a partir de 3 réplicas.

	Humedad	Fibra insoluble	Fibra total	Proteína	Sólidos solubles	Cenizas	Grasas
Verde	4,05 ± 0,22	34,66 ± 2,90	40,89 ± 2,02	11,20 ± 0,94	34,22 ± 2,11	42,42 ± 0,05	0,77 ± 0,12
Blanco	5,98 ± 0,56	34,24 ± 2,35	39,88 ± 0,32	11,28 ± 0,75	38,98 ± 2,70	42,98 ± 0,11	0,66 ± 0,30
p-value	0,0053	0,7984	0,4330	0,9552	0,0145	0,3903	0,5155

3.2 Propiedades fisicoquímicas de los polvos de *Cynara Cardunculus*.

El tamaño de partícula del polvo de *Cynara cardunculus* blanco y verde se muestra en la Figura 1. Los resultados obtenidos se expresaron como porcentajes máxicos de polvo correspondientes a cada uno de los tamaños de partícula de los tamices utilizados. Tal y como puede observarse, en el cardo verde las partículas de polvo mayores a 850 µm representaron el 85,35 % de la masa total, sin embargo, en el blanco estas partículas fueron el 32 %. Seguidamente, en los dos casos, la mayor cantidad de partículas quedaron retenidas en el tamiz de 300 µm. Las características estructurales del tallo y su alto contenido en fibra pueden explicar la obtención de un polvo formado, en general, por partículas grandes. La diferencia entre el blanco y el verde radica en el hecho de que, durante su cultivo, en la fase de crecimiento y generalmente en los 30 días previos a su recolección, el blanco se cubre para evitar su exposición al sol, lo que influye en la ternura de la planta (Salata *et al.*, 2017). El sol influye en gran medida en la estructura del *Cynara Cardunculus*, el que crece en la oscuridad sufre un tipo de desarrollo llamado escotomorfogénesis, en el cual el tallo se alarga de forma exagerada en busca de luz solar. En este proceso interviene la auxina, hormona que promueve el alargamiento del tallo en su crecimiento y tiene, como una de sus funciones principales, el estiramiento de las células de los brotes jóvenes en desarrollo. Este proceso provocaría una mayor turgencia y plasticidad en la estructura del vegetal (De Lucas, 2010) (Campbell y Reece, 2007). La mayor dureza en las estructuras formadas en la planta expuesta al sol podría explicar las diferencias entre los tamaños de partícula de los dos tipos de *Cynara Cardunculus*.

Según el real Decreto 677/2016 de 16 de diciembre, por el que se aprueba la norma de calidad para las harinas, las sémolas y otros productos de la molienda de los cereales, la granulometría de una harina

estaría compuesta en un 90 % de su totalidad por partículas capaces de atravesar un tamiz de 180 micras, la harina micronizada en un 95 % lo haría por un tamiz de 100 micras y la sémola gruesa en un intervalo de 600 a 850 micras, admitiéndose una tolerancia del 10 %. Aunque en nuestro caso el polvo se ha obtenido de la molienda de un vegetal y no de un cereal, y además, no se cumple la tolerancia establecida del 10 %, el tamaño de la sémola gruesa es el que más se asemeja al de las muestras en polvo.

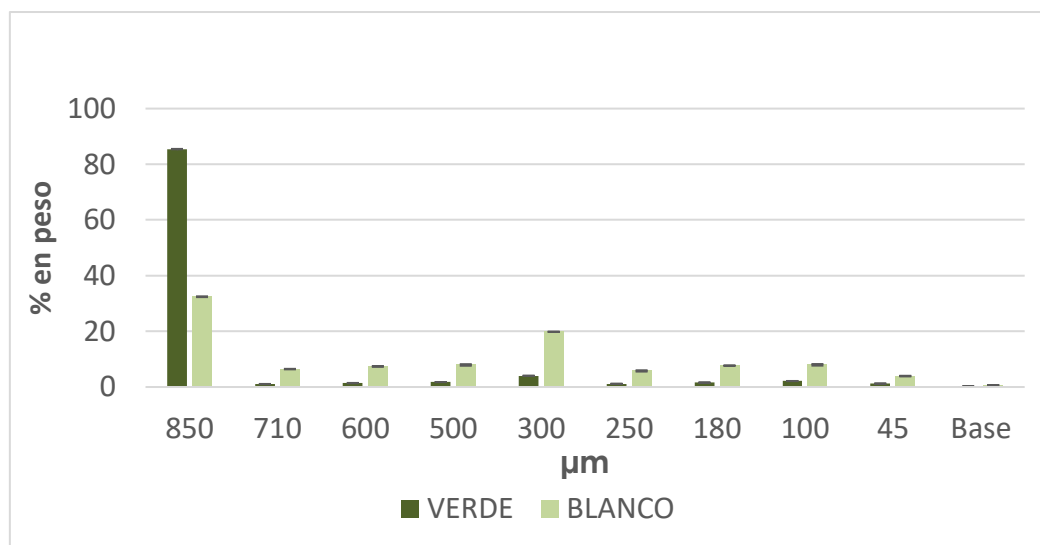


FIGURA 1. Porcentaje másico de las muestras de *Cynara Cardunculus* en polvo que se quedó retenido en cada uno de los tamices, con luces de malla expresadas en µm.

Tal y como puede observarse en la tabla 3, los valores de actividad de agua obtenidos en los dos tipos de polvo fue de 0,3, con diferencias estadísticamente no significativas entre los dos tipos de cardo. Los valores tan bajos de actividad de agua indican que los polvos obtenidos son estables frente a las reacciones de deterioro microbiológicas, enzimáticas y de oxidación de lípidos (Beuchat, 1981). Valores de actividad de agua inferiores a 0,9, 0,8 y 0,7 limitan el crecimiento de bacterias, hongos y levaduras respectivamente (Beuchat, 1981). Valores de actividad de agua inferiores a 0,5 limitan las reacciones enzimáticas hasta valores de 0,3 (Labuza, 1980). En alimentos con valores de actividad de agua menores a 0,3 únicamente podrían ocurrir hidrólisis no enzimáticas o reacciones de oxidación de lípidos (Labuza, 1980), aunque éstas últimas estarían también muy limitadas en nuestro caso por tratarse de un polvo vegetal con bajo contenido en grasa.

