



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA

**Food**UPV  
INSTITUTO DE INGENIERIA DE ALIMENTOS

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos  
(FoodUPV)

CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES  
ANTIOXIDANTES Y ANTIMICROBIANAS DE  
INGREDIENTES EN POLVO OBTENIDOS A PARTIR DE  
RESIDUOS DE HORTALIZAS CONFECCIONADAS EN  
COOPERATIVA

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Ciencia e Ingeniería de los Alimentos

AUTOR/A: Catararu Puiu, Ana Maria Elena

Tutor/a: Barrera Puigdollers, María Cristina

Cotutor/a: Seguí Gil, Lucía

Director/a Experimental: Bas Bellver, Claudia Isabel

CURSO ACADÉMICO: 2023/2024

# CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES ANTIOXIDANTES Y ANTIMICROBIANAS DE INGREDIENTES EN POLVO OBTENIDOS A PARTIR DE RESIDUOS DE HORTALIZAS CONFECCIONADAS EN COOPERATIVA

Ana Maria Elena Catararu Puiu, Claudia Isabel Bas Bellver<sup>1</sup>, María Cristina Barrera Puigdollers<sup>1</sup>, Lucía Seguí Gil<sup>1</sup>

## RESUMEN

Los estrictos estándares de comercialización de frutas y hortalizas generan grandes volúmenes de residuos orgánicos con un impacto ambiental negativo. Aprovechar estos residuos fomenta la economía circular y contribuye a la sostenibilidad alimentaria. Los residuos hortofrutícolas contienen compuestos bioactivos beneficiosos para la salud, como antioxidantes, anticancerígenos y antimicrobianos, lo que puede añadir valor al proceso productivo. En este estudio, se obtuvieron ingredientes en polvo a partir de residuos de col blanca, zanahoria, brócoli, apio y puerro mediante disrupción, deshidratación (por SAC: secado con aire o LIO: liofilización) y molienda. Los polvos se evaluaron en cuanto a propiedades fisicoquímicas, antioxidantes (contenido total de fenoles y flavonoides, actividad antioxidante por DPPH y ABTS, así como el contenido en compuestos fenólicos específicos), y antimicrobianas. El SAC produjo polvos con mayor contenido de fenoles y flavonoides totales, así como una mejor actividad antioxidante, mientras que la LIO produjo polvos con mayores concentraciones de compuestos fenólicos específicos. El brócoli, el puerro y la col mostraron mayor contenido de fenoles y flavonoides y mejor actividad antioxidante, mientras que la zanahoria y el brócoli destacaron en compuestos fenólicos específicos. Los polvos mostraron cierta actividad antimicrobiana, especialmente contra bacterias Gram positivas. En conclusión, los residuos de hortalizas generados en las primeras etapas del procesado pueden transformarse en productos en polvo con propiedades valiosas para su uso como ingredientes funcionales en alimentos.

**PALABRAS CLAVE:** residuos de hortalizas; ingredientes en polvo; antioxidantes; actividad antimicrobiana

## RESUM

Els estrictes estàndards de comercialització de fruites i hortalisses generen grans volums de residus orgànics amb un impacte ambiental negatiu. Aprofitar aquests residus fomenta l'economia circular i contribuïx a la sostenibilitat alimentària. Els residus hortofrutícoles contenen compostos bioactius beneficiosos per a la salut,

---

<sup>1</sup> Departamento de Tecnología de Alimentos. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera s/n, 46022, Valencia, España.

com a antioxidants, anticancerígens i antimicrobians, la qual cosa pot afegir valor al procés productiu. En aquest estudi, es van obtenir ingredients en pols a partir de residus de col blanca, carlota, bròcoli, api i porro mitjançant ruptura, deshidratació (per SAC: assecat amb aire o LIO: liofilització) i molta. Els pols es van avaluar quant a propietats fisicoquímiques, antioxidants (contingut total de fenols i flavonoides, activitat antioxidant per DPPH i ABTS, així com el contingut en compostos fenòlics específics), i antimicrobianes. El SAC va produir pols amb major contingut de fenols i flavonoides totals, així com una millor activitat antioxidant, mentre que la LIO va produir pols amb majors concentracions de compostos fenòlics específics. El bròcoli, el porro i la col van mostrar major contingut de fenols i flavonoides i millor activitat antioxidant, mentre que la carlota i el bròcoli van destacar en compostos fenòlics específics. Les pols van mostrar una certa activitat antimicrobiana, especialment contra bacteris Gram positives. En conclusió, els residus d'hortalisses generats en les primeres etapes del processament poden transformar-se en productes en pols amb propietats valuoses per al seu ús com a ingredients funcionals en aliments.

**PARAULES CLAU:** residus d'hortalisses; ingredients en pols; antioxidants; activitat antimicrobiana

## **ABSTRACT**

Strict fruit and vegetable marketing standards generate large volumes of organic waste with a negative environmental impact. Taking advantage of this waste promotes the circular economy and contributes to food sustainability. Fruit and vegetable waste contains bioactive compounds beneficial to health, such as antioxidants, anticarcinogens and antimicrobials, which can add value to the production process. In this study, powdered ingredients were obtained from white cabbage, carrot, broccoli, celery and leek residues by disruption, dehydration (by SAC: air drying or LIO: lyophilization) and milling. The powders were evaluated for physicochemical, antioxidant (total phenol and flavonoid content, antioxidant activity by DPPH and ABTS, as well as content in specific phenolic compounds), and antimicrobial properties. SAC produced powders with higher content of total phenols and flavonoids, as well as better antioxidant activity, while LIO produced powders with higher concentrations of specific phenolic compounds. Broccoli, leek and cabbage showed higher phenol and flavonoid content and better antioxidant activity, while carrot and broccoli excelled in specific phenolic compounds. The powders showed some antimicrobial activity, especially against Gram-positive bacteria. In conclusion, vegetable residues generated in the early stages of processing can be transformed into powdered products with valuable properties for use as functional ingredients in food.

**KEY WORDS:** vegetable waste; powdered ingredients; antioxidants; antimicrobial activity.

## 1. INTRODUCCIÓN

El desperdicio alimentario representa una preocupación global debido al consumo de recursos, la pérdida de nutrientes y la generación de residuos contaminantes. Este desperdicio tiene lugar en todas las etapas de la cadena alimentaria, desde la producción hasta el consumo final. Contribuye con alrededor del 10% de las emisiones globales de gases de efecto invernadero, principales responsables del cambio climático y de los fenómenos meteorológicos extremos que repercuten negativamente en la productividad agrícola, la calidad nutricional de los cultivos y la estabilidad de la cadena de suministro (FAO, 2022). En el ámbito de la economía circular, una alternativa para reducir el volumen de residuos orgánicos es utilizarlos como materia prima en los procesos de transformación con el fin de generar productos de valor añadido (Sánchez et al., 2023).

A nivel mundial, se desperdicia aproximadamente un tercio de los alimentos producidos, de los cuales el 45% corresponde a frutas y hortalizas (IFCO, 2023). Una cifra muy relevante si se considera que, en el caso de España, la producción de frutas y hortalizas superó los 25,3 millones de toneladas en 2022 (MAPA, 2022). La principal causa de la generación de estos residuos son los estrictos estándares de comercialización, que producen descartes de productos no conformes; sin embargo, los residuos hortofrutícolas son ricos en compuestos bioactivos tales como compuestos fenólicos, fibra dietética, ácidos orgánicos, minerales, y otros fitoquímicos (Sagar et al., 2018). Por ejemplo, los residuos de zanahoria contienen compuestos con actividad antioxidante como los carotenoides y compuestos fenólicos, además de fibra (Šeregelj et al., 2020). Otras especies como el brócoli y la col blanca, de la familia Brassicaceae, destacan por su alto contenido en glucosinolatos e isotiocianatos, con potencial anticancerígeno y antimicrobiano (Cartea & Velasco, 2008). Asimismo, las hojas del apio, comúnmente desechadas, contienen compuestos fenólicos, flavonoides y ftálicas (Motti et al., 2024). Las hojas de puerro también se han estudiado por su actividad antibacteriana, asociada a su contenido en compuestos organosulfurados, además de contener flavonoides y glucosinolatos (Lemma et al., 2022; Sanchez-Salvador et al., 2022).

Los compuestos fenólicos también presentan interés por su actividad antimicrobiana. Los flavonoides, especialmente las catequinas y proantocianidinas, han demostrado tener actividad antimicrobiana contra bacterias como *Vibrio cholerae* y *Staphylococcus aureus*, gracias a la inhibición de la ADN girasa y al galato de epigallocatequina, que inhibe el metabolismo energético (Panda & Duarte-Sierra, 2022). Los ácidos hidroxicinámicos, como el ácido cafeico, cumárico y ferúlico, han demostrado su efectividad contra *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus* (Panda & Duarte-Sierra, 2022). Otros metabolitos secundarios fenólicos, como las

furanocumarinas presentes en hortalizas como el apio y la zanahoria, han inhibido a *Escherichia coli* O157:H7 y *Listeria monocytogenes* (Panda & Duarte-Sierra, 2022).

Debido a los múltiples beneficios mencionados y al problema ambiental que originan los descartes y desechos orgánicos, es necesario desarrollar procesos para aprovechar estos residuos y generar productos con valor añadido para la cadena alimentaria. Sin embargo, una vez que estos desechos salen de los centros de procesado, su vida útil es muy corta debido a su alto contenido de agua libre, lo que los hace muy susceptibles al deterioro. Por ello, transformarlos en ingredientes en polvo es una opción interesante, ya que de este modo se incrementa su versatilidad y se preservan, o incluso se potencian, sus propiedades beneficiosas (Salehi, 2020), a la vez que se reduce su desperdicio. La operación de deshidratación es esencial para obtener productos en polvo, ya que reduce las reacciones de deterioro, aumentando la estabilidad y permitiendo su uso en la formulación de alimentos. Los productos en polvo obtenidos a partir de frutas u hortalizas podrían tener potencial para ser utilizados como conservantes, colorantes, saborizantes o para enriquecer el valor nutricional de los alimentos (Bas-Bellver et al., 2020). Ejemplos de su aplicación incluyen su uso como ingrediente en galletas (Salehi, 2020) o en muffins sin gluten (Bas-Bellver et al., 2024) para aumentar su valor nutricional, o como colorante en pastas (Sobota et al., 2020), como conservante en aceite de colza (Tundis et al., 2017), y su incorporación en películas comestibles de almidón como antioxidante (Rojas-Bravo et al., 2019).

