



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Escola Tècnica Superior
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica
y del Medio Natural

APLICACIÓN DE DIFERENTES PRETRATAMIENTOS
TERMOFÍSICOS Y BIOLÓGICOS PARA LA MEJORA DE
LAS PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS
EN POLVO PROCEDENTES DE TALLO DE BRÓCOLI

Trabajo Fin de Grado

Grado en Biotecnología

AUTOR/A: Muñoz Ibañez, Marta

Tutor/a: Barrera Puigdollers, María Cristina

Cotutor/a: Seguí Gil, Lucía

Director/a Experimental: Bas Bellver, Claudia Isabel

CURSO ACADÉMICO: 2023/2024

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural



APLICACIÓN DE DIFERENTES PRETRATAMIENTOS TERMOFÍSICOS Y BIOLÓGICOS PARA LA MEJORA DE LAS PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DE PRODUCTOS EN POLVO PROCEDENTES DE TALLO DE BRÓCOLI

Trabajo de Fin de Grado

GRADO EN BIOTECNOLOGÍA

AUTOR/A: Muñoz Ibañez, Marta

TUTOR/A: Barrera Puigdollers, María Cristina

COTUTOR/A: Seguí Gil, Lucía

DIRECTOR/A EXPERIMENTAL: Bas Bellver, Claudia Isabel

CURSO ACADÉMICO: 2023/2024

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría dar las gracias a mis tutoras Cristina y Lucía, por todas sus enseñanzas, apoyo y comprensión. Gracias por darme la oportunidad de realizar las estancias de investigación en vuestro laboratorio, y luego continuar con el TFG, han sido dos años maravillosos en los que me habéis transmitido vuestra pasión e ilusión por el mundo alimentario. Gracias también a mi directora experimental Claudia, por su ayuda en el laboratorio y por todos los buenos momentos compartidos, ha sido un placer trabajar contigo.

Gracias a todos mis compañeros de laboratorio, en especial a Marina, Javi, Marta, Ele, María Belén y Simone, por todo lo vivido, las risas, nuestras comidas en la cafetería, nuestras charlas, y muchas anécdotas que siempre recordaré.

Como no, agradecer a las personas que han vivido esta experiencia universitaria junto a mí, han sido 4 años duros, pero a la vez de los mejores de mi vida, gracias a vosotros. Gracias Marta, Júlia, Pablo, Marta, Lluna, Carmen, Miguel, Flor y Patri, por los viajes compartidos, nuestras escapaditas de fin de semana, las cenas y fiestas, nuestros días de biblio, entre otros muchos recuerdos que van a quedar en nuestra memoria para siempre. Marta y Pablo, los “mellis de biotec”, y uno de mis apoyos incondicionales en la carrera, ¿os acordáis de la frase que me repetíais en mis peores momentos?: <<Entramos juntos, salimos juntos, recuérdalo>>. Por fin puedo decir que lo hemos conseguido, y no puedo estar más feliz. Gracias.

Agradecer también a mi compañera de piso y amiga Sorina, por saber cómo sacarme siempre una sonrisa, gracias por las risas, los lloros, nuestras cenas en el pisito después del gimnasio y las conversaciones que tanto me han hecho reflexionar. Gracias por ayudarme a creer en mí y a entender que la constancia tarde o temprano tiene su recompensa.

Papi, gracias por cuidarme desde el cielo desde aquel 2020, tu niña por fin va a cumplir su sueño de ser biotecnóloga. Mami, la persona más noble, risueña y luchadora que conozco, gracias por ser mi mayor apoyo en esta carrera, por escucharme y animarme siempre, sin ti no lo habría conseguido. Gracias a los dos por haberme dado una buena educación e impulsarme siempre a perseguir mis sueños, cueste lo que cueste. Os quiero.

Por último, pero no menos importante, dar las gracias a toda mi familia y amigos por estar siempre conmigo, no puedo ser más afortunada de estar rodeada de personas como vosotros.

¡Gracias a todos!

RESUMEN

Reducir el desperdicio alimentario es uno de los principales objetivos de la agenda 2030, debido no sólo al problema medioambiental que representan estos desechos orgánicos, sino también al problema social, económico y de salud que genera la pérdida de alimentos ya producidos y que han consumido recursos, acuciado por el reto de alimentar a una población creciente. El sector hortofrutícola es uno de los sectores que más contribuyen al desperdicio alimentario. Atendiendo a la continua búsqueda de medidas que garanticen un desarrollo sostenible, la industria alimentaria, y en particular la industria hortofrutícola, se enfrenta al reto de implementar un sistema de economía circular que permita la valorización de los residuos desechados y su reincorporación a la cadena alimentaria. Una de las aproximaciones que permite un aprovechamiento integral de los residuos es la de su transformación en ingredientes funcionales en polvo, a través de un sencillo proceso que incluye las etapas de triturado, deshidratación y molienda, obteniéndose productos en polvo estables y ricos en compuestos bioactivos, y contribuyendo al concepto de dietas más saludables y sostenibles.

A este proceso de valorización se pueden incorporar pretratamientos con el fin de originar cambios estructurales o bioquímicos que permitan aumentar la concentración de compuestos de interés, o bien que mejoren sus características de cara al secado posterior. En estudios previos, se han estudiado pretratamientos físicos tales como la intensidad de disrupción del tejido vegetal y la congelación-descongelación. En este trabajo, se pretende profundizar en el empleo de pretratamientos biológicos (fermentación) y termo-físicos (autoclavado, microondas, ultrasonidos, pasterización) con el fin de conocer su efecto sobre el residuo y las características del polvo obtenido.

Por tanto, el presente trabajo de fin de grado tuvo por objeto estudiar el impacto de diferentes pretratamientos y técnicas de deshidratación sobre las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes de productos en polvo obtenidos a partir de tallo de brócoli.

Para ello, se llevó a cabo un estudio preliminar en secadores de bancada, tras el cual se definieron la temperatura y el tiempo de secado que resultaban en polvos estables y con mejores propiedades antioxidantes. Por otro lado, se ensayaron diferentes niveles de las variables del pretratamiento por microondas, ultrasonidos y fermentación, con el fin de seleccionar las condiciones a las que se aplicarían estos pretratamientos. Para ello, se estudió el impacto del pretratamiento sobre las propiedades fisicoquímicas del residuo de brócoli pretratado (humedad, actividad del agua, sólidos solubles totales), incluidas las antioxidantes (fenoles totales, flavonoides totales, y capacidad antioxidante por los métodos ABTS y DPPH); así como el impacto sobre la estructura del tejido vegetal, mediante microscopía electrónica de barrido a bajas temperaturas (Cryo-SEM). Una vez seleccionadas las condiciones de los pretratamientos, se procedió a obtener los productos en polvo a partir de residuo de brócoli sometido a los diferentes pretratamientos termofísicos y biológicos, y posterior liofilización o secado por aire caliente, en un secador de planta piloto. Seguidamente, se analizó el impacto del procesado sobre las propiedades fisicoquímicas (x_w , a_w y x_{ss}), incluidas las propiedades antioxidantes (fenoles totales, flavonoides totales, y capacidad antioxidante por los métodos del radical libre ABTS y DPPH), de los productos en polvo obtenidos. Sobre los residuos fermentados, se determinó también la viabilidad celular tras la fermentación y el secado.

Tras el estudio preliminar, se constató una mayor cantidad de compuestos antioxidantes en los polvos obtenidos mediante secado por aire caliente en comparación con los liofilizados,

especialmente tras el secado a 60 °C durante 10 h. Al someter los residuos de brócoli a los diferentes pretratamientos, se observó una mejora en todas las propiedades antioxidantes, en comparación con los tallos frescos. Este aumento resultó especialmente pronunciado en los residuos sometidos a ultrasonidos, lo cual estuvo apoyado por las observaciones microscópicas realizadas. Al deshidratar los residuos pretratados, se observó un aumento considerable en las propiedades antioxidantes tras el secado con aire a 60 °C. De todos los pretratamientos aplicados, la sonicación dio lugar a polvos con mejores propiedades antioxidantes que los polvos sin pretratar, mientras que el resto de pretratamientos no consiguieron mejorar las propiedades antioxidantes de los productos en polvo. En cuanto a la obtención de un polvo con propiedades probióticas, únicamente los polvos obtenidos mediante liofilización de los residuos fermentados presentaron recuentos cercanos a 10⁷ UFC/g. Así pues, se recomienda continuar investigando la etapa de secado por aire caliente para asegurar que el polvo resultante conserve su carácter probiótico. Como conclusión, el presente trabajo ha demostrado que los pretratamientos aplicados pueden mejorar las propiedades antioxidantes del residuo de brócoli, pero esta mejora no se traduce en productos en polvo con mejores características, a tenor de las propiedades antioxidantes ensayadas.

El presente trabajo se relaciona con los ODS 2, 3 y 12.

Palabras clave: tallo de brócoli, valorización de residuos, pretratamientos, ultrasonidos, antioxidantes, deshidratación, ingrediente funcional

ABSTRACT

Reducing food waste is one of the main objectives of the 2030 Agenda, due not only to the environmental problem represented by this organic waste, but also to the social, economic and health problem generated by the loss of food already produced and that has consumed resources, upset by the challenge of feeding a growing population. The fruit and vegetable sector is one of the sectors that contributes most to food waste. In response to the continuous search for measures to ensure sustainable development, the food industry, and in particular the fruit and vegetable industry, is faced with the challenge of implementing a circular economy system that allows the recovery of waste and its reincorporation into the food chain. One of the approaches that allows an integral use of waste is its transformation into powdered functional ingredients, through a simple process that includes the stages of shredding, dehydration and milling, obtaining stable powdered products rich in bioactive compounds, and contributing to the concept of healthier and more sustainable diets.

Pretreatments can be incorporated into this valorization process to bring about structural or biochemical changes that increase the concentration of compounds of interest or improve their characteristics for subsequent drying. In previous studies, physical pretreatments such as the intensity of plant tissue disruption and freeze-thawing have been studied. This work is intended to deepen in the use of biological (fermentation) and thermo-physical (autoclaving, microwaves, ultrasound, pasteurization) pretreatments to know their effect on the residue and the characteristics of the powder obtained.

Therefore, the aim of this final degree thesis was to study the impact of different pretreatments and dehydration techniques on the physicochemical and antioxidant properties of powdered products obtained from broccoli stems.

For this purpose, a preliminary study was carried out in bench dryers, after which the temperature and drying time that resulted in stable powders with better antioxidant properties were defined. On the other hand, different levels of microwave, ultrasound and fermentation pretreatment variables were tested to select the conditions at which these pretreatments would be applied. As such, the impact of pretreatment on the physicochemical properties of the pretreated broccoli residue (moisture, water activity, total soluble solids), including antioxidant properties (total phenols, total flavonoids, and antioxidant capacity by ABTS and DPPH methods) was studied; as well as the impact on the plant tissue structure by low temperature scanning electron microscopy (Cryo-SEM). Once the pretreatment conditions were selected, the powdered products were obtained from broccoli residue subjected to the different thermophysical and biological pretreatments and subsequent freeze-drying or hot air drying in a pilot plant dryer. The impact of processing on the physicochemical properties (x_w , a_w and x_{ss}), including antioxidant properties (total phenols, total flavonoids, and antioxidant capacity by ABTS and DPPH free radical methods), of the powdered products obtained was then analyzed. Cell viability after fermentation and drying was also determined on the fermented residues.

After the preliminary study, a higher amount of antioxidant compounds was found in the powders obtained by hot air drying compared to the freeze-dried ones, especially after drying at 60 °C for 10 h. When broccoli residues were subjected to the different pretreatments, an improvement in all antioxidant properties was observed compared to fresh stems. This increase was particularly pronounced in the residues subjected to ultrasound, which was supported by microscopic observations. When dehydrating the pretreated residues, a considerable increase in antioxidant properties was observed after air drying at 60 °C. Of all the pretreatments applied, sonication resulted in powders with better antioxidant properties than the non-pretreated powders, while the other pretreatments failed to improve the antioxidant properties of the powdered products. As for obtaining a powder with probiotic properties, only powders obtained by freeze-drying the fermented residues presented counts close to 10^7 CFU/g. Thus, it is recommended to continue investigating the hot air drying stage to ensure that the resulting powder retains its probiotic character. In conclusion, the present work has shown that the applied pretreatments can improve the antioxidant properties of broccoli residue, but this improvement does not translate into powdered products with better characteristics, based on the antioxidant properties tested.

The present work is related with the SDOs 2, 3 and 12.

Key words: broccoli stem, wastes valorization, pretreatments, ultrasounds, antioxidants, dehydration, functional ingredient

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. PRODUCCIÓN DE RESIDUOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA.....	1
1.2. VALORIZACIÓN DE RESIDUOS PARA LA OBTENCIÓN DE POLVOS FUNCIONALES DE USO ALIMENTARIO	2
1.3. COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL BRÓCOLI	4
1.4. USO DE PRETRATAMIENTOS PARA LA MEJORA DE LAS PROPIEDADES DE LOS POLVOS.....	5
2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO	8
3. MATERIAL Y MÉTODOS	10
3.1. MATERIAL VEGETAL.....	10
3.2. PREPARACIÓN DEL INÓCULO	10
3.3. OBTENCIÓN DE POLVOS A PARTIR DEL RESIDUO DE BRÓCOLI.....	10
3.3.1. Estudio preliminar de fermentación y secado	10
3.3.2. Estudio del efecto de pretratamientos termofísicos y biológicos en las propiedades de los productos en polvo.....	12
3.4. DETERMINACIONES ANALÍTICAS.....	14
3.4.1. Propiedades fisicoquímicas.....	14
3.4.1.1. Actividad del agua (a_w)	14
3.4.1.2. Humedad (x_w)	14
3.4.1.3. Contenido en sólidos solubles totales (x_{ss}).....	15
3.4.2. Propiedades antioxidantes.....	15
3.4.2.1. Contenido en fenoles totales	15
3.4.2.1. Contenido en flavonoides totales.....	16
3.4.2.1. Capacidad antioxidante: métodos DPPH y ABTS.....	16
3.4.3. Recuentos microbianos	17
3.5. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO A BAJA TEMPERATURA (Cryo-SEM)..	17
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	18
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
4.1. ESTUDIO PRELIMINAR DE FERMENTACIÓN Y SECADO.....	19
4.1.1. Efecto de la fermentación sobre las propiedades del tallo de brócoli.....	19
4.1.2. Efecto del secado sobre las propiedades de los polvos obtenidos a partir de tallo de brócoli.....	21
4.2. ESTUDIO DEL EFECTO DE PRETRATAMIENTOS TERMOFÍSICOS Y BIOLÓGICOS SOBRE LAS PROPIEDADES DE LOS PRODUCTOS EN POLVO.....	25
4.2.1. Efecto de los diferentes pretratamientos sobre las propiedades del tallo de brócoli	25
4.2.2. Efecto de los diferentes pretratamientos sobre las propiedades de los polvos obtenidos a partir de tallo de brócoli	30

5. CONCLUSIONES.....	35
6. BIBLIOGRAFÍA	37
ANEXO I: Relación del trabajo con los objetivos de desarrollo sostenible de la Agenda 2030	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Comparación del diseño de economía lineal y circular en el proceso de producción alimentario. Adaptado de Rajković et al., 2020.	1
Figura 2. Diagrama de flujo del proceso de transformación de los tallos de brócoli en productos en polvo fermentados y sin fermentar, sometidos a diferentes procesos de secado. SAC: Secado por Aire Caliente; LIO: Liofilización; F: Fermentación.....	11
Figura 3. Diagrama de flujo del proceso de transformación de los tallos de brócoli sometidos a diferentes pretratamientos en productos en polvo. SAC: Secado por Aire Caliente; LIO: Liofilización; F: Fermentación; AUTO: Autoclave; US: Ultrasonidos; MW: Microondas; PAST: Pasteurización.....	12
Figura 4. Propiedades antioxidantes del tallo de brócoli fresco y fermentado y de sus respectivos polvos obtenidos por distintas técnicas de deshidratación: A) Contenido en fenoles totales expresado en mg de ácido gálico equivalente (EAG) por gramo de materia seca. B) Contenido de flavonoides totales expresado en mg de quercetina equivalente (EQ) por gramo de materia seca. C y D) Contenido de ABTS y DPPH, respectivamente, expresado en mg de trólox equivalente (ET) por gramo de materia seca. Las barras de error representan la desviación estándar de seis repeticiones a partir de dos réplicas (3 repeticiones/réplica). ^{a, b, c...} Diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95 % (p-valor < 0,05).	22
Figura 5. Recuento de viables en el residuo de brócoli recién inoculado, tras 24 h de fermentación con <i>L. plantarum</i> y en los polvos obtenidos a partir del tallo fermentado secado por aire caliente a 50, 60 y 70 °C y liofilizado. Las barras de error representan la desviación estándar de cuatro repeticiones a partir de dos réplicas (dos repeticiones/réplica). ^{a, b, c...} Diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95 % (p-valor < 0,05).	24
Figura 6. Micrografías del residuo pretratado obtenidas por microscopía electrónica de barrido a bajas temperaturas (Cryo-SEM) a 500 x aumentos (barra = 10 micras). A) Residuo de brócoli triturado, B) Residuo de brócoli pretratado con ultrasonidos, C) Residuo de brócoli fermentado, D) Residuo de brócoli autoclavado.	29
Figura 7. Propiedades antioxidantes de los polvos pretratados y sin pretratar obtenidos por distintas técnicas de deshidratación: A) Contenido en fenoles totales expresado en mg de ácido gálico equivalente (EQ) por gramo de materia seca. C y D) Contenido de ABTS y DPPH, respectivamente, expresado en mg de trólox equivalente (ET) por gramo de materia seca. Las barras de error representan la desviación estándar de seis repeticiones a partir de dos réplicas (3 repeticiones/réplica). ^{a, b, c...} Diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95 % (p-valor < 0,05).	32

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Abreviaturas empleadas para identificar el residuo en las diferentes etapas del proceso, y los polvos obtenidos a partir de éstos.	13
Tabla 2. Efecto de la fermentación con <i>L. plantarum</i> durante 24 h sobre los valores de humedad (x_w), actividad del agua (a_w) y contenido en sólidos solubles totales (x_{ss}) del tallo de brócoli. Media \pm desviación estándar de tres repeticiones.....	19
Tabla 3. Efecto de la fermentación con <i>L. plantarum</i> durante 24 h sobre el contenido en fenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante medida por los métodos ABTS y DPPH del tallo de brócoli. Media \pm desviación estándar de seis repeticiones a partir de dos réplicas (3 repeticiones/réplica).	20
Tabla 4. Efecto de las distintas técnicas de deshidratación (secado por aire caliente y liofilización) sobre el contenido en agua (x_w), la actividad del agua (a_w) y el contenido en sólidos solubles totales (x_{ss}) de los polvos obtenidos a partir de tallo de brócoli fermentado (FSAC, FLIO) y sin fermentar (SAC, LIO). Media \pm desviación estándar de tres repeticiones.	21
Tabla 5. Efecto de la aplicación de diferentes pretratamientos termofísicos y biológicos sobre el contenido en humedad (x_w), actividad del agua (a_w) y contenido en sólidos solubles totales (x_{ss}) del tallo de brócoli. Media \pm desviación estándar de tres repeticiones.....	26
Tabla 6. Efecto de distintos pretratamientos sobre el contenido en fenoles totales (mg EAG/ g_{ms}), contenido en flavonoides totales (mg EQ/ g_{ms}) y capacidad antioxidante ABTS y DPPH (mg ET/ g_{ms}) del tallo de brócoli fresco. Media \pm desviación estándar de seis repeticiones a partir de dos réplicas (3 repeticiones/réplica).....	27
Tabla 7. Valores para el contenido en humedad (x_w), actividad del agua (a_w) y contenido en sólidos solubles totales (x_{ss}) de los polvos obtenidos por secado por aire caliente o liofilización a partir de tallo de brócoli fresco y pretratado. Media \pm desviación estándar de tres repeticiones.	30

1. INTRODUCCIÓN

1.1. PRODUCCIÓN DE RESIDUOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

La industria alimentaria genera una gran cantidad de residuos, una problemática actual relacionada con la escasez de los recursos naturales (Rajković *et al.*, 2020) y la liberación de emisiones de CO₂ que contribuyen al efecto invernadero (Sharma *et al.*, 2021). De todos los alimentos producidos a escala industrial, alrededor de un tercio se desechan (Närvänen *et al.*, 2020), siendo el desperdicio de gran relevancia en la industria hortofrutícola (FAO, 2019). Se ha estimado que alrededor del 45% de la producción total de frutas y verduras se pierde cada año durante las diversas etapas de la cadena alimentaria, desde el campo hasta el procesado y el consumo (Sharma *et al.*, 2021).

Estas estimaciones se verificaron en 2023 cuando el departamento de alimentación y agricultura de la Organización de las Naciones Unidas (ONU) llevó a cabo un estudio sobre índices de pérdida de alimentos, observando que, de los casi 60 millones de residuos totales producidos en Europa, una parte significativa se vincula a la producción primaria, al procesado y producción industrial y a la distribución de los alimentos. También, esta generación de residuos se ha relacionado con la restauración y servicios de comida y con el consumo del hogar (Fabi, 2023).

Durante muchos años, la continua producción de residuos ha sido fomentada por un diseño de economía lineal de los sistemas alimentarios, incrementando el vertido de desechos al medio ambiente y finalizando así su paso por la cadena alimentaria (Devčić, 2022). Con la aparición de la Agenda 2030 para el desarrollo sostenible, se propone que esta economía lineal sea reemplazada por un diseño de economía circular (Figura 1), el cual engloba todas las actividades que permiten la reintroducción de residuos en los procesos de producción, distribución y consumo (Rajković *et al.*, 2020), contribuyendo al cumplimiento de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS).