Los valores de humectabilidad (WBC), capacidad de retención de agua (WHC), capacidad de hinchamiento (SV) e interacción con el aceite (OAC) pueden observarse en la tabla 4. El análisis estadístico de la varianza simple puso de manifiesto, con una probabilidad del 95%, que no se obtuvieron diferencias significativas en los valores obtenidos de cada

uno de los parámetros medidos, excepto para la humectabilidad, en la que las diferencias obtenidas fueron significativas.

La humectabilidad (WBC) es una medida de la capacidad de las partículas de polvo para interaccionar con el agua, mientras que la capacidad de retención de agua (WHC) es la capacidad de los polvos para atrapar agua después de la aplicación de una fuerza centrífuga. Los valores obtenidos de actividad del agua fueron similares a los obtenidos en polvos de colinabo en estudios previos (0,41) (Sánchez y Betoret, 2019). Sin embargo, los valores de capacidad de retención de agua del *Cynara cardunculus* fueron similares a los obtenidos en salvado de avena (7,7 g/g) (Robertson y Eastwood, 1980) y mayores que los obtenidos en los polvos de colinabo (1,51g/g) (Sánchez y Betoret, 2019). La cantidad en fibra y carbohidratos de cadena larga, así como el tamaño de las partículas de polvo, son las variables que más pueden determinar la capacidad de estos para interaccionar y atrapar el agua (Chantaro et al., 2008; Raghavendra et al., 2006, Femenia et al., 1997). La mayor superficie específica de las partículas de tamaño más pequeño facilitaría la absorción de moléculas de agua en este tipo de polvos vegetales, sin embargo, los elevados contenidos en fibras y la capacidad de retención de agua por este tipo de moléculas determinan una mayor capacidad de agua en los polvos de *Cynara Cardunculus*. Además, la mayor proporción de fibra insoluble determinaría la menor capacidad de los polvos vegetales para absorber el agua (Álvarez y Sánchez, 2006). La capacidad de hinchamiento de las partículas de cardo fue menor a la obtenida para otros polvos vegetales como el de colinabo (10 mL/g) (Sánchez et al., 2019). Los bajos valores obtenidos de capacidad de absorción de aceite fueron el resultado del escaso contenido en grasa de los polvos de *Cynara cardunculus* verde y blanco.

TABLA 3. Actividad de agua, capacidad de fijación del agua, capacidad de retención de agua, volumen de hinchamiento y absorción de aceite de la muestra de *Cynara cardunculus* en polvo. Los resultados se expresaron con una media y desviación estándar de 3 réplicas.

Tipo de cardo	aw	WBC (g/g)	WHC (g/g)	SV (ml/g)	OAC (g/g)
Verde	0,30 ± 0,003	4,73 ± 0,15	8,16 ± 1,79	6,53 ± 0,66	3,12 ± 0,24
Blanco	0,32 ± 0,002	5,67 ± 0,31	6,84 ± 1,00	6,53 ± 0,37	3,03 ± 0,12
p-value	0,7253	0,0093	0,3277	0,9885	0,1743

3.3 Propiedades funcionales de los polvos de cardo.

En muestras de *Cynara Cardunculus* se han detectado flavonoides, esteroides y triterpenos, alcaloides, poliacetilenos, acetilenos e hidrocarburos, sesquiterpenos, lactonas, ácidos fenólicos y lignanos (Jordon-Thaden y Louda, 2003). Entre los flavonoides destacan la apigenina, la luteolina, el kaempferol y derivados de la quercetina (Jordon-Thaden y Louda, 2003).

En los tallos, parte importante del *Cynara cardunculus*, debido a su función estructural, el compuesto mayoritario es la fibra (Cartea et al., 2011). Se llevaron a cabo tres tipos de análisis para determinar la actividad antirradical de las muestras en polvo, con el objetivo de determinar y englobar la capacidad antirradical de la mayor parte de compuestos bioactivos de la planta: el método de Folin-Ciocalteu se siguió como indicador del contenido total en compuestos fenólicos, el método DPPH se realizó por su elevada sensibilidad hacia los compuestos hidrofílicos como la vitamina C, y el ABTS debido a su mayor sensibilidad hacia los compuestos hidrofóbicos (Del Caro et al., 2004). Se determinaron otros compuestos aislados como las clorofilas A y B, los carotenos totales y la vitamina C como indicadores típicos de productos vegetales, así como de las diferencias producidas por la mayor o menor exposición del cardo a la luz solar (tabla 4).

El contenido total en compuestos fenólicos no fue estadísticamente diferente ($p > 0.05$) entre las muestras de polvo del blanco y verde. Además, los resultados obtenidos fueron similares a los obtenidos por otros autores en hojas de *Cynara cardunculus* (7,31 mg/g de *Cynara cardunculus* seco) (Velez et al., 2012) y a los obtenidos en alcachofa común *Cynara scolymus* L. (9,45 mg/g alcachofa seca) (Wang Mingfu et al., 2003). El análisis estadístico estableció que las diferencias obtenidas entre la actividad antirradical determinada mediante los métodos ABTS y DPPH para las muestras del verde y el blanco fue significativa ($p \leq 0.05$). En los dos casos, fue mayor la actividad antirradical del blanco que la del verde. La menor exposición a la luz solar del blanco podría evitar la oxidación de los compuestos funcionales, obteniéndose así como resultado una mayor actividad antirradical. Por el contrario, la mayor exposición solar, tendría como resultado la obtención de una mayor cantidad de clorofila A y de carotenoides totales, con resultados significativamente diferentes del verde con respecto del blanco. Sin embargo, el contenido en vitamina C no fue significativamente diferente en las dos muestras de polvo de *Cynara cardunculus*, y fue similar al obtenido en otros polvos de vegetales como el napicol (20 mg/g) (Sánchez et al., 2019).