La producción de polvos a partir de residuos alimentarios puede resultar compleja debido a la variabilidad y diferencias estructurales de los materiales, y factores como las condiciones de secado y molienda afectan a sus propiedades funcionales (Karam et al., 2016). Entre las técnicas de secado, la liofilización (LIO) y el secado con aire caliente (SAC) se utilizan con frecuencia para deshidratar frutas y hortalizas. La deshidratación mediante SAC es una técnica ampliamente empleada en la industria alimentaria debido a su bajo coste y facilidad de escalado, pero implica una exposición a altas temperaturas y oxígeno, lo que puede provocar la pérdida de compuestos bioactivos y alterar el color debido al pardeamiento no enzimático (Karam et al., 2016). En contraste, la LIO, aunque es más costosa, conserva mejor las propiedades del producto al operar en vacío y baja temperatura, ofreciendo una mejor rehidratación debido a su mayor porosidad, mínima pérdida de color y mejor conservación de los componentes bioactivos (Karam et al., 2016). El proceso de molienda reduce el tamaño de las partículas de materiales sólidos y puede realizarse tanto antes como después del secado. De hecho, existe una interdependencia entre estas dos operaciones, ya que la molienda facilita la evaporación del agua al reducir el área superficial, mientras que el secado mejora la

eficacia de la molienda posterior (Djantou et al., 2011). El tamaño de las partículas resultantes depende tanto de las condiciones de molienda como de la estructura del material deshidratado. Un tamaño de partícula más pequeño aumenta la superficie de contacto con el medio, facilitando la extracción de componentes bioactivos.

En estudios anteriores (Bas-Bellver et al., 2020; 2022; y 2023b) se ha evaluado el impacto del procesado sobre las propiedades fisicoquímicas, antioxidantes y tecnológicas de productos en polvo obtenidos a partir de residuos de hortalizas, así como su estabilidad durante el almacenamiento. El presente trabajo tiene como objetivo principal extender la caracterización de los productos en polvo, de modo que plantea analizar las propiedades antimicrobianas y antioxidantes, incluido el contenido en compuestos fenólicos específicos, de los polvos obtenidos a partir de los residuos de confección en cooperativa de col blanca, zanahoria, brócoli, apio y puerro, mediante secado por aire a 70 °C y liofilización. Este trabajo se alinea con varios Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS): el ODS 12, al impulsar la economía circular y prácticas de consumo responsable; y los ODS 2 y 3, al dirigir esfuerzos hacia la mejora de la salud y la seguridad alimentaria (ver ANEXO 2).

## **2. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **2.1. Materia prima**

Se emplearon residuos de cinco hortalizas: col blanca (*Brassica oleracea* var. *Capitata*), zanahoria (*Daucus carota*, L.) brócoli (*Brassica oleracea* var. *Itálica*), apio (*Apium graveolens*, L.) y puerro (*Allium ampeloprasum* var. *Porrum*). Todos los residuos fueron suministrados por la cooperativa Agrícola Villena Coop. V. (Alicante, España), a excepción del brócoli, que se adquirió en un supermercado local de la ciudad de Valencia (España). Los residuos de col blanca, ajo puerro y apio consistieron en las partes eliminadas en la confección de bandejas de hortalizas (hojas externas y tallos). Los residuos de zanahoria provinieron de los descartes de la línea de producción de zanahorias en palitos listos para consumir (IV gama). Por último, los residuos de brócoli consistieron en los tallos, los cuales fueron separados de las flores con ayuda de un cuchillo en el laboratorio.

### **2.2. Obtención de los polvos de las hortalizas**

El material vegetal fresco se lavó con una disolución acuosa de hipoclorito sódico al 1% (v/v), excepto los residuos de zanahoria, que ya venían lavados desde las instalaciones de la cooperativa. Una vez limpio, se trituró con un procesador de alimentos (Thermomix® TM6, Vorwerk, Madrid, España) a 5.000 rpm durante 5 s (Bas-Bellver et al., 2020). Posteriormente, se procedió a la deshidratación de los

residuos mediante secado con aire caliente (SAC) y liofilización (LIO). Para el SAC, se empleó un secador de bandejas convectivo (Pol-eko Aparatura, Katowice, Polonia) con una velocidad de aire de 2 m/s y una temperatura de 70 °C hasta alcanzar una actividad del agua ( $a_w$ ) inferior a 0,3. Los residuos troceados se distribuyeron en láminas de 1 cm de espesor en bandejas perforadas, con una carga de 200 g por bandeja. El tiempo requerido para alcanzar una  $a_w$  inferior a 0,3 se estableció según estudios previos (Bas-Bellver et al., 2020; 2022; y 2023b), resultando en un tiempo de secado de 12 h para todos los residuos, excepto para el brócoli, que requirió 8 h. Para la LIO, los residuos troceados se distribuyeron en bandejas de aluminio formando una capa de aproximadamente 1 cm de espesor y se congelaron a -40 °C durante 24 h (congelador CVN-40/105, Matek, Barcelona, España). Posteriormente, se introdujeron en un liofilizador de planta piloto (LyoAlfa 6-80, Telstar, Terrasa, España) donde permanecieron a una temperatura del condensador de -45 °C y una presión de 0,1 mbar durante 48 h. El residuo seco se molió con un procesador de alimentos (Thermomix® TM6, Vorwerk, Madrid, España) en dos intervalos de 30 s a una velocidad de 10.000 rpm, hasta alcanzar una consistencia de polvo fino.

Como resultado se obtuvieron un total de 10 productos en polvo, los cuales fueron almacenados en frascos de vidrio con cierre hermético y envueltos en papel de aluminio hasta su análisis, con el fin de minimizar la degradación por exposición al aire y a la luz. En adelante, los productos se identificarán según la hortaliza que da origen al residuo: apio (A), brócoli (B), col blanca (C), puerro (P) y zanahoria (Z), seguido del método de secado: secado por aire caliente (SAC) y liofilización (LIO).

## 2.3. Determinaciones analíticas

### 2.3.1. *Propiedades fisicoquímicas*

El **contenido en agua** ( $x_w$ ) se determinó según el método oficial 934.06 de la AOAC (2000) para frutas deshidratadas, que consiste en calcular la variación de peso que experimenta una cantidad conocida de muestra tras su secado en estufa a vacío (Vaciotem-T - J.P. Selecta, Barcelona, España) a una presión de 100 mm Hg y 60 °C, hasta alcanzar peso constante. La **actividad del agua** ( $a_w$ ) se midió con un higrómetro de punto de rocío (AquaLAB 4TE, Decagondevices Inc., Pullman WA, USA) a temperatura ambiente (25 °C) y con una precisión de  $\pm 0,003$ . Los **sólidos solubles totales** ( $x_{ss}$ ) se calcularon a partir de la humedad y de la lectura de los grados Brix, obtenida con un refractómetro termostatado a 20 °C (Abbe Atago 3-T, Japón) (ISO 1743:1982). Esta lectura se realizó sobre el extracto acuoso resultante de mezclar el polvo con agua destilada en una relación 1:10 (m/v). La distribución del **tamaño de partícula** se determinó mediante un equipo de difracción láser Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Limited, Reino Unido) por vía húmeda y vía

seca. Para la vía seca, se acopló una unidad Sirocco 2000 con aire a 2,5 bar y al 60% de velocidad como dispersante. Para la vía húmeda, se utilizó una unidad Hydro 2000, con agua desionizada como dispersante, con un índice de absorción de 0,1 y valores de índice de refracción de 1,52 para la muestra y 1,33 para la fase dispersa. A partir de las curvas de distribución del tamaño de partícula se obtuvieron el diámetro medio de la esfera con un volumen equivalente  $D [4,3]$  y el diámetro medio de la esfera con un área superficial equivalente  $D [3,2]$ , y los percentiles de la distribución  $d_{10}$ ,  $d_{50}$  y  $d_{90}$ , que representan los diámetros por debajo de los cuales se encuentran el 10%, 50% y 90% de las partículas, respectivamente.

### **2.3.2. Propiedades antioxidantes**

Se determinaron el contenido en fenoles y flavonoides totales, la actividad antioxidante por los métodos de los radicales DPPH y ABTS, y se identificaron los compuestos fenólicos específicos mediante HPLC. Para ello, se obtuvieron extractos de los polvos utilizando una relación de extracción 0,5:10 (m/v) con metanol al 80% (v/v) en agua bidestilada. Las mezclas se agitaron en un agitador horizontal (COMECTA WY-100) durante 1 h y se centrifugaron en una centrifuga (5804R, Eppendorf) durante 5 min a 10.000 rpm, recuperándose los sobrenadantes. Cuando fue necesario, se realizaron diluciones de los extractos para su análisis mediante espectrofotometría. Para las determinaciones por HPLC, se utilizó una relación 1:10 (m/v) con metanol de alta pureza al 80% (v/v) en agua bidestilada. Los sobrenadantes se filtraron con filtros de jeringa Whatman de 0,45  $\mu\text{m}$  y se almacenaron en viales ámbar a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis.

El contenido en **fenoles totales** se determinó según el método de Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999) que mide la intensidad de color producida al reaccionar los compuestos fenólicos presentes en la muestra con el citado reactivo. Para ello, se mezclaron 0,125 mL de extracto con 0,5 mL de agua bidestilada y 0,125 mL del reactivo Folin-Ciocalteu. Se dejó reaccionar 7 min en oscuridad y se añadieron 1,25 mL de carbonato sódico al 7% y 1 mL de agua bidestilada. Tras 90 min en oscuridad, se midió la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro Cary 60 UV/Vis (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA) y se comparó con una curva estándar de ácido gálico (pureza  $\geq 98\%$ ; Sigma-Aldrich). Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por g de materia seca. El contenido en **flavonoides totales** se determinó mediante el método colorimétrico del cloruro de aluminio (Luximon-Ramma et al., 2002). Para tal fin, se mezclaron 1,5 mL del extracto preparado con 1,5 mL de una disolución de cloruro de aluminio al 2% (m/v) en metanol y se agitó la mezcla. Tras 10 min en oscuridad, se leyó la absorbancia a 368 nm en un espectrofotómetro Cary 60 UV/Vis (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA) y se comparó con una curva estándar



de quercetina (pureza  $\geq 95\%$ ; Sigma-Aldrich). Los resultados se expresaron en mg equivalentes de quercetina (EQ) por g de materia seca.

La **actividad antioxidante** se evaluó mediante los métodos ABTS y DPPH. El primero, que evalúa la capacidad de los antioxidantes presentes en los extractos para neutralizar el radical ABTS<sup>+</sup> (ácido 2,20-azobis-3-etil benzotiazolina-6-sulfónico), se llevó a cabo según lo descrito por Re et al. (1999). Para liberar el radical ABTS<sup>+</sup>, se preparó una disolución de ABTS 7 mM con persulfato potásico 2,45 mM y se dejó a temperatura ambiente y en oscuridad durante 16 h. Se mezclaron 2,9 mL de la disolución de ABTS<sup>+</sup> (previamente diluida en tampón fosfato a pH 7,4 hasta alcanzar una absorbancia de  $0,70 \pm 0,02$  a 734 nm) con 0,1 mL del extracto. Se dejó actuar 7 min en oscuridad y se leyó la absorbancia a 734 nm en un espectrofotómetro Cary 60 UV/Vis (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA). La absorbancia se comparó con una curva estándar de trolox (pureza  $\geq 97\%$ ; Sigma-Aldrich) y los resultados se expresaron como mg equivalentes de trolox (ET) por g de materia seca. Para evaluar la capacidad de los compuestos antioxidantes de reducir el radical DPPH (2,2-difenil-2-picrilhidrazilo) se aplicó el método propuesto por Brand-Williams et al. (1995). Se mezclaron 0,1 mL del extracto con 2 mL de una disolución 0,01 mM de DPPH y 0,9 mL de metanol, se dejó reaccionar 60 min en ausencia de luz y se midió la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro Cary 60 UV/Vis (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA). Los resultados se expresaron en mg ET por g de materia seca, tras comparar la absorbancia con una recta estándar de este compuesto de referencia (pureza  $\geq 97\%$ , Sigma-Aldrich).

