



CARACTERIZACIÓN DE POLVOS DE RESIDUO DE CAQUI DESHIDRATADO PARA SU USO COMO INGREDIENTE FUNCIONAL EN ALIMENTOS

Trabajo Fin de Grado en Biotecnología

ALUMNA: Claudia Isabel Bas Bellver

TUTORA: Dra. Lucía Seguí Gil

COTUTORA: Dra. Noelia Betoret Valls

Curso Académico: 2017/2018

Valencia, Julio 2018



RESUMEN

La industrialización de frutas y hortalizas genera una gran cantidad de residuos orgánicos que tienen un impacto negativo sobre el medio ambiente y que deben gestionarse adecuadamente. A pesar de ser una fuente importante de compuestos bioactivos, estos desechos están infravalorados o no se utilizan, por lo que es necesario desarrollar nuevos procesos y productos que den valor a estos residuos, contribuyendo así a la sostenibilidad de la industria alimentaria y al concepto de economía circular. La fabricación de polvos de frutas es una tendencia actual en la industria alimentaria. Se trata de productos versátiles y concentrados en sus propiedades, que pueden utilizarse directamente o como ingrediente en la fabricación de alimentos. La obtención de polvos a partir de los residuos de industrialización de frutas se presenta, por lo tanto, como una oportunidad interesante, surgiendo así el objetivo del presente trabajo: obtener un ingrediente en polvo sostenible y funcional a partir de bagazo de caqui como solución a la sobreproducción que está experimentando este cultivo y a su creciente industrialización.

A tal fin, se estudió el efecto de las operaciones de secado por aire caliente (60 y 70 °C durante 10 o 20 horas) y liofilización, combinadas con una (pre-) o dos (pre- y post- secado) moliendas, sobre las propiedades fisicoquímicas y funcionales del polvo de bagazo de caqui (6 tipos de polvo en total). Asimismo, se planteó el desarrollo de un polvo probiótico a partir de bagazo de caqui triturado e inoculado con *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius*, sometido posteriormente a secado por aire caliente o liofilización, y molienda.

Los resultados obtenidos pusieron de manifiesto que la combinación de moliendas y secado, junto con las características de los distintos métodos de deshidratación empleados, determinan las propiedades del polvo. Se demostró la interdependencia de las operaciones de secado y molienda, y se constató que la extracción de los compuestos solubles y antioxidantes se ve favorecida por la desestructuración previa al secado y el tamaño de partícula final del polvo. Además de influir en las propiedades antioxidantes, el tamaño de partícula también se relacionó con el resto de propiedades analizadas. La operación de liofilización combinada con dos moliendas permitió obtener un polvo de adecuada estabilidad y con unas propiedades fisicoquímicas y antioxidantes excelentes para ser utilizado como ingrediente funcional. No obstante, debido al coste de esta operación, el polvo secado por aire caliente a 60 °C durante 20 horas se presenta como una alternativa adecuada para producción a gran escala. En relación a la obtención de polvos de bagazo de caqui enriquecidos con *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius* (CECT 4063) se constató que las propiedades del bagazo triturado eran adecuadas para el crecimiento de la bacteria. El polvo liofilizado es el único que podría considerarse probiótico teniendo en cuenta la viabilidad del microorganismo en el producto final; no obstante, se propone profundizar en las operaciones de secado por aire caliente para diseñar un proceso de secado que mejore la supervivencia celular y reduzca los costes asociados a la liofilización.

En términos generales, se concluye que los polvos obtenidos a partir de bagazo de caqui son una alternativa interesante para la reincorporación de estos desechos orgánicos a la cadena alimentaria, constituyendo un ingrediente sostenible y funcional con múltiples aplicaciones en la formulación de alimentos, y que podrían ser incluidos en matrices alimentarias de distinta naturaleza.

Palabras clave: bagazo de caqui, polvo, secado por aire caliente, liofilización, propiedades fisicoquímicas, propiedades funcionales, probiótico.