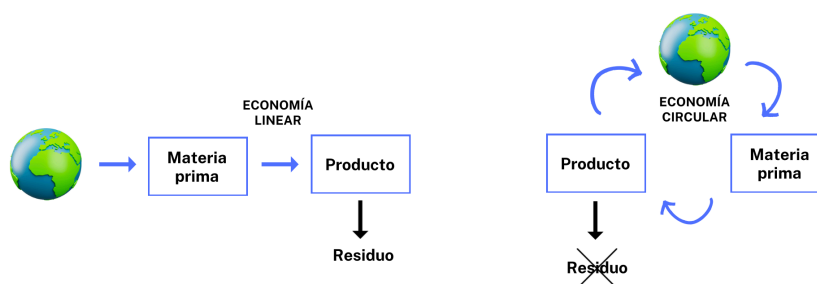


Figura 1. Comparación del diseño de economía lineal y circular en el proceso de producción alimentario. Adaptado de Rajković *et al.*, 2020.

Según la ONU, alrededor del 9,2% de la población mundial ha sufrido hambre crónica en 2022 por el acceso restringido a una alimentación adecuada («Informe de los Objetivos de Desarrollo Sostenible 2023: Edición Especial», 2023), siendo este otro de los puntos desfavorables del desperdicio alimentario. De esta manera, la implementación de un sistema de economía circular permite minimizar la generación de residuos, así como reducir los costes de los alimentos, mejorando la eficiencia del suministro y garantizando a los consumidores el acceso a productos nutritivos, asequibles y seguros (FAO, 2011). Estas aproximaciones permiten generar sistemas

alimentarios centrados en 4 propósitos fundamentales: el clima y la sostenibilidad, la nutrición y la salud, la circularidad y el uso de recursos y la innovación (Bas-Bellver *et al.*, 2022).

Implementando todas estas medidas, se contribuye a los ODS 2 y 12 (ANEXO I), hambre cero y producción y consumo responsables, respectivamente. Para el ODS 2 se fomenta principalmente el desarrollo de la meta 2.1 del objetivo, la cual pretende poner fin al hambre y asegurar el acceso de todas las personas a una alimentación sana, especialmente a los pobres y personas vulnerables. Para el ODS 12 se fomenta de forma principal el desarrollo de la meta 12.3 del objetivo, la cual pretende reducir a la mitad el desperdicio de alimentos en la venta al por menor y al nivel de los consumidores, así como reducir las pérdidas de alimentos en las cadenas de producción y suministro.

1.2. VALORIZACIÓN DE RESIDUOS PARA LA OBTENCIÓN DE POLVOS FUNCIONALES DE USO ALIMENTARIO

La producción de residuos en la industria hortofrutícola está relacionada por las tendencias del mercado y los consumidores, que actualmente demandan productos saludables que repercutan positivamente en su salud y calidad de vida (Mandha *et al.*, 2023), ya que una dieta rica en frutas y verduras minimiza la aparición de enfermedades de alto impacto social como la diabetes, las deficiencias cardiovasculares y el envejecimiento (Kaparapu *et al.*, 2020). Como consecuencia, se relaciona el 86% del mercado alimentario mundial con estos productos alimentarios (Macieira *et al.*, 2021).

Una de las hortalizas crucíferas mayormente cultivadas en el mundo es el brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) (Li *et al.*, 2022), con una producción mundial de más de 26 millones, junto a la coliflor, en el año 2022 (FAOSTAT, 2022), la cual está directamente relacionada con un aumento desproporcionado de la generación de residuos. De los aproximadamente 480 g que pesa un brócoli comercial, es habitual que sólo se empleen los floretes con fines alimentarios (Li *et al.*, 2022), los cuales representan alrededor del 53% de su peso fresco. En la industria de productos de IV gama o congelados, el 47% del brócoli se corresponde a tallos comercialmente desaprovechados y catalogados como residuos (Li *et al.*, 2022), a pesar de su riqueza en propiedades antioxidantes y anti diabéticas que pueden prevenir enfermedades (Ganesh *et al.*, 2022).

Por tal razón, se han estudiado diversas formas de valorizar los productos de desecho y contribuir a la economía circular, con el fin de aportar beneficios para los consumidores y minimizar los daños al medio ambiente (Sharma *et al.*, 2021). Una de las iniciativas, de la que parte este trabajo, es la obtención de ingredientes funcionales en polvo para la industria alimentaria mediante procesos de limpieza, triturado, deshidratación y molienda de los tallos, influyendo las condiciones aplicadas en las propiedades del producto final obtenido (Bas-Bellver *et al.*, 2022). Otras aplicaciones de los residuos hortofrutícolas incluyen la alimentación animal, el compostaje, la extracción de compuestos bioactivos con aplicación en la industria farmacéutica, la cosmética o incluso la producción de biocombustibles (Bayram *et al.*, 2021; Capanoglu *et al.*, 2022).

Los tallos frescos tienen un elevado contenido en humedad, pudiendo servir de caldo de cultivo para distintos microorganismos patógenos que favorecen su deterioro (Sharma *et al.*, 2021; Mandha *et al.*, 2023). Por ello, los tallos de brócoli deben de ser transformados en productos con una mayor estabilidad y capacidad de conservación. La humedad (x_w) depende de varios factores como la temperatura, el pH y la actividad del agua (a_w), siendo este último parámetro el más crítico

en términos de crecimiento microbiano debido a que se relaciona con la disponibilidad del agua libre en el alimento para participar en reacciones de deterioro (Zambrano *et al.*, 2019). Por tanto, para lograr una conservación a largo plazo de los productos obtenidos, se debe conseguir un valor de actividad del agua inferior a 0,3 y un contenido en humedad menor al 10 % (Zambrano *et al.*, 2019; Alp y Bulantekin, 2021).

La deshidratación mediante secado por aire caliente es una de las técnicas más empleadas para aumentar la estabilidad de los alimentos y permitir su correcta conservación (Yao *et al.*, 2023). Consiste en un proceso de convección, donde se aplica una corriente de aire caliente sobre el alimento, transfiriendo calor a éste y eliminando el agua por evaporación desde la superficie del producto (Guiné, 2018). A pesar de su extendido uso en la deshidratación de productos hortofrutícolas, la calidad del producto resultante puede verse reducida si no se seleccionan bien las variables del proceso, incluyendo un aspecto contraído y oscuro, pérdida de nutrientes, un sabor desagradable o una textura poco apetecible (Voda *et al.*, 2012; Guiné, 2018). Esta merma de la calidad viene influenciada por diversos factores tales como el tiempo de secado, las temperaturas empleadas y el flujo de aire caliente (Lutz *et al.*, 2015), y en cualquier caso depende del producto o matriz alimentaria a secar, de su estructura y composición. Sin embargo, un adecuado diseño de la operación puede resultar en una mejora de las propiedades y funcionalidad del producto, además de la esperada prolongación de su vida útil y concentración de compuestos debido a la eliminación del agua.

Otro de los métodos empleados en la conservación de productos es la liofilización, la cual está ganando cada vez más relevancia en la estabilización de alimentos debido a que permite obtener productos de mayor calidad (Xu *et al.*, 2020). Esta técnica se basa en una previa congelación del agua libre del alimento, seguida de un proceso de sublimación donde los cristales de hielo se eliminan para obtener un producto seco (Yao *et al.*, 2023). En comparación con la deshidratación mediante secado por aire caliente, la liofilización permite conservar mejor el color, la textura y el sabor de las muestras frescas, además de evitar la pérdida de determinados nutrientes (Yao *et al.*, 2023). Sin embargo, los tiempos de deshidratación son muy largos y el coste es elevado (Xu *et al.*, 2020), factores que limitan su uso generalizado en la industria alimentaria. Además, la formación de cristales de hielo puede producir daños estructurales que comprometan la presencia de algunos compuestos bioactivos en el producto obtenido (Guiné, 2018).

Por otro lado, la etapa de molienda es necesaria para transformar el residuo deshidratado en un producto en polvo. Variaciones en la intensidad de molienda dan lugar a cambios en el tamaño de las partículas que pueden influir en las propiedades de los polvos obtenidos, como son la bioaccesibilidad de los compuestos bioactivos o la higroscopicidad (Bas-Bellver *et al.*, 2022). Por tanto, es necesario determinar las condiciones del proceso aptas para el producto de interés y aplicarlas de forma controlada.

De esta manera, los productos en polvo obtenidos pueden ser reincorporados a la cadena alimentaria, fomentando la economía circular y contribuyendo al desarrollo de la Agenda 2030. Estos ingredientes en polvo pueden ser propuestos para su uso como agentes aromatizantes con un mayor contenido nutricional que los saborizantes artificiales, además de poder ser utilizados para la formulación de nuevos alimentos enriquecidos (Bas-Bellver *et al.*, 2020; Ganesh *et al.*, 2022). Residuos de hortalizas se han empleado para enriquecer en compuestos bioactivos diferentes productos de panadería como magdalenas, pan y pasteles (Singh *et al.*, 2022). Por ejemplo, los

polvos obtenidos por el procesado de residuos de zanahoria se han empleado para formular muffins sin gluten (Bas-Bellver *et al.*, 2024).

Con la obtención de estos polvos y su implementación en la cadena alimentaria, se contribuye al ODS 3 (ANEXO I), salud y bienestar, garantizando una mejor calidad de vida para personas de todas las edades. Además, estos polvos también contribuyen a los ODS 2 y 12 (ANEXO I).

1.3. COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL BRÓCOLI

Las verduras crucíferas, entre las que se encuentra el brócoli, son ricas en compuestos bioactivos, metabolitos secundarios de las plantas que destacan por su acción antioxidante clave en la neutralización de radicales libres, pudiendo evitar la aparición de estrés oxidativo que contribuye a la patogénesis (Kaparapu *et al.*, 2020). El consumo de estas verduras se ha relacionado con la prevención del desarrollo de células cancerígenas en la mama, el endometrio y el cuello uterino (Kaparapu *et al.*, 2020).

El brócoli es rico en minerales (principalmente calcio, fósforo, sodio y potasio), vitaminas (principalmente A, E y C), glucosinolatos, compuestos fenólicos y carotenoides, los cuales también se encuentran en el tallo, pero en menores cantidades (Nagraj *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2022; Núñez-Gómez *et al.*, 2022).

Los glucosinolatos son compuestos anticancerígenos característicos de la familia *Brassicaceae*, formados por una estructura molecular básica que consta de un resto sulfonado, un grupo β -D-triglucósido y una cadena lateral variable derivada de diversos aminoácidos (Li *et al.*, 2022). Cuando las células vegetales son dañadas, se libera una enzima conocida como mirosinasa, que cataliza la hidrólisis de los glucosinolatos para dar lugar a los isotiocianatos (Nagraj *et al.*, 2020). Estos últimos son más bioactivos y destacan por sus funciones de desintoxicación, como por ejemplo en la conversión de estrógenos en formas más simples para facilitar su eliminación del cuerpo (Kaparapu *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2022).

Otros componentes de interés en el brócoli son los compuestos fenólicos, uno de los grupos más importantes de los fitoquímicos con capacidad antioxidante, el cual se puede dividir en fenoles simples, ácidos fenólicos, derivados del ácido hidroxicinámico y flavonoides (Cartea *et al.*, 2011). Cuando una planta es sometida a un estrés biótico o abiótico, los compuestos fenólicos son sintetizados a través de la vía del ácido shikímico (Nagraj *et al.*, 2020), dando lugar a una variedad de compuestos que van desde compuestos simples con un solo anillo aromático hasta polifenoles (Cartea *et al.*, 2011). Estos últimos se pueden dividir en flavonoides y polifenoles no flavonoides (ácidos fenólicos, lignanos y estilbenos), siendo los flavonoides el grupo de polifenoles más extendido en las especies de *Brassica* (Cartea *et al.*, 2011; Kaparapu *et al.*, 2020). Además, se ha visto que algunos flavonoides juegan un papel importante en la prevención de trastornos neurodegenerativos inhibiendo las enzimas necesarias para el metabolismo de los neurotransmisores (Nagraj *et al.*, 2020). Respecto a la extracción de los compuestos fenólicos, estos se pueden encontrar en forma libre o unidos a otros compuestos de la pared celular. Es por esto que resulta conveniente someter a los vegetales a una previa disrupción mecánica para poder extraerlos con facilidad (Núñez-Gómez *et al.*, 2022).

Por otro lado, las vitaminas A, E y C participan en la defensa de los vegetales en momentos de estrés oxidativo (Nagraj *et al.*, 2020). Concretamente, la vitamina E juega un papel importante en

la prevención de la propagación de radicales libres debido a su fuerte poder antioxidante (Nagraj *et al.*, 2020). También, los carotenoides se han relacionado con la neutralización de los radicales libres (Kaparapu *et al.*, 2020), disminuyendo el riesgo de cáncer, así como la proliferación celular del endometrio y la glándula mamaria (Kaparapu *et al.*, 2020; Nagraj *et al.*, 2020).

1.4. USO DE PRETRATAMIENTOS PARA LA MEJORA DE LAS PROPIEDADES DE LOS POLVOS

Los métodos de deshidratación como el secado por aire caliente o la liofilización pueden afectar a la calidad final del producto obtenido y a los costes del proceso por un elevado consumo de energía (Bassey *et al.*, 2021). El secado por aire caliente favorece el fenómeno de encostramiento por efecto de la temperatura, el cual consiste en la formación de una capa dura superficial en el alimento que impide la correcta transferencia de humedad hacia el exterior (Maskan, 2001; Guiné, 2018). De esta manera, para reducir el contenido en humedad a valores deseados, se necesitan largos tiempos de secado que pueden comprometer la presencia de compuestos de interés en el producto final (Bassey *et al.*, 2021). En cambio, la liofilización viene limitada por los elevados tiempos de deshidratación y el elevado coste de los equipos (Guiné, 2018).

La aplicación de pretratamientos previamente a la deshidratación puede contribuir a mejorar la difusión del agua a través del tejido, reduciendo los tiempos de secado y aumentando así la calidad del material seco (Dziki, 2020; Bassey *et al.*, 2021). Por otro lado, los pretratamientos pueden promover la extracción de compuestos bioactivos o enzimas que promuevan reacciones bioquímicas que aumenten la bioactividad de determinados compuestos (Mohammed *et al.*, 2022), o bien contribuir a la liberación de compuestos activos naturalmente ligados a las estructuras celulares (Ummat *et al.*, 2021). De este modo, la aplicación de pretratamientos podría contribuir a la obtención de polvos con unas propiedades fisicoquímicas mejoradas y enriquecidos en propiedades antioxidantes y otros compuestos bioactivos.

Uno de los pretratamientos más sencillos que pueden aplicarse al tejido vegetal para facilitar los flujos de agua y liberar compuestos de interés es la ruptura física del tejido o desestructuración. La influencia de la intensidad de la desestructuración previa, así como el pretratamiento de congelación-descongelación, ya han sido evaluados en estudios previos (Bas-Bellver *et al.*, 2020). En el presente trabajo, se propone evaluar otros pretratamientos que puedan modificar la estructura vegetal, entre los que se encuentran tratamientos termofísicos o biológicos como la fermentación.

La fermentación con bacterias ácido-lácticas presenta un gran potencial como pretratamiento; en particular, microorganismos tales como *Levilactobacillus brevis*, *Limosilactobacillus fermentum* y *Lactiplantibacillus plantarum*, siendo *L. plantarum* de gran interés para la fermentación de brócoli por su capacidad de crecer en esta matriz vegetal (Ye *et al.*, 2019; Iga-Buitrón *et al.*, 2023; Zdziobek *et al.*, 2023). La fermentación permite transformar polifenoles y otros compuestos fenólicos en compuestos con una mayor bioactividad y biodisponibilidad por la expresión de las enzimas hidrolasa, glicosil descarboxilasa y ácido fenólico reductasa (Li *et al.*, 2019; Kiczorowski *et al.*, 2022; Zdziobek *et al.*, 2023). También, el potencial fermentativo de *L. plantarum* favorece la biotransformación de glucosinatos a isotiocianatos más bioactivos (Zdziobek *et al.*, 2023), así como la descomposición de azúcares, vitaminas y otros compuestos presentes en las matrices vegetales (Yang *et al.*, 2024). De esta manera, este pretratamiento se ha propuesto como estudio

en el presente trabajo por su relación con la obtención de productos con una mayor biodisponibilidad de compuestos bioactivos.

Entre los pretratamientos termofísicos, la aplicación de microondas se ha propuesto como candidato para provocar cambios estructurales debido a la explosión de vapor que puede generar en los puntos calientes o de sobrecalentamiento (Conesa *et al.*, 2016). Así pues, estas auto-explosiones inducidas por el calentamiento heterogéneo se relacionan con una despolimerización de la celulosa y una solubilización de la lignina, entre otros cambios estructurales, (Conesa *et al.*, 2016; Shrotri *et al.*, 2018), incrementando la presencia de ciertos compuestos en los productos obtenidos. Por otro lado, el calentamiento volumétrico consecuencia de la interacción de la matriz vegetal con las ondas electromagnéticas acelera las reacciones fisicoquímicas por un calentamiento lo que, junto con las modificaciones estructurales, permite reducir el tiempo de secado de productos hortofrutícolas, mejorando su perfil nutricional (Salim *et al.*, 2019; Salehi *et al.*, 2023). De esta manera, se ha relacionado el uso de microondas con la retención de vitaminas y con la inactivación de enzimas indeseables (Malik *et al.*, 2022). Además, al reducir el tiempo de secado, se puede mejorar la transferencia de humedad hacia el exterior por una menor contribución al fenómeno de encostramiento, obteniendo polvos con una mayor estabilidad y capacidad de conservación.

Por otro lado, los ultrasonidos son una tecnología emergente cada vez más aplicada en investigación de productos y procesos alimentarios que, combinada con el secado, permite reducir el gasto energético y obtener productos finales con unas propiedades mejoradas (Pandiselvam *et al.*, 2023; Zhu *et al.*, 2024). Se sabe que, al pretratar con ultrasonidos, el tiempo de secado se acorta para el secado por aire caliente y para la liofilización (Llavata *et al.*, 2020). Al someter al alimento a las ondas ultrasónicas se produce un fenómeno conocido como "efecto esponja" a partir del cual se forman microcanales que mejoran la transferencia del agua intracelular a la superficie (Pandiselvam *et al.*, 2023). De esta manera, durante el secado se favorece la eliminación de la humedad de los alimentos, obteniendo productos finales con una mayor capacidad de conservación. Otro de los fenómenos que ocurren al aplicar ultrasonidos es la cavitación, la cual se basa en la formación de burbujas que crecen, se expanden y colapsan cuando las ondas ultrasónicas pasan a través de un medio líquido, afectando a las propiedades químicas, bioquímicas y mecánicas de los alimentos (Zhu *et al.*, 2024). Además, estos fenómenos se han relacionado con la permeabilización de las membranas causando la dispersión de componentes intracelulares (Sundaram *et al.*, 2003; Salehi, 2020). Así, este pretratamiento ha sido escogido por su eficiencia en la extracción de compuestos bioactivos presentes en la matriz vegetal, pudiendo obtener productos en polvo con propiedades funcionales mejoradas tras la deshidratación.

Por otro lado, la pasteurización y el autoclavado son pretratamientos térmicos empleados en la industria de procesamiento alimentario (Barba *et al.*, 2017), aunque menos empleados actualmente en las investigaciones para el desarrollo de alimentos funcionales. Por un lado, el tratamiento en autoclave se realiza bajo unas condiciones de elevada presión y temperatura, las cuales se han vinculado a la producción de roturas de las paredes celulares por la solubilización de la celulosa (Taheri *et al.*, 2021). De esta manera, al dañarse las paredes celulares se puede fomentar la extracción de compuestos bioactivos y aumentar la bioaccesibilidad de estos (Barba *et al.*, 2017), siendo, por tanto, su aplicación de interés para el presente estudio. Por otro lado, la pasteurización se ha relacionado con la inactivación de enzimas indeseables que pueden afectar a la calidad final

del producto, así como con la obtención de productos que preservan su contenido nutricional (Aamir *et al.*, 2013), siendo también de interés evaluar su efecto sobre los residuos en el presente trabajo. Además, cabe mencionar que la utilización de este pretratamiento también se justifica debido a la necesidad de su aplicación previamente a la fermentación.

2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

El objetivo general del presente trabajo es estudiar el impacto de diferentes pretratamientos y técnicas de secado sobre las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes de productos en polvo obtenidos a partir de tallos de brócoli, con el fin de transformar este residuo en ingredientes alimentarios con propiedades funcionales mejoradas.

Para la consecución del objetivo principal, se plantean los siguientes objetivos específicos:

- Evaluar el efecto de la fermentación con *Lactiplantibacillus plantarum* sobre las propiedades fisicoquímicas, incluidas las antioxidantes, del residuo de brócoli previamente triturado.
- Definir el tiempo necesario para reducir la actividad del agua del producto por debajo de 0,3, asegurando su estabilidad, para residuo fermentado y sin fermentar, a distintas temperaturas de secado (50, 60, 70 °C).
- Evaluar el impacto de la temperatura de secado sobre las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes de los productos en polvo obtenidos, así como sobre la viabilidad microbiana en los productos fermentados, con el fin de seleccionar la temperatura de secado que se aplicará tras los pretratamientos.
- Evaluar el efecto de diferentes pretratamientos termofísicos (pasteurización, ultrasonidos, autoclavado y microondas) y biológicos (fermentación con *L. plantarum*) sobre las propiedades fisicoquímicas, incluidas las antioxidantes, del tallo de brócoli, así como sobre la integridad del tejido celular pretratado.
- Analizar el impacto de la técnica de deshidratación empleada (liofilización o secado por aire en las condiciones preseleccionadas), sobre las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes de los productos de tallo de brócoli en polvo, así como sobre la viabilidad del microorganismo, en los productos fermentados.

El plan de trabajo propuesto para conseguir los objetivos planteados, se resume a continuación:

A. Estudio preliminar de fermentación y deshidratación:

1. Estudio del empleo del residuo de IV gama de brócoli (tallos separados de los floretes) como sustrato para el crecimiento del microorganismo probiótico *Lactiplantibacillus plantarum*, durante 24 h. Evaluación del crecimiento del microorganismo y de las propiedades fisicoquímicas del residuo.
2. Estudio del secado por aire caliente del residuo fermentado y sin fermentar, procedentes de un mismo lote, en secadores de bancada, empleando aire a diferentes temperaturas (50, 60 y 70 °C).
3. Análisis de las propiedades fisicoquímicas (x_w , x_{ss} y a_w), incluidas las propiedades antioxidantes (fenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS), en tallo de brócoli fresco, fermentado y deshidratado por cada una de las diferentes técnicas y condiciones ensayadas, y de la viabilidad de *L. plantarum* en los productos en polvo y productos intermedios.