Los **compuestos fenólicos** específicos de los extractos fueron identificados y cuantificados mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) mediante un cromatógrafo Agilent 1200 Series Rapid Resolution acoplado a un detector de matriz de diodos Agilent 1260 Infinity II (Agilent, Palo Alto, CA). La separación tuvo lugar en una columna Kinetex (250 x 4,6 mm I.D., 5  $\mu$ m; Phenomenex; Torrance, CA, USA) a una temperatura de 31 °C, un volumen de inyección de 10  $\mu$ L y un caudal de 0,5 mL/min. Como fase móvil se utilizó ácido fórmico al 0,1% (v/v) en agua (A), y acetonitrilo (B), empleando el gradiente 90-85% A (v/v), 0-3 min; 85-60% A (v/v), 3-24 min; 60-34% A (v/v), 24-27 min; 34-50% A (v/v), 27 min; 50-30% A (v/v), 27-33 min; 30-10% A (v/v), 33-40 min; 10-90% A (v/v), 40-45 min. Los datos espectrales de cada compuesto se registraron en el intervalo de 190 a 500 nm, y la lectura de los cromatogramas se realizó a 280 nm. La adquisición y el procesado de datos analíticos se llevó a cabo utilizando el software Agilent MassHunter Workstation (versión B.09.00). Los compuestos fenólicos se identificaron mediante la comparación de los tiempos de retención y los espectros UV-VIS con los de los

estándares puros. Para la cuantificación de estos compuestos, se emplearon curvas patrón obtenidas para los diferentes estándares de referencia de calidad HPLC.

### **2.3.3. Actividad antimicrobiana in vitro**

Se evaluó el potencial antimicrobiano de los productos sobre dos bacterias Gram negativas (*Salmonella entérica* NCTC 11881 y *Escherichia coli* NCIMB 9484) y dos bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538P y *Listeria innocua* NCTC 12210). Para ello, se obtuvieron extractos en relación 1:10 (m/v) con metanol de elevada pureza al 80% (v/v) en agua bidestilada. Los sobrenadantes se filtraron con filtros de jeringa Whatman de 0,45  $\mu\text{m}$  y se almacenaron en viales ámbar a -20 °C hasta su posterior análisis. Cada cepa bacteriana de colección proveniente de criovial se cultivó en Agar Plate Count a 37 °C durante 24-48 h. A partir de cada cultivo puro, se tomaron varias colonias con un asa de siembra y se transfirieron a un tubo con 10 mL de caldo común, hasta alcanzar una turbidez de 0,5 de la escala McFarland, equivalente a una concentración de  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL.

La actividad antimicrobiana se evaluó mediante la técnica del antibiograma disco-placa, basado en la norma CLSI. Se extendieron 100  $\mu\text{L}$  de todas las cepas en agar Mueller-Hinton con ayuda de un asa estéril, se dejó secar unos minutos y se depositaron los discos impregnados con 20  $\mu\text{L}$  de los extractos. Las placas se mantuvieron a temperatura ambiente durante 30 min para permitir la difusión y se incubaron invertidas durante 24 h a 37 °C. Transcurrido ese tiempo, se midió el halo de inhibición (mm) con una regla. Se tomaron tres medidas desde tres direcciones distintas para calcular el diámetro promedio. Los ensayos de concentración mínima inhibitoria (CMI) se llevaron a cabo mediante el ensayo de microdilución, empleando placas de 96 pocillos. 4 mL del extracto metanólico se rotaevaporaron hasta sequedad para eliminar el disolvente, y el residuo se resuspendió en 2 mL de agua estéril, de modo que cada nuevo extracto contenía los compuestos extraídos a partir de 0.2 g de polvo. El ensayo consistió en preparar disoluciones stock de cada extracto en caldo Mueller-Hinton, con una concentración inicial equivalente a los compuestos contenidos en 0,1 g de polvo/mL. Se añadieron 100  $\mu\text{L}$  de esta disolución en el primer pocillo de cada fila, y se procedió a realizar diluciones seriadas en caldo Mueller-Hinton de tal forma que cada pocillo contuviera la mitad de concentración de extracto que el pocillo anterior. Finalmente, se añadieron 50  $\mu\text{L}$  de inóculo ( $10^4$  UFC/mL) a cada pocillo. Como resultado, las concentraciones de los extractos se analizaron en el intervalo entre 50 mg de polvo/mL (primer pocillo de cada serie) hasta 6,25 mg de polvo/mL (último pocillo). Se reservaron dos pocillos en cada fila como controles positivo y negativo. La absorbancia se midió a 620 y 492 nm mediante un lector de placas (HALO MPR-96 Visible Microplate Reader,

Dynamica GmbH, UK), antes y después de incubar las placas a 37 °C durante 24 h, con el fin de obtener la variación en la absorbancia. La CMI se establece como la concentración más baja donde no se observa turbidez del caldo de cultivo.

## **2.4. Análisis estadístico**

Las determinaciones analíticas se realizaron al menos por duplicado. Los resultados fueron sometidos a análisis estadístico utilizando el software Statgraphics Centurion (versión Centurion XVIII, StatPoint Technologies, Inc.). Se realizaron análisis de varianza (ANOVAs simple y multifactorial) para determinar la significancia estadística de los resultados con un nivel de confianza del 95% (valor  $p < 0,05$ ) empleando el método LSD de Fisher. Del mismo modo, se obtuvo la matriz de correlaciones de Pearson para las variables de interés.

## **3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **3.1. Propiedades fisicoquímicas**

En la tabla 1 se muestran los resultados de actividad del agua ( $a_w$ ), humedad (%) y la fracción másica de sólidos solubles ( $x_{ss}$ ) de los polvos obtenidos. La actividad del agua ( $a_w$ ) refleja la disponibilidad del agua para participar en reacciones que causan el deterioro de los alimentos. Valores de  $a_w$  entre 0,1 y 0,3 indican una mayor estabilidad en un producto (Sablani et al., 2007). Por lo tanto, los resultados de  $a_w$  evidencian que los dos métodos de secado empleados permitieron obtener polvos estables. En cuanto a la humedad, se observa variabilidad según el tipo de secado empleado, lo cual fue confirmado por el análisis ANOVA multifactorial que mostró diferencias significativas para el factor método de secado ( $p$ -valor  $< 0,05$ ). Se observa que, a excepción del apio y el puerro, los polvos LIO presentaron un mayor contenido de humedad que los polvos SAC. En el caso de los polvos de zanahoria, el mayor contenido en agua se traduce también en valores más elevados de la  $a_w$ . En el caso de la col y el brócoli, pese a presentar valores similares de  $a_w$  ( $p$ -valor  $\geq 0,05$ ), los polvos LIO presentaron un mayor contenido en humedad que los polvos SAC. Esto podría indicar una mayor dificultad para extraer el agua por LIO frente a SAC debido a la estructura particular de la hortaliza tras la congelación, o bien una mayor higroscopicidad de las muestras LIO frente a SAC debido a las características físicas del producto liofilizado. Este efecto no se observó en el apio y el puerro, donde los polvos SAC presentaron valores de  $a_w$  y humedad más elevados a los de los polvos LIO, coincidiendo con trabajos previos con residuos de estas mismas hortalizas (Bas-Bellver et al., 2023b; Ordoñez-Araque & Narváez-Aldáz, 2019).

**TABLA 1.** Actividad del agua ( $a_w$ ), humedad (g agua/100 g) y fracción másica de sólidos solubles ( $x_{ss}$  en g ss/g) de los polvos obtenidos a partir de los residuos de zanahoria (Z), col blanca (C), apio (A), puerro (P) y brócoli (B) mediante secado por aire caliente (SAC) y liofilización (LIO). Media  $\pm$  desviación estándar de tres réplicas.

POLVO	$a_w$	Humedad (%)	$x_{ss}$ (gss/g)
Z_SAC	0,231 $\pm$ 0,003 <sup>c</sup>	3,4 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	0,794 $\pm$ 0,013 <sup>h</sup>
Z_LIO	0,310 $\pm$ 0,003 <sup>e</sup>	7,6 $\pm$ 0,3 <sup>f</sup>	0,716 $\pm$ 0,007 <sup>fg</sup>
C_SAC	0,265 $\pm$ 0,019 <sup>d</sup>	4,64 $\pm$ 0,09 <sup>bc</sup>	0,691 $\pm$ 0,007 <sup>ef</sup>
C_LIO	0,263 $\pm$ 0,006 <sup>d</sup>	6,11 $\pm$ 0,04 <sup>e</sup>	0,665 $\pm$ 0,011 <sup>de</sup>
A_SAC	0,264 $\pm$ 0,003 <sup>d</sup>	5,8 $\pm$ 0,4 <sup>de</sup>	0,59 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>
A_LIO	0,172 $\pm$ 0,008 <sup>b</sup>	4,9 $\pm$ 0,4 <sup>c</sup>	0,668 $\pm$ 0,007 <sup>de</sup>
P_SAC	0,224 $\pm$ 0,009 <sup>c</sup>	6,1 $\pm$ 0,3 <sup>e</sup>	0,623 $\pm$ 0,017 <sup>bc</sup>
P_LIO	0,13 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	5,3 $\pm$ 0,5 <sup>cd</sup>	0,525 $\pm$ 0,006 <sup>a</sup>
B_SAC	0,192 $\pm$ 0,009 <sup>b</sup>	4,05 $\pm$ 0,13 <sup>ab</sup>	0,637 $\pm$ 0,007 <sup>cd</sup>
B_LIO	0,19 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	7,6 $\pm$ 1,0 <sup>f</sup>	0,73 $\pm$ 0,03 <sup>g</sup>

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

El contenido en sólidos solubles ( $x_{ss}$ ) es uno de los principales indicadores de calidad en frutas y hortalizas (Martínez et al., 2010). Su control en los ingredientes en polvo puede proporcionar información sobre el estado de la materia prima. Los valores obtenidos en este estudio se encuentran en el mismo rango que los reportados para las hortalizas frescas (Ordoñez-Araque & Narváez-Aldáz, 2019; Martínez et al., 2010; Bender et al., 2015), lo que sugiere que la materia prima presenta características similares al producto comercializable, y que el contenido en sólidos solubles no habría sufrido cambios relevantes durante el procesado. Si bien el análisis ANOVA multifactorial no mostró diferencias estadísticamente significativas para el factor deshidratación, sí lo hizo para el factor tipo de hortaliza y la interacción entre ambos factores (p-valor < 0,05). Así pues, para determinadas hortalizas el tipo de deshidratación sí tuvo un efecto significativo sobre los sólidos solubles.

La evaluación del tamaño de partícula (Tabla 2) permite explorar la aplicabilidad de los polvos en la formulación de alimentos líquidos, como refrescos o zumos, donde los resultados del análisis por vía húmeda son particularmente relevantes, y en alimentos sólidos, donde el análisis por vía seca es más adecuado. Por otro lado, el tamaño de partícula también determina las propiedades funcionales de los productos en polvo, incluida la liberación de compuestos bioactivos a partir de éstos (Bas-Bellver et al., 2023a; 2023b).

