



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE INGENIERÍA DE
ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para
el Desarrollo

EFECTO DE LAS CONDICIONES DE PROCESADO
SOBRE LA CINÉTICA DE SECADO Y LAS
PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DE TALLOS DE
BRÓCOLI

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Gestión de la Seguridad y Calidad
Alimentaria

AUTOR/A: Rejón Segura, Salvador

Tutor/a: Barrera Puigdollers, María Cristina

Cotutor/a: Betoret Valls, Noelia

Director/a Experimental: BAS BELLVER, CLAUDIA ISABEL

CURSO ACADÉMICO: 2021/2022

EFFECTO DE LAS CONDICIONES DE PROCESADO SOBRE LA CINÉTICA DE SECADO Y LAS PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DE TALLOS DE BRÓCOLI

Salvador Rejón Segura, Cristina Barrera Puigdollers¹, Noelia Betoret Valls¹, Claudia Bas-Bellver¹

Resumen

El desperdicio alimentario derivado de la industria hortofrutícola constituye un grave problema ambiental, económico y social. En el caso concreto del brócoli, gran parte de su peso lo constituye el tallo, que suele ser desechado a pesar de su elevado contenido en una gran variedad de compuestos bioactivos. Una alternativa para la revalorización de este residuo consiste en transformarlo en una harina, cuyas propiedades funcionales dependerán de la técnica de deshidratación empleada y de los tratamientos previos aplicados. Es por esto que el presente trabajo se plantea con el objetivo de evaluar el efecto de la intensidad del triturado (triturado o troceado) y de la fermentación con *Lactobacillus plantarum* spp. CECT 749 previa a la deshidratación mediante liofilización o secado con aire a 60 y 70 °C sobre las propiedades fisicoquímicas (incluidas las propiedades antioxidantes) de polvos procedentes de tallo de brócoli. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que la diferente intensidad de la desestructuración previa tiene un impacto similar sobre la velocidad de secado y las propiedades antioxidantes del polvo de tallo de brócoli. El secado con aire a 70 °C acortó el proceso de secado sin afectar negativamente al contenido en compuestos antioxidantes, llegando incluso a incrementar su actividad. La fermentación previa al secado incrementó notablemente la velocidad de secado, incrementando el contenido en fenoles y flavonoides totales. Sin embargo, la liofilización permitió obtener un polvo con mejores propiedades antioxidantes y mayor contenido microbiano, pudiéndose afirmar que se trata de polvos de tallo de brócoli con potencial efecto probiótico.

PALABRAS CLAVE: brócoli, secado, liofilización, valorización de subproductos, antioxidantes, probiótico, fermentación, funcional.

Resum

El desaprovechament alimentari derivat de la indústria hortofrutícola constitueix un greu problema ambiental, econòmic i social. En el cas concret del bròcoli, gran part del seu pes el constitueix la tija, que sol ser rebutjat malgrat el seu elevat contingut en una gran varietat de compostos bioactius. Una alternativa per a la revaloració d'aquest residu consisteix a transformar-lo en una farina, les propietats funcionals de la qual dependran de la tècnica de deshidratació emprada i dels tractaments previs aplicats. És per això que el present treball es planteja amb l'objectiu d'avaluar l'efecte de la intensitat del triturat (triturat o trossejat) i de la fermentació amb *Lactobacillus plantarum* spp. CECT 749 prèvia a la deshidratació mitjançant liofilització o assecat amb aire a 60 i 70 °C sobre les propietats fisicoquímiques (incloses les propietats antioxidants) de pólvors procedents de tija de bròcoli. Els resultats obtinguts posen de manifest que la diferent intensitat de la desestructuració prèvia té un impacte similar sobre la velocitat d'assecat i les propietats antioxidants de la pols de tija de bròcoli. L'assecat amb aire a 70 °C va acurtar el procés d'assecat sense afectar

¹ Universidad Politécnica de Valencia, Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo (IUIAD), Departamento Tecnología de Alimentos, Camino de Vera s/n, 46022, Valencia, España.

negativament el contingut en compostos antioxidants, arribant fins i tot a incrementar la seua activitat. La fermentació prèvia a l'assecat va incrementar notablement la velocitat d'assecat, incrementant el contingut en fenols i flavonoides totals. No obstant això, la liofilització va permetre obtindre una pols amb millors propietats antioxidants i major contingut microbià, podent-se afirmar que es tracta de pólvores de tija de bròcoli amb potencial efecte probiòtic.

PARAULES CLAU: bròcoli, assecat, liofilització, valorització de subproductes, antioxidants, probiòtic, fermentació, funcional.

Abstract

Food waste derived from the fruit and vegetable industry is a serious environmental, economic, and social problem. In the specific case of broccoli, much of its weight is made up of the stem, which is usually discarded despite its high content of a wide variety of bioactive compounds. An alternative for the revaluation of this residue consists of transforming it into flour, whose functional properties will depend on the dehydration technique used and the previous treatments applied. Therefore, the present work is proposed with the objective of evaluating the effect of the intensity of grinding (crushed or chopped) and fermentation with *Lactobacillus plantarum* spp. CECT 749 prior to dehydration by lyophilization or air drying at 60 and 70 °C on the physicochemical properties (including antioxidant properties) of powders from broccoli stem. The results obtained show that the different intensity of the previous destructuring has a similar impact on the drying speed and the antioxidant properties of the broccoli stem powder. Air drying at 70 °C shortened the drying process without negatively affecting the content of antioxidant compounds, even increasing their activity. The fermentation prior to drying notably increased the drying rate, increasing the content of total phenols and flavonoids. However, lyophilization allowed to obtain a powder with better antioxidant properties and higher microbial content, being able to affirm that it is broccoli stem powder with potential probiotic effect.

KEY WORDS: broccoli, drying, lyophilization, recovery of by-products, antioxidants, probiotic, fermentation, functional.

1. Introducción

El desperdicio alimentario es un tema de gran preocupación mundial debido a las consecuencias sociales, económicas y ambientales (FAO, 2020). Se estima que un tercio de los alimentos son desechados por el funcionamiento deficiente, ya sea del sistema o del marco legal e institucional (Polenta, 2020). Concretamente, en los canales de distribución de hortalizas aproximadamente un 30% del total (principalmente las partes no comestibles) se convierte en desperdicio o subproducto (Gustavsson et al., 2011; Sepúlveda et al., 2021).

Una de las soluciones para evitar la pérdida y el desperdicio de los residuos generados por la industria procesadora de frutas y hortalizas consiste en revalorizarlos (Sepúlveda et al., 2021).

Una de las hortalizas que genera mayor cantidad de residuos es el brócoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*), una crucífera que, debido a su elevado contenido en nutrientes con efecto beneficioso para la salud, ha visto

incrementado su consumo, tanto en fresco como procesado (Saavedra-Leos et al., 2021). Son varios los estudios epidemiológicos que identifican una correlación inversa entre el consumo de brócoli y el riesgo de padecer enfermedades tales como cáncer, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurológicas o diabetes (Kim et al., 2021; Mrkic et al., 2006). Entre los compuestos bioactivos del brócoli destacan los isotiocianatos, las antocianinas, los glucosinolatos, los fenoles, los flavonoides o las vitaminas (Dziki et al., 2020; Sepúlveda et al., 2021) debido a su implicación en la actividad antioxidante, la regulación enzimática o el control de la apoptosis y de los ciclos celulares (Saavedra-Leos et al., 2021). Estos compuestos suelen verse mermados como consecuencia del procesado (Campas-Baypoli et al., 2009; Thomas et al., 2018) (Ciešlik et al., 2007). Sin embargo, determinados tratamientos resultan en una mayor bioconversión de la glucorafina en sulforafano, isotiocianato reconocido como el compuesto anticancerígeno más efectivo de todos los presentes de forma natural en los alimentos (Pérez et al., 2014). Algo similar sucede durante la fermentación (Palani et al., 2016) (Bekhit et al., 2013). Entre los microorganismos implicados en los procesos fermentativos, *Lactobacillus plantarum* es la especie más utilizada para fermentar sustratos de origen vegetal debido a que produce gran cantidad de enzimas activas, como amilasas, β -glucosidasas, descarboxilasas, lactatodeshidrogenasas, peptidasas, descarboxilasas de ácido fenólico, fenol reductasas, proteinasas y tanasas (Domínguez et al., 2011).

Actualmente, en España se producen alrededor de 600.000 toneladas de brócoli al año (AEE, 2020), de las cuales solo el 10-15% se destinan al consumo humano (Liu et al., 2018). Concretamente el tallo, que representa en torno al 38% de la biomasa aérea total de la planta, se descarta por estar excesivamente lignificado (Petkowicz y Williams, 2020). Una alternativa para la revalorización de este residuo consiste en transformarlo en una harina mediante deshidratación, trituration y tamizado (Campas-Baypoli et al., 2009; Sepúlveda et al., 2021). En este proceso, la deshidratación tiene como objetivo minimizar el deterioro mediante la reducción del contenido y la actividad del agua (Kim et al., 2021; Mrkic et al., 2006), así como reducir los costes de almacenamiento y transporte. Entre las técnicas de deshidratación, el secado con aire caliente es la más empleada. Además, el secado promueve las reacciones de oxidación, por las que algunos compuestos con un estado de oxidación intermedio ven incrementada su capacidad de captación de radicales (Mrkic et al., 2006). Para preservar el valor nutritivo de los alimentos, las condiciones de secado (temperatura y humedad relativa del aire, densidad de carga, tipo de contacto entre el aire y el material a secar, etc.) deben seleccionarse con el fin de reducir al mínimo la degradación térmica de los compuestos bioactivos presentes en los mismos (Saavedra-Leos et al., 2021). Como alternativa al secado con aire caliente, la liofilización se presenta como una técnica de secado prometedora que mantiene la apariencia, la forma, el sabor y las actividades biológicas de los alimentos (Kim et al., 2021). Por su parte, los tratamientos previos al secado, entre los que se incluye la trituration de la muestra, también ejercen un papel decisivo sobre las propiedades funcionales de los productos deshidratados. La intensidad del triturado afecta directamente al tiempo de secado o de exposición a la corriente de aire y, por tanto, al contenido en compuestos con actividad biológica (Bas-Bellver et al., 2019). Además, la molienda facilita la extracción de compuestos bioactivos y aumenta su biodisponibilidad. Esto ha sido constatado

en el contenido y en la actividad de los compuestos antioxidantes presentes en diferentes tejidos de brócoli (Dziki et al., 2020).