TABLA 4. Actividad antirradical y compuestos funcionales (compuestos fenólicos, clorofila y Vitamina C) del polvo de *Cynara cardunculus*. Los resultados se expresaron con una media y desviación estándar obtenidas a partir de 3 réplicas.

	Folin (mg gálico/g)	ABTS (mg Trolox/g)	DPPH (mg ascórb./g)	Clorofila A (µg/mg)	Clorofila B (µg/mg)	Carotenos (µg/mg)	Vitamina C (mg/g)
Verde	6,96 ± 2,27	0,88 ± 0,02	0,50 ± 0,08	12,32 ± 1,36	2,40 ± 0,49	2,61 ± 0,56	19,87 ± 4,04
Blanco	9,64 ± 1,96	1,31 ± 0,24	1,00 ± 0,17	4,13 ± 0,70	2,42 ± 0,62	0,33 ± 0,27	18,87 ± 4,04
<i>p-value</i>	0,1791	0,0270	0,0074	0,0006	0,9914	0,0026	0,7665

3.4 Composición química y transmitancia de matrices *Cynara cardunculus*-almidón en suspensión acuosa.

Normalmente, en los productos que contienen almidón como los de panadería, las salsas y las sopas, así como en las bebidas vegetales, los vegetales se añaden en una proporción del 5 – 10 % en peso, como por ejemplo el Caldo de Verduras de Gallina Blanca de Mercadona (3,7 %) Leche de Almendras de Almondrola de Carrefour (4 %) y la Bebida de Quinoa de Ecomil de Bulevip (4 %). Sin embargo, en nuestro caso, se decidió añadir además una cantidad significativamente menor de polvo de *Cynara Cardunculus* debido a que se eligió como factor limitante el contenido en sal, y se determinó que éste no fuera superior al 3 %, sino que fuera similar a algunas salsas comerciales como la salsa de verduras de Espiga Biológica de El Corte Inglés (1,2 %), la salsa de verduras al curry de Carlota Organic de www.carlotaorganic.com (1,55 %) la salsa al pesto de Artigiana Genovese en www.artigianagenovese.com (2,41 %) y el Ketchup de Develey de Mercadona (2,4 %). Conociendo la cantidad de fibra total, fibra insoluble y proteína del polvo de *Cynara Cardunculus*, se calculó el contenido teórico de sales en las diferentes suspensiones de polvo de *Cynara Cardunculus* blanco y verde suponiendo que todos los sólidos solubles corresponden a contenido en sales. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 5. Tal y como se esperaba, no se obtuvieron diferencias significativas entre las muestras de *Cynara Cardunculus* blanco y verde. Si se tienen en cuenta productos como la Bebida de Almendra de Ades en Amazon (0,5 %), la Bebida de Avellanas de Central Lechera Asturiana de Mercadona (0,4 %) y la Sopa de Verduras de Gallina Blanca de Carrefour (0,4 %) se puede decir que la muestra líquida de *Cynara Cardunculus* tiene una concentración de proteína considerable, ya que esta contiene entre un 0,2 % y un 0,5 %, dependiendo de la cantidad de *Cynara Cardunculus*. Por otra parte y comparando la muestra líquida con productos como la Crema de Alcachofa de Slendier de Aldi (2,1 %), el Caldo Natural de Alcachofa de ANETO de Carrefour (0,3 %) y la Bebida de Avellanas de YOSOY en www.deliberry.com (0,5 %), se observa que el contenido en fibra de la muestra es una cantidad significativa, comprendiendo un rango entre 0,7 % y 1,7 %, dependiendo de nuevo de la concentración del vegetal.

Teniendo en cuenta la cantidad de sólidos solubles de las muestras de polvo de *Cynara cardunculus* verde y blanco, se calculó la cantidad teórica de sólidos solubles de la suspensión. Los resultados se muestran en la tabla 6. El análisis de la varianza multifactorial puso de manifiesto, con un 95 % de probabilidad, que el tipo de *Cynara cardunculus*, la cantidad y el tipo de almidón, así como todas sus interacciones, tuvieron un efecto significativo ($p \leq 0.05$) sobre los sólidos solubles de la suspensión.

TABLA 5. Cantidad de fibra insoluble, fibra total y proteína de las suspensiones acuosas vegetal-almidón calculadas a partir de las determinaciones experimentales en polvo del cardo blanco y verde. Resultados expresados como media y desviación estándar obtenidas a partir de 3 réplicas.

Tipo de cardo	Cantidad (g /100 g)	Fibra insoluble (mg/g)	Fibra total (mg/g)	Proteína (mg/g)
Verde	2	6,2 ± 0,4	7,30 ± 0,20	2,0 ± 0,052
	4,5	15,07 ± 6,28	17,8 ± 0,64	4,9 ± 0,06
Blanco	2	6,11 ± 0,4	7,12 ± 0,37	2,02 ± 0,05
	4,5	14,9 ± 0,6	17,34 ± 0,63	4,9 ± 0,05

Tal y como puede observarse en todos los casos, los sólidos solubles determinados en las suspensiones vegetales con almidón fueron mayores que los obtenidos en las suspensiones sin almidón, y aumentaron al ampliar la concentración de *Cynara cardunculus*. Las suspensiones que contenían almidón de arroz fueron las que presentaron valores mayores de sólidos solubles. Los valores calculados teóricamente fueron muy similares aunque ligeramente superiores a los obtenidos en las suspensiones vegetales sin almidón.