Los resultados mostraron variabilidad según el tipo de hortaliza y el método de secado, tanto por vía húmeda como por vía seca, lo cual fue confirmado por el ANOVA multifactorial. Esto sugiere que la eficacia de la molienda y las características del producto resultante dependen de la naturaleza y de las propiedades del material, tales como su humedad y estructura, que determinan cómo responde a las fuerzas aplicadas durante esta etapa (Karam et al., 2016). En todas las hortalizas se observa una reducción del tamaño de partícula de los polvos obtenidos mediante LIO, por

ambas vías. Aunque un menor contenido de humedad suele mejorar la capacidad de molienda (Karam et al., 2016; Djanou et al., 2011), en este caso no se observó dicha tendencia, dado que los polvos LIO presentaban, en general, una mayor humedad (Tabla 1). Estos resultados podrían deberse a la estructura porosa característica de los productos liofilizados, que incrementa la fragilidad del material, facilitando la obtención de un polvo más fino. Este mismo efecto fue observado por Fante & Noreña (2015) en ajo liofilizado frente al secado por aire caliente.

**TABLA 2.** Parámetros característicos del tamaño de partícula obtenidos por vía húmeda y seca (diámetro de volumen equivalente (D [4,3]), diámetro medio del área de superficie (D [3,2]) y los percentiles  $d_{10}$ ,  $d_{50}$  y  $d_{90}$ ) de los polvos obtenidos a partir de los residuos de zanahoria (Z), col blanca (C), apio (A), puerro (P) y brócoli (B) mediante secado por aire caliente (SAC) y liofilización (LIO). Media  $\pm$  desviación estándar de cinco réplicas para vía seca y diez para vía húmeda.

VÍA SECA					
POLVO	D [4,3]	D [3,2]	$d_{10}$	$d_{50}$	$d_{90}$
Z_SAC	242 $\pm$ 6 <sup>de</sup>	41,7 $\pm$ 0,9 <sup>c</sup>	15,0 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	209 $\pm$ 4 <sup>f</sup>	543 $\pm$ 23 <sup>e</sup>
Z_LIO	224 $\pm$ 16 <sup>c</sup>	58,0 $\pm$ 1,2 <sup>d</sup>	23,9 $\pm$ 0,7 <sup>d</sup>	170 $\pm$ 4 <sup>d</sup>	481 $\pm$ 24 <sup>cd</sup>
C_SAC	230 $\pm$ 4 <sup>cd</sup>	68,7 $\pm$ 0,4 <sup>f</sup>	30,3 $\pm$ 0,3 <sup>f</sup>	206 $\pm$ 3 <sup>f</sup>	468 $\pm$ 14 <sup>c</sup>
C_LIO	179 $\pm$ 10 <sup>b</sup>	32,6 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	13,62 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup>	114 $\pm$ 2 <sup>a</sup>	419 $\pm$ 23 <sup>b</sup>
A_SAC	493 $\pm$ 12 <sup>h</sup>	132,8 $\pm$ 1,6 <sup>i</sup>	65,0 $\pm$ 1,5 <sup>i</sup>	410 $\pm$ 8 <sup>h</sup>	1.054 $\pm$ 48 <sup>h</sup>
A_LIO	280 $\pm$ 14 <sup>f</sup>	62,8 $\pm$ 1,6 <sup>e</sup>	27,59 $\pm$ 0,13 <sup>e</sup>	184 $\pm$ 15 <sup>e</sup>	652 $\pm$ 39 <sup>f</sup>
P_SAC	253 $\pm$ 14 <sup>e</sup>	77,9 $\pm$ 1,0 <sup>g</sup>	40,8 $\pm$ 0,5 <sup>g</sup>	211 $\pm$ 7 <sup>f</sup>	513 $\pm$ 29 <sup>de</sup>
P_LIO	165 $\pm$ 4 <sup>a</sup>	37,51 $\pm$ 0,11 <sup>b</sup>	16,29 $\pm$ 0,09 <sup>c</sup>	129,9 $\pm$ 0,9 <sup>b</sup>	360 $\pm$ 3 <sup>a</sup>
B_SAC	424 $\pm$ 8 <sup>g</sup>	95 $\pm$ 2 <sup>h</sup>	56,7 $\pm$ 1,4 <sup>h</sup>	350 $\pm$ 6 <sup>g</sup>	881 $\pm$ 22 <sup>g</sup>
B_LIO	229 $\pm$ 9 <sup>cd</sup>	41,63 $\pm$ 1,12 <sup>c</sup>	16,8 $\pm$ 0,3 <sup>c</sup>	157 $\pm$ 4 <sup>c</sup>	535 $\pm$ 18 <sup>e</sup>
VÍA HÚMEDA					
POLVO	D [4,3]	D [3,2]	$d_{10}$	$d_{50}$	$d_{90}$
Z_SAC	346 $\pm$ 32 <sup>d</sup>	59 $\pm$ 4 <sup>a</sup>	22,9 $\pm$ 1,7 <sup>a</sup>	293 $\pm$ 19 <sup>d</sup>	753 $\pm$ 79 <sup>d</sup>
Z_LIO	234 $\pm$ 4 <sup>b</sup>	65,5 $\pm$ 0,6 <sup>b</sup>	32,3 $\pm$ 0,5 <sup>d</sup>	197 $\pm$ 4 <sup>b</sup>	496 $\pm$ 10 <sup>a</sup>
C_SAC	335 $\pm$ 4 <sup>d</sup>	88,9 $\pm$ 0,9 <sup>d</sup>	51,4 $\pm$ 0,9 <sup>f</sup>	308 $\pm$ 3 <sup>de</sup>	658 $\pm$ 11 <sup>c</sup>
C_LIO	212 $\pm$ 3 <sup>a</sup>	56,9 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	27,8 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	175 $\pm$ 3 <sup>a</sup>	455 $\pm$ 6 <sup>a</sup>
A_SAC	637 $\pm$ 39 <sup>h</sup>	169 $\pm$ 4 <sup>h</sup>	107 $\pm$ 7 <sup>h</sup>	573 $\pm$ 41 <sup>h</sup>	1244 $\pm$ 75 <sup>f</sup>
A_LIO	380 $\pm$ 21 <sup>e</sup>	112 $\pm$ 3 <sup>f</sup>	60 $\pm$ 2 <sup>g</sup>	318 $\pm$ 12 <sup>e</sup>	784 $\pm$ 50 <sup>d</sup>
P_SAC	405 $\pm$ 32 <sup>f</sup>	97 $\pm$ 4 <sup>e</sup>	59 $\pm$ 3 <sup>g</sup>	341 $\pm$ 16 <sup>f</sup>	843 $\pm$ 86 <sup>e</sup>
P_LIO	233 $\pm$ 9 <sup>b</sup>	64,59 $\pm$ 1,07 <sup>b</sup>	30,8 $\pm$ 0,7 <sup>c</sup>	191 $\pm$ 7 <sup>b</sup>	500 $\pm$ 21 <sup>a</sup>
B_SAC	603 $\pm$ 17 <sup>g</sup>	152 $\pm$ 7 <sup>g</sup>	110 $\pm$ 4 <sup>i</sup>	521 $\pm$ 17 <sup>g</sup>	1228 $\pm$ 19 <sup>f</sup>
B_LIO	276 $\pm$ 16 <sup>c</sup>	77,5 $\pm$ 1,0 <sup>c</sup>	44,6 $\pm$ 1,0 <sup>e</sup>	220 $\pm$ 5 <sup>c</sup>	586 $\pm$ 43 <sup>b</sup>

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

En todas las hortalizas se observa un aumento del tamaño de partícula en la prueba realizada por vía húmeda, tanto en los polvos LIO como en los SAC. Este efecto podría atribuirse a que las partículas de polvo más pequeñas se habrían disuelto al dispersarse en agua, mientras que las de mayor tamaño contribuirían de manera más notable al diámetro equivalente promedio, así como a la posible formación de agregados en medio líquido (Bas-Bellver et al., 2023b). Las curvas de distribución del tamaño de partícula se muestran en la Figura 1 del Anexo 1. En general, las distribuciones obtenidas por vía seca resultaron más heterogéneas (mayor *span*), e incluso se observan funciones bimodales en algunos casos,

indicando la presencia de dos grupos predominantes de tamaños de partícula promedio. Por vía húmeda, el *span* disminuye y las curvas se desplazan hacia tamaños de partícula más grandes, debido a la solubilización de las partículas de menor tamaño.

### 3.2. Propiedades antioxidantes

El contenido en fenoles y flavonoides totales, y la actividad antioxidante medida por los métodos DPPH y ABTS de los polvos se presentan en la Tabla 3.

**TABLA 3.** Propiedades antioxidantes (fenoles totales en mg EAG/g<sub>ms</sub>, flavonoides totales en mg EQ/g<sub>ms</sub> y actividad antioxidante por los métodos de los radicales DPPH y ABTS en mg ET/g<sub>ms</sub>) de los polvos obtenidos a partir de los residuos de zanahoria (Z), col blanca (C), apio (A), puerro (P) y brócoli (B) mediante secado por aire caliente (SAC) y liofilización (LIO). Media ± desviación estándar de seis réplicas.

POLVO	Fenoles totales (mg EAG/g <sub>ms</sub> )	Flavonoides (mg EQ/g <sub>ms</sub> )	DPPH (mg ET/g <sub>ms</sub> )	ABTS (mg ET/g <sub>ms</sub> )
Z_SAC	7,6 ± 0,4 <sup>e</sup>	11,3 ± 0,5 <sup>e</sup>	6,2 ± 0,7 <sup>e</sup>	6,4 ± 0,7 <sup>d</sup>
Z_LIO	3,3 ± 0,3 <sup>b</sup>	6,7 ± 0,2 <sup>c</sup>	2,96 ± 0,10 <sup>c</sup>	0,49 ± 0,07 <sup>a</sup>
C_SAC	8,8 ± 0,3 <sup>f</sup>	10,3 ± 0,8 <sup>d</sup>	3,6 ± 0,5 <sup>d</sup>	8,4 ± 0,5 <sup>e</sup>
C_LIO	5,8 ± 0,2 <sup>d</sup>	17,6 ± 0,6 <sup>h</sup>	3,3 ± 0,2 <sup>d</sup>	3,6 ± 0,2 <sup>c</sup>
A_SAC	1,30 ± 0,08 <sup>a</sup>	2,5 ± 0,2 <sup>a</sup>	0,57 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,96 ± 0,12 <sup>b</sup>
A_LIO	1,05 ± 0,12 <sup>a</sup>	3,2 ± 0,6 <sup>b</sup>	0,68 ± 0,08 <sup>a</sup>	0,85 ± 0,10 <sup>a</sup>
P_SAC	12,1 ± 0,6 <sup>g</sup>	19,88 ± 1,03 <sup>i</sup>	5,5 ± 0,5 <sup>e</sup>	7 ± 2 <sup>d</sup>
P_LIO	4,5 ± 0,3 <sup>c</sup>	14,7 ± 0,3 <sup>f</sup>	2,24 ± 0,17 <sup>b</sup>	3,09 ± 0,12 <sup>c</sup>
B_SAC	13,1 ± 1,0 <sup>h</sup>	15,4 ± 0,8 <sup>g</sup>	7,0 ± 0,3 <sup>f</sup>	5,9 ± 1,3 <sup>d</sup>
B_LIO	13,6 ± 1,0 <sup>h</sup>	16,0 ± 0,8 <sup>g</sup>	7,0 ± 0,5 <sup>f</sup>	1,2 ± 0,3 <sup>ab</sup>