Por todo lo comentado anteriormente, el objetivo de este trabajo final de máster consistió en evaluar el efecto del procesado sobre las propiedades fisicoquímicas (incluidas las propiedades antioxidantes) de polvos procedentes de tallo de brócoli. Concretamente, se estudió el efecto de la intensidad del triturado (triturado o troceado) y de la fermentación con *Lactobacillus plantarum* spp. CECT 749 previa a la deshidratación mediante liofilización o secado con aire a 60 y 70 °C. Durante el secado convectivo, también se analizó el efecto de estas mismas variables sobre la forma de las curvas de secado y de velocidad de secado, así como sobre los parámetros cinéticos resultantes del ajuste de diferentes modelos matemáticos a los datos experimentales.

2. Material y métodos

2.1. Material vegetal

Como materia prima se utilizó brócoli fresco adquirido en un supermercado de la ciudad de Valencia (España). En primer lugar, se separaron las flores del tallo de forma manual. A continuación, se lavaron los tallos de brócoli por inmersión en agua con hipoclorito sódico a una concentración de 200 ppm durante 5 min. Una vez desinfectados, los tallos se escaldaron mediante inmersión en agua a 72 °C durante 1 min con el fin de reducir la carga microbiana autóctona.

2.2. Cepa microbiana

Para la fermentación del tallo de brócoli se utilizó la cepa CECT 749 de *Lactobacillus plantarum* spp. adquirida en la Colección Española de Cultivo Tipo (CECT, Valencia, España). El primer paso consistió en reactivar las células congeladas, para lo cual éstas se inocularon en 250 mL de caldo MRS estéril (PanReac Química S.L.U., Barcelona, España) que posteriormente se incubó a 37 °C durante 24 h. De esta forma se obtuvo el inóculo inicial con una concentración del orden de 8 log UFC/mL.

2.3. Proceso de obtención de los polvos

Una vez desinfectados y escaldados, los tallos enteros se introdujeron en un procesador de alimentos Thermomix® (Vorwerk, España) donde se sometieron a 10.000 rpm durante 30 s, para obtener tallo de brócoli triturado (TRI), o a 10.000 rpm durante 10 s, para obtener tallo de brócoli troceado (TRO).

A continuación, parte del tallo de brócoli triturado se fermentó con la cepa CECT 749 de *Lactobacillus plantarum* spp. Para ello, se introdujeron 100 g de muestra en envases de vidrio estériles con tapa y se agregó 1 mL del inóculo obtenido previamente. Los tarros con el tallo inoculado se incubaron en estufa a 37 °C durante 24 h hasta obtener una población microbiana en torno a 7 log UFC/g.

Para reducir el contenido en agua y aumentar su estabilidad, los tallos de brócoli troceados y triturados, fermentados y sin fermentar, fueron secados con aire caliente (SAC) a 60 ó 70°C o liofilizados (LIO) hasta alcanzar valores de

actividad del agua (a_w) inferiores a 0,3. Para la liofilización, el material vegetal se almacenó a $-40\text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 h en un ultracongelador (Matek CVN-40/105) previamente a la sublimación del agua congelada en condiciones de congelación y presión subatmosférica ($P = 0,1\text{ mbar}$) en un liofilizador de planta piloto (Telstar, mod. Lioalfa-6) durante otras 24 h. Para el secado con aire caliente se empleó un secador de bandejas convectivo (Pol-ekoAparatura, Katowice, Polonia). Con el objeto de obtener las curvas de secado y de velocidad de secado de las diferentes muestras, éstas se distribuyeron en rejillas de plástico y se registró la variación de peso cada 30 min, durante las 6 primeras horas, y cada hora, hasta completar las 24 h. Tras las 6 primeras horas de secado se midió también la actividad del agua cada hora hasta alcanzar un valor objetivo inferior a 0,3. A partir de estas medidas se estimaron los tiempos óptimos de secado que resultaron ser: 10 h para el tallo de brócoli troceado o triturado y secado a $60\text{ }^\circ\text{C}$ (muestras TRO60 y TRI60), 7 h para el tallo de brócoli fermentado y secado a $60\text{ }^\circ\text{C}$ y para el tallo de brócoli troceado y secado a $70\text{ }^\circ\text{C}$ (muestras FERM60 y TRO70), 6 h para el tallo de brócoli triturado y secado a $70\text{ }^\circ\text{C}$ (muestras TRI70) y 5 h para el tallo de brócoli fermentado y secado a $70\text{ }^\circ\text{C}$ (muestras FERM70).

Una vez deshidratados los tallos, se obtuvo un polvo fino mediante una segunda molienda con el procesador Thermomix® a 10.000 rpm durante 20 segundos. Finalmente, los polvos de tallo de brócoli se almacenaron a temperatura ambiente en tarros de cristal cerrados y envueltos con papel de aluminio hasta el momento de análisis.

En la figura 1 se muestra el diagrama de flujo correspondiente al proceso de obtención de los diferentes tipos de polvo.

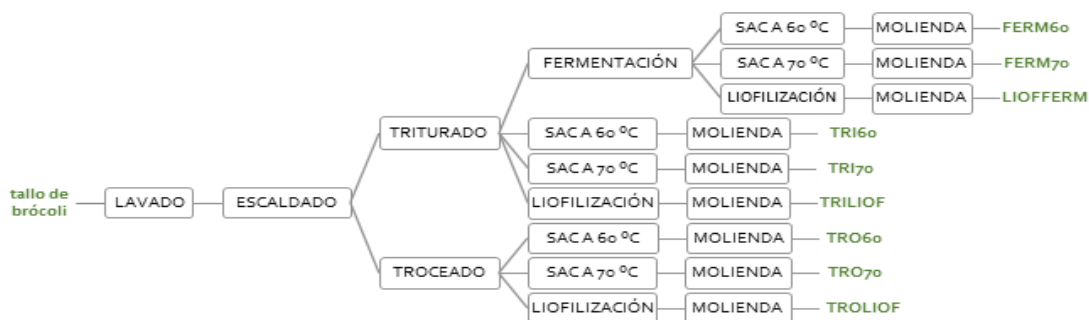


FIGURA 1. Diagrama de flujo del proceso de obtención de los diferentes polvos a partir de tallo de brócoli.

2.4. Determinaciones analíticas

Los polvos de tallo de brócoli obtenidos se caracterizaron fisicoquímicamente en términos de humedad, actividad del agua, tamaño de partícula y propiedades antioxidantes. A continuación, se describe la metodología empleada para cada determinación.

2.4.1. Humedad

La humedad se determinó siguiendo el procedimiento gravimétrico de doble pesada para alimentos ricos en azúcares (AOAC 934.06, 2000), basado en la eliminación del agua presente en una cantidad conocida de muestra mediante secado en estufa a vacío. Para ello, se introdujeron las muestras en crisoles que se secaron a $60\text{ }^\circ\text{C}$ y 133 mbar (Vaciotem, J.P. Selecta, Barcelona, España)

hasta alcanzar peso constante. Todas las pesadas se obtuvieron con una balanza de 1 mg de precisión (Mettler Toledo Inc., Barcelona, España).

2.4.2. Actividad del agua (a_w)

Para determinar la actividad del agua (a_w) se utilizó un higrómetro de punto de rocío (Aqualab 4TE; Decagondevices Inc., Pullman WA, USA) con una precisión de $\pm 0,003$ a una temperatura ambiente de 25 °C, calibrado previamente.

2.4.3. Tamaño de partícula

El tamaño de partícula se determinó, tanto por vía seca como por vía húmeda, utilizando un equipo de difracción láser modelo Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Limited, Worcester, Gran Bretaña) en un intervalo comprendido entre 0,02 y 2000 μm . Para la medida por vía seca, se acopló el equipo a una unidad de manipulación de muestra Scirocco 2000, empleando un sistema que utiliza aire seco como agente dispersante a 2,5 bar de presión y con un 60% de agitación. Para la medida por vía húmeda, el equipo se acopló a una unidad Hydro 2000, empleando un sistema que utiliza agua desionizada como agente dispersante. El análisis se llevó a cabo con un índice de refracción de 1,53 para la muestra y 1,35 para la fase dispersa, y un índice de absorción de 0,1.

El valor obtenido en la distribución del tamaño de partícula corresponde con el porcentaje de volumen total de todas las partículas con un diámetro situado en un intervalo de tamaño determinado, con respecto al volumen total de partículas de la distribución. Una vez realizados los análisis, el tamaño de partícula se caracterizó a través de los siguientes parámetros:

- D [4,3]: diámetro equivalente calculado a partir del volumen de las partículas.
- D [3,2]: diámetro equivalente calculado a partir del área superficial de las partículas.
- d10, d50 y d90: representan los percentiles de la distribución, es decir, el tamaño de partícula para el cual el 10%, 50% y 90% de su distribución está bajo dicha medida, respectivamente.