Uno de los problemas de las suspensiones vegetales, es el de la estabilidad entre los solutos provenientes del propio vegetal y la solución. La turbidez representa el grado en el que varía la transparencia del líquido debido a la presencia de los sólidos en suspensión, mientras que la medida de los sólidos solubles nos da una idea acerca de la mayor o menor solubilidad de los diferentes ingredientes en el medio acuoso, la medida de la transmitancia hace referencia a la presencia de los mismos en la nube de la suspensión. Así, los resultados obtenidos indicaron que la cantidad de polvo vegetal añadido fue la variable que más influyó sobre los valores de transmitancia obtenidos (figura 2). Mayores cantidades de vegetal añadidos aumentaron la turbidez de la suspensión y disminuyeron los valores de transmitancia. En las suspensiones con 2 gramos de polvo vegetal/100 g totales el tipo de cardo influyó sobre los valores de transmitancia obtenidos, con mayores resultados en las suspensiones que contenían *Cynara Cardunculus* blanco. Probablemente, las estructuras más duras, con mayor cantidad de fibra como las del verde, interaccionan más fuertemente con el agua y con el almidón aumentando la estabilidad

de la nube de la suspensión y por tanto aumentando la turbidez de la misma. Este efecto no se observó en las suspensiones con una mayor cantidad de polvo vegetal, probablemente debido a que las pequeñas diferencias en la composición del verde y del blanco quedaron minimizadas por la cantidad de polvo vegetal incluida en la suspensión. La presencia de almidón no tuvo un efecto significativo sobre la nube de la suspensión. Se obtuvieron valores parecidos de transmitancia de las suspensiones con y sin almidón y no se observó un efecto significativo (tabla 7) sobre la nube de un tipo de almidón.

TABLA 6. Sólidos solubles determinados experimentalmente y calculados teóricamente en las diferentes suspensiones vegetales. Los resultados se expresaron con una media y desviación estándar obtenidas a partir de 3 réplicas.

Tipo de cardo	Cantidad (g/100 g)	Almidón	Sólidos solubles %	Sólidos solubles calculados %	
Verde	2	SIN	0,40 ± 0,002	0,56	
		Arroz	1,20 ± 0,10		
		Maíz	1,03 ± 0,12		
	4,5	SIN	1,03 ± 0,06	1,36	
		4,3	Arroz		2,07 ± 0,12
			Maíz		1,77 ± 0,12
Blanco	2	SIN	0,43 ± 0,06	0,52	
		Arroz	1,23 ± 0,12		
		Maíz	1,10 ± 0,00		
	4,5	SIN	1,00 ± 0,06	1,27	
		4,3	Arroz		3,00 ± 0,06
			Maíz		2,20 ± 0,06
p-value	Tipo de cardo (A)		0,0000	---	
	Cantidad de cardo (B)		0,0000	---	
	Tipo de almidón (C)		0,0000	---	
	AB		0,0000	---	
	AC		0,0000	---	
	BC		0,0000	---	
	ABC		0,0000	---	

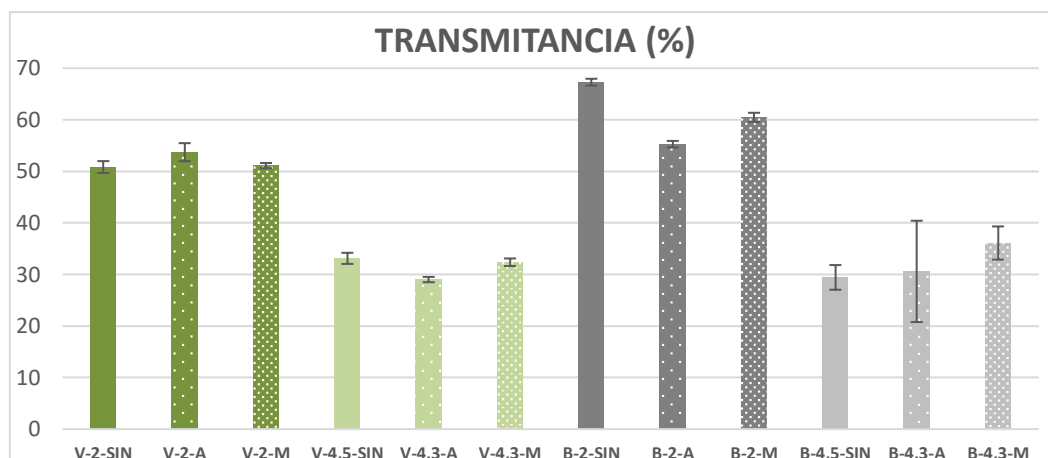


FIGURA 2. Representación de la transmitancia de las diferentes suspensiones vegetales. Los resultados se expresaron con una media y desviación estándar de 3 réplicas. Donde la primera letra indica el tipo de *Cynara cardunculus* (V: cardo verde; B: cardo blanco), la cifra de en medio es la cantidad del mismo en g/ 100g, y la letra de la derecha muestra el tipo de almidón (SIN: sin almidón; A: almidón de arroz; M: almidón de maíz).

TABLA 7. Estudio de la significancia estadística de las interacciones entre las variables (INDICA QUE VARIABLES) para los resultados obtenidos de la medida de la transmitancia.

		p-value
	Tipo de cardo (A)	0,0029
	Cantidad de cardo (B)	0,0000
	Tipo de almidón (C)	0,1435
	AB	0,0062
	AC	0,2447
	BC	0,1887
	ABC	0,0213