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

El análisis ANOVA multifactorial mostró que el efecto del método de secado sobre el contenido de fenoles y flavonoides varía según el tipo de hortaliza. En general, la deshidratación mediante LIO da lugar a un menor contenido en estos compuestos, especialmente en el puerro y la zanahoria. Esto podría deberse a que la temperatura aplicada durante la deshidratación mediante SAC favorece determinadas reacciones, como las reacciones de Maillard, en las que se forman compuestos con actividad antioxidante capaces de reaccionar con el reactivo Folin-Ciocalteu (Bas-Bellver et al., 2023a). Otro estudio (Lai et al., 2022), también observó una disminución del contenido fenólico en las cáscaras de naranja deshidratadas mediante liofilización, sugiriendo la existencia de los fenoles en dos formas: libre y ligada, y que la forma ligada se libera mediante el tratamiento térmico experimentado en el SAC. Las mayores temperaturas empleadas durante el SAC también limitan la acción de enzimas pro-oxidantes. Lai et al (2022) sugirieron que la acción de la polifenol-oxidasa podría haberse visto reducida por el secado a 70 °C. Este efecto

también se observó para la polifenol-oxidasa del arándano (Siddiq & Dolan, 2017), que disminuyó su actividad a partir de los 60 °C. En algunos casos, como el de la col, el contenido en flavonoides es mayor en los polvos LIO. Una posible explicación es que el menor tamaño de partícula logrado en los polvos LIO (Tabla 2) da lugar a una mayor área superficial, lo que favorece la extracción de este tipo de compuestos. Además, las condiciones de la LIO, como la baja temperatura y ausencia de oxígeno, minimizan las reacciones de degradación de los compuestos originalmente presentes en la materia prima (Karam et al., 2016).

En cuanto a las actividades antioxidantes determinadas por los métodos DPPH y ABTS, los residuos de brócoli, puerro y col presentaron nuevamente los valores más altos, mientras que los del apio mostraron los más bajos. La capacidad antioxidante medida por el método DPPH fue comparable a la reportada para polvos similares (Bas-Bellver et al., 2020); en cambio, en cambio, el método ABTS mostró valores significativamente inferiores en comparación con dicho estudio. El tipo de secado tuvo un impacto estadísticamente significativo, por ambos métodos ( $p$ -valor > 0,05). En general, la deshidratación mediante SAC resultó en polvos con mayor capacidad antioxidante en comparación con la deshidratación mediante LIO. Esto podría explicarse por la formación de compuestos antioxidantes, como los productos de la reacción de Maillard u otras reacciones bioquímicas favorecidas por altas temperaturas (Bas-Bellver et al., 2023a), tales como la isomerización a formas más reactivas (Honda, 2023). La liberación de fenoles de su forma ligada a libre por el calor y la inhibición de la polifenol-oxidasa a altas temperaturas también podrían explicar este efecto. Bas-Bellver et al. (2023b) también observaron una mayor capacidad antioxidante en polvos de residuos de zanahoria, col, puerro y apio deshidratados mediante SAC en comparación con los LIO.

La Tabla 4 presenta la concentración (mg/100 g ms) de los compuestos fenólicos identificados en los polvos de los residuos de las distintas hortalizas mediante HPLC. Dado que se identificaron una gran variedad de compuestos fenólicos, se presentan agrupados en ácidos hidroxicinámicos (HA), ácidos hidroxibenzoicos (HB) y flavonoides (FL), así como el total de compuestos fenólicos para cada hortaliza.

El contenido total de HA, FL y HB presentó variabilidad según el tipo de hortaliza y el método de secado, como confirmó el análisis ANOVA multifactorial, que mostró diferencias significativas para ambos factores. Entre los HA, se identificaron los ácidos cafeico, p-cumárico, sinápico y ferúlico en todas las hortalizas, mientras que el 4-O-cafeoilquínico estuvo presente en todas excepto en el puerro, y el ácido trans-cinámico sólo en apio y brócoli. El puerro destacó por su alto contenido en ácido sinápico y ferúlico. Biernacka et al. (2021) también encontraron estos dos ácidos como predominantes en el puerro fresco y deshidratado, con valores superiores a

los obtenidos en este estudio. Los polvos de col LIO también mostraron un alto contenido en este grupo debido al 4-O-cafeoilquinico. Este ácido también fue identificado por Li et al. (2018) en polvo liofilizado de col, pero en una concentración considerablemente inferior (25 µg/g ms).

**TABLA 4.** Compuestos fenólicos específicos individuales identificados y cuantificados por HPLC (mg/100g<sub>ms</sub>), agrupados en ácidos hidroxicinámicos (HA), ácidos hidroxibenzoicos (HB) y flavonoides (FL) y el total de los compuestos fenólicos específicos para cada hortaliza. Polvos de los residuos de zanahoria (Z), col blanca (C), apio (A), puerro (P) y brócoli (B) obtenidos mediante secado por aire caliente (SAC) y liofilización (LIO). Media ± desviación estándar de tres réplicas.

ÁCIDOS HIDROXICINÁMICOS (HA)							
POLVO	4-O-cafeoilquinico	Ácido cafeico	Ácido p-cumárico	Ácido sinápico	Ácido ferúlico	Ácido trans-cinámico	TOTAL HA
Z_SAC	0,967 ± 0,013 <sup>c</sup>	0,49 ± 0,08 <sup>a</sup>	0,58 ± 0,18 <sup>bc</sup>	0,8 ± 0,2 <sup>ab</sup>	1,60 ± 0,16 <sup>b</sup>	-	4,6 ± 0,3 <sup>ab</sup>
Z_LIO	2,01 ± 0,02 <sup>a</sup>	5,7 ± 0,9 <sup>a</sup>	0,397 ± 0,008 <sup>a</sup>	0,93 ± 0,18 <sup>ab</sup>	1,01 ± 0,03 <sup>a</sup>	-	10,1 ± 0,7 <sup>d</sup>
C_SAC	-	0,72 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,41 ± 0,08 <sup>d</sup>	1,0 ± 0,2 <sup>ab</sup>	1,06 ± 0,13 <sup>a</sup>	-	4,20 ± 0,03 <sup>ab</sup>
C_LIO	12,64 ± 0,10 <sup>f</sup>	1,41 ± 0,15 <sup>bc</sup>	0,62 ± 0,05 <sup>c</sup>	0,77 ± 0,06 <sup>ab</sup>	0,925 ± 0,012 <sup>a</sup>	-	16,27 ± 0,08 <sup>b</sup>
A_SAC	0,716 ± 0,010 <sup>b</sup>	0,437 ± 0,013 <sup>a</sup>	0,557 ± 0,005 <sup>abc</sup>	0,72 ± 0,05 <sup>ab</sup>	0,787 ± 0,014 <sup>a</sup>	0,37 ± 0,03 <sup>a</sup>	3,61 ± 0,04 <sup>a</sup>
A_LIO	1,60 ± 0,04 <sup>d</sup>	0,95 ± 0,10 <sup>ab</sup>	0,424 ± 0,013 <sup>ab</sup>	0,59 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,90 ± 0,08 <sup>a</sup>	-	4,46 ± 0,10 <sup>ab</sup>
P_SAC	-	0,68 ± 0,14 <sup>a</sup>	3,3 ± 0,2 <sup>f</sup>	8,49 ± 0,09 <sup>a</sup>	7,1 ± 0,5 <sup>d</sup>	-	19,6 ± 0,6 <sup>f</sup>
P_LIO	-	1,4 ± 0,2 <sup>bc</sup>	1,63 ± 0,10 <sup>e</sup>	6,998 ± 1,114 <sup>d</sup>	6,2 ± 0,3 <sup>c</sup>	-	16,2 ± 0,6 <sup>e</sup>
B_SAC	0,47 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,60 ± 1,10 <sup>c</sup>	0,531 ± 0,006 <sup>abc</sup>	1,959 ± 0,004 <sup>c</sup>	0,6952 ± 0,010 <sup>a</sup>	0,342 ± 0,015 <sup>a</sup>	5,55 ± 0,05 <sup>bc</sup>
B_LIO	0,42 ± 0,04 <sup>a</sup>	2,49 ± 0,13 <sup>d</sup>	0,58 ± 0,05 <sup>bc</sup>	1,4 ± 0,2 <sup>bc</sup>	1,63 ± 0,04 <sup>b</sup>	-	6,6 ± 0,4 <sup>c</sup>
FLAVONOIDES (FL)							
POLVO	Epicatequina	Rutina	Isoquercitrina	Quercitrina	Apigenina 7-glucósido	Naringenina	TOTAL FL
Z_SAC	97,4 ± 1,5 <sup>d</sup>	1,27 ± 0,18 <sup>ab</sup>	0,99 ± 0,08 <sup>cd</sup>	0,98 ± 0,04 <sup>d</sup>	4,01 ± 0,02 <sup>c</sup>	-	104,9 ± 1,4 <sup>h</sup>
Z_LIO	91 ± 2 <sup>c</sup>	1,68 ± 0,05 <sup>b</sup>	0,601 ± 0,013 <sup>a</sup>	0,40 ± 0,07 <sup>a</sup>	1,404 ± 0,002 <sup>ab</sup>	-	93,9 ± 1,5 <sup>d</sup>
C_SAC	-	4,9 ± 0,3 <sup>ef</sup>	0,914 ± 0,012 <sup>c</sup>	-	-	-	5,8 ± 0,3 <sup>a</sup>
C_LIO	-	6,4 ± 0,3 <sup>h</sup>	0,96 ± 0,06 <sup>cd</sup>	-	-	0,40 ± 0,06 <sup>a</sup>	7,8 ± 0,4 <sup>a</sup>
A_SAC	22,4 ± 0,3 <sup>a</sup>	0,67 ± 0,12 <sup>a</sup>	0,66 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,492 ± 0,001 <sup>ab</sup>	1,662 ± 0,006 <sup>ab</sup>	-	25,9 ± 0,3 <sup>c</sup>
A_LIO	25,5 ± 0,5 <sup>a</sup>	0,64 ± 0,18 <sup>a</sup>	0,72 ± 0,05 <sup>ab</sup>	0,610 ± 0,005 <sup>bc</sup>	0,74 ± 0,02 <sup>a</sup>	-	28,2 ± 0,3 <sup>d</sup>
P_SAC	-	4,4 ± 0,5 <sup>de</sup>	0,9 ± 0,2 <sup>bc</sup>	-	9,2 ± 1,4 <sup>d</sup>	-	14,42 ± 1,08 <sup>b</sup>
P_LIO	-	5,6 ± 1,0 <sup>gh</sup>	-	-	10,5 ± 0,9 <sup>e</sup>	-	16,08 ± 0,18 <sup>b</sup>
B_SAC	34 ± 3 <sup>b</sup>	3,7 ± 0,6 <sup>cd</sup>	0,95 ± 0,17 <sup>c</sup>	0,77 ± 0,19 <sup>c</sup>	1,36 ± 0,07 <sup>ab</sup>	2,25 ± 0,05 <sup>c</sup>	41,41 ± 0,09 <sup>f</sup>
B_LIO	25,6 ± 1,0 <sup>a</sup>	3,4 ± 0,4 <sup>c</sup>	1,13 ± 0,11 <sup>d</sup>	0,70 ± 0,05 <sup>c</sup>	2,19 ± 0,05 <sup>b</sup>	1,488 ± 0,011 <sup>b</sup>	34,8 ± 1,8 <sup>e</sup>
ÁCIDOS HIDROXIBENZOICOS (HB)					TOTAL		
POLVO	Ácido gálico	Ácido 4-hidroxibenzoico	Vanilina	TOTAL HB	Compuestos fenólicos específicos		
Z_SAC	2,82 ± 0,18 <sup>d</sup>	1,410 ± 0,009 <sup>d</sup>	6,1 ± 0,7 <sup>d</sup>	9,87 ± 0,13 <sup>c</sup>	119,3 ± 1,6 <sup>a</sup>		
Z_LIO	-	1,423 ± 0,015 <sup>d</sup>	11,5 ± 0,4 <sup>e</sup>	12,69 ± 0,15 <sup>e</sup>	117 ± 2 <sup>a</sup>		
C_SAC	-	1,13 ± 0,17 <sup>c</sup>	2,91 ± 0,14 <sup>b</sup>	4,04 ± 0,03 <sup>a</sup>	14,0 ± 0,3 <sup>a</sup>		
C_LIO	0,53 ± 0,05 <sup>a</sup>	2,65 ± 0,06 <sup>f</sup>	2,5 ± 0,2 <sup>b</sup>	5,51 ± 0,04 <sup>f</sup>	29,6 ± 0,4 <sup>b</sup>		
A_SAC	1,27 ± 0,12 <sup>b</sup>	0,76 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,924 ± 0,013 <sup>a</sup>	3,02 ± 0,04 <sup>a</sup>	32,5 ± 0,2 <sup>bc</sup>		
A_LIO	0,488 ± 0,005 <sup>a</sup>	0,367 ± 0,002 <sup>a</sup>	0,886 ± 0,007 <sup>a</sup>	1,741 ± 0,002 <sup>a</sup>	34,4 ± 0,4 <sup>c</sup>		
P_SAC	-	2,27 ± 0,17 <sup>e</sup>	5,0 ± 0,8 <sup>c</sup>	7,3 ± 1,0 <sup>b</sup>	41,3 ± 1,4 <sup>d</sup>		
P_LIO	-	1,5 ± 0,2 <sup>d</sup>	5,94 ± 1,18 <sup>cd</sup>	7,5 ± 1,0 <sup>b</sup>	40 ± 3 <sup>d</sup>		
B_SAC	8,74 ± 0,13 <sup>a</sup>	-	1,799 ± 0,001 <sup>ab</sup>	10,54 ± 0,13 <sup>d</sup>	57,5 ± 0,3 <sup>f</sup>		
B_LIO	1,79 ± 0,15 <sup>c</sup>	-	1,36 ± 0,08 <sup>a</sup>	3,1 ± 0,2 <sup>a</sup>	44,48 ± 1,18 <sup>e</sup>		