ABSTRACT

Fruits and vegetables industrialization generates a large amount of organic waste that has a negative impact on the environment and must be managed properly. Despite being an important source of bioactive compounds, these wastes are undervalued or not used, so it is necessary to develop new processes and products that give value to them, in order to contribute to the sustainability of the food industry and the concept of circular economy. The fruits powders manufacture is a current trend in the food industry. It treats of versatile products and concentrated in their properties, that can be used directly or as an ingredient in foods manufacture. Therefore, obtaining powders from fruit industrialization residues is an interesting opportunity, emerging the objective of this work: to obtain a sustainable and functional powder ingredient from persimmon bagasse as a solution to the overproduction and growing industrialization of this crop.

For this purpose, the effect of hot air drying (60 and 70 °C for 10 or 20 hours) and freeze-drying operations, combined with one (pre-) or two (pre- and post-drying) grinds was studied, about the physicochemical and functional properties of persimmon peel powder (6 types of powder in total). In addition, the development of a probiotic powder from crushed persimmon bagasse and inoculated with *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius* was considered. This powders were subdued to hot air drying or freeze-drying, and grinding.

The obtained results showed that the combination of grinding and drying, in conjunction with the characteristics of the different dehydration methods used, determine powder properties. The interdependence of drying and grinding operations was demonstrated, and it was found that the soluble compounds and antioxidants extraction is favoured by drying previous disorganisation and the final particle size of the powder. A part from that, the particle size was related to the rest of the properties analysed, too. The operation of freeze-drying combined with two grindings, allowed to obtain a powder with adequate stability and excellent physicochemical and antioxidant properties to be used as a functional ingredient. However, due to the cost of this operation, the powder dried by hot air at 60 °C for 20 hours is presented as a suitable alternative for large-scale production. In relation to obtaining persimmon peel powder enriched with *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius* (CECT 4063) it was found that the properties of the crushed bagasse were suitable for bacterial growth. Freeze-dried powder is the only one that could be considered as probiotic, taking into account the viability of the microorganism in the final product. In spite of, it is proposed to go into detail about hot air drying operations in order to design a drying process that improves cell survival and reduces the costs associated with freeze-drying.

To conclude, powders obtained from persimmon peel are an interesting alternative for the reincorporation of these organic wastes into food chain, because they are sustainable and functional ingredients with multiple applications in food formulation, and which could be included in different types of food matrices.

Keywords: persimmon peel, powder, hot air drying, freeze-drying, physicochemical properties, functional properties, probiotic.

AGRADECIMIENTOS

Tras el enriquecedor período que ha ocupado la elaboración de este trabajo, tanto a nivel intelectual como personal, me gustaría dar las gracias a quienes han contribuido a que pudiese conseguirlo.

En primer lugar, me gustaría dar las gracias a mis tutoras Lucía Seguí Gil y Noelia Betoret Valls, por darme la oportunidad de realizar este proyecto. Por toda la dedicación que me han prestado y todo el saber que me han transmitido.

A mis compañeras de laboratorio, por toda la ayuda recibida y todas las experiencias y conocimientos que hemos compartido.

A mis amigas y amigos de carrera, por todos esos momentos inolvidables compartidos a lo largo de estos cuatro años.