Se determinó la actividad antirradical de las diferentes suspensiones vegetales (tabla 8) mediante tres métodos diferentes con el objetivo de determinar y englobar la capacidad antirradical de la mayor parte de compuestos bioactivos: el método de Folin-Ciocalteu se siguió como indicador del contenido total en compuestos fenólicos, el método DPPH se realizó por su elevada sensibilidad hacia los compuestos hidrofílicos como la vitamina C y el ABTS debido a su mayor sensibilidad hacia los compuestos hidrofóbicos (Del Caro *et al.*, 2004), al igual que en el polvo

vegetal. El análisis multifactorial ANOVA puso de manifiesto que las variables estudiadas afectaron significativamente de forma diferente a la actividad antirradical determinada por los tres métodos. La cantidad de compuestos fenólicos totales por el método de Folin Ciocalteu y expresada como mg de ácido gálico por g de suspensión se vio significativamente afectada ($p \leq 0.05$) por la cantidad de polvo vegetal y por el tipo de almidón, pero no por el tipo de *Cynara cardunculus* utilizado. Los valores más elevados de actividad antirradical se obtuvieron en las suspensiones vegetales que no contenían almidón y aumentaron al aumentar la cantidad de polvo vegetal en la suspensión. La incorporación de almidón a la suspensión disminuyó los valores de actividad antirradical, y ésta fue diferente dependiendo del tipo de almidón que se utilizó. Se obtuvieron valores menores de actividad antirradical con el almidón de maíz que con el almidón de arroz. Esto parece indicar que el almidón de la suspensión interaccionó claramente con los compuestos fenólicos y estas interacciones son más fuertes con el almidón de maíz. Puede que algunos compuestos antirradicales tuviera correlación con la fibra dietética y esto pudiera resultar en una menor extracción de este componente de su matriz. En este caso, la muestra de *Cynara Cardunculus* verde es la que tiene una concentración de fibra ligeramente mayor a la del blanco y presenta una menor actividad antirradical. Además, la gran área externa de los gránulos del almidón de maíz y su alta viscosidad aumentarían la posibilidad de la interacción e incorporación de los compuestos bioactivos al mismo, esto podría generar la formación de complejos helicoidales de los compuestos fenólicos con la amilosa. Con la incorporación de estos compuestos en el interior de complejos helicoidales se ha demostrado que no pueden ser extraídos con metanol y como consecuencia el valor de la actividad antirradical se ve reducido (Rosell y Betoret, 2020). Sin embargo, los valores de actividad antirradical determinada por los métodos ABTS y DPPH mostraron tendencias diferentes a los valores determinados mediante el método Folin Ciocalteu. Así el análisis multifactorial ANOVA determinó que los valores obtenidos de la actividad antirradical determinada por el método ABTS fueron significativamente diferentes ($p \leq 0.05$) dependiendo de la cantidad de *Cynara Cardunculus* y del tipo de almidón, mientras que el tipo de polvo no mostró diferencias significativas en este análisis pero sí en la actividad antirradical determinada por el método DPPH. En ambos casos la actividad antirradical aumentó de forma significativa en las suspensiones que contenían almidón y el aumento fue mayor en las suspensiones con almidón de maíz. Esto puede deberse a que el almidón interaccionó con los compuestos bioactivos del polvo vegetal tanto hidrófilos como hidrófobos, pero estas interacciones fueron diferentes a las llevadas a cabo con los compuestos fenólicos. En este caso, puede que se deba mayormente a la formación de puentes de hidrógeno en su mayoría (Cornejo y Rosell, 2015), los cuales facilitaron la estabilidad de los compuestos bioactivos en la suspensión y por tanto, se extrajeron y se determinaron fácilmente en ambos métodos.

TABLA 8. Actividad antirradical y compuestos fenólicos de las suspensiones acuosas vegetal-almidón. Los resultados se expresaron con una media y desviación estándar de 3 réplicas.

Tipo de cardo	Cantidad (g/100 g)	Almidón	Folin (mg gálico/g)	ABTS (mg Trolox/g)	DPPH (mg ascórbico/g)	
Verde	2	SIN	2,45 ± 0,29	0,83 ± 0,05	0,42 ± 0,02	
		Arroz	1,20 ± 0,70	0,73 ± 0,08	0,50 ± 0,03	
		Maíz	0,45 ± 0,46	1,18 ± 0,28	0,71 ± 0,11	
	4,5	SIN	4,53 ± 0,09	1,27 ± 0,10	0,95 ± 0,02	
		4,3	Arroz	1,67 ± 2,92	1,63 ± 0,14	0,92 ± 0,13
			Maíz	1,19 ± 2,31	1,71 ± 0,25	1,29 ± 0,13
Blanco	2	SIN	3,06 ± 0,11	0,75 ± 0,09	0,54 ± 0,18	
		Arroz	1,61 ± 0,29	0,81 ± 0,12	0,59 ± 0,18	
		Maíz	0,42 ± 0,97	1,16 ± 0,53	0,68 ± 0,41	
	4,5	SIN	4,11 ± 0,09	1,33 ± 0,08	0,84 ± 0,03	
		4,3	Arroz	2,39 ± 0,89	1,52 ± 0,05	0,85 ± 0,07
			Maíz	1,26 ± 0,55	1,70 ± 0,25	0,96 ± 0,06
p-value	Tipo de cardo (A)		0,1811	0,4601	0,0165	
	Cantidad de cardo (B)		0,0000	0,0000	0,0000	
	Tipo de almidón (C)		0,0000	0,0000	0,0000	
	AB		0,5241	0,7215	0,0000	
	AC		0,3922	0,9676	0,0007	
	BC		0,0543	0,0000	0,3371	
	ABC		0,2403	0,0275	0,2735	