4. Análisis de resultados y selección de las condiciones de secado para escalar el proceso a planta piloto.
- B. Estudio de los pretratamientos termofísicos y biológicos, y de la operación de deshidratación sobre las propiedades de los ingredientes en polvo obtenidos:
1. Estudio de diferentes tratamientos (autoclavado, microondas, ultrasonidos, pasteurización y fermentación) previos a la etapa de deshidratación (secado por aire caliente y liofilización), a partir de un mismo lote de residuos. Evaluación del efecto del procesado sobre las características fisicoquímicas (x_w , x_{ss} y a_w), incluidas las antioxidantes (fenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS), y el recuento de viables en los ingredientes en polvo obtenidos.
 2. Observaciones microscópicas del residuo pretratado (autoclavado, ultrasonidos y fermentación) mediante microscopía electrónica de barrido a bajas temperaturas (Cryo-SEM).
 3. Análisis y discusión de los resultados obtenidos.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. MATERIAL VEGETAL

El material vegetal empleado, cabezas de brócoli de aproximadamente 480 g, fue adquirido en un supermercado local de la ciudad de Valencia (España) y conservado en refrigeración a 4 °C hasta el momento de su utilización. Para la preparación de la materia prima, se separaron las hojas y floretes del tallo con un cuchillo y los tallos se lavaron por inmersión en una disolución de hipoclorito de sodio al 1% (v/v) en agua durante 1 min, seguido de un enjuague con agua corriente. A continuación, los tallos se trocearon en cuartos con ayuda de un cuchillo. Una vez acondicionados, se trituraron con un procesador de alimentos Thermomix® TM6 (Vorwerk, España) durante 8 s a 10.000 rpm, antes de ser sometidos a los procesos que se describirán posteriormente.

3.2. PREPARACIÓN DEL INÓCULO

Para inocular el residuo de brócoli se empleó la cepa de *Lactiplantibacillus plantarum* spp. CECT 749, adquirida en la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT, Valencia, España). Este microorganismo fue seleccionado debido a su capacidad de degradar distintos polisacáridos, así como por su diversidad metabólica y capacidad de adaptación, ventaja que le otorga la habilidad para crecer en muestras vegetales (Seddik *et al.*, 2017). Además, destaca su potencial efecto probiótico, de gran interés en el ámbito de la salud humana (Liu *et al.*, 2018).

Siguiendo las indicaciones de la CECT, las cepas liofilizadas se recuperaron y se conservaron en viales a -20 °C hasta su utilización. Para ello, el vial se descongeló a temperatura ambiente y se centrifugó durante 1 min a 3000 rpm (Eppendorf MiniSpin®). Tras la centrifugación, el sobrenadante se separó y el pellet resultante se resuspendió en 1 mL de caldo Man Rogosa y Sharpe (MRS) (SharlauChemie®, Barcelona, España) y se llevó a un volumen total de 100 mL de medio estéril. Tras 24-48 h de incubación a 37 °C en estufa (PSelecta, modelo Incudigit), se realizaron siembras masivas o en césped en la superficie de placas de Petri que contenían agar MRS (SharlauChemie®, Barcelona, España). Las placas sembradas se incubaron a 37 °C durante 24-48 h en estufa (PSelecta, modelo Incudigit) y se conservaron en nevera a 4 °C hasta su utilización. Para la obtención del inóculo necesario para fermentar el tallo de brócoli triturado, la población microbiana crecida en la superficie de una de las placas se recogió mediante raspado con el asa de siembra con la que se inoculó un frasco de vidrio ISO con 100 mL de caldo MRS (SharlauChemie®, Barcelona, España). Tras 24 h de incubación a 37 °C se obtuvo el inóculo inicial con una concentración media microbiana del orden de $9,4 \pm 0,2 \log_{10}$ UFC/mL. Todos los materiales utilizados fueron previamente esterilizados en autoclave a 120 °C durante 2 h (Systec GmbH, modelo VB-40, Linden, Alemania).

3.3. OBTENCIÓN DE POLVOS A PARTIR DEL RESIDUO DE BRÓCOLI

3.3.1. Estudio preliminar de fermentación y secado

Se realizó un estudio preliminar con el fin de evaluar el efecto de la fermentación y el secado sobre las propiedades de los productos en polvo, así como de definir la temperatura del aire más adecuada para llevar a cabo el secado convectivo (Figura 2). Se obtuvieron polvos mediante secado por aire a 50, 60 o 70 °C o liofilización del tallo de brócoli triturado, fermentado y sin fermentar

(Figura 1). Para ello, se emplearon 2 Kg de residuo de brócoli pertenecientes al mismo lote: 200 g por cada tipo de polvo, a los que se sumaron 200 g destinados a la caracterización del residuo fresco y 200 g empleados para la caracterización del residuo fermentado.

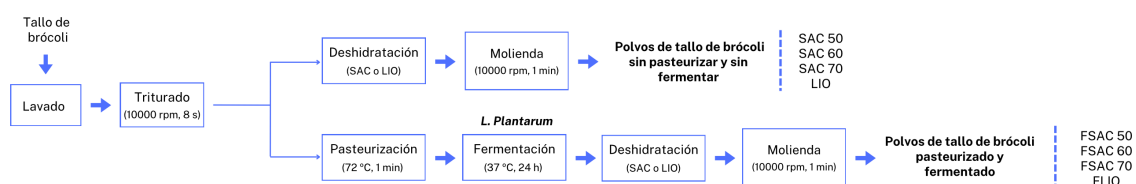


Figura 2. Diagrama de flujo del proceso de transformación de los tallos de brócoli en productos en polvo fermentados y sin fermentar, sometidos a diferentes procesos de secado. SAC: Secado por Aire Caliente; LIO: Liofilización; F: Fermentación.

La parte del material vegetal sometida a fermentación antes de la deshidratación fue previamente pasteurizada. Para ello, se introdujeron 200 g del residuo triturado en tarros de vidrio estériles de 250 mL con cierre Twist-Off que se llevaron a un baño de agua caliente a 82 °C donde permanecieron sumergidos hasta alcanzar una temperatura de 72 °C en el centro geométrico, la cual se mantuvo durante 1 min. De esta forma se consiguió reducir al mínimo la carga microbiana inicial con el fin de asegurar un buen crecimiento del microorganismo inoculado. Se adicionaron 2 mL del inóculo preparado ($\sim 10^9$ UFC/mL) en cada tarro de vidrio conteniendo 200 g de brócoli. Posteriormente, los tarros se cerraron y se introdujeron en una estufa de incubación (PSelecta modelo Incudigit) donde permanecieron a 37 °C durante 24 h. Todo el material empleado en este proceso fue previamente esterilizado en autoclave (Systec GmbH, modelo VB-40; Linden, Alemania) a 120 °C durante 2 h.

Como técnicas de deshidratación se emplearon el secado por aire caliente y la liofilización. En esta etapa del plan de trabajo, el secado por aire caliente (SAC) se llevó a cabo en secadores de bandejas domésticos a escala de laboratorio, con control de temperatura (Gastroback, Natural Plus 46600, Alemania), previa disposición del residuo en bandejas perforadas de plástico (200 g/bandeja), en láminas de aproximadamente de 1 cm de espesor. En esta parte del estudio se utilizaron estos secadores ya que permitían realizar el secado a diferentes temperaturas a partir de un mismo lote de residuo fermentado, eliminando así la posible variabilidad debida al lote y al rendimiento de la etapa previa de fermentación. De este modo, se pretendía seleccionar la temperatura de secado en función del contenido en compuestos antioxidantes y del potencial efecto probiótico del producto, directamente relacionado con la viabilidad del microorganismo tras el secado. El SAC se llevó a cabo con aire a una temperatura constante de 50, 60 y 70 °C hasta alcanzar un valor de a_w inferior a 0,3, con el fin de asegurar la estabilidad del residuo tras el secado (Jiang *et al.*, 2013). El secado del residuo de brócoli sin fermentar en estas condiciones se completó en 12 h a 50 °C, en 10 h a 60 °C y en 6 h a 70 °C, a diferencia del secado del residuo de brócoli fermentado que se completó en 12 h a 50 °C, en 7 h a 60 °C y en 5 h a 70 °C.

En el proceso de liofilización (LIO), tanto el residuo fermentado como el no fermentado se distribuyeron en bandejas de aluminio formando una capa delgada de aproximadamente 1 cm de espesor. La primera etapa del proceso implicó la congelación a -40 °C durante al menos 18 h utilizando un ultracongelador (Matek modelo CVN-40/105). Posteriormente, se llevaron a cabo las etapas de sublimación y desorción en un liofilizador de planta piloto (TELSTAR LIOALFA 6-80),

estableciendo la temperatura del condensador a $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ y una presión subatmosférica de $0,1\text{ mbar}$ durante 48 h.

Tras la deshidratación, bien por secado por aire caliente (SAC) o por liofilización (LIO), el residuo seco se molió en un procesador de alimentos Thermomix® a 10.000 rpm durante 60 s en intervalos de 20 s hasta obtener un polvo fino. Para evitar el deterioro de los polvos por la exposición a la luz y al oxígeno, estos fueron introducidos en frascos de cristal con cierre Twist-Off envueltos en papel de aluminio y almacenados en oscuridad a temperatura ambiente hasta su análisis.

Como se explicará posteriormente, para el producto fresco y fermentado, así como para los respectivos polvos, se analizaron las propiedades fisicoquímicas (humedad, actividad del agua y contenido en sólidos solubles totales), incluidas las propiedades antioxidantes (fenoles y flavonoides totales y capacidad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS). Además, en los productos fermentados, se hizo el recuento de viables antes y después de la deshidratación.

3.3.2. Estudio del efecto de pretratamientos termofísicos y biológicos en las propiedades de los productos en polvo

Una vez seleccionada la temperatura de secado a partir del estudio preliminar, se programó la segunda parte del diseño experimental en el que se aplicaron diferentes pretratamientos termofísicos y biológicos al residuo previamente a su deshidratación. En este caso, los polvos se obtuvieron mediante liofilización o secado por aire a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ del tallo de brócoli triturado y sometido a su correspondiente pretratamiento (Figura 3). Para ello, se emplearon $2,4\text{ Kg}$ de residuo de brócoli pertenecientes al mismo lote: 200 g por pretratamiento y técnica de secado.

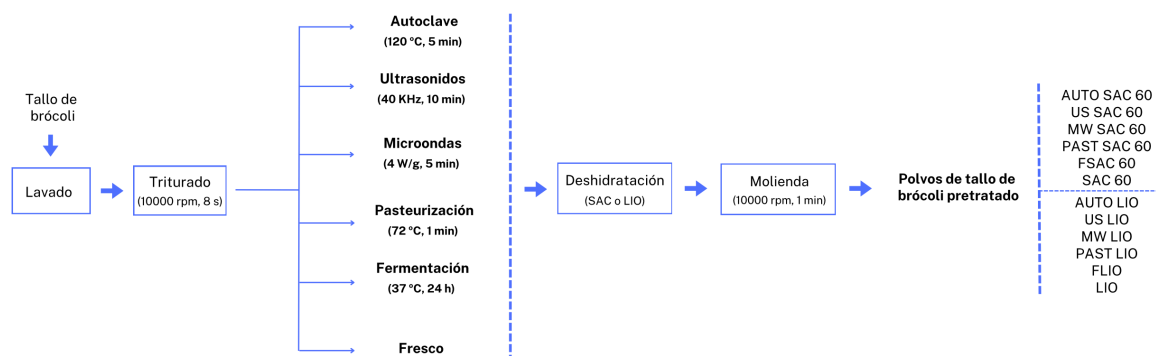


Figura 3. Diagrama de flujo del proceso de transformación de los tallos de brócoli sometidos a diferentes pretratamientos en productos en polvo. SAC: Secado por Aire Caliente; LIO: Liofilización; F: Fermentación; AUTO: Autoclave; US: Ultrasonidos; MW: Microondas; PAST: Pasteurización.

El material vegetal fue distribuido en tarros de vidrio estériles de 250 mL con cierre Twist-Off en cantidades de 200 g y sometido a su correspondiente pretratamiento. Los pretratamientos aplicados fueron autoclave a $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 5 min (Systec GmbH, modelo VB-40, Linden, Alemania), horno microondas a 4 W/g durante 5 min (Samsung GW72N), ultrasonidos a 40 KHz durante 10 min (Selecta, modelo Ultrasons-H) y fermentación con *Lactiplantibacillus plantarum* durante 24 h a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ en estufa (PSelecta, modelo Incudigit), previa pasteurización de la muestra. Además, como controles se emplearon el residuo fresco y el residuo pasteurizado. La selección de las condiciones

de los pretratamientos se basó en dos estudios previos (Ummat *et al.*, 2021; Baldassa, 2023). Los procesos de pasteurización y fermentación se realizaron en las condiciones previamente descritas para el estudio preliminar.

La deshidratación se llevó a cabo mediante secado por aire caliente y liofilización. A diferencia del estudio preliminar, en este caso el secado por aire caliente se llevó a cabo a escala de planta piloto en un secador convectivo de bandejas de flujo transversal CLW750 TOP+ (Pol-ekoAparatura, Katowice, Polonia) con una velocidad de aire de 2 m/s, previa distribución del residuo en bandejas perforadas de plástico (200 g/bandeja), en láminas de aproximadamente 1 cm de espesor. El secado se realizó a 60 °C durante 10 h para todos los pretratamientos, lo que resultó en valores de a_w inferiores a 0,3 en todos los casos. Este diseño experimental del SAC en un secador de mayores dimensiones permite simultanear el secado del residuo procedente de un mismo lote y sometido a los diferentes pretratamientos descritos. Por su parte, la liofilización se llevó a cabo según se ha descrito para el estudio preliminar. Una vez deshidratadas las muestras, los productos en polvo se obtuvieron y almacenaron en las condiciones definidas en el estudio previo. Además, para el producto fresco y fermentado, así como para los respectivos polvos, se analizaron todas las propiedades mencionadas en el estudio preliminar.

En adelante, se emplearán las siguientes abreviaturas para identificar el residuo de brócoli y los respectivos productos en polvo obtenidos:

Tabla 1. Abreviaturas empleadas para identificar el residuo en las diferentes etapas del proceso, y los polvos obtenidos a partir de éstos.

FRESCO	Tallo de brócoli lavado y triturado
PAST	Tallo de brócoli lavado, triturado y pasteurizado
PAST + FERM	Tallo de brócoli lavado, triturado, pasteurizado y fermentado
SAC 50	Polvos obtenidos mediante secado con aire a 50 °C de muestras FRESCO
SAC 60	Polvos obtenidos mediante secado con aire a 60 °C de muestras FRESCO
SAC 70	Polvos obtenidos mediante secado con aire a 70 °C de muestras FRESCO
LIO	Polvos obtenidos mediante liofilización de muestras FRESCO
FSAC 50	Polvos obtenidos mediante secado con aire a 50 °C de muestras PAST + FERM
FSAC 60	Polvos obtenidos mediante secado con aire a 60 °C de muestras PAST + FERM
FSAC 70	Polvos obtenidos mediante secado con aire a 70 °C de muestras PAST + FERM
FLIO	Polvos obtenidos mediante liofilización de muestras PAST + FERM
AUTO	Tallo de brócoli de muestras FRESCO tratado con autoclave (120 °C, 5 min)
US	Tallo de brócoli de muestras FRESCO tratado con ultrasonidos (40 kHz, 10 min)
MW	Tallo de brócoli de muestras FRESCO tratado con microondas (4 W/g, 5 min)
AUTO SAC 60	Polvos obtenidos mediante secado con aire a 60 °C de muestras AUTO
US SAC 60	Polvos obtenidos mediante secado con aire a 60 °C de muestras US
MW SAC 60	Polvos obtenidos mediante secado con aire a 60 °C de muestras MW
PAST SAC 60	Polvos obtenidos mediante secado con aire a 60 °C de muestras PAST
AUTO LIO	Polvos obtenidos mediante liofilización de muestras AUTO
US LIO	Polvos obtenidos mediante liofilización de muestras US
MW LIO	Polvos obtenidos mediante liofilización de muestras MW
PAST LIO	Polvos obtenidos mediante liofilización de muestras PAST

3.4. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

Se realizaron dos caracterizaciones completas de los tallos de brócoli triturados, del residuo pretratado y de los productos en polvo obtenidos: una para los residuos y productos en polvo derivados del primer diagrama de flujo (Figura 2), y otra para los residuos y productos en polvo derivados del segundo diagrama de flujo (Figura 3). Cabe mencionar que todas las operaciones unitarias recogidas en un mismo diagrama de flujo se realizaron con muestras pertenecientes a un mismo lote de residuo.

Las caracterizaciones consistieron en determinar las propiedades fisicoquímicas (humedad, actividad del agua y contenido en sólidos solubles totales), incluidas las propiedades antioxidantes (fenoles y flavonoides totales y capacidad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS). En el caso de que el proceso incluyera una etapa de fermentación, también se hizo un recuento de viables tras la fermentación y en el producto en polvo obtenido. El efecto de los pretratamientos sobre la estructura del tallo de brócoli triturado, se evaluó mediante microscopía, según se detalla a continuación.

3.4.1. Propiedades fisicoquímicas

Las determinaciones detalladas a continuación se realizaron por triplicado para disminuir el impacto de los errores experimentales.

3.4.1.1. Actividad del agua (a_w)

La actividad del agua se determinó a 25 °C con un higrómetro de punto de rocío Aqualab® CX-2 (Decagon Devices In. Pullma, WA, USA) con una precisión de $\pm 0,003$.

3.4.1.2. Humedad (x_w)

La humedad (x_w) se determinó siguiendo el método AOAC 934.06 desarrollado por la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC) para frutas deshidratadas. Este método se basa en deshidratar una cantidad conocida de muestra en estufa de vacío (VACIOTEM-T J.P. SELECTA) a 200 mm Hg y 60 °C hasta alcanzar peso constante y en cuantificar la pérdida de peso que experimenta. Para ello, las muestras de tallo de brócoli se colocaron en crisoles de vidrio que se pesaron, tanto antes de la deshidratación como después, en una balanza de 1 mg de precisión (Mettler Toledo Inc., Barcelona, España). A continuación, se aplicó la ecuación 1 para calcular la fracción másica de agua.

$$x_w (\text{g}_{\text{agua}} / \text{g}_{\text{muestra}}) = \frac{M_1 - M_2}{M_1 - M_0} \quad (\text{Ec. 1})$$

donde:

M_0 es el peso del crisol vacío (g)

M_1 es el peso del crisol y la muestra húmeda antes del secado (g)

M_2 es el peso del crisol y la muestra tras el secado en la estufa de vacío (g)

3.4.1.3. Contenido en sólidos solubles totales (x_{ss})

El contenido en sólidos solubles totales (x_{ss}) del residuo sin deshidratar se calculó a partir de la humedad de la muestra (x_w) y de la medida de °Brix de la fase líquida resultante de aplicar fuerza directa sobre muestras de tallo de brócoli (Ec. 2). En el caso del residuo deshidratado, el cálculo se realizó a partir de la humedad de la muestra (x_w) y de la medida de °Brix de la disolución resultante de mezclar 1 g de muestra y 20 mL de agua destilada en agitación horizontal (COMECTA WY-100) a 220 rpm durante 1 h (Ec. 3). Para la lectura de los °Brix se hizo uso de un refractómetro de mesa (ABBE ATAGO, NAT T3, Japón) con una precisión de $\pm 0,1$ a una temperatura de 20 °C.

$$^{\circ}\text{Brix} = \frac{x_{ss}}{x_{ss} + x_w} \cdot 100 \quad (\text{Ec. 2})$$

donde:

x_{ss} es la fracción másica de sólidos solubles ($\text{g}_{\text{sólidos solubles}}/\text{g}_{\text{muestra}}$)

x_w es la humedad de la muestra ($\text{g}_{\text{agua}}/\text{g}_{\text{muestra}}$)

$$^{\circ}\text{Brix} = \frac{x_{ss}}{x_{ss} + (x_w + m_w)} \cdot 100 \quad (\text{Ec. 3})$$

donde:

x_{ss} es la fracción másica de sólidos solubles ($\text{g}_{\text{sólidos solubles}}/\text{g}_{\text{muestra}}$)

m_w es la masa de agua empleada para la disolución (20 g)

x_w es la humedad de la muestra ($\text{g}_{\text{agua}}/\text{g}_{\text{muestra}}$)

3.4.2. Propiedades antioxidantes

Para la determinación de las propiedades antioxidantes, hubo que extraer previamente los compuestos de la matriz vegetal. Para ello, se obtuvieron extractos a partir de la mezcla de 4 g de muestra sin deshidratar o 0,5 g de polvo y 10 mL de metanol al 80 % (v/v) en agua bidestilada, seguido de agitación (agitador horizontal COMECTA WY-100) durante 1 h. Posteriormente, la mezcla se centrifugó (Medifriger BL-S, P-Selecta) a 10.000 rpm durante 5 min. Se obtuvieron 2 extractos de cada muestra y todas las medidas se realizaron sobre el sobrenadante separado por centrifugación.

3.4.2.1. Contenido en fenoles totales

Para determinar el contenido en fenoles totales se hacen reaccionar los compuestos fenólicos presentes en la muestra con el reactivo de Folin-Ciocalteu, produciéndose un complejo coloreado que se puede cuantificar espectrofotométricamente a 765 nm (Singleton *et al.*, 1999). En primer lugar, se mezclaron en cada una de las cubetas de espectrofotometría 0,5 mL de agua bidestilada, 0,125 mL de extracto y 0,125 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu. Tras 6 min de reacción en oscuridad, se añadieron 1,25 mL de carbonato sódico (Na_2CO_3) al 7% y 1 mL de agua destilada, dejando reposar la reacción durante 90 min también en oscuridad, tras los cuales se midió la

absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro Cary 60 UV/Vis (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA). El blanco se preparó reemplazando el extracto por metanol al 80% (v/v) en agua bidestilada. En el caso de los polvos, después de realizar las extracciones, se realizaron diluciones 1:4 (v/v) del extracto, usando como disolvente metanol al 80 % (v/v) en agua bidestilada.