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

En cuanto a los FL, se identificaron rutina e isoquercetina en todas las hortalizas, apigenina 7-glucósido en todas excepto en la col, epicatequina y quercitrina en todas excepto en col y brócoli, y la naringenina solo en col y brócoli. Los polvos de zanahoria destacaron por su alto contenido en FL totales, especialmente por la presencia de epicatequina, que también predominó en el apio y el brócoli. Las catequinas han sido ampliamente estudiadas por sus beneficios para la salud,



incluyendo la reducción del peso corporal, la disminución del colesterol, la inhibición de la oxidación de LDL, la reducción de la presión arterial y efectos antitrombóticos (Hernández et al., 2004). El té verde, una de las principales fuentes de catequinas, aporta 8,66 mg de epicatequina por cada 100 g de infusión. Los polvos de zanahoria, apio y puerro presentaron valores incluso superiores, resultando en una buena alternativa para la ingesta de este compuesto. Finalmente, entre los HB se identificó vanilina en todas las hortalizas, ácido 4-hidroxibenzoico en todas excepto en brócoli, y ácido gálico en todas excepto en puerro. Los polvos de brócoli y zanahoria mostraron los valores más altos en este grupo, con el ácido gálico como principal compuesto en brócoli y la vanillina en zanahoria, alcanzando concentraciones similares a las reportadas por Augšpole et al. (2017).

En cuanto al efecto del tipo de secado, en general, los polvos LIO presentaron una mayor concentración de compuestos fenólicos específicos que los SAC, lo cual podría explicarse por las condiciones de baja temperatura y ausencia de oxígeno, que reducen la degradación de los compuestos bioactivos. Además, el menor tamaño de partícula logrado en los polvos LIO (Tabla 2), así como la porosidad característica que se logra con esta técnica, podrían haber mejorado la extracción de estos compuestos. Sin embargo, hay algunas excepciones, como el ácido p-cumárico y sinápico que, en general, mostraron mayores concentraciones en los polvos SAC. Biernacka et al. (2021) observaron el mismo efecto para estos compuestos en polvos de puerro deshidratados con los mismos métodos. El contenido de epicatequina y ácido gálico también fue una excepción, resultando mayor en los polvos de zanahoria, apio y brócoli deshidratados mediante SAC. Además, algunos compuestos como el ácido trans-cinámico, la isoquercetina y el ácido gálico se identificaron en los polvos SAC de ciertas hortalizas (apio, brócoli, puerro y zanahoria, respectivamente), pero no en los polvos LIO. Estos resultados podrían explicarse por la reducción de la actividad de la polifenol-oxidasa debido al calor, y por la liberación de compuestos en su forma libre durante el procesamiento térmico si estaban inicialmente en forma ligada en la hortaliza fresca.

El contenido total de compuestos fenólicos específicos mostró diferencias estadísticamente significativas según el tipo de hortaliza. Los polvos de zanahoria presentaron el contenido fenólico total más alto, seguidos por los de brócoli, mientras que los de col mostraron los niveles más bajos. Estos resultados no coinciden con el análisis de fenoles totales por Folin-Ciocalteu (Tabla 3), ya que en ese caso los mayores contenidos los presentaban los residuos de brócoli, puerro y col. Esta diferencia podría deberse a que el método espectrofotométrico es una estimación indirecta del contenido total de compuestos fenólicos, ya que evalúa la capacidad reductora general de una muestra y puede verse afectado por interferencias de

agentes reductores no fenólicos, como el ácido ascórbico, ácido cítrico, azúcares simples y aminoácidos (Li et al., 2018). Wojdyło et al. (2007) también observaron diferencias entre las determinaciones de compuestos fenólicos mediante HPLC y Folin-Ciocalteu en 32 hierbas. Estos resultados ponen de manifiesto que la determinación de los compuestos fenólicos mediante HPLC da una información más detallada y precisa de la composición de la muestra. Del mismo modo, la actividad antioxidante medida por los métodos ABTS y DPPH tampoco parecen estar correlacionadas con el contenido total de compuestos fenólicos específicos. Por ejemplo, la zanahoria tiene la mayor concentración de compuestos fenólicos según HPLC, pero no la mayor actividad antioxidante; mientras que la col presenta la menor concentración de fenólicos, pero no la menor actividad antioxidante. Esto podría deberse a que la actividad antioxidante depende de la estructura del compuesto; por ejemplo, la quercetina tiene una mayor actividad antioxidante que otros flavonoides (Wojdyło et al., 2007). Además, la presencia de otros compuestos no fenólicos con propiedades antioxidantes también puede influir en la capacidad antioxidante global. El análisis de correlaciones (Pearson) demostró que no existe una correlación estadísticamente significativa entre la variable compuestos fenólicos específicos totales y la variable fenoles totales ( $p$ -valor $>0,05$ ) o la actividad antioxidante, que mientras que sí se obtuvieron correlaciones positivas significativas ( $p$ -valor $<0,05$ ) entre fenoles totales y flavonoides totales ( $R^2 = 0.74$ ), y entre éstos y la actividad antioxidante medida por los métodos DPPH y ABTS, siendo más fuerte la correlación con el DPPH ( $R^2 = 0.74$  y  $0.61$ ) que con el ABTS ( $R^2 = 0.43$  y  $0.46$ ), para fenoles y flavonoides, respectivamente.

### **3.3. Propiedades antimicrobianas.**

En la Tabla 5 se presentan los valores obtenidos para los diámetros de los halos de inhibición. Un valor de 6 mm, que corresponde al diámetro del disco de papel, se consideró como ausencia de inhibición. Los valores de los halos de inhibición, en general, resultaron mayores para *L. innocua* y *S. aureus*, lo que sugiere que los extractos de los polvos de hortalizas mostraron una mayor efectividad hacia bacterias Gram positivas. Esto podría explicarse por la presencia de la membrana externa adicional en las bacterias Gram negativas, que las protege y aumenta su resistencia frente a los conservantes (Ferreira & Santos, 2022). Otros estudios sobre la capacidad antimicrobiana de subproductos agroindustriales han mostrado resultados similares. Por ejemplo, extractos de cáscaras de ajo a una concentración de 30 mg/mL presentaron halos de inhibición de hasta 16 mm para *S. aureus* y 11 mm para *L. monocytogenes* (dos Santos et al., 2022). Asimismo, Ferreira & Santos (2022) encontraron halos de inhibición de 5 mm para *E. coli*, y 13 mm para *S. epidermidis* y *S. aureus* en extractos de cáscara de aguacate.

**TABLA 5.** Halos de inhibición (mm), incluyendo el diámetro del disco (6 mm), obtenidos para las distintas bacterias con los extractos de los polvos de residuos de zanahoria (Z), col blanca (C), apio (A), puerro (P) y brócoli (B) obtenidos mediante secado por aire caliente (SAC) y liofilización (LIO). Media  $\pm$  desviación estándar de dos réplicas.