En la tabla 9 puede observarse la cantidad de compuestos fenólicos totales y la actividad antirradical de las suspensiones tratadas térmicamente. El efecto del tratamiento térmico sobre los valores obtenidos con los tres métodos utilizados fue diferente, debido a que cada método permite caracterizar mayoritariamente a un tipo de compuestos. El análisis estadístico multifactorial, puso de manifiesto, con un 95 % de probabilidad, que el tipo de cardo, la cantidad de cardo y el tipo de almidón de la suspensión tuvieron un efecto significativo sobre los valores obtenidos de compuestos fenólicos totales y actividad antirradical. El efecto del tratamiento térmico sobre la cantidad total de compuestos fenólicos fue diferente en el cardo blanco y en el cardo verde. Con una degradación mayor, en general, de los compuestos fenólicos en el cardo blanco que en el verde. Probablemente las estructuras menos duras del cardo blanco se degradaron más fácilmente con la temperatura, disminuyendo su protección de los compuestos fenólicos. Además, en el caso del cardo verde, la adición de almidón provocó un aumento en la medida de

compuestos fenólicos, que no se degradaron con el tratamiento térmico sino que también se extrajeron más fácilmente. Esto pudo ser debido a que la energía térmica aplicada a la muestra líquida, aceleró la difusión de componentes del cardo hacia el disolvente. Este aumento fue mayor al aumentar la cantidad de vegetal a la suspensión, y fue mayor en las suspensiones que contenían almidón de maíz. El efecto del tratamiento térmico sobre la actividad antirradical medida mediante el método ABTS y que caracteriza fundamentalmente compuestos hidrófobos, se vio afectado por el tipo de cardo y el tipo de almidón de la suspensión, pero no por la cantidad de vegetal añadido. Las suspensiones sin almidón fueron aquellas en las que la degradación de los compuestos hidrófobos fue mayor. La adición de almidón supuso una protección de este tipo de compuestos frente a la temperatura. Las suspensiones que contenían almidón de maíz fueron las que experimentaron una degradación menor de compuestos hidrófobos. La actividad antirradical determinada mediante el método DPPH y que caracteriza mayoritariamente compuestos hidrófilos disminuyó en mayor medida en el cardo verde que en el cardo blanco. En este caso, el efecto del almidón se observó al añadir mayor cantidad de polvo vegetal, y las diferencias observadas debido al tipo de almidón fueron menores que en los otros casos, siendo ligeramente menor la degradación de compuestos hidrófilos en las suspensiones que contenían almidón de arroz.

En el tipo de polvo vegetal verde, la concentración de clorofila A en la muestra fue significativamente mayor que en la que contenía polvo vegetal blanco (tabla 10). La cantidad de *Cynara Cardunculus* en la muestra también hizo que existiera una diferencia notable. Cuanto mayor fue la cantidad de vegetal, más cantidad de clorofila A se presentó en la muestra. La mayor concentración de clorofila B apareció en la muestra del verde. Además, para las concentraciones de la clorofila B comparando los tipos de almidón, se vio que la muestra que tenía una mayor cifra fue la que contenía almidón de maíz. El *Cynara Cardunculus* blanco se obtiene privando de luz al vegetal durante su crecimiento, este hecho explicaría la disminución de clorofila y carotenos totales con respecto al de color verde.

TABLA 9. Actividad antirradical y compuestos fenólicos de las suspensiones acuosas vegetal-almidón tratadas térmicamente 50 °C durante 30 minutos. En cada celda, entre paréntesis*, se ha calculado el porcentaje de degradación de los compuestos fenólicos y la actividad antirradical. Los resultados se expresaron con una media y desviación estándar de 3 réplicas.

Tipo de cardo	Cantidad (g/100 g)	Almidón	Folin t.t. (mg gálico/g)	ABTS t.t. (mg Trolox/g)	DPPH t.t. (mg ascórbico/g)
Verde	2	SIN	2,16 ± 0,83 (-12%)	0,20 ± 0,09 (-76%)	0,02 ± 0,01 (-96%)
		Arroz	1,25 ± 1,16 (5%)	0,65 ± 0,29 (-11%)	0,02 ± 0,001 (-97%)
		Maíz	0,70 ± 1,07 (57%)	1,25 ± 0,36 (6%)	0,04 ± 0,02 (-94%)
	4,5	SIN	4,42 ± 0,51 (-2%)	0,20 ± 0,03 (-84%)	0,10 ± 0,02 (-90%)
		Arroz	3,89 ± 2,01 (134%)	1,71 ± 0,59 (-56%)	0,35 ± 0,04 (-62%)
		Maíz	3,15 ± 0,36 (164%)	1,32 ± 0,27 (-23%)	0,47 ± 0,11 (-64%)
Blanco	2	SIN	2,84 ± 0,74 (-7%)	0,18 ± 0,05 (-76%)	0,34 ± 0,08 (-38%)
		Arroz	0,59 ± 0,85 (-63%)	0,83 ± 0,37 (3%)	0,36 ± 0,14 (-40%)
		Maíz	0,16 ± 0,78 (-61%)	1,02 ± 0,60 (-12%)	0,37 ± 0,04 (-45%)
	4,5	SIN	4,35 ± 1,72 (6%)	0,19 ± 0,13 (-86%)	0,37 ± 0,02 (-55%)
		Arroz	0,75 ± 1,32 (-69%)	0,59 ± 0,44 (-61%)	0,42 ± 0,02 (-51%)
		Maíz	0,22 ± 0,24 (-82%)	1,23 ± 0,14 (-28%)	0,42 ± 0,004 (-57%)
p-value	Tipo de cardo (A)		0,0002	0,0247	0,0000
	Cantidad de cardo (B)		0,0000	0,2839	0,0000
	Tipo de almidón (C)		0,0000	0,0000	0,0000
	AB		0,0012	0,2579	0,0000
	AC		0,0049	0,0010	0,0025
	BC		0,7324	0,0007	0,0006
	ABC		0,4438	0,0005	0,0013

*El porcentaje de degradación se calculó utilizando la siguiente ecuación: (A1 – A0)/A0. Dónde: A es el valor de la actividad antirradical o cantidad de compuestos fenólicos; 0: hace referencia al valor antes del tratamiento térmico; 1: hace referencia al valor obtenido después del tratamiento térmico.

TABLA 10. Clorofila a, b y carotenos totales de las suspensiones acuosas vegetal-almidón. Los resultados se expresaron con una media y desviación estándar de 3 réplicas.