2.4.4. Propiedades antioxidantes

Para extraer los compuestos antioxidantes de los diferentes polvos de brócoli estos se mezclaron en una relación 1:10 (m/v) con una disolución de metanol y agua bidestilada en una proporción 80:20 (v/v). La mezcla de polvos y disolvente estuvo en agitación en oscuridad durante una hora en un agitador horizontal (COMECTA WY-100). Posteriormente, la mezcla se centrifugó durante 5 min a 10.000 rpm (Medifriger BL-S, P-Selecta). Para realizar los análisis se tomó el sobrenadante obtenido tras la centrifugación.

CONTENIDO EN FENOLES TOTALES

El contenido en fenoles totales se cuantificó por el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999; Wolfe et al., 2003), que mide la intensidad de coloración producida por la interacción entre dicho reactivo y los compuestos fenólicos, a una longitud de onda de 760 nm. Una vez

realizada la extracción de los compuestos antioxidantes y, tras diferentes pruebas, se determinó preparar una dilución 1:3 (v/v) del extracto para todas las muestras salvo para el tallo de brócoli liofilizado, para el que se usó una dilución 1:8 (v/v).

Para los análisis, se mezclaron en una cubeta de espectrofotometría 0,125 mL de la muestra diluida y 0,5 mL de agua bidestilada, seguido de 0,125 mL del reactivo Folin-Ciocalteu. La reacción tuvo lugar en oscuridad durante 6 min. A continuación, se añadieron 1,25 mL de carbonato sódico (Na_2CO_3) al 7% y 1 mL de agua bidestilada. Esta preparación se dejó durante 90 min en oscuridad, durante los cuales se desarrolló completamente el color. Pasado este tiempo, se midió la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro Helios Zeta UV/Vis (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Como referencia se realizó un blanco en el que el volumen de la muestra fue sustituido por metanol al 80% (v/v) en agua bidestilada. Para poder comparar los valores de absorbancia obtenidos, se realizó una curva patrón de ácido gálico (pureza $\geq 98\%$; Sigma-Aldrich) en el intervalo de concentraciones comprendido entre 0 y 0,4 g/L. Los resultados se expresaron como miligramos de ácido gálico equivalentes por gramo de materia seca (mg AGE/g ms).

CONTENIDO EN FLAVONOIDES TOTALES

Para realizar la determinación de flavonoides totales se siguió el método colorimétrico modificado del cloruro de aluminio (AlCl_3) (Luximon-Ramma et al., 2002). Tras la extracción de los compuestos antioxidantes, se realizó una dilución 1:5 (v/v) del extracto para cada tipo de polvo excepto para el tallo liofilizado, del que se obtuvo una dilución 1:15 (v/v). A continuación, se mezclaron 1,5 mL de la muestra diluida con 1,5 mL de la disolución de AlCl_3 al 2% (m/v) en metanol, capaz de reaccionar con los flavonoides y desarrollar un color amarillo. La mezcla se dejó en oscuridad durante 30 min, tras los que se midió la absorbancia a 368 nm con un espectrofotómetro Helios Zeta UV/Vis (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Se realizó un blanco sustituyendo la muestra por metanol al 80% (v/v) en agua bidestilada. Los resultados de absorbancia se compararon con una curva patrón de quercetina (pureza $\geq 95\%$; Sigma-Aldrich) en el intervalo de concentraciones comprendido entre 0 y 0,2 g/L. El contenido en flavonoides totales se expresó en miligramos de quercetina equivalentes por gramo de materia seca (mg QE/g ms).

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE: MÉTODOS DPPH Y ABTS

La actividad antioxidante se evaluó siguiendo los métodos de los radicales libres DPPH (1,1 diphenyl-2-picryl hydrazyl) y ABTS (ácido 2,20-azobis-3-etil benzotiazolin-6-sulfónico). Antes de realizar estos ensayos se procedió a la extracción de los antioxidantes contenidos en las diferentes muestras como se ha comentado anteriormente. Tras esto, y después de varias pruebas, para evaluar la capacidad antioxidante mediante DPPH se decidió preparar una dilución 1:3 (v/v) de todas las muestras excepto para el tallo liofilizado, del que se realizó una dilución 1:5 (v/v). Por otro lado, para las medidas por el método del radical ABTS se realizó una dilución 1:20 (v/v) en todas las muestras excepto para el tallo liofilizado, del que se realizó una dilución 1:30 (v/v).

La capacidad antioxidante por el método del radical DPPH se determinó siguiendo el análisis descrito por Shahidi et al. (2006) con algunas modificaciones. Se basa en el cambio de absorbancia/coloración de la disolución púrpura de DPPH, cuando reacciona con un compuesto antioxidante, que se mide espectrofotométricamente a 515 nm (Martínez-Las Heras et al., 2017). Para ello, en cada cubeta se adicionaron 0,1 mL de la muestra diluida y 2,9 mL de la disolución 0,06 mM de DPPH en metanol. La mezcla se dejó reaccionar durante 1,5 h, midiendo la absorbancia cada 30 min con un espectrofotómetro (Helios Zeta UV/Vis, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Como referencia se empleó un blanco en el que la muestra fue reemplazada por metanol al 80% (v/v) en agua bidestilada. Los resultados se expresaron como miligramos de trólox equivalentes por gramo de materia seca (mg ET/g ms), obtenidos a partir del porcentaje de inhibición para el antioxidante de referencia trólox (pureza \geq 97%; Sigma-Aldrich) en el intervalo de concentraciones comprendido entre 0 y 400 mg/L.

El método del radical ABTS o TEAC se aplicó según el procedimiento descrito por Re et al. (1999). Para ello, se preparó una disolución de ABTS 7 mM (pureza \geq 99%; Sigma- Aldrich) en persulfato potásico 2,45 mM, que permaneció en oscuridad durante 16 h y a temperatura ambiente, con la finalidad de liberar el radical ABTS⁺. A continuación, la disolución se diluyó en tampón fosfato hasta obtener una absorbancia de $0,70 \pm 0,02$ medida a 734 nm. Posteriormente, en cada cubeta del espectrofotómetro se añadieron 90 μ l de la muestra diluida y 2,9 mL de la disolución de ABTS⁺ en tampón fosfato. Las absorbancias se midieron a 734 nm tras 1, 5 y 10 min de reacción, tomándose el tiempo 10 min como definitivo. Como referencia se analizó un blanco en el que la muestra se reemplazó por metanol al 80% (v/v) en agua bidestilada. Los resultados obtenidos se expresaron como miligramos de trólox equivalentes por gramo de materia seca (mg ET/g ms), utilizando la recta de calibrado de trólox (C₁₄H₁₈O₄) (pureza \geq 97%; Sigma-Aldrich) como antioxidante estándar de referencia, en el intervalo de concentraciones comprendido entre 0 y 500 mg/L.

2.4.5. Recuento microbiano

El contenido de células de *L. plantarum* spp. CECT 749 viables se analizó mediante dilución seriada de 10^{-1} hasta 10^{-8} con agua de peptona tamponada, siembra en agar MRS e incubación a 37 °C durante 24-48 h. Para obtener la primera dilución se mezclaron 3 g de muestra sólida y 27 mL de agua de peptona tamponada estéril en una bolsa de stomacher y la mezcla se homogeneizó durante 3 min. Posteriormente se inocularon en superficie de placas de agar MRS y se incubaron durante el tiempo indicado. Tras las 24 se realizó el recuento de las colonias presentes en las placas sembradas con diferentes diluciones.

2.4.6. Análisis estadístico

Se llevó a cabo con el software Statgraphics Centurión XVII (Statpoint Technologies, Virginia, US), aplicando análisis de varianza simple (ANOVA) y multifactorial con un nivel de confianza del 95% (p -valor $<$ 0,05).

3. Resultados y discusión

3.1 Curvas de secado y curvas de velocidad de secado

En la figura 2 se muestran las curvas de secado de tallo de brócoli correspondientes a las diferentes condiciones de proceso ensayadas. Estas curvas representan la evolución con el tiempo del cociente entre la humedad en cada instante del proceso (X^w_t) y la humedad inicial (X^w_0), expresadas ambas en base seca (kg w/kg ss).

Por un lado, el tiempo necesario para reducir hasta un determinado valor el contenido en agua de las muestras sometidas a un mismo tratamiento previo disminuyó al aumentar de 60 a 70 °C la temperatura del aire de secado.

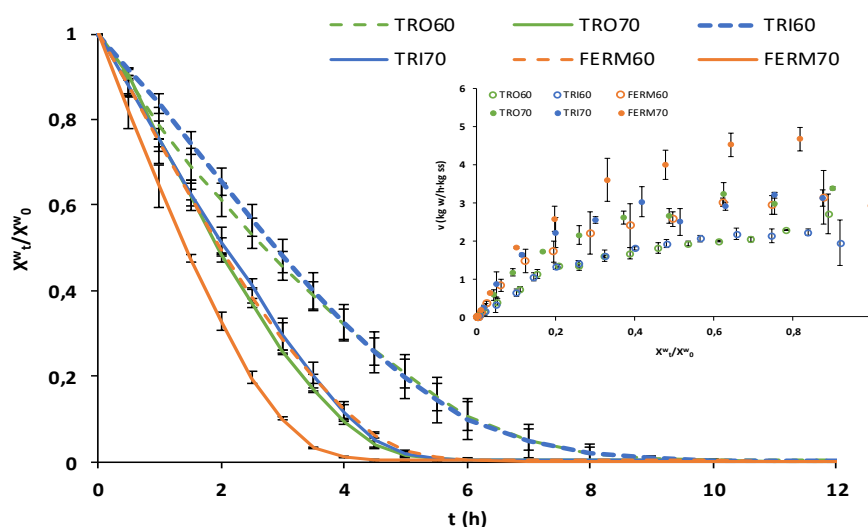


FIGURA 2. Curvas de secado y de velocidad de secado de tallo de brócoli troceado (TRO) o triturado (TRI), fermentado y sin fermentar (FERM), y secado con aire a 60 y 70 °C.