POLVO	<i>L. innocua</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella entérica</i>	<i>E. coli</i>
Z_SAC	14,50 $\pm$ 0,10 <sup>ab</sup>	6 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	7 $\pm$ 0 <sup>ab</sup>	8,83 $\pm$ 0,12 <sup>bcd</sup>
Z_LIO	13,00 $\pm$ 0,14 <sup>ab</sup>	17,33 $\pm$ 0,10 <sup>e</sup>	6,17 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	6 $\pm$ 0 <sup>a</sup>
C_SAC	14,0 $\pm$ 0,2 <sup>ab</sup>	7,00 $\pm$ 0,13 <sup>ab</sup>	7,17 $\pm$ 0,08 <sup>ab</sup>	10,17 $\pm$ 0,17 <sup>d</sup>
C_LIO	17,3 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	6,50 $\pm$ 0,05 <sup>ab</sup>	12,00 $\pm$ 0,10 <sup>d</sup>	8,00 $\pm$ 0,14 <sup>abc</sup>
A_SAC	15,50 $\pm$ 0,14 <sup>ab</sup>	19,33 $\pm$ 0,12 <sup>e</sup>	6,17 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	10,50 $\pm$ 0,05 <sup>d</sup>
A_LIO	16,7 $\pm$ 0,3 <sup>ab</sup>	14,83 $\pm$ 0,04 <sup>d</sup>	6,17 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	10,17 $\pm$ 0,16 <sup>d</sup>
P_SAC	10,67 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	13,00 $\pm$ 0,09 <sup>d</sup>	6,67 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	9,33 $\pm$ 0,10 <sup>cd</sup>
P_LIO	16,0 $\pm$ 0,2 <sup>ab</sup>	14,67 $\pm$ 0,14 <sup>d</sup>	8,00 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	9,17 $\pm$ 0,15 <sup>cd</sup>
B_SAC	16,5 $\pm$ 0,4 <sup>ab</sup>	10,50 $\pm$ 0,16 <sup>c</sup>	9,83 $\pm$ 0,10 <sup>c</sup>	6,83 $\pm$ 0,08 <sup>ab</sup>
B_LIO	17,7 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>	8,83 $\pm$ 0,15 <sup>bc</sup>	10,33 $\pm$ 0,08 <sup>c</sup>	6 $\pm$ 0 <sup>a</sup>

<sup>a-e</sup> diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95% (p-valor < 0,05)

En el caso de *L. innocua*, los polvos LIO de col y brócoli presentaron halos de mayor tamaño, aunque no se obtuvieron diferencias significativas (p-valor > 0,05) para el tipo de hortaliza. Estos resultados se consideran relevantes, ya que el patógeno *L. monocytogenes* tiene un gran impacto en la industria alimentaria. Para *S. aureus*, los residuos de zanahoria, apio y puerro presentaron los halos de inhibición más elevados, especialmente los de zanahoria LIO y apio SAC. Una posible explicación sería que los residuos de zanahoria y apio presentaron un elevado contenido en compuestos flavonoides por HPLC (Tabla 4), especialmente epicatequina. Los flavonoides, especialmente las catequinas y las proantocianidinas, han demostrado efecto antimicrobiano contra *S. aureus* (Panda & Duarte-Sierra, 2022). Los residuos de puerro presentaron un mayor contenido en los ácidos sinápico y ferúlico, ácidos hidroxicinámicos que también han demostrado su eficacia contra esta bacteria (Panda & Duarte-Sierra, 2022). En cuanto a las bacterias Gram negativas, se observa una inhibición débil, aunque los polvos de col LIO sí que presentaron cierta inhibición para *Salmonella entérica*. Una posible explicación podría ser que los polvos de col LIO también presentaron un alto contenido en ácidos hidroxicinámicos (Tabla 4). Para *E. coli*, los mayores halos de inhibición se observaron en los polvos de apio y en los de col SAC. En el caso del apio, esta inhibición podría deberse a las furanocumarinas, las cuales han demostrado eficacia contra esta bacteria. En definitiva, los polvos de col y apio presentaron mejores propiedades antimicrobianas para el conjunto de bacterias estudiadas.

En cuanto al efecto del tipo de secado, el análisis ANOVA multifactorial no reveló diferencias significativas para *L. innocua*. Sin embargo, en general, se observaron halos de inhibición más grandes en los polvos LIO. Para *S. aureus*, *Salmonella enterica* y *E. coli*, se encontraron diferencias significativas (p-valor  $\geq$  0,05), pero no

se identificó una tendencia clara: en algunos casos, los polvos SAC mostraron valores mayores, mientras que, en otros, los polvos LIO.

Por otro lado, los resultados de concentración mínima inhibitoria (CMI) no fueron los esperados ya que no se observó inhibición del crecimiento en ninguno de los pocillos, para ninguna de las bacterias ensayadas. Para todas las concentraciones de extracto estudiadas se registró un aumento en la absorbancia entre las 0 h hasta las 24 h, aunque, en general, sí que se observó un mayor incremento de la absorbancia cuanto menor era la concentración del extracto. En la Tabla 6 se muestran los incrementos de absorbancia para el primer pocillo, que contenía la concentración más alta (50 mg de polvo/mL), junto con los incrementos observados en el control positivo (sin antimicrobiano) y el control negativo (sin inóculo). Se presentan los resultados correspondientes a la lectura de absorbancia a 620 nm, ya que no mostraron grandes diferencias respecto a las lecturas a 492 nm.

**TABLA 6.** Incrementos de las absorbancias (620 nm) a tiempo 0 h y 24 h obtenidos para las distintas bacterias con los extractos de los polvos de residuos de zanahoria (Z), col blanca (C), apio (A), puerro (P) y brócoli (B) obtenidos mediante secado por aire caliente (SAC) y liofilización (LIO).

POLVO	<i>L. innocua</i>			<i>S. aureus</i>			<i>Salmonella entérica</i>			<i>E. coli</i>		
	$\Delta A$ (%)			$\Delta A$ (%)			$\Delta A$ (%)			$\Delta A$ (%)		
	Pocillo			Pocillo			Pocillo			Pocillo		
	1	C +	C-	1	C +	C-	1	C +	C-	1	C +	C-
A_LIO	700	197	-7	402	449	30	216	273	-4	325	160	-2
A_SAC	428	218	1	226	425	-60	641	259	-74	365	265	22
B_LIO	976	583	-6	976	432	14	1234	225	-28	341	150	7
B_SAC	505	281	4	190	515	9	142	307	5	208	170	-44
C_LIO	289	159	299	256	444	264	257	295	-1	359	363	-1
C_SAC	258	224	-1	42	516	256	94	279	2	179	473	-53
P_LIO	205	253	13	202	428	8	195	290	0	368	181	-6
P_SAC	318	332	14	94	480	10	161	289	9	368	228	-1
Z_LIO	454	414	21	229	407	1	122	199	-3	353	209	5
Z_SAC	257	396	-65	99	496	58	72	297	9	222	192	5

En todos los casos y para todas las concentraciones evaluadas, se observó un aumento significativo en la absorbancia, incluso a veces mayor que en el control positivo. Sin embargo, para *S. aureus* y *Salmonella enterica*, el incremento de absorbancia fue generalmente menor en los pocillos con la concentración más alta de extracto en comparación con el control positivo. Este efecto también se observó en los extractos de col para *E. coli* y en los de puerro y zanahoria para *L. innocua*. Estos resultados podrían indicar que sí que hubo cierta inhibición, aunque en ningún caso fue lo suficientemente grande como para poder determinar la CMI. Un posible factor limitante para el empleo de esta técnica podría ser la naturaleza coloreada de los extractos, lo que interfirió en las mediciones. Se necesitan futuros estudios con métodos que no se vean afectados por el color del antimicrobiano para determinar

la CMI. Algunas alternativas podrían ser la dilución en agar o una combinación del método de macrodilución con un recuento en placa.

#### 4. CONCLUSIONES

Los desechos vegetales se transformaron con éxito en polvo estables, con baja  $a_w$  y humedad. Este trabajo ha demostrado que el método de deshidratación empleado condiciona las propiedades fisicoquímicas, antioxidantes y antimicrobianas de los polvos de residuos de hortalizas. El secado por aire caliente resultó en mayores niveles de fenoles y flavonoides totales, así como una mejor actividad antioxidante medida por ABTS y DPPH, probablemente debido a la generación de nuevos compuestos antioxidantes por la temperatura. La liofilización produjo polvos con mayor contenido de compuestos fenólicos específicos, posiblemente debido a las condiciones del proceso y al menor tamaño de partícula que facilita la extracción de estos compuestos.

Se identificaron diversos compuestos fenólicos específicos en los polvos, como ácidos hidroxicinámicos, flavonoides y ácidos hidroxibenzoicos, evidenciándose diferencias entre las mediciones espectrofotométricas y las cromatográficas. Aunque los resultados sugieren que los productos presentan cierta actividad antimicrobiana, especialmente contra bacterias Gram positivas, no se pudo determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI).

En general, se concluye que los residuos de hortalizas generados en las primeras etapas del procesado en fresco pueden ser convertidos exitosamente en polvos con propiedades valiosas para su uso como ingredientes funcionales en alimentos. La reincorporación de estos ingredientes en la cadena alimentaria contribuiría significativamente al desarrollo de sistemas alimentarios más sostenibles y avanzaría hacia dietas más saludables.

#### 5. BIBLIOGRAFÍA

AOAC (2000). Association of Official Analytical Chemist Official Methods of Analysis. AOAC Official Method 934.06, Moisture in Dried Fruits. Official methods of analysis of AOAC international, 2.

Augšpole, I., Kince, T., & Cinkmanis, I. (2017, November). Changes of polyphenol compound concentrations in hybrids of nante type carrots during storage. In *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences*. (Vol. 71, No. 6, pp. 492-495).

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.

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: 3663.

Bas-Bellver, C., Barrera, C., Betoret, N., & Seguí, L. (7 February 2023). Effect of Processing and In Vitro Digestion on Bioactive Constituents of Powdered IV Range Carrot (*Daucus carota*, L.) Wastes. *Foods*, 12(4), 731.

Bas-Bellver, C., Barrera, C., Betoret, N., & Seguí, L. (21 October 2023). Physicochemical, technological and functional properties of upcycled vegetable waste ingredients as affected by processing and storage. *Plant Foods for Human Nutrition*, 78(4), 710-719.

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.

Bender, I., Moor, U., & Luik, A. (2015). The effect of growing systems on the quality of carrots.

Biernacka, B., Dzik, D., Kozłowska, J., Kowalska, I., & Soluch, A. (2021). Dehydrated at different conditions and powdered leek as a concentrate of biologically active substances: Antioxidant activity and phenolic compound profile. *Materials*, 14(20), 6127.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

Cartea, M. E., & Velasco, P. (2008). Glucosinolates in Brassica foods: bioavailability in food and significance for human health. *Phytochemistry reviews*, 7(2), 213-229.

CLSI (2010). Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; CLSI document M100-S20. CLSI, Wayne, PA.

Djantou, E., Mbofung, C., Scher, J., Phambu, N. and Moraël, J. (2011). Alternation drying and grinding (ADG) technique: A novel approach for producing ripe mango powder. *LWT - Food Science and Technology*, 44(7), pp. 1585-1590.

dos Santos, P. C. M., da Silva, L. M. R., Magalhaes, F. E. A., Cunha, F. E. T., Ferreira, M. J. G., & de Figueiredo, E. A. T. (2022). Garlic (*Allium sativum* L.) peel extracts: from industrial by-product to food additive. *Applied Food Research*, 2(2), 100186.

Fante, L., & Noreña, C. P. Z. (2015). Quality of hot air dried and freeze-dried of garlic (*Allium sativum* L.). *Journal of Food Science and Technology*, 52, 211-220.

FAO (2022). Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura. [en línea]. Newsroom. Dirección URL: <<https://www.fao.org/newsroom/detail/FAO-UNEP-agriculture-environment-food-loss-waste-day-2022/es>>. [Consulta: 20 jun. 2024]

Ferreira, S. M., & Santos, L. (2022). From by-product to functional ingredient: Incorporation of avocado peel extract as an antioxidant and antibacterial agent. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 80, 103116.

Hernández Figueroa, T. T., Rodríguez-Rodríguez, E., & Sánchez-Muniz, F. J. (2004). El té verde ¿una buena elección para la prevención de enfermedades cardiovasculares? *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54(4), 380-394.

Honda, M. (2023). Z-Isomers of lycopene and  $\beta$ -carotene exhibit greater skin-quality improving action than their all-E-isomers. *Food Chemistry*, 421, 135954.