Tipo de cardo	Cantidad (g/100 g)	Almidón	Clorofila a (µg/mg)	Clorofila b (µg/mg)	Carotenos totales (µg/mg)	
Verde	2	SIN	0,09 ± 0,03	0,18 ± 0,07	0,01 ± 0,004	
		Arroz	0,10 ± 0,02	0,13 ± 0,07	0,01 ± 0,001	
		Maíz	0,08 ± 0,03	0,19 ± 0,06	0,01 ± 0,01	
	4,5	SIN	0,13 ± 0,04	0,24 ± 0,05	0,02 ± 0,01	
		4,3	Arroz	0,16 ± 0,06	0,22 ± 0,03	0,03 ± 0,01
			Maíz	0,18 ± 0,04	0,38 ± 0,06	0,02 ± 0,02
Blanco	2	SIN	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,06	0,003 ± 0,02	
		Arroz	0,04 ± 0,07	0,10 ± 0,11	0,004 ± 0,02	
		Maíz	0,06 ± 0,10	0,07 ± 0,20	0,02 ± 0,02	
	4,5	SIN	0,06 ± 0,01	0,07 ± 0,004	0,01 ± 0,002	
		4,3	Arroz	0,10 ± 0,01	0,16 ± 0,02	0,01 ± 0,001
			Maíz	0,08 ± 0,01	0,22 ± 0,03	0,01 ± 0,01
p-value	Tipo de cardo (A)		0,0005	0,0000	0,0361	
	Cantidad de cardo (B)		0,0034	0,0000	0,3738	
	Tipo de almidón (C)		0,3311	0,0038	0,6763	
	AB		0,2923	0,2373	0,1361	
	AC		0,9469	0,0306	0,3584	
	BC		0,7739	0,0288	0,6954	
	ABC		0,6210	0,9147	0,6641	

4. CONCLUSIONES

Este estudio demostró la viabilidad de utilizar el subproducto del *Cynara cardunculus* como base de un alimento funcional. La concentración de *Cynara cardunculus*, adición y tipo del almidón así como el efecto de los tratamientos térmicos resultaron elementos a tener en cuenta cuando se utiliza para la preparación de suspensiones acuosas. La adición de almidón jugó un papel importante en cuanto a la biodisponibilidad de los antioxidantes y compuestos fenólicos y en el efecto del tratamiento térmico sobre los mismos. La medida macroscópica de la transmitancia de la nube de la suspensión no reflejó el efecto sobre las propiedades microscópicas de los compuestos funcionales que se observan en las medidas de actividad antirradical y compuestos fenólicos totales. Es necesario continuar la investigación de tal manera que puedan relacionarse las

propiedades macroscópicas y microscópicas de las suspensiones vegetales, lo que facilitaría su aplicación industrial.

5 REFERENCIAS

- Álvarez, E. E. & Sánchez, P.G. (2006). *La fibra dietética*. Unidad de Dietética y Nutrición. Madrid: Hospital La Fuenfría.
- Association of Official Agricultural Chemists (2005). Productos Cárnicos: Cenizas totales por gravimetría. Método oficial: 920.153.
- Bas-Bellver, C., Barrera, C., Betoret, N. & Seguí, L. (2020). Turning Agri-Food Cooperative Vegetable Residues into Functional Powdered Ingredients for the Food Industry. Sustainability. Universidad Politècnica de Valencia (7-8).
- Beuchat, L.R. (1981). Microbial stability affected by water activity. *Cereal Foods World*, 26, 345-349.
- Bornhorst, G.M & Singh, R.P. (2014). Gastric Digestion In Vivo and In Vitro: How the Structural Aspects of Food Influence the Digestion Process. *Food Science and Technology*, 5, 111-132.
- Campbell, N.A. & Reece, J.B. (2007). Respuestas de las plantas a las señales internas y externas. *Biología* (791-794).
- Cartea, M.E., Francisco, M., Soengas, P. & Velasco, P. (2011). Phenolic Compounds in Brassica Vegetables. *Molecules*, 16, 251-280.
- Chantaro, P., Devahastin, S. & Chiewchan, N. (2008). Production of antioxidant high dietary fiber powder from carrot peels. *Food Science and Technology*, 41, 1989-1990.
- Copeland, L., Blazek, J., Salman, H., Tang, M.C.. (2009). Form and functionality of starch. *Food Hydrocolloids*, 23, 1527-1534.
- Cornejo, F. & Rosell, C. (2015). Physicochemical properties of long rice grain varieties in relation to gluten free bread quality. *Food Science and Technology*, xxx, 1-8.
- De Lucas Torres, M. (2010). Control Hormonal de la respuesta a la luz en *Arabidopsis thaliana*. Departamento de Biología Molecular de la Universidad Autónoma de Madrid (25-30).
- Del Caro, A., Piga, A., Pinna, I., Fenu, P. M., & Agabbio, M. (2004). Effect of drying conditions and storage period on polyphenolic content, antioxidant capacity, and ascorbic acid of prunes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4780-4784.
- Dere, S., Günes, T. & Sivaci, R. (1997). Spectrophotometric Determination of Chlorophyll - A, B and Total Carotenoid Contents of Some Algae Species Using Different Solvents. *J. of Botany*, 22, 13-17.
- Djantou, E.B., Mbofung, C.M.F., Scher, J., Phambu, N. & Morael, J.D. (2011). Alternation drying and grinding (ADG) technique: A novel approach for producing ripe mango powder. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 1585-1590.
- España, Boletín Oficial del Estado (1967). Real Decreto 2484/1967 por el que se aprueba el texto del Código Alimentario Español.
- España, Boletín Oficial del Estado (2016). Real Decreto 677/2016 por el que se aprueba la norma de calidad para las harinas, las sémolas y otros productos de la molienda de los cereales.
- España, Ministerio de agricultura, Pesca y Alimentación (2019). Anuario de estadística de hortalizas: Análisis provincial de superficie, rendimiento y producción, Sección 7.6.13.1.
- Fadhel, D.H. (2012). Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid in Aqueous Solutions. Department of Chemistry, College of Science, Al-Nahrain University, Baghdad-Iraq.
- Femenia, A., Lefebvre, C., Thebaudin, Y., Robertson, J.A. & Bourgeois, M. (2006). Physical and Sensory Properties of Model Foods Supplemented with Cauliflower Fiber. *Journal of Food Science*, 62, 635-639.
- Gularte, M. A., & Rosell, C. M. (2011). Physicochemical properties and enzymatic hydrolysis of different starches in the presence of hydrocolloids. *Carbohydrate Polymers*, 85, 237-244.