Para expresar los resultados en mg de Ácido Gálico Equivalente (EAG) por g de materia seca (mg EAG/g_{ms}), se obtuvo una recta de calibrado para el compuesto de referencia ácido gálico (pureza ≥ 98 % Sigma-Aldrich), en el intervalo comprendido entre 0 y 300 mg/L.

3.4.2.1. Contenido en flavonoides totales

Para determinar el contenido en flavonoides totales se empleó el método colorimétrico del cloruro de aluminio (AlCl₃) descrito en 2008 por Luximon-Ramma *et al.* el cual se basa en la formación de complejos entre los flavonoides presentes en la muestra y el cloruro de aluminio, lo que produce un cambio de color que puede ser cuantificado espectrofotométricamente a 368 nm. En primer lugar, se preparó una disolución de cloruro de aluminio (AlCl₃) al 2 % (m/v) en metanol puro teniendo la precaución de usar la campana ya que, al ser una reacción exotérmica, se liberan vapores. Posteriormente, en cada una de las cubetas de espectrofotometría, se mezclaron 1,5 mL de extracto con 1,5 mL de la disolución de AlCl₃, se dejaron reaccionar durante 10 min en oscuridad y, tras ese tiempo, se midió la absorbancia a 368 nm en un espectrofotómetro Cary 60 UV/Vis (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA). El blanco se preparó reemplazando el extracto por metanol al 80% (v/v) en agua bidestilada. En el caso de los polvos, después de realizar las extracciones, se realizaron diluciones 1:4 (v/v) del extracto, como en el caso de los fenoles, usando como disolvente metanol al 80 % (v/v) en agua bidestilada.

Para expresar los resultados en mg de Quercetina Equivalente (EQ) por g de materia seca (mg EAG/g_{ms}), se obtuvo una recta de calibrado para el compuesto de referencia quercetina (pureza ≥ 98 % Sigma-Aldrich), en el intervalo comprendido entre 0 y 300 mg/L.

3.4.2.1. Capacidad antioxidante: métodos DPPH y ABTS

La capacidad antioxidante del residuo de brócoli se midió mediante los métodos de DPPH y ABTS. El primer método fue descrito por Brand-Williams *et al.* en 1995 y se basa en la reducción del radical libre DPPH⁺ (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) debido a su capacidad de aceptar un átomo de hidrógeno cedido por un compuesto antioxidante (Kedare y Singh, 2011), dando lugar a una reacción colorimétrica que se puede medir por espectrofotometría a 517 nm. Para ello, se preparó en primer lugar una disolución de DPPH 0,1 mM en metanol puro. Posteriormente, en cada una de las cubetas de espectrofotometría, se mezclaron 0,1 mL del extracto con 2,9 mL de la disolución de DPPH, se dejaron reaccionar 1 h en oscuridad y, tras ese tiempo, se midió la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro Cary 60 UV/Vis (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA). El blanco se preparó reemplazando el extracto por metanol al 80% (v/v) en agua bidestilada. En el caso de los polvos, después de realizar las extracciones, se realizaron diluciones 1:4 (v/v) del extracto usando como disolvente metanol al 80 % (v/v) en agua bidestilada.

Para expresar los resultados en mg de Trólox Equivalente (EQ) por g de materia seca (mg EAG/g_{ms}), se obtuvo una recta de calibrado para el compuesto de referencia trólox (pureza ≥ 99 % Sigma-Aldrich), en el intervalo comprendido entre 0 y 200 mg/L.

El segundo método fue descrito por Re *et al.* en 1999 y se basa en la reducción del radical libre ABTS⁺ (ácido 2,29-azobis-3-etil benzotiazolin-6-sulfónico) a ABTS por la acción de un compuesto antioxidante, dando lugar a una reacción colorimétrica que puede ser cuantificada por espectrofotometría a 734 nm. Para liberar el radical ABTS⁺, se preparó una disolución de ABTS 7 mM y se dejó durante 16 h en oscuridad y a temperatura ambiente. Pasado ese tiempo, y antes de preparar las cubetas, se usó tampón fosfato para ajustar la disolución de ABTS⁺ a una absorbancia de 0,7 nm medida a 734 nm en espectrofotómetro Cary 60 UV/Vis (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA). Posteriormente, se mezclaron en las cubetas espectrofotométricas 0,1 mL de extracto y 2,9 mL de la nueva disolución de ABTS⁺, y se dejaron reaccionar durante 7 min en oscuridad. Una vez transcurrido ese tiempo, se midió la absorbancia a 734 nm en un espectrofotómetro Cary 60 UV/Vis (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA). El blanco se preparó reemplazando el extracto por metanol al 80% (v/v) en agua bidestilada. En el caso del residuo sin deshidratar, después de realizar las extracciones, se realizaron diluciones 1:4 (v/v) del extracto usando como disolvente metanol al 80% (v/v) en agua bidestilada. En el caso de los polvos, después de realizar las extracciones, se realizaron diluciones 1:13 (v/v) del extracto, usando el mismo disolvente que se ha mencionado anteriormente.

Para expresar los resultados en mg de Trólox Equivalente (EQ) por g de materia seca (mg EAG/g_{ms}), se obtuvo una recta de calibrado para el compuesto de referencia trólox (pureza ≥ 99 % Sigma-Aldrich), en el intervalo comprendido entre 0 y 200 mg/L.

3.4.3. Recuentos microbianos

El número de colonias de *L. plantarum* se determinó mediante dilución seriada con agua de peptona tamponada estéril (ScharlauChamie®, Barcelona, España) y posterior siembra en superficie en placas de Petri. Las placas sembradas se incubaron en estufa (PSelecta modelo Incudigit) a 37 °C durante 24-48 h. La primera dilución de las muestras sólidas de residuo sin deshidratar, así como la de los respectivos polvos, se preparó por homogenización en stomacher (Interscience modelo BagMixer® 400) mezclando 3 g de muestra con 27 mL de agua peptona estéril (ScharlauChamie®, Barcelona, España) en una bolsa de stomacher estéril. Tras la incubación, se contaron las colonias presentes en la superficie de las placas conteniendo entre 30 y 300 Unidades Formadoras de Colonias (UFC).

3.5. MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO A BAJA TEMPERATURA (Cryo-SEM)

Las muestras de brócoli triturado fresco y pretratado se examinaron mediante microscopía de barrido a bajas temperaturas (Cryo-SEM) con el fin de evaluar el efecto del pretratamiento sobre la microestructura. Para llevar a cabo este estudio, se utilizó el microscopio ZEISS mod. ULTRA55 del Servicio de Microscopía de la Universitat Politècnica de València, equipado con una cámara de criocongelación externa (OXFORD mod. CT-1500) que contiene nitrógeno líquido subenfriado a una temperatura de -210 °C. Para la preparación de la muestra, se colocó un pequeño fragmento del tallo de brócoli triturado y, en su caso, pretratado en el portaobjetos y se fijó con una mezcla de dos componentes: dispersión de grafito coloidal en agua (G303 Coloidal Graphite AQUADAC) y un fijador de tejidos (Tissue-Tek AutoTEC® a120), con el fin de garantizar una correcta sujeción para la posterior fractura. A continuación, la muestra se congeló a vacío tras ser posicionada en una criocámara y se transportó, sin romper el vacío, a la cámara de observación del microscopio. En el interior de la cámara se procedió a la fractura de la muestra con el objetivo de visualizar la

distribución interna de las células. Seguidamente, se hizo una leve sublimación durante un periodo de tiempo de 20 min a una temperatura de $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$ y a una presión de 10^{-5} mm de Hg, con el fin de eliminar el agua en la superficie de la muestra. Posteriormente se aplicó un recubrimiento de platino para conseguir que el haz de electrones tuviera una superficie de reflexión adecuada. El recubrimiento o *quorum sputtering* se realizó durante 15 segundos. Finalmente, las muestras fueron observadas a través de un monitor dotado de un software ZEISS SmartSEM, a una temperatura de $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ empleando entre 10 y 20 kV. Durante la observación del tejido se tomaron micrografías a los aumentos adecuados que permitieran comparar las distintas muestras.

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El nivel de significancia estadística de las distintas variables analizadas en relación con los resultados obtenidos, se evaluó utilizando el software Statgraphics Centurion XVIII (Statpoint Technologies, Inc.), mediante análisis de la varianza simple y/o multifactorial, con un nivel de confianza del 95 % ($p < 0.05$) empleando el método LSD de Fisher, previa comprobación de la normalidad de los datos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. ESTUDIO PRELIMINAR DE FERMENTACIÓN Y SECADO

4.1.1. Efecto de la fermentación sobre las propiedades del tallo de brócoli

Los resultados de humedad (x_w), actividad del agua (a_w) y contenido en sólidos solubles totales (x_{ss}) del tallo de brócoli fresco y fermentado con *L. plantarum* se muestran en la tabla 2. Como se puede observar, ninguna de las propiedades fisicoquímicas presenta diferencias estadísticamente significativas (p -valor $> 0,5$), a excepción de la humedad (p -valor $< 0,05$), la cual experimenta un ligero descenso para el tallo de brócoli fermentado. Esta variación en el contenido de agua se podría deber a las diferencias estructurales que existen entre ambos residuos, ya que, al someter el tallo de brócoli a un proceso de fermentación, éste experimenta cambios en la matriz vegetal debido a la acción de las enzimas microbianas (celulasas, pectinasas), que pueden afectar a las propiedades del mismo. Los valores de humedad y actividad del agua resultaron similares a los obtenidos en estudios previos realizados con la misma materia prima (Bas-Bellver *et al.*, 2023).

Tabla 2. Efecto de la fermentación con *L. plantarum* durante 24 h sobre los valores de humedad (x_w), actividad del agua (a_w) y contenido en sólidos solubles totales (x_{ss}) del tallo de brócoli. Media \pm desviación estándar de tres repeticiones.

Tratamiento	x_w (g _w /g _{total})	a_w	x_{ss} (g _w /g _{total})
FRESCO	0,9163 \pm 0,0011 ^b	0,9932 \pm 0,0014 ^a	0,058 \pm 0,003 ^a
FERM	0,9128 \pm 0,0007 ^a	0,9920 \pm 0,0012 ^a	0,057 \pm 0,002 ^a

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

Respecto a la cantidad de sólidos solubles totales (x_{ss}), ésta se mantiene constante tras la fermentación. Este comportamiento no sigue la tendencia observada en un estudio previo sobre la fermentación ácido-láctica de zumo de verduras con *L. plantarum* (Sharma y Mishra, 2013) donde se vio que, con el transcurso de la fermentación, los azúcares totales disminuían, siendo la variación significativa a partir de las 24 h de fermentación. Este fenómeno se debe principalmente a que los azúcares son empleados continuamente como fuente de energía para el crecimiento de los microorganismos durante la fermentación (Liu *et al.*, 2023). Por el contrario, en zumo mixto de mango y zanahoria fermentado con *L. plantarum*, no se observó ninguna diferencia en la cantidad de sólidos solubles totales entre las muestras control y las muestras fermentadas (De Oliveira *et al.*, 2021), resultados que concuerdan con los mostrados en la tabla 2. El hecho de que no se observen variaciones en el contenido en los sólidos solubles totales se podría justificar por la acción de los microorganismos sobre polisacáridos más complejos. Así pues, durante la fermentación, además de emplear los azúcares disponibles, las bacterias hacen uso de sus enzimas glucosidasas y glicosil hidrolasas, entre otras, para degradar polisacáridos de la matriz vegetal y liberar monómeros de azúcares que son metabolizados de forma más sencilla (Septembre-Malaterre *et al.*, 2018; De Oliveira *et al.*, 2021).

Por otro lado, la actividad del agua (a_w) de los alimentos influye en su estabilidad física, química y microbiológica (Sablani *et al.*, 2007). Así, una $a_w > 0,91$ implica que el alimento es susceptible de experimentar reacciones de deterioro que comprometen su vida útil, además de favorecer el crecimiento de bacterias como *Pseudomonas* spp. y *Flavobacterium* spp. que pueden afectar a la

seguridad alimentaria (Kong y Singh, 2016; Rolfe y Daryaei, 2020). Debido a los valores de a_w que presentan los tallos, estos se someterán a un proceso de deshidratación, como así se explicará en el apartado 4.1.2. Este proceso garantizará una menor actividad del agua en los residuos, alargando su vida útil y mejorando su seguridad alimentaria.

A continuación, en la tabla 3 se muestran los resultados de las propiedades antioxidantes analizadas en el tallo fresco y fermentado con *L. plantarum*, donde se recogen los valores del contenido de fenoles totales (mg EAG/g_{ms}), contenido en flavonoides totales (mg EQ/g_{ms}), y capacidad antioxidante por ABTS (mg ET/g_{ms}) y DPPH (mg ET/g_{ms}).

Tabla 3. Efecto de la fermentación con *L. plantarum* durante 24 h sobre el contenido en fenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante medida por los métodos ABTS y DPPH del tallo de brócoli. Media \pm desviación estándar de seis repeticiones a partir de dos réplicas (3 repeticiones/réplica).

Tratamiento	Fenoles totales (mg EAG/g _{ms})	Flavonoides totales (mg EQ/g _{ms})	ABTS (mg ET/g _{ms})	DPPH (mg ET/g _{ms})
FRESCO	4,33 \pm 0,14 ^a	3,2 \pm 0,6 ^a	6,1 \pm 0,5 ^a	3,4 \pm 0,6 ^{ab}
FERM	4,02 \pm 0,33 ^a	1,81 \pm 0,03 ^b	6,0 \pm 0,2 ^a	2,3 \pm 0,6 ^a

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

Como se observa en la tabla 3, no existen diferencias estadísticamente significativas (p-valor > 0,05) entre las propiedades antioxidantes analizadas en el tallo de brócoli fresco y fermentado, a excepción del contenido en flavonoides, que se vio reducido significativamente con la fermentación del residuo (p-valor < 0,05). Resultados similares se obtuvieron en un estudio sobre fermentación láctica en frutas y verduras (Septembre-Malaterre *et al.*, 2018), donde tras fermentar col con *L. plantarum* a 37 °C durante 24 h, se produjo una ligera disminución en el contenido en fenoles y flavonoides totales, así como en la capacidad de secuestrar el radical DPPH. De la misma forma, Kiczorowski *et al.* en 2022 obtuvieron un menor contenido de fenoles totales en el brócoli fermentado respecto al control sin fermentar. Estos resultados distan de aquellos obtenidos en otros estudios donde la fermentación da lugar a productos enriquecidos en compuestos antioxidantes con alto valor añadido. Por ejemplo, en un estudio sobre zumo de manzana fermentado con *L. plantarum*, se vio que las moléculas de glucosa disponibles en los compuestos fenólicos se consumían y se generaban metabolitos con más grupos hidroxilo o menos impedimentos estéricos, mejorando la capacidad antioxidante del zumo (Li *et al.*, 2019). También en 2018, Kwaw *et al.* estudiaron el impacto de *L. plantarum* en la actividad antioxidante del zumo de morera, viendo que durante la fermentación se producía una liberación de compuestos fenólicos solubles de las paredes celulares de la planta, aumentando la actividad antioxidante, y mejorando las características de los productos obtenidos (Yang *et al.*, 2024). A pesar de que uno de los aspectos fundamentales de la fermentación es el aumento del potencial antioxidante debido a la liberación de fenoles y otros antioxidantes de la matriz vegetal, la metodología de análisis del potencial antioxidante todavía no está estandarizada (Knez *et al.*, 2023), pudiendo darse variaciones entre los resultados de diversos estudios. Además, la fermentación de los alimentos vegetales constituye una compleja red de factores en la cual se producen interacciones entre las reacciones microbiológicas, enzimáticas, químicas, bioquímicas y los procesos físicos (Buckenhueskes, 2015), añadiendo variabilidad a los métodos de determinación y dificultando la estandarización de los procesos.

4.1.2. Efecto del secado sobre las propiedades de los polvos obtenidos a partir de tallo de brócoli

En la tabla 4 se muestran los resultados de humedad (x_w), actividad del agua (a_w) y contenido en sólidos solubles totales (x_{ss}) de los polvos obtenidos a partir del tallo de brócoli fresco o fermentado y deshidratado, según se ha descrito previamente, mediante liofilización o secado a 50, 60 y 70 °C.

Tabla 4. Efecto de las distintas técnicas de deshidratación (secado por aire caliente y liofilización) sobre el contenido en agua (x_w), la actividad del agua (a_w) y el contenido en sólidos solubles totales (x_{ss}) de los polvos obtenidos a partir de tallo de brócoli fermentado (FSAC, FLIO) y sin fermentar (SAC, LIO). Media \pm desviación estándar de tres repeticiones.

Tratamiento	x_w (g/g _{total})	a_w	x_{ss} (g/g _{total})
SAC 50	0,054 \pm 0,005 ^a	0,23 \pm 0,02 ^c	0,567 \pm 0,015 ^a
SAC 60	0,054 \pm 0,002 ^a	0,215 \pm 0,011 ^{bc}	0,567 \pm 0,012 ^a
SAC 70	0,055 \pm 0,003 ^a	0,249 \pm 0,006 ^d	0,58 \pm 0,00 ^{ab}
FSAC 50	0,093 \pm 0,012 ^c	0,200 \pm 0,006 ^{ab}	0,611 \pm 0,018 ^{bc}
FSAC 60	0,1075 \pm 0,0014 ^{de}	0,193 \pm 0,012 ^a	0,569 \pm 0,012 ^a
FSAC 70	0,0991 \pm 0,0010 ^{cd}	0,2110 \pm 0,0016 ^{abc}	0,58 \pm 0,00 ^{ab}
LIO	0,075 \pm 0,011 ^b	0,280 \pm 0,013 ^e	0,66 \pm 0,00 ^d
FLIO	0,115 \pm 0,006 ^e	0,330 \pm 0,013 ^f	0,62 \pm 0,03 ^c

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

Como era de esperar, los valores de a_w y x_w recogidos en la tabla 4 disminuyen significativamente (p-valor < 0,05) por efecto del secado con respecto a los valores de los residuos sin deshidratar mostrados en la tabla 2. Todas las técnicas y condiciones de deshidratación ensayadas consiguieron reducir la a_w del residuo a valores entre 0,19 y 0,33, lo que asegura una vida útil prolongada (Alp y Bulantekin, 2021). En general, se observa que los productos fermentados presentan un mayor contenido en agua que los productos sin fermentar, lo cual podría deberse a la ruptura de estructuras y descompartimentación a consecuencia de la acción microbiana sobre el tejido vegetal. No obstante, este aumento de humedad no se ve reflejado en un aumento de la actividad del agua, lo que indicaría una mayor proporción de agua ligada, posiblemente debido a la acción de los microorganismos, que modifican la manera en que el agua interactúa con la matriz.

En cuanto al contenido en sólidos solubles totales (x_{ss}), los valores obtenidos son similares a los referidos en estudios previos (Bas-Bellver *et al.*, 2022). Respecto a los valores de x_{ss} del tallo sin deshidratar (tabla 2), se produce un aumento significativo (p-valor < 0,05) de los sólidos solubles totales en los correspondientes polvos por el efecto del secado, como así se puede observar en la tabla 4. Este aumento en los sólidos solubles se debe principalmente a la concentración de los solutos por eliminación del agua. También, durante el proceso de deshidratación y posterior molienda de los residuos, estos experimentan tensiones en el tejido vegetal que llevan a roturas de la pared liberando compuestos al exterior (Lewicki y Pawlak, 2003), contribuyendo a dicho incremento. Además, de entre los distintos polvos estudiados, los polvos LIO y FLIO presentan contenidos significativamente más elevados (p-valor < 0,05) en sólidos solubles totales que

cualquiera de los polvos SAC. Por un lado, la liofilización permite obtener un producto poroso y más frágil (Yao *et al.*, 2023), consecuencia de los canales porosos que dejan los cristales de hielo formados dentro de la estructura vegetal después de la sublimación (Voda *et al.*, 2012). Esta porosidad, facilita su molienda dando lugar a un menor tamaño de partícula y facilitando la extracción de compuestos solubles. Adicionalmente, esta mayor facilidad de molienda podría dar lugar a una mayor ruptura de fibras y liberación de compuestos solubles, más sencillos. Por el contrario, el secado por aire caliente puede ocasionar fenómenos de encostramiento que dificultan la molienda posterior, resultando en polvos con un menor contenido en sólidos solubles (Bas-Bellver *et al.*, 2023).

A continuación, en la figura 4 se recogen los resultados para las propiedades antioxidantes del tallo fresco y fermentado antes y después de la deshidratación por cualquiera de las dos técnicas ensayadas. Se muestran los valores para el contenido en fenoles totales (mg EAG/g_{ms}), contenido en flavonoides totales (mg EQ/g_{ms}) y capacidad antioxidante por los métodos del radical ABTS (mg ET/g_{ms}) y DPPH (mg ET/g_{ms}).