En relación con el tratamiento previo al secado, no se observan diferencias notables entre las curvas de secado de los tallos de brócoli troceados y triturados que se secaron a la misma temperatura. Por el contrario, la fermentación de los tallos triturados sí supuso un descenso importante en el tiempo necesario para reducir la humedad de las muestras. Esto podría deberse a la capacidad de las bacterias del ácido láctico para producir enzimas, tales como celulasas y glicosidasas, que degradan los polisacáridos de la pared celular, de manera que se reduce la resistencia que ofrece el tejido al transporte de agua a su través (Sharma et al., 2020).

A partir de las curvas de secado se obtuvieron los valores de humedad de las muestras en equilibrio con la corriente de aire (X^w_{eq}). Estos valores resultaron del mismo orden para las muestras trituradas y troceadas, pero disminuyeron significativamente con la fermentación y con la temperatura de secado: de 0,027 a 0,018 kg w/kg ss en las muestras secadas con aire a 60 °C y de 0,018 a 0,011 kg w/kg ss en las muestras secadas con aire a 70 °C.

En la figura 2 se incluyen las curvas de velocidad de secado de tallo de brócoli para las diferentes condiciones de proceso ensayadas. Estas curvas se construyeron a partir de las curvas de secado cuya pendiente, calculada entre dos tiempos consecutivos como el cociente entre el incremento de humedad

expresada en base seca ($X^w_t - X^w_{t+1}$) y el incremento de tiempo ($t+1 - t$), se representó frente a la humedad media en el intervalo $((X^w_t + X^w_{t+1}) / 2)$ referida a la humedad media inicial, expresadas ambas en base seca (kg w/kg ss). El secado de los tallos de brócoli comenzó con un periodo de velocidad de secado constante (PVSC), en el que el secado está controlado por la velocidad con la que el agua es eliminada desde la superficie del sólido. En este periodo se elimina el agua libre o poco ligada y el riesgo de deterioro del material por exposición a altas temperaturas es bajo. A partir de un determinado instante, el reemplazo del agua evaporada de la superficie del sólido por agua procedente del interior de éste deja de ser inmediato, de manera que empiezan a aparecer zonas secas. A medida que disminuye la superficie mojada, la cantidad de energía empleada en calentar el sólido aumenta y la disponible para evaporar agua disminuye, por lo que la velocidad de secado en este periodo es decreciente (PVSD) y el riesgo de degradación de compuestos termolábiles elevado. El instante que define el paso de un periodo de velocidad de secado constante a un periodo de velocidad de secado decreciente se denomina instante crítico (t_c) y el contenido en agua del sólido en dicho instante se denomina humedad crítica (X^w_c). En la tabla 1 se muestran sus valores, junto a los de velocidad de secado en el periodo de velocidad de secado constante. En términos generales, la duración del periodo de velocidad de secado constante disminuyó al aumentar la temperatura de secado y al aplicar un tratamiento de fermentación previo. De nuevo, como se ha comentado anteriormente, no se aprecian diferencias significativas (p -valor $< 0,05$) entre los valores de velocidad de secado en el periodo de velocidad de secado constante obtenidos a partir de las curvas de secado de muestras trituradas y troceadas secadas a la misma temperatura. Sin embargo, el valor de la humedad crítica sí se vio significativamente afectado por la intensidad de la desestructuración previa, pero de forma diferente en función de la temperatura de secado.

TABLA 1. Valores de tiempo crítico (t_c), humedad crítica (X^w_c) y velocidad de secado en el periodo de velocidad de secado constante (v_{PVSC}) de muestras de tallo de brócoli en función del pretratamiento y la temperatura de secado.

TRATAMIENTO	t_c (h)	X^w_c (kg w/kg ss)	v_{PVSC} (kg w/h · kg ss)
TRO60	3	5,81 ± 0,05 ^a	2,2 ± 0,4 ^a
TRI60	2,5	6,8 ± 0,3 ^b	2,08 ± 0,12 ^a
FERM60	1,5	7,4 ± 0,2 ^b	3,00 ± 0,10 ^b
TRO70	1,5	7,3 ± 0,2 ^b	3,0 ± 0,5 ^b
TRI70	2,5	5,4 ± 0,2 ^a	3,0 ± 0,3 ^b
FERM70	1	8,7 ± 0,6 ^c	4,7 ± 0,2 ^c

^{a,b,c}... diferentes superíndices en la misma fila indican diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% (p -valor $< 0,05$)

3.2. Modelización de las curvas de secado

El ajuste de las curvas de secado al modelo es necesario para investigar las características de secado del tallo de brócoli. Por ello, los datos experimentales correspondientes al periodo de velocidad de secado decreciente obtenidos para las muestras de tallo de brócoli secadas a diferentes temperaturas y pretratamientos se ajustaron a 5 modelos de secado de capa fina indicados en la tabla 2 (Kumar et al., 2012). En estos modelos, MR representa la relación de humedad adimensional o fuerza impulsora reducida (ecuación 1).

$$MR = \frac{X_t^w - X_{eq}^w}{X_c^w - X_{eq}^w} \quad \text{ecuación 1}$$

donde:

X_t^w es la humedad en base seca del producto en un instante determinado, X_c^w es la humedad crítica del producto expresada en base seca, que coincide con la humedad en base seca en el instante inicial del periodo de velocidad de secado decreciente, y X_{eq}^w representa la humedad en base seca del producto en el instante en que se alcanza el equilibrio con la corriente de aire.

TABLA 2. Modelos empleados para analizar la cinética de secado de tallo de brócoli durante el periodo de velocidad de secado decreciente.

MODELO	ECUACIÓN
Lewis (1)	$MR = \exp(-k \cdot t)$
Henderson & Pabis (2)	$MR = a \cdot \exp(-k \cdot t)$
Lineal (3)	$MR = -k \cdot t + a$
Page (4)	$MR = \exp(-k \cdot t^n)$
Difusional (5)	$MR = \frac{8}{\pi^2} \cdot \exp\left(-\frac{D_{ef} \cdot \pi^2 \cdot t}{4 \cdot l^2}\right)$

a y n son las constantes de los modelos cinéticos, k es el coeficiente de velocidad, D_{ef} es la difusividad efectiva o aparente y l es el semiespesor.

En la tabla 3 se muestran los parámetros resultantes del ajuste lineal de los datos experimentales obtenidos en el periodo de velocidad de secado decreciente a las ecuaciones de cada uno de los modelos empleados.

TABLA 3. Parámetros resultantes del ajuste de los modelos matemáticos a los datos de secado de tallo de brócoli durante el periodo de velocidad de secado decreciente.

modelo	TRO60	TRI60	FERM60	TRO70	TRI70	FERM70	
(1)	k (h ⁻¹)	0,61 ± 0,12 ^a	0,6 ± 0,2 ^a	0,80 ± 0,13 ^b	0,985 ± 0,010 ^{bc}	1,14 ± 0,08 ^{cd}	1,26 ± 0,06 ^d
	SSE	0,0318	0,0294	0,0379	0,0362	0,0266	0,0393
(2)	k (h ⁻¹)	0,71 ± 0,15 ^a	0,7 ± 0,2 ^a	1,07 ± 0,02 ^b	1,155 ± 0,003 ^b	1,20 ± 0,04 ^b	1,45 ± 0,05 ^b
	a	1,5 ± 0,2 ^a	1,5 ± 0,2 ^a	1,74 ± 0,06 ^a	1,77 ± 0,07 ^a	1,2 ± 0,2 ^a	1,72 ± 0,03 ^a
	SSE	0,0519	0,0497	0,0791	0,0755	0,0265	0,0822
(3)	k (h ⁻¹)	0,167 ± 0,002 ^b	0,154 ± 0,003 ^a	0,224 ± 0,007 ^c	0,282 ± 0,002 ^d	0,282 ± 0,009 ^d	0,334 ± 0,003 ^e
	a	1,36 ± 0,02 ^c	0,83 ± 0,03 ^a	0,860 ± 0,005 ^{ab}	1,329 ± 0,005 ^c	0,83 ± 0,05 ^a	0,90 ± 0,02 ^b
	SSE	0,1612	0,0315	0,0289	0,1228	0,0625	0,0624
(4)	k (h ⁻¹)	0,36 ± 0,04 ^a	0,35 ± 0,05 ^a	0,503 ± 0,005 ^{ab}	0,57 ± 0,02 ^{bc}	0,8 ± 0,2 ^d	0,73 ± 0,08 ^{cd}
	n	1,31 ± 0,06 ^a	1,30 ± 0,08 ^a	1,420 ± 0,005 ^{ab}	1,41 ± 0,02 ^{ab}	1,31 ± 0,10 ^{ab}	1,46 ± 0,05 ^b
	SSE	0,0597	0,0057	0,0089	0,0080	0,0060	0,0069
(5)	$D_{ef} \times 10^9$ (m ² /s)	1,6 ± 0,6 ^a	1,5 ± 0,4 ^a	2,35 ± 0,02 ^b	2,58 ± 0,07 ^{bc}	3,0 ± 0,2 ^{cd}	3,34 ± 0,14 ^d
	SSE	0,049	0,045	0,052	0,050	0,028	0,053

a,b,c... diferentes superíndices en la misma fila indican diferencias significativas con un nivel de confianza del 95%.