Y principalmente, a mis padres y mi hermana, por apoyarme y creer en mí en todo momento. Por todos los valores que me han transmitido y porque me han dado todo cuanto soy.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 EL CAQUI. INDUSTRIALIZACIÓN Y PROPIEDADES	1
1.2. POLVOS DE BAGAZOS DE FRUTAS COMO INGREDIENTE SOSTENIBLE Y FUNCIONAL. ..	3
1.3 INFLUENCIA DEL PROCESADO (SECADO Y MOLIENDA) EN LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y FUNCIONALES DE LOS POLVOS.	4
2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO	6
3. MATERIAL Y MÉTODOS	7
3.1. OBTENCIÓN DE POLVOS DE PIEL DE CAQUI	7
3.1.1. Materia prima y procesos de obtención	7
3.1.1.1. Materia prima	7
3.1.1.2. Procedimientos de obtención del polvo de bagazo de caqui	7
3.1.2. Determinaciones analíticas	8
3.1.2.1. Humedad	8
3.1.2.2. Actividad del agua (a_w)	9
3.1.2.3. Sólidos solubles totales (x_{ss})	9
3.1.2.4. Tamaño de partícula	9
3.1.2.5. Propiedades ópticas	9
3.1.2.6. Propiedades antioxidantes	10
3.1.2.6.1. Contenido en fenoles totales	10
3.1.2.6.2. Contenido en flavonoides totales	10
3.1.2.6.3. Capacidad antioxidante: DPPH y ABTS	11
3.1.2.7. Contenido en fibra	12
3.1.2.8. Isotermas de sorción	12
3.1.2.9. Volumen específico	13
3.1.2.10. Solubilidad	13
3.1.2.11. Propiedades de hidratación y retención de agua	13
3.1.2.11.1. Higroscopicidad	13
3.1.2.11.2. Humectabilidad	13
3.1.2.11.3. Capacidad de hinchamiento (CH)	13
3.1.2.11.4. Capacidad de atrapar agua (CAA).....	14
3.1.2.11.5. Capacidad de retención de agua (CRA)	14
3.1.2.12. Propiedades emulsionantes.....	14

3.1.2.12.1. Capacidad de retención de aceite	14
3.1.2.12.2. Actividad emulsionante.....	14
3.1.2.12.3. Estabilidad emulsionante	15
3.2. OBTENCIÓN DE POLVO DE RESIDUO DE CAQUI ENRIQUECIDO CON <i>Lactobacillus salivarius</i> spp. <i>salivarius</i>	15
3.2.1. Crecimiento del microorganismo <i>Lactobacillus salivarius</i> spp. <i>salivarius</i> en bagazo de caqui.	15
3.2.2. Condiciones de obtención de polvos enriquecidos con <i>L. salivarius</i>	16
3.2.3. Determinaciones analíticas de los polvos probióticos.....	16
3.2.3.1. Caracterización fisicoquímica.....	16
3.2.3.2. Propiedades antioxidantes	17
3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	17
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
4.1. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LOS POLVOS DE BAGAZO DE CAQUI	18
4.2. TAMAÑO DE PARTÍCULA	19
4.3. PROPIEDADES ÓPTICAS.....	21
4.4. PROPIEDADES ANTIOXIDANTES.....	22
4.5. CONTENIDO EN FIBRA.....	25
4.5. ISOTERMAS DE SORCIÓN	26
4.7. SOLUBILIDAD, VOLUMEN ESPECÍFICO Y PROPIEDADES DE HIDRATACIÓN Y EMULSIONANTES DE LOS POLVOS DE BAGAZO DE CAQUI SELECCIONADOS	28
4.7. OBTENCIÓN DE POLVO DE RESIDUO DE CAQUI ENRIQUECIDO CON MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS.....	30
4.7.1. Cinética de crecimiento microbiano	30
4.7.2. Caracterización de los polvos	31
5. CONCLUSIONES	35
6. BIBLIOGRAFÍA.....	36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Sales empleadas para la obtención de las isothermas de sorción con sus respectivas actividades de agua (Greenspan, 1977).....	12
Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas del bagazo de caqui y de los polvos de bagazo de caqui deshidratado. Media \pm desviación estándar de tres repeticiones. SAC60_10: secado por aire caliente a 60 °C 10 h; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h; SAC70PE_15: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 15 h; SAC70PE_25: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 25 h; LIOF: liofilizado. % Humedad ($g_w/100g_{total}$), a_w : actividad del agua, x_{ss} : fracción másica de sólidos solubles (g_{ss}/g_{total}).....	18
Tabla 3. Parámetros característicos del tamaño de partícula obtenidos por vía seca y húmeda. Media \pm desviación estándar de tres repeticiones. SAC60_10: secado por aire caliente a 60 °C 10 h; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h; SAC70PE_15: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 15 h; SAC70PE_25: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 25 h; LIOF: liofilizado. D [4,3]: diámetro volumen equivalente; D [3,2]: diámetro área equivalente; d_{90} , d_{50} y d_{10} representan los percentiles de la distribución.....	20
Tabla 4. Parámetros de color C^* y h^* del bagazo y de los polvos de caqui. Media \pm desviación estándar de tres repeticiones. SAC60_10: secado por aire caliente a 60 °C 10 h; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h; SAC70PE_15: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 15 h; SAC70PE_25: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 25 h; LIOF: liofilizado.....	22
Tabla 5. Resultado de actividad antioxidante, expresado en mg de trólox equivalente (TE) por gramo de materia seca, para los métodos DPPH y ABTS. Media \pm desviación estándar para tres repeticiones. SAC60_10: secado por aire caliente a 60 °C 10 h; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h; SAC70PE_15: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 15 h; SAC70PE_25: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 25 h; LIOF: liofilizado.....	24
Tabla 6. Valores del contenido en hemicelulosa, celulosa, lignina, fibra insoluble y fibra total. Porcentaje en base seca. Media \pm desviación estándar. LIOF: liofilizado; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h.....	25
Tabla 7. Parámetros w_0 (humedad de la monocapa) y C del modelo de BET. Parámetros w_0 , C y K del modelo de GAB. Valor de R^2 para los tres polvos y ambos modelos. LIOF: liofilizado; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h.....	28
Tabla 8. Resultados de solubilidad, volumen específico, propiedades de hidratación y retención de agua y propiedades emulsionantes de los polvos de caqui. Media \pm desviación estándar de tres repeticiones. SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h; LIOF: liofilizado.....	29
Tabla 9. Humedad y actividad del agua de los polvos de bagazo de caqui inoculados con <i>L. salivarius</i> y los polvos control. Media \pm desviación estándar de tres repeticiones. LIOF_INOC: polvo liofilizado	