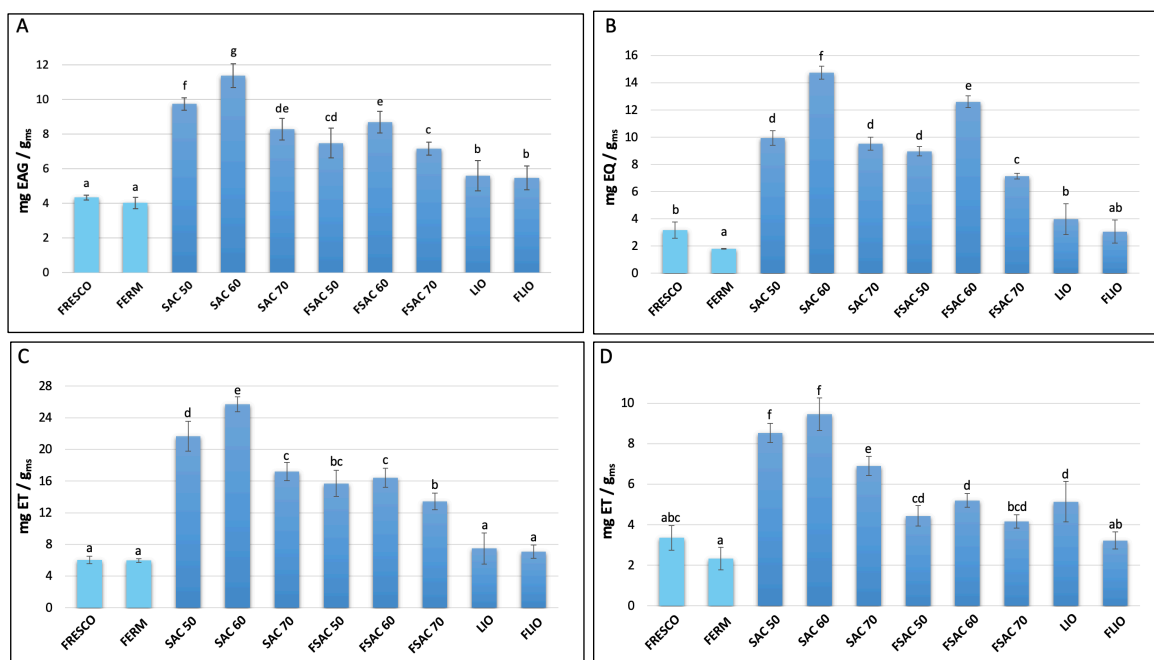


Figura 4. Propiedades antioxidantes del tallo de brócoli fresco y fermentado y de sus respectivos polvos obtenidos por distintas técnicas de deshidratación: A) Contenido en fenoles totales expresado en mg de ácido gálico equivalente (EAG) por gramo de materia seca. B) Contenido de flavonoides totales expresado en mg de quercetina equivalente (EQ) por gramo de materia seca. C y D) Contenido de ABTS y DPPH, respectivamente, expresado en mg de trólox equivalente (ET) por gramo de materia seca. Las barras de error representan la desviación estándar de seis repeticiones a partir de dos réplicas (3 repeticiones/réplica). ^{a, b, c, ...} Diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95 % (p-valor < 0,05).

En general, todas las propiedades antioxidantes aumentaron significativamente tras el secado por aire caliente y posterior molienda respecto a sus correspondientes controles, como así ha confirmado el ANOVA multifactorial (p-valor < 0,05), siendo este aumento más acusado para los polvos SAC 60 en todos los casos. En un estudio previo de secado de rodajas de kiwi (Chin *et al.*,

2015), cuando se aumentó la temperatura de secado a 60 °C se observó que el contenido total de fenoles aumentaba de forma significativa respecto al control fresco, resultados que concuerdan con los obtenidos para el contenido en fenoles de SAC 60, mostrados en la figura 3 A. Por el contrario, de entre todos los polvos SAC, los polvos SAC 70 son los que han experimentado un aumento significativamente menos acusado (p -valor $< 0,05$) para la mayoría de los compuestos antioxidantes, probablemente a causa de la exposición a una temperatura de secado demasiado elevada. Para los polvos SAC 50, SAC 60 y SAC 70 se han obtenido valores más elevados para el contenido en fenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante según el método del radical DPPH respecto a los reportados en un estudio previo por el mismo grupo de investigación (Bas-Bellver et al., 2022). El aumento de las propiedades antioxidantes tras el secado por aire caliente se confirma con otro estudio (Lutz et al., 2015) en el cual empleando este mismo método de deshidratación en diferentes verduras se obtuvo un aumento significativo en el contenido en fenoles y en la actividad antioxidante según el método DPPH en la mayoría de los casos estudiados.

Como se ha observado, las propiedades antioxidantes en los polvos SAC aumentan debido al procesamiento de los tallos frescos, incluyendo tanto la técnica de secado empleada como la posterior molienda. Se puede considerar que el aumento de los compuestos antioxidantes es debido a las reacciones de Maillard que se dan durante el procesamiento térmico (Nooshkam et al., 2019) como el secado por aire caliente. Estas reacciones se dan en presencia de azúcares reductores (Martins et al., 2000) mejorando la actividad antioxidante de los productos alimenticios (Losso, 2016).

Por otro lado, los polvos obtenidos mediante secado por aire caliente a partir del residuo fermentado presentan valores más bajos en todas las propiedades antioxidantes analizadas en comparación con los polvos SAC secados a la misma temperatura. Esta reducción de los compuestos antioxidantes de los polvos FSAC se podría deber al consumo de los azúcares reductores por parte de los microorganismos (Chamberlain et al., 2022), disminuyendo las reacciones de Maillard que dan lugar a compuestos antioxidantes. Dicha reducción también podría estar influenciada por la acción de los enzimas bacterianos, los cuáles liberan compuestos antioxidantes de las estructuras que les confieren cierta protección (Knez et al., 2023), quedando más expuestos al oxígeno y a las altas temperaturas, responsables de su deterioro. En el caso de los flavonoides, la diferencia de contenido entre los polvos SAC y los polvos FSAC ($1,84 \pm 0,75$ g EQ/g_{ms}) no es tan evidente como en el caso de los fenoles ($2,0 \pm 0,8$ g EAG/g_{ms}) o de la actividad antioxidante medida por el método del radical ABTS ($6,3 \pm 2,8$ g ET/g_{ms}) y DPPH ($3,7 \pm 0,8$ g ET/g_{ms}).

Los polvos liofilizados resultan en general menos ricos en compuestos antioxidantes que los polvos obtenidos mediante secado por aire caliente (Figura 3). Estos resultados difieren de los observados por Xu et al. en 2020 sobre *Brassica oleracea*, donde tras someter las muestras a una deshidratación por liofilización, estas aumentaron de forma significativa su contenido en fenoles totales y su capacidad antioxidante (ABTS y DPPH), lo que atribuyeron a una mayor ruptura de la estructura de las células vegetales por la formación de cristales de hielo. Estas rupturas permitirían un mejor acceso de los disolventes y mayor extracción de los compuestos (Xu et al., 2020). Esto podría explicar el notable aumento en el contenido de fenoles totales que experimenta el residuo de brócoli, fermentado y sin fermentar, o el aumento en la capacidad antioxidante medida por el método del radical DPPH que experimenta el residuo de brócoli sin fermentar tras la liofilización. Sin embargo, debido precisamente a la porosidad de los productos liofilizados, los compuestos antioxidantes podrían estar más expuestos a las condiciones ambientales responsables de su degradación, una vez restaurada la presión atmosférica. Estos fenómenos explicarían el menor

contenido en compuestos antioxidantes en los polvos procedentes de los residuos liofilizados en comparación con los procedentes de residuos SAC. Resultados similares se obtuvieron en un estudio llevado a cabo por Dalmau *et al.*, en 2017, donde al someter manzanas a una deshidratación por liofilización, se disminuyeron los fenoles totales y la capacidad antioxidante según el método ABTS en comparación con los valores obtenidos para un secado convectivo a 60 °C. También, Rudy *et al.*, en 2015, observaron una disminución en el contenido en fenoles totales al someter arándanos a un proceso de liofilización. Del mismo modo, estudios previos realizados en el mismo laboratorio sobre residuos de diversas hortalizas confirman que generalmente el secado por aire caliente da lugar a productos con mayor capacidad antioxidante que los polvos liofilizados. No obstante, la presencia de compuestos bioactivos específicos tales como carotenoides o sulforafano, puede resultar mayor en los productos liofilizados (Bas-Bellver *et al.*, 2020; Bas-Bellver *et al.*, 2023).

En la figura 4 se muestran los resultados para los recuentos de *L. plantarum* en el tallo de brócoli recién inoculado, tras 24 h de fermentación y en los polvos obtenidos por las distintas condiciones de deshidratación, secado a 50, 60 y 70 °C y liofilización.

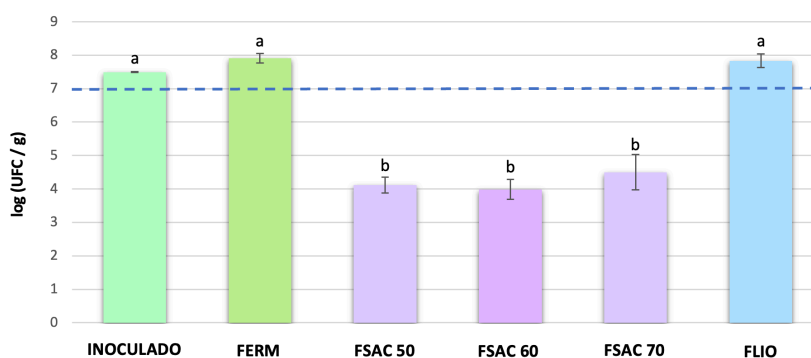


Figura 5. Recuento de viables en el residuo de brócoli recién inoculado, tras 24 h de fermentación con *L. plantarum* y en los polvos obtenidos a partir del tallo fermentado secado por aire caliente a 50, 60 y 70 °C y liofilizado. Las barras de error representan la desviación estándar de cuatro repeticiones a partir de dos réplicas (dos repeticiones/réplica). ^a, ^b, ^c... Diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95 % (p-valor < 0,05).

Un producto para ser considerado probiótico debe contener en torno a 10^6 - 10^8 UFC/g células viables que hayan demostrado ser eficaces (Champagne *et al.*, 2011; Cui *et al.*, 2018), siendo generalmente 10^7 UFC/g la concentración mínima probiótica encontrada en productos comerciales (Betoret *et al.*, 2012).

Como se puede observar en la figura 5, el recuento de viables en el residuo de brócoli recién inoculado con el cultivo iniciador se encuentra en una concentración considerada como probiótica ($>10^7$ UFC/g). Aunque el aumento no es significativo (p valor > 0,05), tras las 24 h de fermentación con *L. plantarum* los tallos de brócoli mantienen una concentración promedio superior a la mínima exigida para ser considerados probióticos ($> 10^7$ UFC/g), confirmando que el brócoli resulta ser una matriz vegetal favorable para el crecimiento de estos microorganismos, como han confirmado también otros autores (Ye *et al.*, 2019; Zdziobek *et al.*, 2023).

Por otro lado, tras el secado por aire caliente de los tallos fermentados se observa una disminución estadísticamente significativa (p-valor < 0,05) con respecto al control fermentado, del

mismo orden para las tres temperaturas ensayadas. En un estudio previo llevado a cabo en el mismo laboratorio (Bas-Bellver *et al.*, 2023) al someter los tallos de brócoli a un secado a 60 y 70 °C se produjo una disminución en los viables por debajo de 10^7 UFC/g, confirmando los resultados para FSAC 60 y FSAC 70 mostrados en la figura 5. Sin embargo, cuando los tallos fueron deshidratados mediante liofilización, los viables rebasaron la concentración probiótica mínima, al igual que sucedió en otro estudio previo (Shekh *et al.*, 2020). De esta forma la liofilización se confirma como una técnica para preparar cultivos probióticos estables de alto valor (Rishabh *et al.*, 2023), así como un método moderno e innovador de secado y procesado de productos agrícolas primarios (Šarić, 2022).

A pesar de que la liofilización es una técnica adecuada para la obtención de productos ricos en microorganismos probióticos, tiene unos costes de equipamiento y operación elevados, incluyendo el proceso de congelación y la aplicación de una presión de vacío, y requiere de personal especializado (Guiné, 2018). Por tanto, sería conveniente seguir mejorando las condiciones del secado por aire caliente para llegar a obtener productos probióticos de valor similar a los obtenidos por la deshidratación mediante liofilización.

Este estudio preliminar también tuvo como objetivo seleccionar las condiciones de secado que permiten obtener un producto con una a_w por debajo de 0,3, como se ha explicado previamente. El secado para el residuo de brócoli sin fermentar se completó en 12 h a 50 °C, en 10 h a 60 °C y en 6 h a 70 °C, a diferencia del secado del residuo de brócoli fermentado que se completó en 12 h a 50 °C, en 7 h a 60 °C y en 5 h a 70 °C. Una vez realizadas estas comprobaciones, y analizando todas las determinaciones del estudio, se decidió elegir la temperatura de 60 °C para llevar a cabo el secado por aire caliente en un secador convectivo de planta piloto en el estudio de los pretratamientos. Cabe mencionar que esta temperatura fue elegida con base al mayor contenido en compuestos con actividad antioxidante de los polvos obtenidos mediante esta técnica de deshidratación.

En la siguiente parte del experimental se aplicarán distintos pretratamientos termofísicos y biológicos a los tallos de brócoli para estudiar cuál de ellos presenta mayor potencial de cara a la mejora de las propiedades antioxidantes de los productos en polvo obtenidos tras el secado con aire a 60 °C.

4.2. ESTUDIO DEL EFECTO DE PRETRATAMIENTOS TERMOFÍSICOS Y BIOLÓGICOS SOBRE LAS PROPIEDADES DE LOS PRODUCTOS EN POLVO

4.2.1. Efecto de los diferentes pretratamientos sobre las propiedades del tallo de brócoli

En la tabla 5 se muestran los resultados para el contenido en humedad (x_w), la actividad del agua (a_w) y el contenido en sólidos solubles totales (x_{ss}) del tallo de brócoli fresco y sometido a los distintos pretratamientos descritos en el apartado de material y métodos.

Tabla 5. Efecto de la aplicación de diferentes pretratamientos termofísicos y biológicos sobre el contenido en humedad (x_w), actividad del agua (a_w) y contenido en sólidos solubles totales (x_{ss}) del tallo de brócoli. Media \pm desviación estándar de tres repeticiones.

Tratamiento	x_w (g/g _{total})	a_w	x_{ss} (g/g _{total})
FRESCO	0,934 \pm 0,004 ^c	0,9910 \pm 0,0009 ^{ab}	0,044 \pm 0,002 ^b
PAST	0,934 \pm 0,002 ^c	0,9940 \pm 0,0013 ^c	0,0432 \pm 0,0010 ^b
AUTO	0,928 \pm 0,004 ^b	0,9931 \pm 0,0009 ^{bc}	0,0475 \pm 0,0005 ^b
MW	0,913 \pm 0,004 ^a	0,9947 \pm 0,0009 ^c	0,0565 \pm 0,0005 ^c
FERM	0,938 \pm 0,003 ^c	0,990 \pm 0,003 ^a	0,034 \pm 0,004 ^a
US	0,93 \pm 0,00 ^c	0,9948 \pm 0,0014 ^c	0,0435 \pm 0,0006 ^b

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

Respecto a los valores de humedad (x_w), estos se mantienen constantes para todos los pretratamientos, excepto para autoclave y microondas, donde los valores experimentan una ligera disminución, aunque significativa (p-valor < 0,05) en comparación con el control fresco. Según recoge la literatura, el tratamiento con autoclave puede reducir el contenido en humedad debido a la evaporación producida por las elevadas temperaturas (Scherzinger *et al.*, 2020). Efectos similares se pueden observar al aplicar microondas, donde la energía electromagnética de alta frecuencia se convierte en calor, evaporando parte del agua líquida y transportándola hacia la superficie del material alimentario (Guo *et al.*, 2017). Además, esta pérdida de humedad podría ser más pronunciada en el pretratamiento con microondas debido a la que los frascos se mantuvieron ligeramente abiertos para evitar que estallasen por el aumento de la presión. Cabe mencionar que estas mismas precauciones se deben tomar en el autoclave, pero a diferencia del microondas, este es una cámara hermética que no se puede abrir hasta que baja la temperatura por debajo de un determinado valor. Resultados similares se obtuvieron en un estudio previo donde, al someter muestras de semillas de camelia a un pretratamiento con microondas durante 5 y 8 min, se consiguió reducir significativamente el contenido de humedad en todos los casos respecto a la muestra control (Ye *et al.*, 2021).

Por otro lado, para el tallo fresco y los tallos pretratados, se obtiene un valor de actividad del agua (a_w) > 0,91, siendo estos residuos susceptibles de sufrir reacciones de deterioro por acción enzimática o por crecimiento microbiano (Kong y Singh, 2016; Rolfe y Daryaei, 2020). Así pues, estos residuos deben ser sometidos a una deshidratación para alcanzar una actividad del agua cercana o por debajo de 0,3, permitiendo que los productos obtenidos alarguen su vida útil (Alp y Bulantekin, 2021).

Respecto a la cantidad de sólidos solubles totales (x_{ss}), solo se obtienen diferencias significativas (p-valor < 0,05) en el caso del residuo pretratado con microondas y en el fermentado. Al someter el tallo fresco a un pretratamiento con microondas, los sólidos solubles totales aumentan con respecto al control fresco, resultados que concuerdan con los reportados por otros autores (Nimkarde *et al.*, 2022; Alvi *et al.*, 2023). Este aumento podría estar relacionado con la evaporación del agua del producto debido al incremento de su temperatura interna (Malik *et al.*, 2022), permitiendo la concentración de los sólidos solubles totales en el residuo. También, al aplicar un pretratamiento con microondas, se pueden generar puntos calientes en el alimento debido a un calentamiento no homogéneo del mismo (Conesa *et al.*, 2016). Estos puntos pueden experimentar

fenómenos de auto-explotión que originan rupturas y modificaciones estructurales como la despolimerización de la celulosa y la solubilización de la lignina, liberando azúcares más simples (Conesa *et al.*, 2016; Shrotri *et al.*, 2018). Al contrario, cuando el tallo fresco es sometido a un pretratamiento de fermentación, con previa pasteurización, la cantidad total de sólidos solubles disminuye debido a que los microorganismos durante la fermentación emplean los azúcares como fuente de energía (Liu *et al.*, 2023), como así han reportado también otros autores. De forma similar, Peng *et al.* en 2021 confirmaron que tras fermentar zumos de manzana de distintos cultivares con *Lactobacillus* spp. se produjo una disminución en el contenido de sacarosa, lactosa y glucosa debido a su consumo por parte de los probióticos.

A continuación, en la tabla 6 se muestran los resultados de las propiedades antioxidantes para el tallo de brócoli fresco y sometido a distintos pretratamientos. Se recogen los valores para el contenido en fenoles totales (mg EAG/g_{ms}), contenido en flavonoides totales (mg EQ/g_{ms}) y capacidad antioxidante medida por los métodos de ABTS y DPPH (mg ET/g_{ms}).

Tabla 6. Efecto de distintos pretratamientos sobre el contenido en fenoles totales (mg EAG/g_{ms}), contenido en flavonoides totales (mg EQ/g_{ms}) y capacidad antioxidante ABTS y DPPH (mg ET/g_{ms}) del tallo de brócoli fresco. Media ± desviación estándar de seis repeticiones a partir de dos réplicas (3 repeticiones/réplica).

Tratamiento	Fenoles totales (mg EAG / g _{ms})	Flavonoides totales (mg EQ / g _{ms})	ABTS (mg ET / g _{ms})	DPPH (mg ET / g _{ms})
FRESCO	4,2 ± 0,2 ^a	2,05 ± 0,17 ^a	5,8 ± 0,2 ^a	1,01 ± 0,10 ^a
PAST	6,1 ± 0,004 ^c	2,58 ± 0,18 ^b	9,5 ± 0,4 ^c	3,5 ± 0,7 ^b
AUTO	4,05 ± 0,11 ^a	4,1 ± 0,2 ^c	7,56 ± 0,14 ^b	1,9 ± 0,2 ^a
MW	4,8 ± 0,3 ^{ab}	2,02 ± 0,11 ^a	7,6 ± 0,3 ^b	3,87 ± 0,14 ^b
FERM	5,3 ± 0,3 ^{bc}	2,9 ± 0,3 ^b	7,9 ± 0,4 ^b	1,43 ± 0,07 ^a
US	5,79 ± 0,18 ^c	4,88 ± 0,12 ^d	9,2 ± 0,7 ^c	3,7 ± 0,2 ^b

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

Generalmente, para todos los pretratamientos, se da una mejora de las propiedades antioxidantes respecto al tallo de brócoli fresco, siendo este aumento significativo (p-valor < 0,05) para todas las propiedades antioxidantes de los tallos sometidos a ultrasonidos y pasteurización. El aumento de los compuestos antioxidantes por el empleo de ultrasonidos puede ser debido al fenómeno de cavitación por la aplicación de campos acústicos de alta intensidad, a partir del cual se rompen los tejidos vegetales formando microcanales (Pandiselvam *et al.*, 2023; Zhu *et al.*, 2024), pudiendo liberar compuestos antioxidantes ligados a estructuras complejas en la matriz vegetal. Resultados similares se obtuvieron en un estudio previo con col morada, en el cual se observó que aplicando ultrasonidos durante 8 min aumentaron los compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante respecto a las muestras sin pretratar (Santos *et al.*, 2024). Además, aplicando ultrasonidos en el tallo fresco, los fenoles, los flavonoides y el DPPH aumentaron respecto a los valores para residuo fresco obtenidos en un estudio previo del mismo grupo de investigación (Bas-Bellver *et al.*, 2022), confirmando la eficacia de la técnica. En relación con el aumento de las propiedades antioxidantes tras el pretratamiento con pasteurización, resultados similares fueron reportados por Urquieta-Herrero *et al.* en 2021, quienes obtuvieron la pulpa de changunga enriquecida en compuestos fenólicos tras la pasteurización. También, en otro estudio donde se

caracterizaron zumos de frutas, tras aplicar un pretratamiento de pasteurización a 80 °C durante 1 min, se dio un aumento en la capacidad antioxidante por los métodos ABTS y DPPH para todos los zumos evaluados (Mandha *et al.*, 2023). Este aumento en las propiedades antioxidantes tras el pretratamiento de pasteurización se puede deber a las disrupciones y permeabilización de la matriz vegetal por efecto de la temperatura (Alongi, 2020). Así mismo, durante el pretratamiento térmico con pasteurización se pueden dar reacciones bioquímicas que dan lugar a formas de los compuestos antioxidantes con una mayor bioactividad (Debelo *et al.*, 2020), los cuáles reaccionarían en mayor medida.