- Jadeja, R.N. & Tewari, A. (2008). Effect of soda ash industry effluent on protein content of two green seaweeds. *Journal of Hazardous Materials*, 151, 559-561.
- Jordon-Thaden, I.E. & Louda, S.M. (2003). Chemistry of *Cirsium* and *Carduus*: a role in ecological risk assessment for biological control of weeds?. *Biochemical systematics and ecology*, 31, 1353-1396.
- Labuza, T.P. (1980). The Effect of Water Activity on Reaction Kinetics of Food Deterioration. *Food Technology*, 34, 36-59.
- Laufenberg, G., Kunz, B. & Nystroem, M. (2003). Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations. *Bioresource Technology*, 87, 167-198.
- Lee, S.C., Prosky, L. & De Vries, J.W. (1992). Determination of Total, Soluble, and Insoluble Dietary Fiber in Foods—Enzymatic-Gravimetric Method, MES-TRIS Buffer: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 75, 395-416.
- Lichtenthaler, H.K. & Wellburn, A.R. (1985). Determination of Total Carotenoids and Chlorophylls A and B of Leaf in Different Solvents. *Biol. Soc. Trans.* 11. 591-592.
- Moraes-de-Souza, R.A., Oldoni, T.L.C., Regitano-d'Arce, M.A. & Alencar, S.M. (2009). Antioxidant activity and phenolic composition of herbal infusions consumed in Brazil. *Food Science and Technology*, 6, 41-47.
- Polydera, A.C., Stoforos, N.G., Taoukis, P.S. (2005). Effect of high hydrostatic pressure treatment on post processing antioxidant activity of fresh Navel orange juice. *Food Chemistry*, 91, 495-503.
- Raghavendra, S.N., Ramachandra Swamy, S.R., Rastogi, N.K., Raghavarao, K.S.M.S., Kumar, S., Tharanathan, R.N. (2006). Grinding characteristics and hydration properties of coconut residue: A source of dietary fiber. *Journal of Food Engineering*, 72, 281-286.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine* 26, 1231–1237.
- Real Decreto 677/2016, de 16 de diciembre, por el que se aprueba la norma de calidad para las harinas, las sémolas y otros productos de la molienda de los cereales. Ministerio de la Presidencia y para las Administraciones Territoriales «BOE» núm. 304, de 17 de diciembre de 2016 Referencia: BOE-A-2016-11951
- Robertson, J.A. & Eastwood, M.A. (1980). An Investigation of the Experimental Conditions Which Could Affect Water-holding Capacity of Dietary Fibre . *J. Sci. Food Agric*, 32, 819-825.
- Rodriguez-Lopez, A., Melgar, B., Conidi, C., Barros, L., Ferreira, I., Cassano, A., Garcia-Castello, E.M. (2020). Food industry by-products valorization and new ingredients: Cases of study. En *Sustainability of the Food System: sovereignty, waste and nutrients bioavailability*(71-99). Amsterdam (Netherlands): ELSEVIER.
- Rosell, C. & Betoret Valls, E. (2020). Effect of particle size on functional properties of *Brassica napobrassica* leaves powder. *Starch interactions and processing impact. Food Chemistry*, 8, 100-106.
- Salata, F., Golasi, I., Petitti, D., de Lieto Vollaro, E., Coppi, M., & de Lieto Vollaro, A. (2017). Relating microclimate, human thermal comfort and health during heat waves: An analysis of heat island mitigation strategies through a case study in an urban outdoor environment. *Sustainable Cities and Society*, 30, 79–96.
- Sánchez Pérez, J.A., Betoret Valls, N., Betoret Valls, E. & Molina Rosell, C. (2019). Aprovechamiento de las hojas de colinabo para la obtención de un polvo alimentario con propiedades funcionales. Trabajo de Fin de Máster (14-15). Universidad Politécnica de Valencia.
- Serrano, S., Rincón F. & García-Olmo, J. (2013). Cereal protein analysis via Dumas method: Standardization of a micro-method using the EuroVector Elemental Analyser. *Journal of Cereal Science*, 58, 31-36.
- Singleton, V.L., Orthofer, R & Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent . *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.

- United Nations Sustainable Development Summit (2015). Transforming our world: the 2030 Agenda for Sustainable Development.
- Velez, Z., Campinho, M.A., Guerra, Á.R., García, L., Ramos, P., Guerreiro, O., Felício, L., Schmitt, F. & Duarte, M. (2012). Biological Characterization of *Cynara cardunculus* L. Methanolic Extracts: Antioxidant, Anti-proliferative, Anti-migratory and Anti-angiogenic Activities. *Agriculture*, 2, 472-492.
- Villanueva-Suárez, M.J., Mateos-Aparicio, I., Pérez Cózar, M.L., Yokoyama, W. & Redondo-Cuenca, A. (2019). Hypolipidemic effects of dietary fibre from an artichoke by-product in Syrian hamsters. *En Journal of Functional Foods*, 56, 156-162.
- Wang, M, Simon, J.E., Aviles I.F., He, K., Zheng, Q. & Tadmor, Y. (2003). Analysis of Antioxidative Phenolic Compounds in Artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 601-608.
- Zhu, F. (2015). Interactions between starch and phenolic compounds. *Trends in Food Science & Technology*, 43, 129-143.
- Zuorro, A., Maffei, G. & Lavecchia, G. (2015). Reuse potential of artichoke (*Cynara scolymus* L.) waste for the recovery of phenolic compounds and bioenergy. *En Journal of Cleaner Production*, 111, 1-6.