inoculado con el probiótico; LIOF_NO INOC: polvo liofilizado sin inocular; SAC_INOC: polvo secado por aire caliente a 60 °C 2 h y a 40 °C 20 h inoculado con el probiótico; SAC_NO INOC: polvo secado por aire caliente a 60 °C 2 h y a 40 °C 20 h sin inocular. Porcentaje (%) de humedad ($g_w/100g_{total}$), a_w : actividad del agua.....31

Tabla 10. Actividad antioxidante (AO) expresada en mg de Trólox equivalente (TE) por gramo de materia seca, para los métodos DPPH y ABTS. Media \pm desviación estándar para tres repeticiones. LIOF_INOC: polvo liofilizado inoculado con el probiótico; LIOF_NO INOC: polvo liofilizado sin inocular con el probiótico; SAC_INOC: polvo secado por aire caliente inoculado con el probiótico; SAC_NO INOC: polvo secado por aire caliente sin inocular con el probiótico.....34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principales países productores de caqui a nivel mundial, año 2016. Adaptado de Fao.org, 2018.....1

Figura 2. Fruto de caqui, variedad “Rojo Brillante”. Fuente: Martínez Las Heras, 2016.....2

Figura 3. Diagrama de flujo del proceso de obtención de polvo de piel de caqui, a partir de dos moliendas y dos métodos de secado (liofilización y secado por aire caliente).....7

Figura 4. Diagrama de flujo del proceso de obtención de polvos de bagazo de caqui, a partir de una molienda y un método de secado (secado por aire caliente a 70 °C).....7

Figura 5. Distribución del tamaño de partícula (D [4,3]). A) Vía seca. B) Vía húmeda. SAC60_10: secado por aire caliente a 60 °C 10 h; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h; SAC70PE_15: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 15 h; SAC70PE_25: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 25 h; LIOF: liofilizado.....19