Por otro lado, tras el pretratamiento de fermentación, las propiedades antioxidantes aumentan respecto al control fresco, a excepción de la actividad antioxidante analizada por el método DPPH. Resultados similares se obtuvieron en un estudio previo sobre zumo de níspero japonés, el cual, tras ser fermentado con bacterias lácticas, aumentó significativamente el contenido en fenoles y flavonoides totales respecto al control sin fermentar (Meng *et al.*, 2022). Para los fenoles totales, su contenido varió de 0,34 mg EAG/mL_{zum} en las muestras sin fermentar a 0,47 mg EAG/mL_{zum} en las muestras fermentadas. Este aumento en las propiedades antioxidantes se podría deber a la hidrólisis de moléculas complejas en formas libres y simples con mayor bioactividad por el metabolismo de las bacterias lácticas (García y Remize, 2022; Meng *et al.*, 2022). Sin embargo, resultados contrarios se obtuvieron en un estudio previo con zumo de manzana donde tras la fermentación ácido-láctica se disminuyó drásticamente el contenido total de fenoles y flavonoides (Wu *et al.*, 2020), como habría ocurrido en el estudio preliminar, en el que la fermentación no supuso una mejora de las propiedades antioxidantes del residuo fermentado. Esto podría deberse a que las bacterias lácticas contribuyen a la conversión fenólica simple y a la despolimerización de compuestos fenólicos de alto peso molecular (Li *et al.*, 2019). De esta manera, se ha confirmado que este pretratamiento presenta variabilidad en su eficacia, la cual podría estar influenciada por las interacciones que se dan entre las diversas reacciones microbiológicas, enzimáticas, químicas, bioquímicas y los procesos físicos (Buckenhueskes, 2015), como así se ha mencionado previamente en el estudio preliminar.

En el caso de los tallos sometidos a un pretratamiento con microondas, generalmente estos mejoran de forma significativa (p -valor $< 0,05$) sus propiedades antioxidantes en comparación con el control fresco, siendo el aumento más acusado para la actividad antirradical evaluada por los métodos ABTS y DPPH. Este aumento en compuestos antioxidantes tras la aplicación de microondas puede ser debido a la explosión provocada por el vapor generado en los puntos donde existe sobrecalentamiento, también conocidos como puntos calientes (Conesa *et al.*, 2016). Resultados similares obtuvieron Almaiman *et al.* en 2021 en su estudio con granos de sorgo, donde se demostró que la capacidad antioxidante de las muestras tratadas con microondas aumentaba significativamente con respecto al control sin pretratar.

Teniendo en cuenta los residuos sometidos a un pretratamiento con autoclave, estos se encuentran menos enriquecidos en propiedades antioxidantes que los otros tallos pretratados, siendo esta disminución más acusada (p -valor $< 0,05$) para el contenido en fenoles totales. Este fenómeno podría deberse a la descomposición térmica de compuestos fenólicos por efecto de la temperatura (Popoola, 2022). También, por efecto de las elevadas temperaturas se podrían dar isomerizaciones y autooxidaciones de los compuestos antioxidantes que disminuyan su bioactividad (Chamorro *et al.*, 2012).

Para verificar los cambios estructurales que sucedieron en la matriz de los residuos vegetales se seleccionan los residuos pretratados con ultrasonidos y fermentación para ser estudiados mediante criomicroscopía electrónica de barrido (Cryo-SEM). Además, ya que el tallo autoclavado es el residuo que menos mejoría ha experimentado en la mayoría de las propiedades antioxidantes analizadas, también se somete a este estudio estructural.

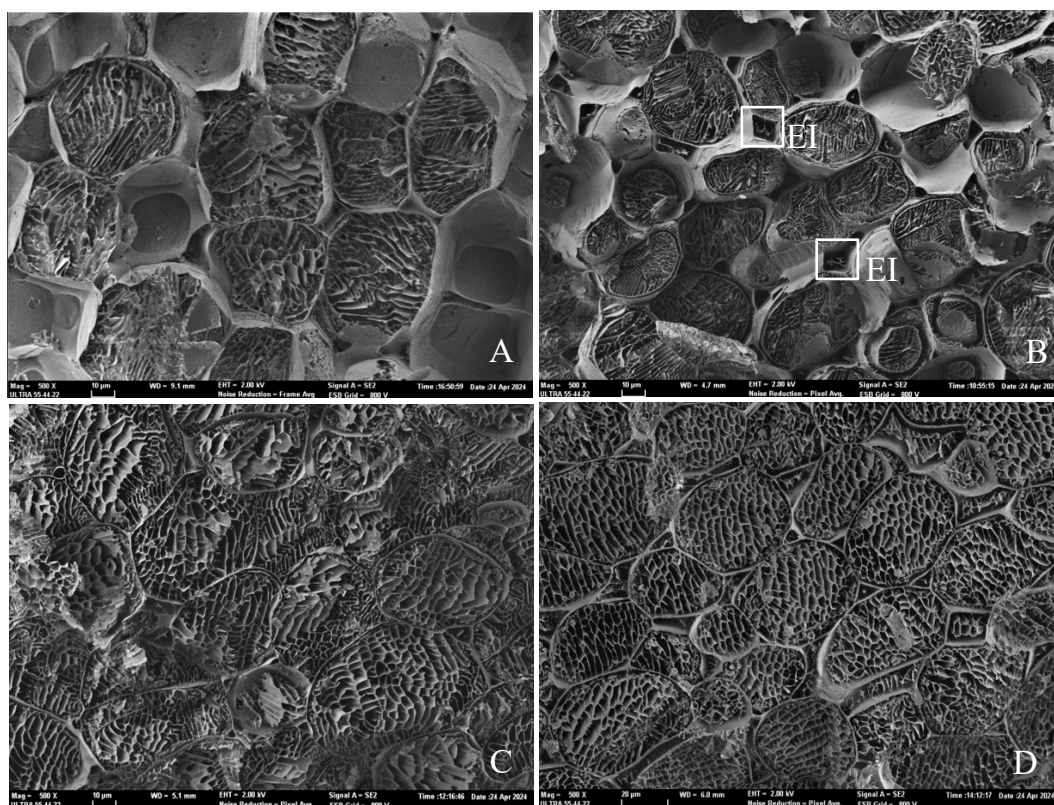


Figura 6. Micrografías del residuo pretratado obtenidas por microscopía electrónica de barrido a bajas temperaturas (Cryo-SEM) a 500 x aumentos (barra = 10 micras). A) Residuo de brócoli triturado, B) Residuo de brócoli pretratado con ultrasonidos, C) Residuo de brócoli fermentado, D) Residuo de brócoli autoclavado.

Analizando la imagen del residuo tratado con ultrasonidos (Figura 5B), se aprecia que algunos espacios intercelulares o poros (EI), están ocupados por líquido que podría provenir del interior de las células, como consecuencia de la permeabilización de membranas y paredes celulares debido al fenómeno de cavitación (Rojas *et al.*, 2021). Kumar *et al.* en 2021 confirmaron que la generación y el colapso de las burbujas de cavitación induce la turbulencia dentro del fluido, lo que resulta en la ruptura de las paredes celulares y membranas liberando compuestos activos de interés. También se observa (figura 5B) la aparición de mayores espacios intercelulares y separaciones de membranas de las correspondientes paredes celulares por efecto de la vibración mecánica (Huang *et al.*, 2020). Estos cambios estructurales, junto con el aumento de la porosidad, facilitan la extracción de componentes de las matrices vegetales (Rajewska y Mierzwa, 2017). Estas observaciones microscópicas serían coherentes con las mejoras observadas en las muestras de ultrasonidos con respecto a las propiedades antioxidantes.

La Figura 5C muestra una micrografía del tejido fermentado, donde se observa una pérdida significativa de la integridad celular y la compartimentalización de las estructuras celulares. Aunque algunas células mantienen una forma definida, otras muestran signos evidentes de degradación,

como una forma irregular y paredes desestructuradas y degradadas, lo que sugiere cierta despolimerización de las paredes celulares. Por otro lado, también se observa una mayor presencia de fase líquida en toda la extensión del tejido, indicativo de una mayor desestructuración y liberación del interior celular. Esta disgregación de la matriz vegetal se debe a la capacidad de las bacterias lácticas, como *L. plantarum*, de metabolizar y transformar proteínas complejas e indigeribles, celulosa y otras sustancias (Yang *et al.*, 2024). Estas observaciones microscópicas podrían relacionarse con la mejora de las propiedades antioxidantes observadas en el residuo fermentado, ya que la desestructuración y despolimerización observadas están contribuyendo a la liberación de compuestos con actividad antioxidante (Tabla 6).

Finalmente, en el caso del residuo sometido a un pretratamiento con autoclave (Figura 5D), las diferencias con respecto al control sin pretratar (Figura 5A) no son tan evidentes, lo que coincide con la menor mejora en las propiedades antioxidantes observada en el residuo de brócoli sometido a este pretratamiento. Sin embargo, este tratamiento a elevada temperatura también habría provocado cierta permeabilización de membranas y paredes, ya que se observa una apariencia reticulada en el interior de los poros, indicativa de la presencia de fase líquida tanto dentro de las células como en los espacios intercelulares. Además, el corte obtenido sugiere menor rigidez de las paredes celulares, lo que concuerda con cierta degradación o solubilización de las estructuras.

4.2.2. Efecto de los diferentes pretratamientos sobre las propiedades de los polvos obtenidos a partir de tallo de brócoli

En la tabla 7 se muestran los resultados correspondientes a las propiedades fisicoquímicas de los polvos obtenidos a partir de tallo de brócoli fresco o pretratado y deshidratado por liofilización o secado con aire a 60 °C durante 10 h.

Tabla 7. Valores para el contenido en humedad (x_w), actividad del agua (a_w) y contenido en sólidos solubles totales (x_{ss}) de los polvos obtenidos por secado por aire caliente o liofilización a partir de tallo de brócoli fresco y pretratado. Media \pm desviación estándar de tres repeticiones.

Tratamiento	x_w (g _w /g _{total})	a_w	x_{ss} (g _w /g _{total})
SAC 60	0,059 \pm 0,002 ^{de}	0,243 \pm 0,005 ^b	0,631 \pm 0,012 ^{bc}
PAST SAC 60	0,068 \pm 0,002 ^f	0,307 \pm 0,005 ^h	0,610 \pm 0,012 ^b
AUTO SAC 60	0,060 \pm 0,003 ^e	0,305 \pm 0,005 ^h	0,606 \pm 0,017 ^b
MW SAC 60	0,0493 \pm 0,0011 ^c	0,268 \pm 0,006 ^{de}	0,603 \pm 0,018 ^b
FSAC 60	0,115 \pm 0,003 ^g	0,302 \pm 0,004 ^{gh}	0,558 \pm 0,013 ^a
US SAC 60	0,0520 \pm 0,0014 ^{cd}	0,26 \pm 0,008 ^{cd}	0,652 \pm 0,012 ^{cd}
LIO	0,033 \pm 0,005 ^a	0,261 \pm 0,008 ^{cd}	0,655 \pm 0,011 ^{cd}
PAST LIO	0,059 \pm 0,004 ^{de}	0,2495 \pm 0,0017 ^{bc}	0,624 \pm 0,016 ^{bc}
AUTO LIO	0,046 \pm 0,004 ^{bc}	0,281 \pm 0,006 ^{ef}	0,65 \pm 0,02 ^{cd}
MW LIO	0,042 \pm 0,003 ^b	0,260 \pm 0,007 ^{cd}	0,670 \pm 0,011 ^d
FLIO	0,057 \pm 0,010 ^{de}	0,208 \pm 0,005 ^a	0,649 \pm 0,017 ^{cd}
US LIO	0,048 \pm 0,002 ^{bc}	0,290 \pm 0,008 ^{fg}	0,61 \pm 0,02 ^b

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

Como era de esperar, tras aplicar las técnicas de deshidratación ensayadas, todos los productos obtenidos presentan una a_w y x_w significativamente menores (p -valor $< 0,05$) con respecto a sus equivalentes sin deshidratar (Tabla 5), y dentro de los valores considerados adecuados para garantizar la estabilidad de este tipo de productos (a_w entre 0,20 y 0,35; $x_w < 0,1 \text{ g}_w/\text{g}_{\text{total}}$), impidiendo el crecimiento de bacterias causantes de deterioro y prolongando la vida útil de los polvos obtenidos (Zambrano *et al.*, 2019; Alp y Bulantekin, 2021).

Los resultados muestran que existen diferencias estadísticamente significativas (p -valor $< 0,05$) para el contenido en humedad entre la mayoría de los pretratamientos, habiéndose obtenido valores más elevados en los polvos sometidos a secado por aire caliente. Así, se ponen de manifiesto las diferencias que existen entre los diversos mecanismos de eliminación del agua como consecuencia del empleo de una u otra técnica de secado. Durante el secado convectivo, el agua se transfiere desde el interior del producto hasta la interfase producto-aire, siendo ésta eliminada desde la superficie, y llevando a una contracción del residuo que puede limitar la transferencia de humedad (Maskan, 2001; Gulati y Datta, 2015). Así, se forma una capa superficial impermeable que mantiene los alimentos secos en la superficie, pero húmedos en el interior (Guiné, 2018). Este fenómeno resulta más acusado para los residuos fermentados debido a la capacidad de este pretratamiento de acortar el tiempo de secado, produciéndose la eliminación de agua en la superficie más rápidamente y contribuyendo a este fenómeno de encostramiento (Bas-Bellver *et al.*, 2023). El mayor impacto del secado en los residuos fermentados vendría relacionado con la pérdida estructural de la pared vegetal de los tallos y la formación de poros (Bas-Bellver *et al.*, 2023; Janiszewska-Turak *et al.*, 2022). De esta manera, se explicaría el mayor valor de x_w para los polvos procedentes de tallos fermentados y secados con aire a 60 °C (FSAC 60).

Por otra parte, se obtienen valores de a_w significativamente menores (p -valor $< 0,05$) para los polvos liofilizados, probablemente debido a una mayor eficiencia en la eliminación del agua por la previa congelación del residuo triturado, seguida de la etapa de sublimación y desorción (Prosapio y Norton, 2017), resultando en la formación de canales porosos debido a la sublimación del hielo formado.

En el caso de los polvos US SAC 60 y MW SAC 60, estos alcanzan valores de humedad menores a los reportados para los polvos sin pretratar, así como valores de actividad del agua significativamente menores (p -valor $< 0,05$) que los otros pretratamientos ensayados, mostrando la mayor eficacia de estos pretratamientos en la conservación de productos finales. Además, para los polvos US SAC 60 se obtienen valores de humedad similares a los obtenidos en los respectivos polvos liofilizados. Esta diferencia podría deberse a la mayor disponibilidad del agua presente en la fase líquida del tejido, la cual habría quedado más disponible debido a la permeabilización de membranas y paredes celulares a consecuencia de la cavitación, según se ha explicado anteriormente. También, para los polvos US SAC 60 se obtiene una actividad del agua significativamente inferior (p -valor $< 0,05$) a la de los polvos liofilizados, confirmando, junto con los valores de humedad, la eficiencia de este pretratamiento en la mejora de las propiedades fisicoquímicas del producto deshidratado.

Respecto al contenido en sólidos solubles totales (x_{ss}), hay un aumento significativo de los mismos (p -valor $< 0,05$), tras la deshidratación por cualquiera de las dos técnicas ensayadas, en comparación con los equivalentes tallos sin deshidratar (Tabla 5). Esto resulta lógico pues la eliminación del agua implica la concentración de todos los demás compuestos presentes en la matriz vegetal. Como ha confirmado el ANOVA multifactorial, la mayoría de los polvos secados por

aire caliente presentan valores de x_{ss} inferiores a los obtenidos para los respectivos polvos liofilizados. Esto podría deberse a que el proceso de liofilización permite una eliminación más eficiente del agua por la sublimación de cristales de hielo formados tras la congelación (Prosapio y Norton, 2017; Oyinloye y Yoon, 2020), favoreciendo la concentración de los solutos. Además, la liofilización permite obtener un producto con una mayor porosidad (Yao *et al.*, 2023), la cual facilita su molienda, dando lugar a un menor tamaño de partícula y facilitando la solubilización y liberación de compuestos solubles, como se ha discutido anteriormente. Excepcionalmente, para los polvos US SAC 60 se obtienen valores más elevados de sólidos solubles que para los polvos US LIO. En este caso, no existen diferencias estadísticamente significativas en el contenido en humedad del polvo SAC y el LIO, por lo que no se habrían concentrado más en un caso que en el otro.

A continuación, en la figura 7 se muestran los resultados para las propiedades antioxidantes de los productos en polvo obtenidos tras la deshidratación y molienda. Se muestran los resultados para el contenido en fenoles totales (mg EAG/g_{ms}), flavonoides totales (mg EQ/g_{ms}), ABTS (mg ET/g_{ms}), y DPPH (mg ET / g_{ms}).

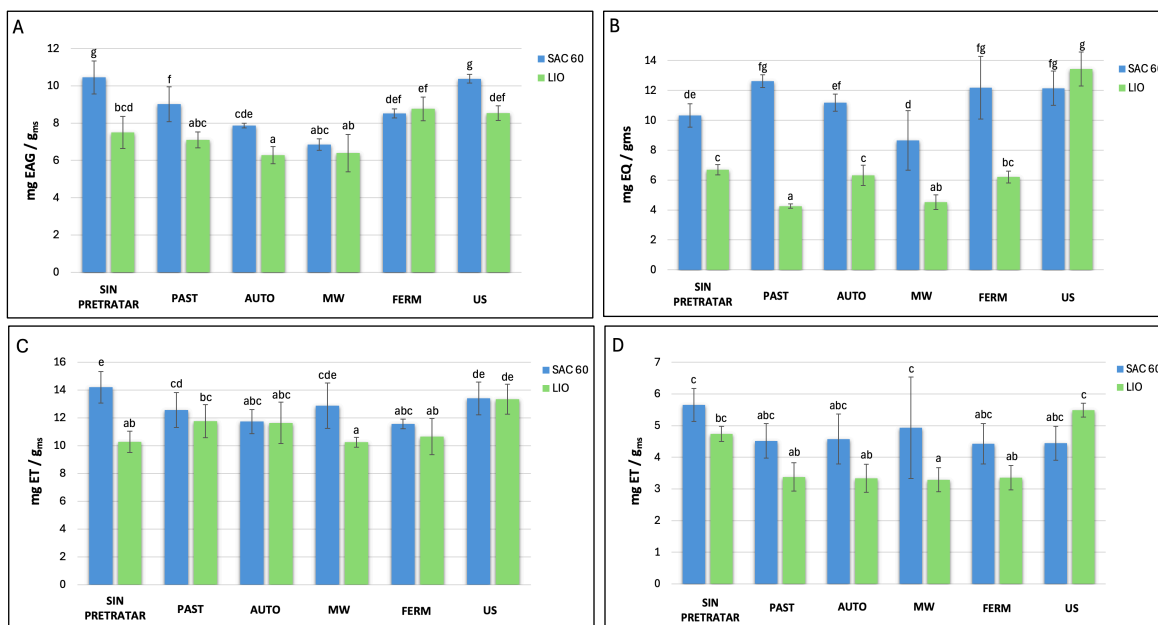


Figura 7. Propiedades antioxidantes de los polvos pretratados y sin pretratar obtenidos por distintas técnicas de deshidratación: A) Contenido en fenoles totales expresado en mg de ácido gálico equivalente (EQ) por gramo de materia seca. C y D) Contenido de ABTS y DPPH, respectivamente, expresado en mg de trólox equivalente (ET) por gramo de materia seca. Las barras de error representan la desviación estándar de seis repeticiones a partir de dos réplicas (3 repeticiones/réplica). ^{a, b, c...} Diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95 % (p-valor < 0,05).

Tras someter los tallos de brócoli a un proceso de deshidratación, bien por secado por aire caliente o por liofilización, y posterior molienda, se aumenta el contenido en todas las propiedades antioxidantes de forma significativa (p-valor < 0,05) respecto al correspondiente tallo sin deshidratar (Tabla 6). Este incremento se atribuye al procesado de los residuos frescos, incluyendo desde el triturado inicial, pasando por los pretratamientos, la técnica de secado empleada como la posterior molienda, etapas que habrían contribuido a desestructurar la matriz vegetal y favorecer

la liberación de compuestos bioactivos u otros cambios bioquímicos que se traducen en una mejora de las propiedades antioxidantes (Ramírez-Pulido *et al.*, 2021). Cabe destacar que estos valores son generalmente más elevados para los polvos obtenidos por secado por aire caliente a 60 °C que para los polvos liofilizados. Esto puede ser debido a que el residuo secado por aire caliente es susceptible de experimentar reacciones de Maillard (Huang *et al.*, 2024) que resultan en la formación de compuestos antioxidantes, las cuales no tendrían lugar durante la liofilización debido a las bajas temperaturas empleadas en esta técnica. La eficiencia de las reacciones de Maillard en el enriquecimiento de compuestos antioxidantes fue estudiada por Somjai *et al.* en 2021, quienes secaron limoncillos chinos con aire a 60 °C y observaron que, con el avance de estas reacciones como consecuencia del secado, las frutas aumentaban su capacidad antioxidante analizada por los métodos de ABTS y DPPH. Además, también pueden resultar relevantes las reacciones bioquímicas que pueden verse favorecidas por el efecto de la temperatura, dando lugar a formas más activas de los compuestos antioxidantes, así como la limitación de la actividad de enzimas pro-oxidantes (Réblová, 2012), o la acción de enzimas que hidrolizan a compuestos más activos. Todo ello justificaría el aumento en propiedades antioxidantes.

Según ha confirmado el análisis de ANOVA multifactorial, los factores pretratamiento y tipo de secado influyen significativamente (p -valor $< 0,05$) en las propiedades antioxidantes de los productos en polvo obtenidos. Así mismo, la interacción entre el pretratamiento empleado y el tipo de deshidratación es también significativa (p -valor $< 0,05$) para todas las propiedades antioxidantes, por lo que se deduce que el efecto de la técnica de secado sobre las propiedades antioxidantes varía en función del pretratamiento aplicado previamente. Estas variaciones en la presencia de estos compuestos vendrían influenciadas por las distintas condiciones que se dan en cada una de las técnicas de deshidratación (Antal, 2015).