IFCO (2023). Innovation Leader in Food Supply Chain. [en línea]. Desperdicio de alimentos por países. Dirección URL: <<https://www.ifco.com/es/que-pais-desperdicia-mas-alimentos/>> [Consulta: 25 jun. 2024]

ISO (1997). International Organization for Standardization. ISO 1743:1982. Glucose syrup determination of dry matter content. Refractive index method. Geneva, Switzerland.

Karam, M. C., Petit, J., Zimmer, D., Djantou, E. B., & Scher, J. (2016). Effects of drying and grinding in production of fruit and vegetable powders: A review. *Journal of Food Engineering*, 188, 32-49.

Lai, C., Liang, Y., Zhang, L., Huang, J., Kaliaperumal, K., Jiang, Y., & Zhang, J. (2022). Variations of bioactive phytochemicals and antioxidant capacity of navel orange peel in response to different drying methods. *Antioxidants*, 11(8), 1543.

Lemma, E., Yusuf, Z., Desta, M., Seyida, S., Idris, M., Mengistu, S., & Teneshu, J. (2022). Physicochemical properties and biological activities of garlic (*Allium sativum* L.) bulb and Leek (*Allium ampeloprasum* L. var. *Porrum*) leaf oil extracts. *The Scientific World Journal*, 2022(1), 6573754.

Li, Z., Lee, H. W., Liang, X., Liang, D., Wang, Q., Huang, D., & Ong, C. N. (2018). Profiling of phenolic compounds and antioxidant activity of 12 cruciferous vegetables. *Molecules*, 23(5), 1139.

Luximon-Ramma, A., Bahorun, T., Soobrattee, M. A., & Aruoma, O. I. (2002). Antioxidant activities of phenolic, proanthocyanidin, and flavonoid components in extracts of *Cassia fistula*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(18), 5042-5047.

MAPA (2022). Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. [en línea]. Producciones Agrícolas, Frutas y hortalizas. Dirección URL: <[https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/producciones-agricolas/frutas-y-hortalizas/informacion\\_general.aspx](https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/producciones-agricolas/frutas-y-hortalizas/informacion_general.aspx)> [Consulta: 25 jun. 2024]

Martínez, S., Olmos, I., Carballo, J., & Franco, I. (2010). Quality parameters of Brassica spp. grown in northwest Spain. *International journal of food science & technology*, 45(4), 776-783.

Motti, P., Bastiaens, L., Geelen, D., & Mangelinckx, S. (2024). An exploratory study of extractions of celery (*Apium graveolens* L.) waste material as source of bioactive compounds for agricultural applications. *Industrial Crops and Products*, 218, 118848.

Ordoñez-Araque, R., & Narváez-Aldáz, C. (2019). Changes in the physical-chemical composition, total polyphenols and antioxidant activity of fresh celery (*Apium graveolens* L.) dehydrated by hot air and by lyophilization. *Agriscientia*, 36(2), 57-65.

Panda, L., & Duarte-Sierra, A. (2022). Recent advancements in enhancing antimicrobial activity of plant-derived polyphenols by biochemical means. *Horticulturae*, 8(5), 401.

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 and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.

Rojas-Bravo, M., Rojas-Zenteno, E. G., Hernández-Carranza, P., Ávila-Sosa, R., Aguilar-Sánchez, R., Ruiz-López, I. I., & Ochoa-Velasco, C. E. (2019). A potential application of mango (*Mangifera indica* L. cv Manila) peel powder to increase the total phenolic compounds and antioxidant capacity of edible films and coatings. *Food and Bioprocess Technology*, 12, 1584-1592.

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.

Sagar, N. A., Pareek, S., Sharma, S., Yahia, E. M., & Lobo, M. G. (2018). Fruit and vegetable waste: Bioactive compounds, their extraction, and possible utilization. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 17(3), 512-531.

Salehi, F. (2020). Recent applications of powdered fruits and vegetables as novel ingredients in biscuits: A review. *Nutrire*, 45, 1-10.

Sánchez, M., Laca, A., Laca, A., & Díaz, M. (2023). Towards food circular economy: hydrothermal treatment of mixed vegetable and fruit wastes to obtain fermentable sugars and bioactive compounds. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(2), 3901-3917.

Sanchez-Salvador, J. L., Marques, M. P., Brito, M. S., Negro, C., Monte, M. C., Manrique, Y. A., ... & Blanco, A. (2022). Valorization of vegetable waste from leek, lettuce, and artichoke to produce highly concentrated lignocellulose micro-and nanofibril suspensions. *Nanomaterials*, 12(24), 4499.

Šeregelj, V., Vulić, J., Četković, G., Čanadanovć-Brunet, J., Šaponjac, V. T., & Stajčić, S. (2020). Natural bioactive compounds in carrot waste for food applications and health benefits. *Studies in natural products chemistry*, 67, 307-344.

Siddiq, M., & Dolan, K. D. (2017). Characterization of polyphenol oxidase from blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Food chemistry*, 218, 216-220.

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. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Academic press.

Sobota, A., Wirkijowska, A., & Zarzycki, P. (2020). Application of vegetable concentrates and powders in coloured pasta production. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(6), 2677-2687.

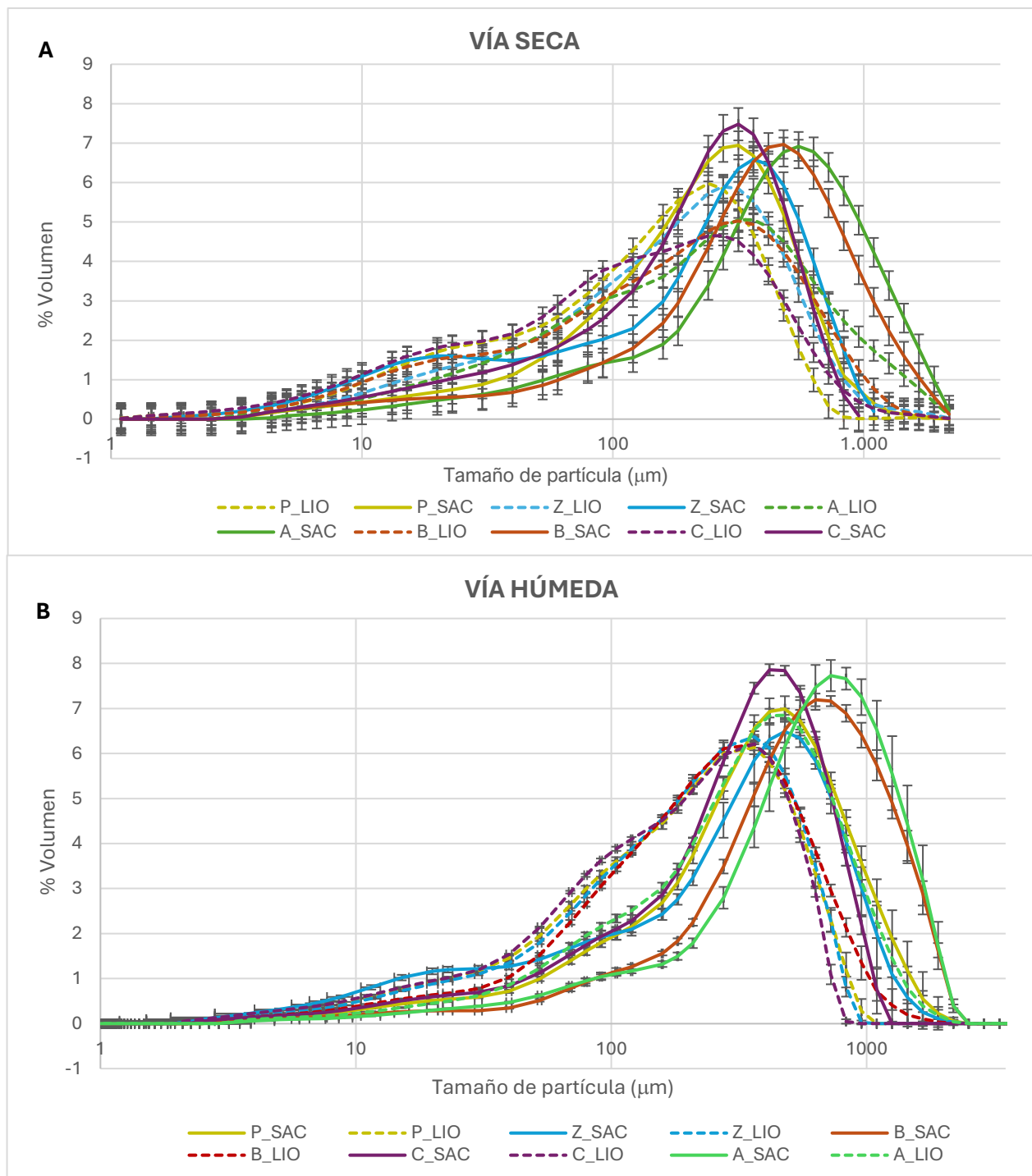
Tundis, R., Tenuta, M. C., Loizzo, M. R., Bonesi, M., Menichini, F., & Duthie, G. (2017). Natural compounds and vegetable powders improve the stability and antioxidant properties of Brassica napus L. var. oleifera (rapeseed) oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(4), 1600228.

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. *LWT*, 155, 112892.

Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food chemistry*, 105(3), 940-949.



## ANEXO 1: Distribución tamaño de partícula



**FIGURA 1.** Distribución del tamaño de partículas por vía seca (A) y vía húmeda (B) de polvos de residuos de zanahoria (Z), col blanca (C), apio (A), puerro (P) y brócoli (B) obtenidos mediante secado por aire caliente (SAC) y liofilización (LIO). Las barras de error representan la desviación estándar de cinco réplicas para vía seca y diez para vía húmeda.



## ANEXO 2: ODS

**TABLA 1.** Grado de relación del trabajo con los objetivos de desarrollo sostenible de la agenda 2030

<b>Objetivos de Desarrollo Sostenible</b>	<b>Alto</b>	<b>Medio</b>	<b>Bajo</b>	<b>No Procede</b>
<b>ODS 1. Fin de la pobreza.</b>			X	
<b>ODS 2. Hambre cero.</b>	X			
<b>ODS 3. Salud y bienestar.</b>	X			
<b>ODS 4. Educación de calidad.</b>				X
<b>ODS 5. Igualdad de género.</b>				X
<b>ODS 6. Agua limpia y saneamiento.</b>				X
<b>ODS 7. Energía asequible y no contaminante.</b>				X
<b>ODS 8. Trabajo decente y crecimiento económico.</b>		X		X
<b>ODS 9. Industria, innovación e infraestructuras.</b>			X	
<b>ODS 10. Reducción de las desigualdades.</b>				X
<b>ODS 11. Ciudades y comunidades sostenibles.</b>				X
<b>ODS 12. Producción y consumo responsables.</b>	X			
<b>ODS 13. Acción por el clima.</b>		X		
<b>ODS 14. Vida submarina.</b>			X	
<b>ODS 15. Vida de ecosistemas terrestres.</b>			X	
<b>ODS 16. Paz, justicia e instituciones sólidas.</b>				X
<b>ODS 17. Alianzas para lograr objetivos.</b>				X