Los valores de difusividad efectiva obtenidos en este estudio a partir del primer término de la solución analítica a la segunda ley de Fick de la difusión propuesta por Crank (1975) para una geometría de lámina infinita y tiempos largos de tratamiento resultaron del mismo orden que los obtenidos por otros autores en productos similares. Según Mahn et al. (2011), la difusividad efectiva de floretes frescas de brócoli oscila entre $2,82 \times 10^{-10}$ y $2,00 \times 10^{-9}$ m²/s, pudiendo

aumentar hasta un valor promedio de $4,9 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ (Reyes et al., 2012) o incluso hasta valores comprendidos entre $1,99 \times 10^{-8}$ y $3,56 \times 10^{-8} \text{ m}^2/\text{s}$ (Doymaz, 2012). En relación con el efecto de las variables de proceso consideradas, el análisis estadístico confirmó que aumentar de 60 a 70 °C la temperatura del aire de secado o aplicar una etapa de fermentación previa al secado aumentan significativamente el valor de la difusividad efectiva del agua. Sin embargo, apenas se encontraron diferencias entre los valores de difusividad efectiva de agua de muestras troceadas y trituradas secadas a la misma temperatura.

Basándonos en el valor del error estándar estimado (SSE), se podría afirmar que el modelo de Page es el que mejor describe la variación en la humedad durante el periodo de velocidad de secado decreciente. Analizando los parámetros característicos de este modelo se observa que los valores de k , relacionados con el coeficiente de difusión y la geometría de la muestra (Simpson et al., 2017), toma valores comprendidos entre 0,35 y 0,82 h^{-1} , mientras que los valores de n , relacionados con el tipo de difusión y la microestructura del alimento (Simpson et al., 2017), varían entre 1,30 y 1,46. Estos valores resultan del mismo orden aunque no exactamente iguales a los obtenidos por Salim et al. (2016) durante el secado de tallos de brócoli pelados y cortados en rodajas de 6 mm de espesor con aire a 40 ($k = 0,12 \text{ h}^{-1}$ y $n = 1,205$), 50 ($k = 0,138 \text{ h}^{-1}$ y $n = 1,230$) y 60 °C ($k = 0,144 \text{ h}^{-1}$ y $n = 1,288$). Se aprecia que, al igual que se ha comentado anteriormente para el coeficiente de difusión, el valor de k aumenta al elevar de 60 a 70 °C la temperatura del aire de secado y al fermentar el tallo de brócoli previamente a su secado. Aunque la intensidad de la desestructuración previa no afectó significativamente al valor del parámetro k en las muestras secadas a 60 °C, durante el secado con aire a 70 °C el triturado resultó en valores de k significativamente más elevados que el troceado y del mismo orden que la fermentación. Al ser los valores del coeficiente n superiores a 1 en todos los casos, se puede afirmar que el secado de tallo de brócoli en las condiciones estudiadas es un proceso de super-difusión (Simpson et al., 2017). Para las muestras secadas a una misma temperatura, el valor de n no se vio afectado de forma significativa por la intensidad de la desestructuración previa, pero, en línea con lo comentado anteriormente, sí aumentó significativamente con la fermentación.

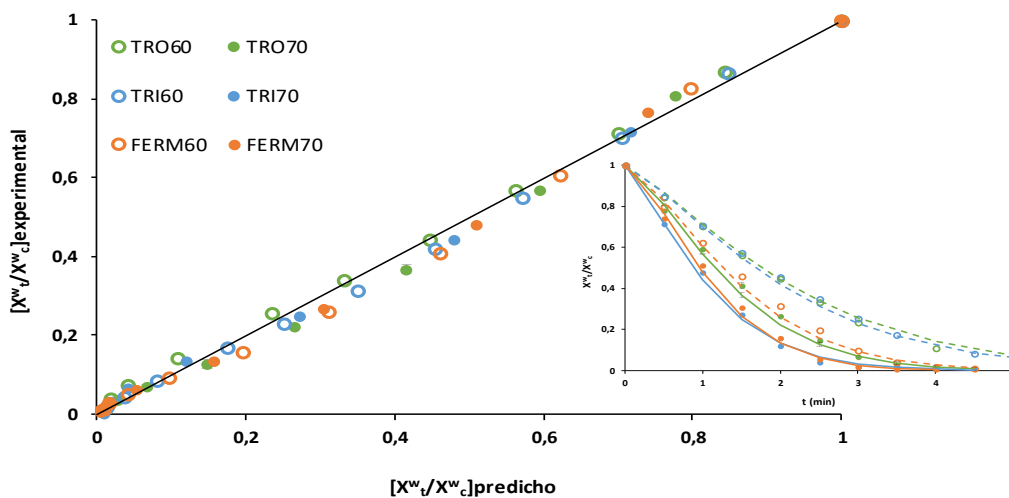


FIGURA 3. Comprobación de la bondad del modelo de Page: comparación entre los valores de humedad reducida experimental y los predichos y comparación entre las curvas de secado experimentales (marcadores con y sin relleno) y las predichas (líneas continuas y discontinuas).

Para comprobar la bondad del modelo de Page, en la figura 3 se representan los valores de MR predichos frente a los obtenidos experimentalmente. Como se puede observar, los puntos se distribuyen uniformemente a lo largo de la diagonal, lo que demuestra la buena correlación entre los resultados calculados y los experimentales. Con el mismo objetivo, también se representan las curvas de secado predichas por el modelo de Page y las obtenidas experimentalmente para cada una de las condiciones de proceso ensayadas en el periodo de velocidad de secado decreciente.

3.3. Caracterización fisicoquímica de los polvos de tallo de brócoli

En la tabla 4 se muestran los valores del porcentaje de humedad y la actividad del agua (a_w) del tallo de brócoli fresco y los diferentes polvos obtenidos a partir de él. Los resultados indican que el secado disminuye de forma significativa los valores de humedad y actividad del agua (a_w). La a_w indica la disponibilidad del agua para participar en las reacciones responsables del deterioro de los alimentos de forma que los valores comprendidos entre 0,2 y 0,4, se puede afirmar que son estables (Vesterlund et al., 2012).

TABLA 4. Porcentaje de humedad (x^w) y actividad del agua (a_w) del tallo de brócoli fresco y de sus polvos obtenidos mediante diferentes técnicas de procesado.

Tratamiento	Humedad (%)	a_w
FRESCO	92,249 ± 0,002 ^h	0,9917 ± 0,0004 ^f
TRO60	3,82 ± 0,08 ^g	0,234 ± 0,004 ^b
TRO70	3,00 ± 0,07 ^e	0,234 ± 0,004 ^b
TRI60	3,7 ± 0,2 ^g	0,2263 ± 0,003 ^a
TRI70	2,44 ± 0,05 ^{bc}	0,254 ± 0,004 ^c
FERM60	2,56 ± 0,04 ^c	0,253 ± 0,004 ^c
FERM70	3,197 ± 0,011 ^f	0,237 ± 0,007 ^b
TRILIOF	2,76 ± 0,04 ^d	0,289 ± 0,005 ^e
TROLIOF	2,40 ± 0,03 ^b	0,262 ± 0,005 ^d
LIOFFERM	2,096 ± 0,006 ^a	0,2490 ± 0,0007 ^c

a,b,c... diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% (p-valor < 0,05)

En la figura 4 se muestra el contenido en fenoles y flavonoides totales, así como la capacidad antioxidante medida por los métodos ABTS y DPPH, de los diferentes polvos obtenidos a partir de tallo de brócoli.

Respecto al **contenido en fenoles y flavonoides totales**, existen diferencias estadísticamente significativas (p-valor < 0,05) entre las distintas muestras analizadas. Los polvos obtenidos mediante liofilización resultaron ser los que presentaron un contenido más elevado en estos compuestos de interés, lo que puede ser debido al hecho de emplear vacío y temperaturas bajas que previenen su degradación. Además, durante la congelación y posterior sublimación se produce la rotura de paredes y membranas celulares, lo que da lugar a la formación de una estructura porosa que tras la molienda resultaría en un polvo más fino y con una mayor superficie de contacto con el disolvente, lo que aumentaría el rendimiento de la extracción (Calabuig-Jiménez et al., 2018; Domínguez-Perles et al., 2010). La mayor degradación de la estructura explicaría también el hecho de que los polvos obtenidos mediante liofilización de tallo de brócoli triturado, con y sin fermentación previa, presenten un contenido significativamente más elevado en fenoles y flavonoides totales que los

obtenidos mediante liofilización de tallo de brócoli troceado. Teniendo en cuenta que durante la fermentación tiene lugar la degradación de las paredes celulares por parte de las enzimas microbianas y la liberación de compuestos fenólicos ligados a ellas (Gulsunoglu et al., 2020), así como la producción de compuestos con actividad antioxidante por parte de los microorganismos implicados en el proceso de fermentación (Bei et al., 2017) y, en menor medida, la transformación de unos compuestos antioxidantes en otros con mayor actividad (Sharma et al., 2020), no es de extrañar que, de entre los polvos obtenidos mediante secado por aire caliente, los fermentados previamente con *Lactobacillus plantarum* spp. (CECT 749) sean los que presenten un mayor contenido en fenoles y flavonoides totales. Esto también podría deberse a que, como se ha comentado anteriormente, los polvos fermentados necesitaron menos tiempo de secado, lo que disminuye la degradación de estos compuestos por oxidación. La reducción en el tiempo de secado podría ser también la causa del mayor contenido en fenoles y flavonoides totales encontrado en los polvos obtenidos mediante secado de tallo de brócoli con aire a 70 °C.