En relación al contenido en fenoles totales, ninguno de los pretratamientos aplicados permite mejorar su contenido en fenoles totales cuando el producto ha sido sometido a secado por aire caliente. Sin embargo, entre los polvos liofilizados sí se aprecian mejoras tras el pretratamiento con ultrasonidos y, especialmente la fermentación. Esto podría sugerir que aquellos compuestos antioxidantes liberados o generados gracias al pretratamiento de fermentación y ultrasonidos son más susceptibles al SAC, o bien su extracción se ve favorecida se por las características porosas de los polvos liofilizados(Xu *et al.*, 2020; Kumar *et al.*, 2021; Yang *et al.*, 2024). En ambos casos, se trata de los pretratamientos que, junto con la pasterización, habrían dado lugar a un mayor contenido en fenoles totales en polvos tanto SAC como LIO. Por otro lado, el residuo pasteurizado, pese a presentar el mayor contenido en fenoles totales antes de la deshidratación, resulta en polvos con un contenido fenólico similar al de los polvos procedentes del residuo sin pretratar.

En cuanto a los flavonoides, los polvos SAC presentan una mejora significativa (p -valor $< 0,05$) con respecto a los polvos no pretratados, en todos los casos, a excepción de la aplicación de microondas y autoclave entre los pretratamientos que contribuyen al enriquecimiento en flavonoides no se han encontrado diferencias significativas (p -valor $> 0,05$) en el contenido de estos compuestos. De la misma forma, Vargas *et al.* en 2022, vieron que, tras el secado por aire caliente de brócoli, col rizada y espinacas se produjo una liberación por efecto de la temperatura de los flavonoides que se encontraban enlazados en la matriz vegetal (Niamnuy *et al.*, 2014). Además, esta liberación podría verse favorecida por la aplicación de pretratamientos que induzcan daños directos en la matriz vegetal como la fermentación y los ultrasonidos (Kumar *et al.*, 2021; Yang *et al.*, 2024), lo que justificaría el aumento de flavonoides para dichos pretratamientos (Figura 7B). De

la misma forma, los polvos LIO habrían visto enriquecidos de forma significativa (p valor $< 0,05$) en flavonoides cuando los tallos son sometidos a un pretratamiento con ultrasonidos debido a unos mayores daños de la pared vegetal, como ya se ha mencionado.

En cuanto a la capacidad antioxidante, se obtuvieron resultados diferentes en función del método de análisis empleado. Por un lado, no se obtuvieron mejoras según el método del radical DPPH. Por el contrario, para el método del radical ABTS se obtuvieron polvos enriquecidos cuando el residuo fue pretratado con ultrasonidos y sometido a una deshidratación por liofilización. Este incremento en la extracción de compuestos antioxidantes viene fomentado por el previo fenómeno de cavitación inducido en el residuo de brócoli al aplicar altas frecuencias de ultrasonidos, así como por la posterior creación de canales en la matriz vegetal tras sublimación de los cristales de hielo (Oyinloye y Yoon, 2020; Rojas *et al.*, 2021). De esta manera, se confirma que el pretratamiento de ultrasonidos es el que permite obtener polvos liofilizados con mejores propiedades antioxidantes

Finalmente, para los productos en polvo previamente fermentados, se realizaron recuentos de viables en el tallo de brócoli recién inoculado, tras 24 h de fermentación con *L. plantarum* y tras la deshidratación mediante secado por aire caliente o liofilización. Como se ha mencionado en el estudio preliminar, para que un producto sea considerado probiótico, este debe contener una concentración de células viables en torno a 10^6 - 10^7 UFC/g (Champagne *et al.*, 2011; Cui *et al.*, 2018). Para el tallo de brócoli recién inoculado, el recuento se encuentra en una concentración de 10^7 UFC/g, por lo que podría ser considerado como potencialmente probiótico. Tras 24 h de fermentación, se da un aumento significativo (p -valor $< 0,05$) en el recuento de viables, confirmando que el brócoli es una matriz vegetal adecuada para el crecimiento de microorganismos probióticos, como así confirmaron Ye *et al.* en 2019 y Zdziobek *et al.* en 2023.

Tras someter el tallo fermentado a un secado por aire caliente en el secador convectivo de planta piloto, y a diferencia de los estudios preliminares en secadores de bancada, no se obtuvieron lecturas positivas en las placas sembradas (recuentos $< 10^4$ UFC/g), probablemente debido al efecto negativo de la temperatura de secado sobre los mismos o a una excesiva prolongación del tratamiento. Estudios previos confirmaron estos resultados, estableciendo que un secado por convección a temperatura superior a 40 °C puede comprometer la viabilidad de las bacterias probióticas (Zura-Bravo *et al.*, 2018). No obstante, en estudios previos realizados sobre el mismo tipo de residuo, se comprobó que es posible obtener productos en polvo con microorganismos viables tras el SAC a 50 , 60 y 70 °C (Bas-Bellver *et al.*, 2024); sin embargo, es necesario definir correctamente el tiempo de secado para no exceder la duración del periodo de velocidad decreciente, en el que la temperatura del producto puede superar la máxima que toleraría el microorganismo. En el presente estudio todos los productos pretratados se sometieron a las mismas condiciones de temperatura y tiempo de secado con fines comparativos, lo que podría haber resultado perjudicial para la viabilidad del probiótico.

Por otro lado, al someter el tallo fermentado a una deshidratación por liofilización, se da una disminución significativa (p -valor $< 0,05$) en la concentración de viables; sin embargo, los polvos obtenidos siguen siendo potencialmente probióticos (10^6 UFC / g). La liofilización es una técnica más recomendada para preservar la viabilidad microbiana debido al uso de temperaturas bajas y a la ausencia de oxígeno, y por tanto considerada como una técnica adecuada para preparar cultivos probióticos estables de alto valor (Rishabh *et al.*, 2023).

5. CONCLUSIONES

Tras analizar los resultados obtenidos en el presente trabajo final de grado, se ha llegado a las siguientes conclusiones

- La fermentación del tallo de brócoli con *L. plantarum* durante 24 h ha presentado resultados dispares. En el ensayo preliminar, el contenido en fenoles en las muestras fermentadas disminuyó, mientras que en el estudio posterior se observó una mejora en prácticamente todas las propiedades antioxidantes. Estos resultados sugieren que los pretratamientos biológicos pueden ser variables y difíciles de controlar, destacando la necesidad de estandarizar los protocolos de fermentación.
- El estudio preliminar de secado ha permitido definir los tiempos de secado necesarios para alcanzar una $a_w < 0,3$ en residuo sin pretratar y fermentados, habiéndose comprobado que la fermentación permite reducir los tiempos de secado. Estas diferencias en cuanto al comportamiento frente al secado son consecuencia de la desestructuración provocada por la acción microbiana, lo cual también ha sido confirmado a partir de las observaciones microscópicas. El resto de pretratamientos posteriormente ensayados también podría tener un efecto similar sobre las cinéticas de secado, por lo que sería interesante abordar el estudio del impacto de los pretratamientos sobre las cinéticas de secado en trabajos posteriores.
- El estudio preliminar también sugiere que el secado por aire caliente permite mejorar las propiedades antioxidantes del tallo de brócoli frente al residuo liofilizado, especialmente si este secado se lleva a cabo con aire a 60 °C. Sin embargo, la liofilización sería la técnica recomendada para garantizar la presencia de *L. plantarum* por encima de 10^7 UFC/g.

Tras la obtención de los productos en polvo a partir de los residuos pretratados aplicando las condiciones de pretratamiento y secado previamente seleccionadas, se concluye que:

- Los pretratamientos termofísicos y biológicos propuestos permiten mejorar las propiedades antioxidantes del residuo de brócoli antes de ser deshidratados. La mejora más destacable se obtiene tras el pretratamiento con ultrasonidos, mientras que el autoclavado y el tratamiento con microondas resultan en mejoras menos evidentes.
- La deshidratación de los residuos pretratados por cualquiera de las dos técnicas estudiadas permite obtener polvos estables, pero no se consigue mejorar las propiedades antioxidantes de los polvos obtenidos en comparación con los productos no pretratados, a excepción del contenido en flavonoides. Este resultado sugiere que no resultaría interesante incorporar estos pretratamientos al proceso de obtención de polvos funcionales a partir de residuo de brócoli. No obstante, sería conveniente evaluar el contenido en compuestos bioactivos específicos (compuestos fenólicos, sulforafano) por técnicas más precisas como Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), para confirmar estos resultados y la conveniencia o no de proponer determinados pretratamientos.
- En general, los polvos secados por aire caliente presentan mejores propiedades antioxidantes que los polvos liofilizados, excepto en el caso del polvo liofilizado pretratado con ultrasonidos, en el que esta tendencia se invierte para algunas propiedades antioxidantes.

- En cuanto a la viabilidad del microorganismo probiótico, el escalado al secador de planta piloto supuso la pérdida de viabilidad del microorganismo, que sí se conservó por liofilización. Será necesario continuar trabajando en el diseño de un proceso de secado por aire caliente que permita asegurar una buena viabilidad.

6. BIBLIOGRAFÍA

Aamir, M., Ovissipour, M., Sablani, S. S., Rasco, B. (2013). Predicting the Quality of Pasteurized Vegetables Using Kinetic Models: A Review. *International Journal of Food Science* 2013 (1), 271271. <https://doi.org/10.1155/2013/271271>

Almaiman, S. A., Albadr, N. A., Alsulaim, S., Alhuthayli, H. F., Osman, M. A., & Hassan, A. B. (2021). Effects of microwave heat treatment on fungal growth, functional properties, total phenolic content, and antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) grain. *Food Chemistry*, 348, 128979. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128979>

Alongi, M. (2020). Sviluppo di alimenti funzionali mediante interventi di processo e formulazione innovativi e sostenibili [Tesi di Dottorato, Università Degli Studi Di Udine]. <https://air.uniud.it/handle/11390/1185446>

Alp, D., & Bulantekin, Ö. (2021). The microbiological quality of various foods dried by applying different drying methods: a review. *European Food Research & Technology*, 247, 1333-1343. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03731-z>

Alvi, T., Khan, M. K. I., Maan, A. A., Shahid, M., & Sablani, S. (2023). Microwaves as sustainable approach for artificial ripening of date fruit cv. Khupra to reduce fruit waste. *Food Bioscience*, 54, 102829. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102829>

Antal, T. (2015). Comparative study of three drying methods: freeze, hot air-assisted freeze and infrared-assisted freeze models. *Agronomy research*, 13(4), 863-879.

Baldassa, S. (2023). Impact of different disruptive pre-treatments on *Lactiplantibacillus plantarum* growth and antioxidant properties in broccoli stalks (*Brassica oleracea* var. *italica*) [Tesi di Laurea magistrali, Università Degli Studi Di Padova]. <https://thesis.unipd.it/handle/20.500.12608/60335>

Barba, F. J., Mariutti, L. R. B., Bragagnolo, N., Mercadante, A. Z., Barbosa-Cánovas, G. V., & Orlien, V. (2017). Bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables after thermal and nonthermal processing. *Trends in Food Science & Technology*, 67, 195-206. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.07.006>

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*, 12(4), 1284. <https://doi.org/10.3390/su12041284>

Bas-Bellver, C., Barrera, C., Betoret, N., & Seguí, L. (2022). Impact of Disruption and Drying Conditions on Physicochemical, Functional and Antioxidant Properties of Powdered Ingredients Obtained from Brassica Vegetable By-Products. *Foods*, 11(22), 3663. <https://doi.org/10.3390/foods11223663>

Bas-Bellver, C., Barrera, C., Betoret, N., & Seguí, L. (2023). Impact of Fermentation Pretreatment on Drying Behaviour and Antioxidant Attributes of Broccoli Waste Powdered Ingredients. *Foods*, 12(19), 3526. <https://doi.org/10.3390/foods12193526>

Bas-Bellver, C., Barrera, C., Betoret, N., & Seguí, L. (2023). Physicochemical, Technological and Functional Properties of Upcycled Vegetable Waste Ingredients as Affected by Processing and Storage. *Plant Foods for Human Nutrition*, 78, 710-719. <https://doi.org/10.1007/s11130-023-01114-1>

Bas-Bellver, C., Barrera, C., Betoret, N., Seguí, L., & Harasym, J. (2024). IV-Range Carrot Waste Flour Enhances Nutritional and Functional Properties of Rice-Based Gluten-Free Muffins. *Foods*, *13*(9), 1312. <https://doi.org/10.3390/foods13091312>

Bassey, E. J., Cheng, J., & Sun, D. (2021). Novel nonthermal and thermal pretreatments for enhancing drying performance and improving quality of fruits and vegetables. *Trends in Food Science & Technology*, *112*, 137-148. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.045>

Bayram, B., Ozkan, G., Kostka, T., Capanoglu, E., & Esatbeyoglu, T. (2021). Valorization and Application of Fruit and Vegetable Wastes and By-Products for Food Packaging Materials. *Molecules*, *26*(13), 4031. <https://doi.org/10.3390/molecules26134031>

Betoret, E., Betoret, N., Arilla, A., Bennár, M., Barrera, C., Codoñer, P., & Fito, P. (2012). No invasive methodology to produce a probiotic low humid apple snack with potential effect against *Helicobacter pylori*. *Journal Of Food Engineering*, *110*(2), 289-293. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.04.027>

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie/Food Science & Technology*, *28*(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/s0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/s0023-6438(95)80008-5)

Buckenhueskes, H. J. (2015). 22 - Quality improvement and fermentation control in vegetables. *Advances in Fermented Foods and Beverages*, 515-539. <https://doi.org/10.1016/b978-1-78242-015-6.00022-0>

Capanoglu, E., Nemli, E., & Tomas-Barberan, F. (2022). Novel Approaches in the Valorization of Agricultural Wastes and Their Applications. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, *70*(23), 6787-6804. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c07104>

Cartea, M. E., Francisco, M., Soengas, P., & Velasco, P. (2011). Phenolic Compounds in *Brassica* Vegetables. *Molecules*, *16*(1), 251-280. <https://doi.org/10.3390/molecules16010251>

Chamberlain, M., O'Flaherty, S., Cobián, N., & Barrangou, R. (2022). Metabolomic Analysis of *Lactobacillus acidophilus*, *L. gasserii*, *L. crispatus*, and *Lactocaseibacillus rhamnosus* Strains in the Presence of Pomegranate Extract. *Frontiers In Microbiology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.863228>

Chamorro, S., Goñi, I., Viveros, A., Hervert-Hernández, D., & Brenes, A. (2012). Changes in polyphenolic content and antioxidant activity after thermal treatments of grape seed extract and grape pomace. *European Food Research & Technology*, *234*, 147-155. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1621-7>

Champagne, C. P., Ross, R. P., Saarela, M., Hansen, K. F., & Charalampopoulos, D. (2011). Recommendations for the viability assessment of probiotics as concentrated cultures and in food matrices. *International Journal Of Food Microbiology*, *149*(3), 185-193. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.005>

Chin, S. K., Siew, E. S., & Soon, W. L. (2015). Drying characteristics and quality evaluation of kiwi slices under hot air natural convective drying method. *International Food Research Journal*, *22*(6), 2188-2195.

- Conesa, C., Seguí, L., Laguarda-Miró, N., & Fito, P. (2016). Microwaves as a pretreatment for enhancing enzymatic hydrolysis of pineapple industrial waste for bioethanol production. *Food and Bioproducts Processing*, 100 (A), 203-213. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.07.001>
- Cui, L., Niu, L., Li, D., Liu, C., Liu, Y., Liu, C., & Song, J. (2018). Effects of different drying methods on quality, bacterial viability and storage stability of probiotic enriched apple snacks. *Journal Of Integrative Agriculture*, 17(1), 247-255. [https://doi.org/10.1016/s2095-3119\(17\)61742-8](https://doi.org/10.1016/s2095-3119(17)61742-8)
- Dalmau, M. E., Bornhorst, G. M., Eim, V., Rosselló, C., & Simal, S. (2017). Effects of freezing, freeze drying and convective drying on *in vitro* gastric digestion of apples. *Food Chemistry*, 215, 7-16. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.134>
- De Oliveira, P. M., De Castro Leite Júnior, B. R., Martins, E. M. F., Martins, M. L., Vieira, É. N. R., De Barros, F. A. R., Cristianini, M., De Almeida Costa, N., & Ramos, A. M. (2021). Mango and carrot mixed juice: a new matrix for the vehicle of probiotic lactobacilli. *Journal Of Food Science And Technology* 58, 98-109. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04518-y>
- Debelo, H., Li, M., & Ferruzzi, M. G. (2020). Processing influences on food polyphenol profiles and biological activity. *Current Opinion In Food Science*, 32, 90-102. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.03.001>
- Devčić, A. (2022). Economic management of rural areas: on the way from linear to circular economy. *Scientific Papers Series Management, Economic Engineering in Agriculture and Rural Development*, 22(2), 257-262.
- Dziki, D. (2020). Recent Trends in Pretreatment of Food before Freeze-Drying. *Processes*, 8(12), 1661. <https://doi.org/10.3390/pr8121661>
- Fabi, C. (2023). Towards reporting on SDG 12.3–Foods Loss Index. *FAO Statistics Division*. <https://www.fao.org/statistics/en/>
- FAO (2011). Global food losses and food waste - Extent, causes and prevention. <https://www.fao.org/4/mb060e/mb060e00.pdf>
- FAO (2019). Welcomes global recognition of fruits, vegetables, tea and food loss and waste. *FoodLossWaste*. <https://www.fao.org/platform-food-loss-waste/news/news-detail/FAO-welcomes-global-recognition-of-fruits-vegetables-tea-and-food-loss-and-waste/en>
- FAOSTAT (2022). <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- Gamez, M. J. (2022). *Objetivos y metas de desarrollo sostenible - Desarrollo Sostenible*. Desarrollo Sostenible. <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/objetivos-de-desarrollo-sostenible/>
- Ganesh, K. S., Sridhar, A., & Vishali, S. (2022). Utilization of fruit and vegetable waste to produce value-added products: Conventional utilization and emerging opportunities-A review. *Chemosphere*, 287 (3). <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132221>
- Garcia, C., & Remize, F. (2022). Chapter 2 – Lactic acid fermentation of fruit and vegetable juices and smoothies: Innovation and health aspects. *Lactic Acid Bacteria in Food Biotechnology*, 27-46. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89875-1.00008-0>

- Guiné, R. P. F. (2018). The Drying of Foods and Its Effect on the Physical-Chemical, Sensorial and Nutritional Properties. *International Journal of Food Engineering*, 4(2), 93-100. <https://doi.org/10.18178/ijfe.4.2.93-100>
- Gulati, T., & Datta, A. K. (2015). Mechanistic understanding of case-hardening and texture development during drying of food materials. *Journal Of Food Engineering*, 166, 119-138. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.05.031>
- Guo, Q., Sun, D., Cheng, J., & Han, Z. (2017). Microwave processing techniques and their recent applications in the food industry. *Trends In Food Science & Technology*, 67, 236-247. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.07.007>
- Huang, D., Men, K., Li, D., Wen, T., Gong, Z., Sunden, B., & Wu, Z. (2020). Application of ultrasound technology in the drying of food products. *Ultrasonics Sonochemistry*, 63, 104950. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104950>
- Huang, Y., Sun, Y., Mehmood, A., Lu, T., & Chen, X. (2024). Unraveling the temporal changes of Maillard reaction products and aroma profile in coffee leaves during hot-air drying. *Journal Of Food Composition And Analysis*, 128, 106055. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2024.106055>
- Iga-Buitrón, D., Torres-Maravilla, E., Bermúdez-Humaran, L. G., Ascacio-Valdes, J. A., Rodríguez-Herrera, R., Aguilar, C. N., & Flores-Gallegos, A. C. (2023). Lactic Fermentation of Broccoli (*Brassica oleracea var. italica*) to Enhance the Antioxidant and Antiproliferative Activities. *Fermentation*, 9(2), 122. <https://doi.org/10.3390/fermentation9020122>
- Informe de los Objetivos de Desarrollo Sostenible 2023: Edición especial. (2023). En *Informe de los Objetivos de desarrollo sostenible . . .* <https://doi.org/10.18356/9789210024938>
- Janiszewska-Turak, E., Rybak, K., Pobiega, K., Nikodem, A., & Gramza-Michałowska, A. (2022). Sustainable Production and Characteristics of Dried Fermented Vegetables. *Fermentation*, 8(11), 659. <https://doi.org/10.3390/fermentation8110659>
- Jiang, H., Zhang, M., & Adhikari, B. (2013). 21 - Fruit and vegetable powders. *Handbook of Food Powders*, 532-552. <https://doi.org/10.1533/9780857098672.3.532>
- Kaparapu, J., Pragada, P. M., Geddada, M. N. R. (2020). Fruits and Vegetables and its Nutritional Benefits. *Functional Foods and Nutraceuticals*, 241-260. https://doi.org/10.1007/978-3-030-42319-3_14
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal Of Food Science And Technology*, 48, 412-422. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>
- Kiczorowski, P., Kiczorowska, B., Samolińska, W., Szmigielski, M., & Winiarska-Mieczan, A. (2022). Effect of fermentation of chosen vegetables on the nutrient, mineral, and biocomponent profile in human and animal nutrition. *Scientific Reports*, 12, 13422. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-17782-z>
- Knez, E., Kadac-Czapska, K., & Grembecka, M. (2023). Effect of Fermentation on the Nutritional Quality of the Selected Vegetables and Legumes and Their Health Effects. *Life*, 13(3), 655. <https://doi.org/10.3390/life13030655>