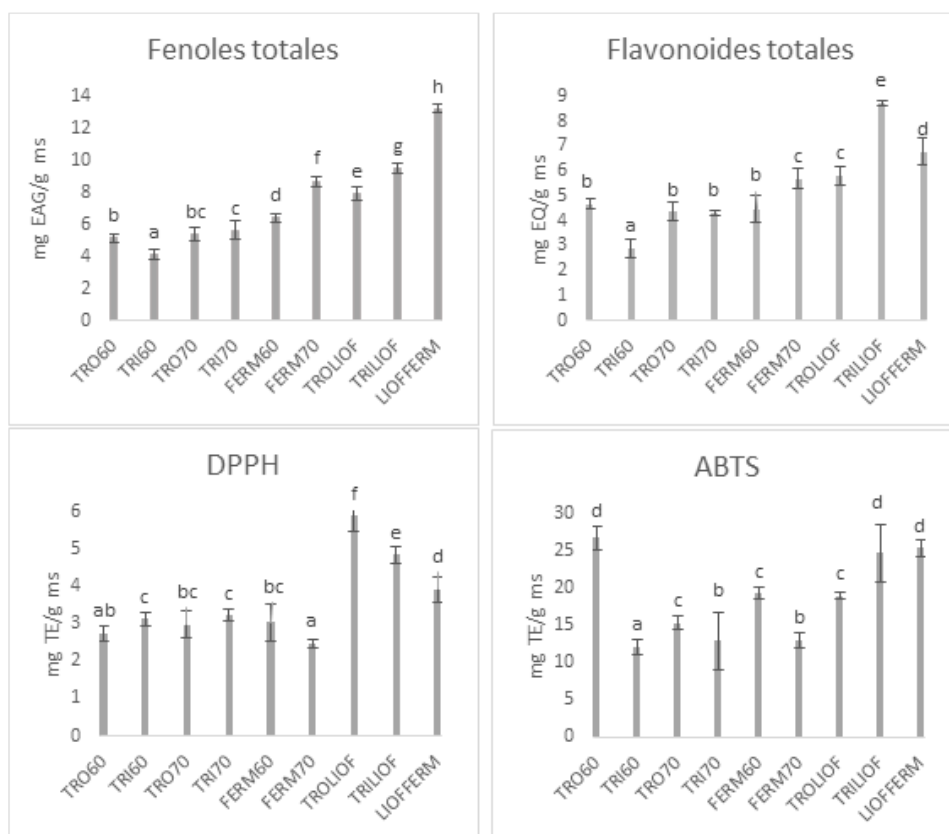


FIGURA 4. Efecto del procesado sobre el contenido en fenoles (mg EAG/g ms) y flavonoides (mg EQ/g ms) totales, así como sobre la actividad antioxidante medida por los métodos DPPH y ABTS (mg ET/g ms) de los diferentes polvos obtenidos a partir de tallo de brócoli. ^{a,b,c...} diferentes superíndices en la misma serie indican diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% (p-valor < 0,05).

En cuanto a los polvos obtenidos mediante secado de tallo de brócoli con aire a 60 °C, las diferencias encontradas entre las muestras trituradas y troceadas podrían atribuirse a la diferente duración del periodo de velocidad de secado constante, el cual resultó más largo en el caso de las muestras troceadas. Teniendo en cuenta que en este periodo la temperatura del sólido que se está secando permanece constante e igual a la temperatura de saturación del aire en

contacto con él, el tiempo de exposición a temperaturas elevadas por parte de las muestras troceadas fue menor, por lo que su contenido en fenoles y flavonoides totales resultó significativamente más elevado. Comparados con los valores obtenidos por otros autores, según los cuales el contenido en fenoles totales en tallos de brócoli de diferentes cultivares oscila entre 1,41 y 2,16 mg EAG/g ms (Hwang & Lim, 2015; Liu et al., 2018), los alcanzados en el presente estudio resultaron entre 1,9 y 9,4 veces superiores. Sin embargo, según Domínguez-Perles et al. (2010) el contenido en fenoles totales de tallo de brócoli varía entre 8,127 y 11,740 mg EAG/g ss, lo que indica el importante papel que desempeña la variedad en este tipo de determinación.

Respecto a la **capacidad antioxidante** se observa que, nuevamente, los polvos obtenidos por liofilización son los que presentan una mayor capacidad para inhibir a los radicales DPPH y ABTS. En general, los valores obtenidos por el método del radical ABTS resultaron más elevados, lo que puede ser debido a una mayor afinidad entre los compuestos antioxidantes presentes en el tallo de brócoli con este radical libre. A diferencia de lo comentado para el contenido en fenoles y flavonoides totales, la fermentación previa del residuo triturado no supuso una mejora significativa en la actividad antioxidante de los polvos. Tampoco el aumento de 60 a 70 °C en la temperatura del aire de secado supuso un aumento notable en la capacidad de inhibir los radicales libres DPPH y ABTS. En cuanto a la intensidad de la desestructuración previa al secado con aire caliente, la trituración redujo significativamente (p -valor < 0,05) la capacidad de inhibir el radical ABTS, pero aumentó ligeramente la capacidad de inhibir el radical DPPH. Al contrario, la trituración previa a la liofilización resultó en una mayor capacidad de inhibir el radical ABTS y una menor capacidad de inhibir el radical DPPH. Para explicar todo esto debe tenerse en cuenta que la capacidad antioxidante no solo depende del contenido en fenoles y flavonoides totales, sino que también se ve afectada por la presencia de otros compuestos con actividad antioxidante como puede ser el ácido ascórbico, que en este estudio no han sido cuantificados, pero podrían tener un comportamiento diferente frente a las condiciones de procesado realizadas en este trabajo.

En la figura 5 se representan las curvas de distribución del **tamaño de partícula** obtenidas, tanto por vía seca como por vía húmeda, para los diferentes polvos de tallo de brócoli. Lo primero que se podría comentar al respecto es que las curvas de los polvos obtenidos mediante secado convectivo presentan una mayor amplitud, esto es, una mayor variabilidad en el tamaño de las partículas que conforman el polvo elaborado; por el contrario, las curvas de los polvos obtenidos mediante liofilización presentan una distribución más estrecha o, lo que es equivalente, un tamaño de partícula más homogéneo.

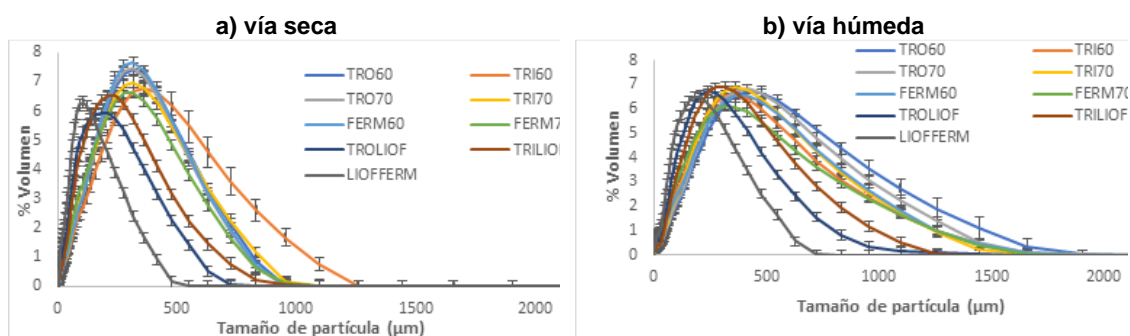


FIGURA 5. Curvas de distribución del tamaño de partícula obtenidas, tanto por vía seca a) como por vía húmeda b), para los diferentes polvos de tallo de brócoli.

Esto es especialmente evidente cuando se aplica el método de medida por vía seca y podría ser consecuencia de que, como se ha explicado anteriormente, durante la congelación y posterior sublimación se produce una rotura más intensa de la matriz alimentaria y se obtiene una estructura más porosa que favorece que tras el triturado final se formen partículas más finas. Por vía seca, el troceado y la fermentación previas a la deshidratación resultaron en polvos con un tamaño de partícula más homogéneo que los obtenidos por triturado. Por vía húmeda, las partículas resultan más grandes debido a que la hidratación implica la formación de agregados de partículas. También se observa que por vía húmeda los polvos obtenidos con un pretratamiento de troceado previo al secado con aire caliente presentan, para una misma temperatura de secado, un mayor tamaño de partícula que los sometidos a un triturado previo, así como una menor homogeneidad. Además, el aumento en la temperatura del aire de secado produjo, con independencia del método de medida empleado, un descenso notable en el tamaño medio de partícula. Los valores de los parámetros característicos del tamaño de partícula mostrados en la tabla X corroboran estos resultados.

TABLA 5. Parámetros característicos del tamaño de partícula obtenidos por vía seca y húmeda. Media \pm desviación estándar de nueve repeticiones. Donde D [4,3]: diámetro volumen equivalente; D [3,2]: diámetro área equivalente y d90, d50 y d10 representan los percentiles de la distribución.

Vía húmeda									
	TRO60	TRI60	TRO70	TRI70	FERM60	FERM70	TROLIOF	TRILIOF	LIOFFERM
D [4, 3]	453 \pm 24 ^g	378 \pm 18 ^{de}	419 \pm 21 ^f	388 \pm 17 ^e	390 \pm 34 ^e	362 \pm 17 ^d	255 \pm 12 ^b	312 \pm 9 ^c	187 \pm 3 ^a
D [3, 2]	115 \pm 4 ^h	104 \pm 4 ^f	104 \pm 3 ^f	109 \pm 3 ^g	101 \pm 5 ^e	89 \pm 2 ^d	63 \pm 1,1 ^b	82 \pm 2 ^c	49 \pm 0,4 ^a
d₁₀	82 \pm 3 ^g	66 \pm 3 ^e	73 \pm 3 ^f	74 \pm 3 ^f	62 \pm 4 ^d	56 \pm 2 ^c	46 \pm 1,2 ^b	66 \pm 1,1 ^e	28 \pm 0,4 ^a
d₅₀	374 \pm 12 ^h	306 \pm 9 ^e	350 \pm 11 ^g	324 \pm 12 ^f	323 \pm 20 ^f	280 \pm 9 ^d	210 \pm 5 ^b	260 \pm 5 ^c	155 \pm 2 ^a
d₉₀	945 \pm 65 ^f	798 \pm 54 ^d	869 \pm 56 ^e	802 \pm 44 ^d	821 \pm 90 ^{de}	797 \pm 46 ^d	527 \pm 29 ^b	637 \pm 23 ^c	393 \pm 7 ^a
Vía seca									
	TRO60	TRI60	TRO70	TRI70	FERM60	FERM70	TROLIOF	TRILIOF	LIOFFERM
D [4, 3]	282 \pm 10 ^e	333 \pm 19 ^f	276 \pm 16 ^e	282 \pm 10 ^e	281 \pm 16 ^e	254 \pm 16 ^d	176 \pm 4 ^b	215 \pm 8 ^c	120 \pm 2 ^a
D [3, 2]	98 \pm 2 ^e	96 \pm 8 ^e	97 \pm 6 ^e	84 \pm 3 ^d	114 \pm 7 ^f	76 \pm 3 ^c	57 \pm 0,9 ^b	84 \pm 1,2 ^d	42 \pm 0,2 ^a
d₁₀	51 \pm 2 ^e	50 \pm 6 ^e	50 \pm 4 ^e	44 \pm 3 ^d	57 \pm 5 ^f	36 \pm 2 ^c	28 \pm 0,5 ^b	44 \pm 0,6 ^d	19 \pm 0,2 ^a
d₅₀	250 \pm 10 ^e	283 \pm 22 ^f	245 \pm 16 ^e	244 \pm 10 ^e	251 \pm 16 ^e	216 \pm 13 ^d	140 \pm 2 ^b	175 \pm 4 ^c	95 \pm 0,9 ^a
d₉₀	562 \pm 18 ^{ef}	691 \pm 31 ^g	548 \pm 27 ^{de}	575 \pm 19 ^f	549 \pm 28 ^{de}	532 \pm 34 ^d	379 \pm 9 ^b	443 \pm 18 ^c	258 \pm 5 ^a

a,b,c... diferentes superíndices en la misma fila indican diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% (p-valor < 0,05)

Finalmente, en la figura 6 se muestran los resultados de los **recuentos microbianos** realizados en el tallo de brócoli fermentado durante 24 h con *Lactobacillus plantarum* spp. CECT 749 y en los polvos obtenidos a partir de éste mediante diferentes técnicas de deshidratación.

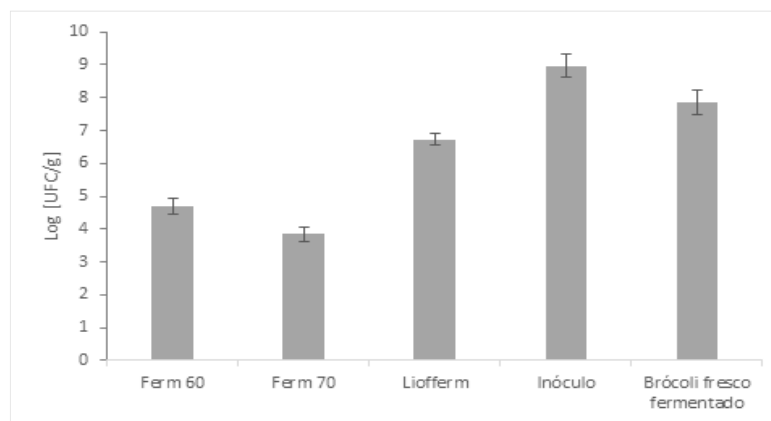


FIGURA 6. Recuento de viables (*L. plantarum*) en los polvos obtenidos con fermentación previa del tallo de brócoli. Las barras de error representan la desviación estándar de cuatro repeticiones. ^{a,b,c...} letras diferentes en la misma serie indican diferencias significativas con un nivel de confianza del 95%.

Partiendo de un inóculo con un contenido de $9,35 \times 10^8$ UFC/g, el tallo de brócoli fermentado presentó valores en torno a $6,98 \times 10^7$ UFC/g. Sin embargo, el recuento de viables en los polvos osciló entre $7,08 \times 10^3$ UFC/g para el brócoli secado con aire a 70 °C, $5,05 \times 10^4$ UFC/g para el brócoli secado con aire a 60 °C y $5,30 \times 10^6$ UFC/g para el brócoli liofilizado. Como era de esperar, las temperaturas de secado empleadas afectaron negativamente a la cantidad de microorganismos viables presentes en el polvo de brócoli, y el aumento de 60 a 70 °C la temperatura del aire de secado redujo significativamente su contenido. Sin embargo, la pérdida de microorganismos viables por el tratamiento de liofilización resultó mucho menor, pudiendo atribuirles a los polvos obtenidos por esta técnica de deshidratación el calificativo de probióticos.

4. Conclusiones

En este estudio se muestran diferentes alternativas de procesado para transformar el residuo de tallo de brócoli en un polvo estable que pueda ser empleado como ingrediente en la formulación de alimentos.

Durante el procesado que incluye una operación de deshidratación mediante secado con aire caliente, la intensidad de la desestructuración previa apenas afectó a la duración del proceso, mientras que la fermentación del residuo con *Lactobacillus plantarum* spp. CECT 749 y el aumento de 60 a 70 °C en la temperatura de secado lo acortaron significativamente. Esto, que se deduce del análisis tanto de la forma de las curvas de secado y de velocidad de secado como de los parámetros cinéticos resultantes del ajuste de diferentes modelos empíricos a los datos experimentales, tuvo consecuencias directas en el contenido en fenoles y flavonoides totales de los polvos que resultó máximo tras el secado a 70 °C del residuo fermentado. Sin embargo, los polvos obtenidos mediante liofilización fueron los que presentaron mejores propiedades antioxidantes, además de un tamaño de partícula más pequeño y homogéneo. La liofilización resultó ser también la mejor técnica para preservar la viabilidad del microorganismo empleado en el proceso de fermentación, lo que resulta muy interesante dado el potencial probiótico del mismo.

5. Referencias

- Adebo, O. A., Njobeh, P. B., AdeyinkaAdebiyi, J., Gbashi, S., Phoku, J. Z., & Kayitesi, E. (2017). Fermented Pulse-Based Food Products in Developing Nations as Functional Foods and Ingredients. *Functional Food - Improve Health through Adequate Food*. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.69170>
- Bas-Bellver, (2018). Caracterización de polvos de residuo de caqui deshidratado para su uso como ingrediente funcional en alimentos. Trabajo fin de grado. Universidad Politécnica de Valencia.
- Bei, Q., Liu, Y., Wang, L., Chen, G., & Wu, Z. (2017). Improving free, conjugated, and bound phenolic fractions in fermented oats (*Avena sativa* L.) with *Monascus anka* and their antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 32, 185–194. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2017.02.028>
- Bekhit, A. E. D., Lingming, K., Mason, S. L., Zhou, J. H., & Sedcole, J. R. (2013). Upgrading the utilization of brassica wastes: physicochemical properties and sensory evaluation of fermented brassica stalks. *International Food Research Journal*, 20(4), 1961–1969.
- Cai, Y. X., Wang, J. H., McAuley, C., Augustin, M. A., & Terefe, N. S. (2019). Fermentation for enhancing the bioconversion of glucoraphanin into sulforaphane and improve the functional attributes of broccoli puree. *Journal of Functional Foods*, 61. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2019.103461>
- Calabuig Jiménez Directoras, L., & Noelia Betoret Valls Dra Cristina Barrera Puigdollers Dra Lucía Seguí Gil Dra Maria Ester Betoret Valls, D. (2018). *Mejoras tecnológicas para el incremento de la funcionalidad de antioxidantes y probióticos Contribución a la sostenibilidad de la industria agroalimentaria. Realizada por.*
- Campas-Baypoli, O. N., Snchez-Machado, D. I., Bueno-Solano, C., Núñez-Gastélum, J. A., Reyes-Moreno, C., & López-Cervantes, J. (2009). Biochemical composition and physicochemical properties of broccoli flours. <http://Dx.Doi.Org/10.1080/09637480802702015>, 60(SUPPL.4), 163–173. <https://doi.org/10.1080/09637480802702015>
- Cieślík, E., Leszczyńska, T., Filipiak-Florkiewicz, A., Sikora, E., & Pisulewski, P. M. (2007). Effects of some technological processes on glucosinolate contents in cruciferous vegetables. *Food Chemistry*, 105(3), 976–981. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2007.04.047>
- Domínguez-Perles, R., Martínez-Ballesta, M. C., Carvajal, M., García-Viguera, C., & Moreno, D. A. (2010a). Broccoli-derived by-products--a promising source of bioactive ingredients. *Journal of Food Science*, 75(4). <https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2010.01606.X>
- Doymaz, I. (2012). Effect of blanching temperature and dipping time on drying time of broccoli. *Food Science and Technology International*, 20(2), 149–157. <https://doi.org/10.1177/1082013213476075>
- Dziki, D., Habza-Kowalska, E., Gawlik-Dziki, U., Miś, A., Rózyło, R., Krzysiak, Z., & Hassoon, W. H. (2020). Drying Kinetics, Grinding Characteristics, and Physicochemical Properties of Broccoli Sprouts. *Processes 2020, Vol. 8, Page 97*, 8(1), 97. <https://doi.org/10.3390/PR8010097>
- FAO, 2020. La medición de la pérdida y el desperdicio de alimentos en relación con la metodología de evaluación de las pérdidas de alimentos. Pag. 3.
- FAO, (2011). Global Food Losses and Food Waste. *Unep*, 11(May), 1. https://www.madr.ro/docs/ind-alimentara/risipa_alimentara/presentation_food_waste.pdf%0Ahttp://www.fao.org/3/i2697e/i2697e.pdf%0Ahttp://www.unep.org/wed/2013/quickfacts
- Filannino, P., Bai, Y., Di Cagno, R., Gobbetti, M., & Gänzle, M. G. (2015). Metabolism of phenolic compounds by *Lactobacillus* spp. during fermentation of cherry juice and broccoli puree. *Food Microbiology*, 46, 272–279. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2014.08.018>
- Gulsunoglu, Z., Purves, R., Karbancioglu-Guler, F., & Kilic-Akyilmaz, M. (2020). Enhancement of phenolic antioxidants in industrial apple waste by fermentation with *Aspergillus* spp. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 25, 101562. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2020.101562>
- Gustavsson J., Cederberg C., Sonesson U., van Otterdijk R., Meybeck A. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO); Rome, Italy: 2011. Global Food

Losses and Food Waste– Extent, Causes and Prevention.