- Kong, F., & Singh, R. P. (2016). 2 - Chemical Deterioration and Physical Instability of Foods and Beverages. *The Stability and Shelf Life of Food*, 43-76. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100435-7.00002-2>
- Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105325. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105325>
- Kwaw, E., Ma, Y., Tchabo, W., Apaliya, M. T., Wu, M., Sackey, A. S., Xiao, L., & Tahir, H. E. (2018). Effect of lactobacillus strains on phenolic profile, color attributes and antioxidant activities of lactic-acid-fermented mulberry juice. *Food Chemistry*, 250, 148-154. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.009>
- Lewicki, P. P., & Pawlak, G. (2003). Effect of Drying on Microstructure of Plant Tissue. *Drying Technology*, 21(4), 657-683. <https://doi.org/10.1081/drt-120019057>
- Li, H., Xia, Y., Liu, H., Guo, H., He, X., Liu, Y., Wu, D., Mai, Y., Li, H., Zou, L., & Gan, R. (2022). Nutritional values, beneficial effects, and food applications of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica* Plenck). *Trends in Food Science & Technology*, 119, 288-308. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.015>
- Li, Z., Teng, J., Lyu, Y., Hu, X., Zhao, Y., & Wang, M. (2019). Enhanced Antioxidant Activity for Apple Juice Fermented with *Lactobacillus plantarum* ATCC14917. *Molecules*, 24(1), 51. <https://doi.org/10.3390/molecules24010051>
- Liu, H., Ni, Y., Yu, Q., & Fan, L. (2023). Evaluation of co-fermentation of *L. plantarum* and *P. kluyveri* of a plant-based fermented beverage: Physicochemical, functional, and sensory properties. *Food Research International*, 172, 113060. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113060>
- Liu, Y., Liong, M., & Tsai, Y. (2018). New perspectives of *Lactobacillus plantarum* as a probiotic: The gut-heart-brain axis. *Journal Of Microbiology*, 56, 601-613. <https://doi.org/10.1007/s12275-018-8079-2>
- Llavata, B., García-Pérez, J. V., Simal, S., & Cárcel, J. A. (2020). Innovative pre-treatments to enhance food drying: a current review. *Current Opinion in Food Science*, 35, 20-26. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.12.001>
- Losso, J. N. (2016). The Maillard reaction reconsidered. *Cooking and Eating for Health*, 1. <https://doi.org/10.1201/b19207>
- Lutz, M., Hernández, J., & Henríquez, C. (2015). Phenolic content and antioxidant capacity in fresh and dry fruits and vegetables grown in Chile. *Journal Of Food*, 13(4), 541-547. <https://doi.org/10.1080/19476337.2015.1012743>
- Luximon-Ramma, A., Neergheen, V. S., Bahorun, T., Crozier, A., Zbarsky, V., Datla, K. P., Dexter, D. T., & Aruoma, O. I. (2008). Assessment of the polyphenolic composition of the organic extracts of Mauritian black teas: A potential contributor to their antioxidant functions. *BioFactors*, 27(1-4), 79-91. <https://doi.org/10.1002/biof.5520270108>
- Macieira, A., Barbosa, J., & Teixeira, P. (2021). Food Safety in Local Farming of Fruits and Vegetables. *International Journal Of Environmental Research And Public Health*, 18(18), 9733. <https://doi.org/10.3390/ijerph18189733>

Malik, F., Nadeem, M., Ainee, A., Kanwal, R., Sultan, M., Iqbal, A., Mahmoud, S. F., Alshehry, G. A., Al-Jumayi, H. A., & Algarni, E. H. A. (2022). Quality Evaluation of Lemon Cordial Stored at Different Times with Microwave Heating (Pasteurization). *Sustainability*, 14(4), 1953. <https://doi.org/10.3390/su14041953>

Mandha, J., Shumoy, H., Matem, A. O., & Raes, K. (2023). Characterization of fruit juices and effect of pasteurization and storage conditions on their microbial, physicochemical, and nutritional quality. *Food Bioscience*, 51, 102335. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102335>

Martins, S. I. F. S., Jongen, W. M. F., & Van Boekel, M. A. J. S. (2000). A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends in Food Science & Technology*, 11(9-10), 364-373. [https://doi.org/10.1016/s0924-2244\(01\)00022-x](https://doi.org/10.1016/s0924-2244(01)00022-x)

Maskan, M. (2001). Drying, shrinkage and rehydration characteristics of kiwifruits during hot air and microwave drying. *Journal Of Food Engineering*, 48(2), 177-182. [https://doi.org/10.1016/s0260-8774\(00\)00155-2](https://doi.org/10.1016/s0260-8774(00)00155-2)

Meng, F., Lei, Y., Li, Q., Li, Y., Deng, Y., & Liu, D. (2022). Effect of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* fermentation on antioxidant activity and metabolomic profiles of loquat juice. *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie/Food Science & Technology*, 171, 114104. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114104>

Mohammed, H. H., Tola, Y. B., Taye, A. H., & Abdisa, Z. K. (2022). Effect of pretreatments and solar tunnel dryer zones on functional properties, proximate composition, and bioactive components of pumpkin (*Cucurbita maxima*) pulp powder. *Heliyon*, 8. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10747>

Nagraj, G. S., Chouksey, A., Jaiswal, S., Jaiswal, A. K. (2020). Chapter 1 – Broccoli. *Nutritional Composition and Antioxidant Properties of Fruits and Vegetables*, 5-17. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812780-3.00001-5>

Närvänen, E., Mesiranta, N., Mattila, M., & Heikkinen, A. (2020). Introduction: A Framework for Managing Food Waste. *Food Waste Management*, 1-24. https://doi.org/10.1007/978-3-030-20561-4_1

Niamnuy, C., Devahastin, S., & Soponronnarit, S. (2014). Some recent advances in microstructural modification and monitoring of foods during drying: A review. *Journal of Food Engineering*, 123, 148-156. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.08.026>

Nimkarde, A. D., Gopnarayan, S. P., & Vaidya, K. S. (2022). Effect of Microwaves on the pH and °Brix value of Cranberry, Grape, Blackberry and Lemon. *Journal Of Advances Applied Scientific Research*, 4(1), 74-79. <https://doi.org/10.46947/joaasr412022225>

Nooshkam, M., Varidi, M., & Bashash, M. (2019). The Maillard reaction products as food-born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems. *Food Chemistry*, 275, 644-660. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.083>

Núñez-Gómez, V., González-Barrio, R., Baenas, N., Moreno, D. A., & Periago, M. J. (2022). Dietary-Fibre-Rich Fractions Isolated from Broccoli Stalks as a Potential Functional Ingredient with Phenolic Compounds and Glucosinolates. *International Journal Of Molecular Sciences*, 23(21), 13309. <https://doi.org/10.3390/ijms232113309>

Oyinloye, T. M., & Yoon, W. B. (2020). Effect of Freeze-Drying on Quality and Grinding Process of Food Produce: A Review. *Processes*, 8(3), 354. <https://doi.org/10.3390/pr8030354>

Pandiselvam, R., Aydar, A. Y., Kutlu, N., Aslam, R., Sahni, P., Mitharwal, S., Gavahian, M., Kumar, M., Raposo, A., Yoo, S., Han, H., & Kothakota, A. (2023). Individual and interactive effect of ultrasound pre-treatment on drying kinetics and biochemical qualities of food: A critical review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 92, 106261. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106261>

Peng, W., Meng, D., Yue, T., Wang, Z., & Gao, Z. (2021). Effect of the apple cultivar on cloudy apple juice fermented by a mixture of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, and *Lactobacillus fermentum*. *Food Chemistry*, 340, 127922. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127922>

Popoola, O. O. (2022). Phenolic compounds composition and in vitro antioxidant activity of Nigerian *Amaranthus viridis* seed as affected by autoclaving and germination. *Measurement: Food*, 6, 100028. <https://doi.org/10.1016/j.meafoc.2022.100028>

Prosapio, V., & Norton, I. (2017). Influence of osmotic dehydration pre-treatment on oven drying and freeze drying performance. *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie/Food Science & Technology*, 80, 401-408. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.012>

Rajewska, K., & Mierzwa, D. (2017). Influence of ultrasound on the microstructure of plant tissue. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 43, 117-129. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.07.034>

Rajković, M. B., Minić, D. P., Milinčić, D., & Zdravković, M. (2020). Circular economy in food industry. *Zastita Materijala*, 61(3), 229-250. <https://doi.org/10.5937/zasmat2003229r6>

Ramírez-Pulido, B., Bas-Bellver, C., Betoret, N., Barrera, C., & Seguí, L. (2021). Valorization of Vegetable Fresh-Processing Residues as Functional Powdered Ingredients. A Review on the Potential Impact of Pretreatments and Drying Methods on Bioactive Compounds and Their Bioaccessibility. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.654313>

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)

Réblová, Z. (2012). Effect of temperature on the antioxidant activity of phenolic acids. *Czech Journal of Food Science*, 30(2), 171-175. <https://doi.org/10.17221/57%2F2011-CJFS>

Rishabh, D., Athira, A., Preetha, R., & Nagamaniammai, G. (2023). Freeze dried probiotic carrot juice powder for better storage stability of probiotic. *Journal Of Food Science And Technology*, 60, 916-924. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05259-2>

Rojas, M. L., Kubo, M. T. K., Caetano-Silva, M. E., & Augusto, P. E. D. (2021). Ultrasound processing of fruits and vegetables, structural modification and impact on nutrient and bioactive compounds: a review. *International Journal Of Food Science & Technology*, 56(9), 4376-4395. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15113>

Rolfe, C., & Daryaei, H. (2020). Intrinsic and Extrinsic Factors Affecting Microbial Growth in Food Systems. *Food Safety Engineering*, 3-24. https://doi.org/10.1007/978-3-030-42660-6_1

Rudy, S., Dziki, D., Krzykowski, A., Gawlik-Dziki, U., Polak, R., Różyło, R., & Kulig, R. (2015). Influence of pre-treatments and freeze-drying temperature on the process kinetics and selected physico-chemical properties of cranberries (*Vaccinium macrocarpon* Ait.). *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie/Food Science and Technology*, 63 (1), 497-503. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.067>

Sablani, S. S., Kasapis, S., & Rahman, M. S. (2007). Evaluating water activity and glass transition concepts for food stability. *Journal Of Food Engineering*, 78(1), 266-271. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.09.025>

Salehi, F. (2020). Physico-chemical properties of fruit and vegetable juices as affected by ultrasound: a review. *International Journal of Food Properties*, 23(1), 1748-1765. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1825486>

Salehi, F., Inanloodoghous, M., & Ghazvineh, S. (2023). Influence of microwave pretreatment on the total phenolics, antioxidant activity, moisture diffusivity, and rehydration rate of dried sweet cherry. *Food Science & Nutrition*, 11(12), 7870-7876. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3703>

Salim, N. S. M., Garièpy, Y., & Raghavan, V. (2019). Effects of Processing on Quality Attributes of Osmo-Dried Broccoli Stalk Slices. *Food and Bioprocess Technology*, 12, 1174-1184. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02282-2>

Santos, N. C., Almeida, R. L. J., Albuquerque, J. C., De Andrade, E. W. V., Gregório, M. G., Santos, R. M. S., Rodrigues, T. J. A., De Oliveira Carvalho, R., De Aquino Gomes, M. M., Moura, H. V., De Figueiredo, D. V. P., Araújo, M. A., Lima, V. R. D. N., & De Almeida Mota, M. M. (2024). Optimization of ultrasound pre-treatment and the effect of different drying techniques on antioxidant capacity, bioaccessibility, structural and thermal properties of purple cabbage. *Chemical Engineering and Processing*, 21, 109801. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2024.109801>

Šarić, B. B. (2022). Processing of agricultural products by lyophilization. *II international scientific conference "Sustainable agriculture and rural development"*, 201-210.

Scherzinger, M., Kulbeik, T., & Kaltschmitt, M. (2020). Autoclave pre-treatment of green wastes – Effects of temperature, residence time and rotation speed on fuel properties. *Fuel*, 273, 117796. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.117796>

Seddik, H. A., Bendali, F., Gancel, F., Fliss, I., Spano, G., & Drider, D. (2017). *Lactobacillus plantarum* and Its Probiotic and Food Potentialities. *Probiotics And Antimicrobial Proteins*, 9, 111-122. <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9264-z>

Septembre-Malaterre, A., Remize, F., & Poucheret, P. (2018). Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: Changes in bioactive compounds during lactic fermentation. *Food Research International*, 104, 86-99. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.031>

Sharma, P., Gaur, V. K., Sirohi, R., Varjani, S., Kim, S. H., & Wong, J. W. C. (2021). Sustainable processing of food waste for production of bio-based products for circular bioeconomy. *Bioresource Technology*, 325, 124684. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124684>

- Sharma, V., & Mishra, H. N. (2013). Fermentation of vegetable juice mixture by probiotic lactic acid bacteria. *Nutrafoods*, *12*, 17-22. <https://doi.org/10.1007/s13749-012-0050-y>
- Shekh, S. L., Boricha, A. A., Chavda, J. G., & Vyas, B. R. M. (2020). Probiotic potential of lyophilized *Lactobacillus plantarum* GP. *Annals Of Microbiology*, *70*. <https://doi.org/10.1186/s13213-020-01556-x>
- Shrotri, A., Kobayashi, H., & Fukuoka, A. (2018). Cellulose Depolymerization over Heterogeneous Catalysts. *Accounts Of Chemical Research*, *51*(3), 761-768. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.7b00614>
- Singh, L., Kaur, S., & Aggarwal, P. (2022). Techno and bio functional characterization of industrial potato waste for formulation of phytonutrients rich snack product. *Food Bioscience*, *49*, 101824. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101824>
- 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*, 152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Somjai, C., Siriwoharn, T., Kulprachakarn, K., Chaipoot, S., Phongphisutthinant, R., & Wiriyaacharee, P. (2021). Utilization of Maillard reaction in moist-dry-heating system to enhance physicochemical and antioxidative properties of dried whole longan fruit. *Heliyon*, *7*(5), e07094. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07094>
- Sundaram, J., Mellein, B. R., & Mitragotri, S. (2003). An experimental and theoretical analysis of ultrasound-induced permeabilization of cell membranes. *Biophysical Journal*, *84*(5), 3087-3101. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(03\)70034-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(03)70034-4)
- Taheri, M.E., Salimi, E., Saragas, K., Novakovic, J., Barampouti E. M., Mai, S., Malamis, D., Moustakas, K., & Loizidou, M. (2021). *Biomass Conversion and Biorefinery*, *11*, 219-226. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00729-7>
- Ummat, V., Sivagnanam, S. P., Rajauria, G., O'Donnell, C., & Tiwari, B. K. (2021). Advances in pre-treatment techniques and green extraction technologies for bioactives from seaweeds. *Trends In Food Science & Technology*, *110*, 90-106. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.018>
- Urquieta-Herrero, M., Cornejo-Mazón, M., Gutiérrez-López, G. F., & García-Pinilla, S. (2021). Effect of two pasteurization methods on the content of bioactive compounds and antioxidant capacity of nance (*Byrsonima crassifolia*) pulp and their kinetics of loss during refrigerated storage. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, *20*(2), 663-678. <https://doi.org/10.24275/rmiq/alim2222>
- Vargas, L., Kapoor, R., Nemzer, B., & Feng, H. (2022). Application of different drying methods for evaluation of phytochemical content and physical properties of broccoli, kale, and spinach. *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie/Food Science & Technology*, *155*, 112892. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112892>
- Voda, A., Homan, N., Witek, M., Duijster, A., Van Dalen, G., Van Der Sman, R., Nijse, J., Van Vliet, L., Van As, H., & Van Duynhoven, J. (2012). The impact of freeze-drying on microstructure and rehydration properties of carrot. *Food Research International*, *49*(2), 687-693. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.019>

- Wu, C., Li, T., Qi, J., Jiang, T., Xu, H., & Lei, H. (2020). Effects of lactic acid fermentation-based biotransformation on phenolic profiles, antioxidant capacity and flavor volatiles of apple juice. *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie/Food Science & Technology*, *122*, 109064. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109064>
- Xu, Y., Xiao, Y., Lagnika, C., Li, D., Liu, C., Jiang, N., Song, J., & Zhang, M. (2020). A comparative evaluation of nutritional properties, antioxidant capacity and physical characteristics of cabbage (*Brassica oleracea* var. Capitata var L.) subjected to different drying methods. *Food Chemistry*, *309*, 124935. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.06.002>
- Yang, X., Hong, J., Wang, L., Cai, C., Mo, H., Wang, J., Fang, X., & Liao, Z. (2024). Effect of Lactic Acid Bacteria Fermentation on Plant-Based Products. *Fermentation*, *10*(1), 48. <https://doi.org/10.3390/fermentation10010048>
- Yao, J., Chen, W., & Fan, K. (2023). Novel Efficient Physical Technologies for Enhancing Freeze Drying of Fruits and Vegetables: A Review. *Foods*, *12*(23), 4321. <https://doi.org/10.3390/foods12234321>
- Ye, J., Huang, L., Terefe, N. S., & Augustin, M. A. (2019). Fermentation-based biotransformation of glucosinolates, phenolics and sugars in retorted broccoli puree by lactic acid bacteria. *Food Chemistry*, *286*, 616-623. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.030>
- Ye, M., Zhou, H., Hao, J., Chen, T., He, Z., Wu, F., & Liu, X. (2021). Microwave pretreatment on microstructure, characteristic compounds and oxidative stability of *Camellia* seeds. *Industrial Crops And Products*, *161*, 113193. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113193>
- Zambrano, M. V., Dutta, B., Mercer, D. G., MacLean, H. L., & Touchie, M. F. (2019). Assessment of moisture content measurement methods of dried food products in small-scale operations in developing countries: A review. *Trends in Food Science & Technology*, *88*, 484-496. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.04.006>
- Zdziobek, P., Jodłowski, G. S., & Strzelec, E. A. (2023). Biopreservation and Bioactivation Juice from Waste Broccoli with *Lactiplantibacillus plantarum*. *Molecules*, *28*(12), 4594. <https://doi.org/10.3390/molecules28124594>
- Zhu, X., Das, R. S., Bhavya, M. L., Garcia-Vaquero, M., & Tiwari, B. K. (2024). Acoustic cavitation for agri-food applications: Mechanism of action, design of new systems, challenges and strategies for scale-up. *Ultrasonics Sonochemistry*, *105*, 106850. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2024.106850>
- Zura-Bravo, L., Rodriguez, A., Stucken, K., & Vega-Gálvez, A. (2018). Drying kinetics of probiotic-impregnated murta (*Ugni molinae* T.) berries. *Journal Of Food Science And Technology*, *56*, 103-113. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3463-9>

ANEXO I: Relación del trabajo con los objetivos de desarrollo sostenible de la Agenda 2030

1. Grado de relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS)

	Alto	Medio	Bajo	No procede
ODS 1. Fin de la pobreza			x	
ODS 2. Hambre cero	x			
ODS 3. Salud y bienestar	x			
ODS 4. Educación de calidad				x
ODS 5. Igualdad de género				x
ODS 6. Agua limpia y saneamiento				x
ODS 7. Energía asequible y no contaminante				x
ODS 8. Trabajo decente y crecimiento económico		x		
ODS 9. Industria, innovación e infraestructuras				x
ODS 10. Reducción de las desigualdades				x
ODS 11. Ciudades y comunidades sostenibles				x
ODS 12. Producción y consumo responsables	x			
ODS 13. Acción por el clima		x		

2. Alineación del trabajo con los ODS de mayor grado de relación

El presente trabajo posee un alto grado de relación con los ODS 2, 3 y 12, los cuales se engloban bajo el lema “Hambre cero”, “Salud y bienestar” y “Producción y consumo responsables”, respectivamente.

ODS 12

Uno de los principales problemas actuales es la escasez de recursos debido al constante crecimiento poblacional. Así pues, con la aparición de la Agenda 2030 para un desarrollo sostenible se han buscado formas de reducir dicha problemática. Una de las acciones que contribuye a la disminución de esos recursos es el desperdicio alimentario, el cual tiene un gran impacto en la industria hortofrutícola. Según recoge este ODS, una de las soluciones para el continuo aumento de los residuos sería la implementación de un sistema de economía circular en las industrias alimentarias, medida que cada vez es más empleada. De esta manera se podrían diseñar y obtener productos duraderos al someter los residuos a un procesamiento por distintas técnicas, que irían desde el triturado, el secado y la molienda, hasta la aplicación de pretratamientos que mejoren la valorización de los alimentos, los cuales también contribuyen al ODS 3, como se mencionará posteriormente. Estas técnicas han sido aplicadas en el presente estudio con el objetivo de por un lado disminuir el desecho de los tallos, y por otro lado, obtener productos enriquecidos en compuestos bioactivos, como los compuestos antioxidantes, que contribuyen a un buen estado fisiológico. Con la obtención de estos polvos, se contribuiría principalmente a la meta 3 del objetivo 12: “De aquí a 2030, reducir a la mitad el desperdicio de alimentos per cápita mundial en la venta al por menor y a nivel de los consumidores y reducir las pérdidas de alimentos en las cadenas de producción y suministro, incluidas las pérdidas posteriores a la cosecha”.

ODS 3

Otra de las preocupaciones del mundo actual es la alta prevalencia de enfermedades como el cáncer, las deficiencias cardiovasculares o el envejecimiento. Por tanto, este ODS vela por garantizar una vida sana y promover el bienestar para las personas de todas las edades. De esta manera, se han hecho estudios de compuestos bioactivos que ejerzan un papel preventivo a la aparición de enfermedades de este tipo, siendo los antioxidantes de gran interés por su capacidad de neutralizar radicales libres que fomentan el estrés oxidativo, alterando la homeostasis del organismo, y favoreciendo la patogénesis. Así pues, los polvos obtenidos en el presente trabajo podrían ser considerados como potencialmente funcionales debido a su enriquecimiento en fenoles y flavonoides, así como obtención de una mayor capacidad antioxidante por los métodos ABTS y DPPH, contribuyendo al correcto desarrollo de este ODS.

ODS 2

Por último, el presente trabajo contribuye al cumplimiento del ODS 2, el cual pretende poner fin al hambre y garantizar un acceso a todas las personas a una alimentación sana, nutritiva y segura. Así pues, con la implementación en la industrial de un sistema de economía circular, además de disminuir la cantidad de residuos generados, también se puede mejorar la eficiencia del suministro de los alimentos debido a su menor coste, permitiendo el acceso a personas de todas las situaciones socioeconómicas a una alimentación de calidad. De esta manera, con la obtención de los polvos a partir de residuos, se contribuiría principalmente a la 1 del objetivo 2: “Para 2030, poner fin al hambre y asegurar el acceso a todas las personas, en particular los pobres y las personas en situaciones vulnerables, incluidos los lactantes, a una alimentación sana, nutritiva y suficiente durante todo el año”.

Por tanto, se pone de manifiesto que con la obtención de los polvos del presente trabajo, se contribuiría a un desarrollo sostenible para un futuro mejor, reduciendo el desperdicio alimentario, permitiendo el acceso a la alimentación a todas las personas y previniendo la aparición de enfermedades de alto impacto social.