Hernández-Hernández, H. M., Moreno-Vilet, L., & Villanueva-Rodríguez, S. J. (2019). Current status of emerging food processing technologies in Latin America: Novel non-thermal processing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *58*, 102233. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2019.102233>

Hwang, J.-H., & Lim, S.-B. (2015). Antioxidant and Anticancer Activities of Broccoli By-Products from Different Cultivars and Maturity Stages at Harvest. *Preventive Nutrition and Food Science*, *20*(1), 8–14. <https://www.dbpia.co.kr/journal/articleDetail?nodeId=NODE06272432>

Kim, H. Y., Ediriweera, M. K., Boo, K. H., Kim, C. S., & Cho, S. K. (2021). Effects of Cooking and Processing Methods on Phenolic Contents and Antioxidant and Anti-Proliferative Activities of Broccoli Florets. *Antioxidants 2021*, Vol. 10, Page 641, *10*(5), 641. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX10050641>

Kim, S. Y., Jeong, S. M., Kim, S. J., Jeon, K. I., Park, E., Park, H. R., & Lee, S. C. (2006). Effect of Heat Treatment on the Antioxidative and Antigenotoxic Activity of Extracts from Persimmon (*Diospyros kaki* L.) Peel. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, *70*(4), 999–1002. <https://doi.org/10.1271/BBB.70.999>

Kumar, N., Sarkar, B. C., & Sharma, H. K. (2012). Mathematical modelling of thin layer hot air drying of carrot pomace. *Journal of Food Science and Technology*, *49*(1), 33–41. <https://doi.org/10.1007/S13197-011-0266-7/FIGURES/5>

Liu, M., Zhang, L., Ser, S. L., Cumming, J. R., & Ku, K. M. (2018). Comparative Phytonutrient Analysis of Broccoli By-Products: The Potentials for Broccoli By-Product Utilization. *Molecules* 2018, Vol. 23, Page 900, *23*(4), 900. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES23040900>

Luximon-Ramma, A., Bahorun, T., Soobrattee, M. A., & Aruoma, O. I. (2002). Antioxidant activities of phenolic, proanthocyanidin, and flavonoid components in extracts of *Cassia fistula*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(18), 5042–5047. <https://doi.org/10.1021/JF0201172>

Mahn, A. V., Antoine, P., & Reyes, A. (2011). Optimization of drying kinetics and quality parameters of broccoli florets. *International Journal of Food Engineering*, *7*(2). <https://doi.org/10.2202/1556-3758.2181/MACHINEREADABLECITATION/RIS>

Martínez-Las Heras, R., Landines, E. F., Heredia, A., Castelló, M. L., & Andrés, A. (2017a). Influence of drying process and particle size of persimmon fibre on its physicochemical, antioxidant, hydration and emulsifying properties. *Journal of Food Science and Technology*, *54*(9), 2902. <https://doi.org/10.1007/S13197-017-2728-Z>

Martínez-Las Heras, R., Landines, E. F., Heredia, A., Castelló, M. L., & Andrés, A. (2017b). Influence of drying process and particle size of persimmon fibre on its physicochemical, antioxidant, hydration and emulsifying properties. *Journal of Food Science and Technology*, *54*(9), 2902–2912. <https://doi.org/10.1007/S13197-017-2728-Z>

Md Salim, N. S., Gariépy, Y., & Raghavan, V. (2017). Hot Air Drying and Microwave-Assisted Hot Air Drying of Broccoli Stalk Slices (*Brassica oleracea* L. Var. *Italica*). *Journal of Food Processing and Preservation*, *41*(3), e12905. <https://doi.org/10.1111/JFPP.12905>

Mrkic, V., Cocci, E., Dalla Rosa, M., & Sacchetti, G. (2006). Effect of drying conditions on bioactive compounds and antioxidant activity of broccoli (*Brassica oleracea* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *86*(10), 1559–1566. <https://doi.org/10.1002/JSFA.2554>

Palani, K., Harbaum-Piayda, B., Meske, D., Keppler, J. K., Bockelmann, W., Heller, K. J., & Schwarz, K. (2016). Influence of fermentation on glucosinolates and glucobrassicin degradation products in sauerkraut. *Food Chemistry*, *190*, 755–762. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.06.012>

Pérez, C., Barrientos, H., Román, J., & Mahn, A. (2014). Optimization of a blanching step to maximize sulforaphane synthesis in broccoli florets. *Food Chemistry*, *145*, 264–271. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2013.08.053>

Petkowicz, C. L. O., & Williams, P. A. (2020). Pectins from food waste: Characterization and functional properties of a pectin extracted from broccoli stalk. *Food Hydrocolloids*, *107*, 105930. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2020.105930>

Polenta. Retrieved September 6, 2020, from <https://es.calameo.com/read/00139394285cc0cab24b7>

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(3), 281–286. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2004.12.008>

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(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

Reyes, A., Mahn, A., Guzmán, C., & Antoniz, D. (2012). Analysis of the Drying of Broccoli Florets in a Fluidized Pulsed Bed. *https://doi.org/10.1080/07373937.2012.686548*, 30(11–12), 1368–1376. <https://doi.org/10.1080/07373937.2012.686548>

Roobab, U., Batool, Z., Manzoor, M. F., Shabbir, M. A., Khan, M. R., & Aadil, R. M. (2020). Sources, formulations, advanced delivery and health benefits of probiotics. *Current Opinion in Food Science*, 32, 17–28. <https://doi.org/10.1016/J.COFS.2020.01.003>

Saavedra-Leos, M. Z., Leyva-Porras, C., Toxqui-Terán, A., & Espinosa-Solis, V. (2021). Physicochemical Properties and Antioxidant Activity of Spray-Dry Broccoli (*Brassica oleracea* var *Italica*) Stalk and Floret Juice Powders. *Molecules* 2021, Vol. 26, Page 1973, 26(7), 1973. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26071973>

Sepúlveda, L., Contreras, E., Cerro, D., & Quintulén, L. (2021). Technical feasibility of natural antioxidant recovery from the mixture of the inedible fractions of vegetables produced in a wholesale market. *Http://Mc.Manuscriptcentral.Com/Tcyt*, 19(1), 418–428. <https://doi.org/10.1080/19476337.2021.1915878>

Shahidi, F., Liyana-Pathirana, C. M., & Wall, D. S. (2006). Antioxidant activity of white and black sesame seeds and their hull fractions. *Food Chemistry*, 99(3), 478–483. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2005.08.009>

Sharma, R., Garg, P., Kumar, P., Bhatia, S. K., & Kulshrestha, S. (2020). Microbial Fermentation and Its Role in Quality Improvement of Fermented Foods. *Fermentation* 2020, Vol. 6, Page 106, 6(4), 106. <https://doi.org/10.3390/FERMENTATION6040106>

Simpson, R., Ramírez, C., Nuñez, H., Jaques, A., & Almonacid, S. (2017). Understanding the success of Page's model and related empirical equations in fitting experimental data of diffusion phenomena in food matrices. *Trends in Food Science & Technology*, 62, 194–201. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2017.01.003>

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)

Sun, Y., Zhang, M., & Fang, Z. (2020). Efficient physical extraction of active constituents from edible fungi and their potential bioactivities: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 105, 468–482. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2019.02.026>

Thomas, M., Badr, A., Desjardins, Y., Gosselin, A., & Angers, P. (2018). Characterization of industrial broccoli discards (*Brassica oleracea* var. *italica*) for their glucosinolate, polyphenol and flavonoid contents using UPLC MS/MS and spectrophotometric methods. *Food Chemistry*, 245, 1204–1211. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.11.021>

Vesterlund, S., Salminen, K., & Salminen, S. (2012). Water activity in dry foods containing live probiotic bacteria should be carefully considered: A case study with *Lactobacillus rhamnosus* GG in flaxseed. *International Journal of Food Microbiology*, 157(2), 319–321. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2012.05.016>

Vinson, J. A., Hao, Y., Su, X., & Zubik, L. (1998). Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods: Vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9), 3630–3634. <https://doi.org/10.1021/JF980295O/ASSET/IMAGES/LARGE/JF980295OF00001.JPEG>

Wolfe, K., Wu, X., & Liu, R. H. (2003). Antioxidant Activity of Apple Peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 609–614. <https://doi.org/10.1021/JF020782A>