Figura 6. Distribución de coordenadas $L^*a^*b^*$ del bagazo de caqui fresco y de los polvos. SAC60_10: secado por aire caliente a 60 °C 10 h; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h; SAC70PE_15: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 15 h; SAC70PE_25: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 25 h; LIOF: liofilizado.....21

Figura 7. A) Contenido de fenoles totales expresado en mg de ácido gálico equivalentes (EAG) por gramo de materia seca en el bagazo fresco y polvos de caqui. B) Contenido de flavonoides totales expresado en mg de quercetina equivalentes (QE) por gramo de materia seca en el bagazo fresco y polvos de caqui. SAC60_10: secado por aire caliente a 60 °C 10 h; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h; SAC70PE_15: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 15 h; SAC70PE_25: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 25 h; LIOF: liofilizado. Diferentes letras superpuestas indican diferencias significativas para un nivel de confianza del 95%.....23

Figura 8. Evolución de la reacción de los compuestos antioxidantes presentes en las muestras con el radical DPPH durante 2 h, para los siete productos de caqui analizados. SAC60_10: secado por aire caliente a 60 °C 10 h; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por

aire caliente a 70 °C 10 h; SAC70PE_15: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 15 h; SAC70PE_25: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 25 h; LIOF: liofilizado.....24

Figura 9. Isotermas de sorción de los polvos LIOF, SAC60_20 y SAC70_10. Resultados experimentales y modelos ajustados de BET y GAB. Se representa la humedad en equilibrio (W_e) (expresada en g de agua/g de materia seca) frente a la actividad de agua (a_w). LIOF: liofilizado; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h.....27

Figura 10. Cinética de crecimiento de *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius* (CECT 4063) expresado en Log UFC/g de bagazo de caqui, durante 48 horas.....31

Figura 11. Concentración de *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius* en el triturado inicial y los diferentes polvos obtenidos. A) Logaritmo de unidades formadoras de colonia (UFC) por gramo de producto y B) Log de UFC por gramo de materia seca. SAC60_1: polvo inoculado con el probiótico y secado por aire caliente a 60 °C 1 h; SAC60_2: polvo inoculado con el probiótico y secado por aire caliente a 60 °C 2 h; SAC40_20: polvo inoculado con el probiótico y secado por aire caliente a 40 °C 20 h, LIOF: polvo liofilizado inoculado con el probiótico. Diferentes letras superpuestas indican diferencias significativas para un nivel de confianza del 95%.....33

Figura 12. Contenido de fenoles totales expresado en mg de ácido gálico equivalentes (AGE) por gramo de materia seca en el bagazo fresco y polvos de caqui. LIOF_INOC: polvo liofilizado inoculado con el probiótico; LIOF_NO INOC: polvo liofilizado sin inocular; SAC_INOC: polvo secado por aire caliente a 60 °C 2 h y a 40 °C 20 h inoculado con el probiótico; SAC_NO INOC: polvo secado por aire caliente a 60 °C 2 h y a 40 °C 20 h sin inocular con el probiótico. Diferentes letras superpuestas indican diferencias significativas para un nivel de confianza del 95%.....34

Figura 13. Evolución de la reacción DPPH durante 2 h para los extractos de los polvos enriquecidos con *L. salivarius* spp. *salivarius* y sus respectivos controles. LIOF_INOC: polvo liofilizado inoculado con el probiótico; LIOF_NO INOC: polvo liofilizado sin inocular; SAC_INOC: polvo secado por aire caliente a 60 °C 2 h y a 40 °C 20 h inoculado con el probiótico; SAC_NO INOC: polvo secado por aire caliente a 60 °C 2 h y a 40 °C 20 h sin inocular.....34

1. INTRODUCCIÓN

1.1 EL CAQUI. INDUSTRIALIZACIÓN Y PROPIEDADES.

El caqui o *Diospyros kaki* L. f. es una especie arbórea caducifolia cuyo fruto es una baya también llamada caqui. Pertenece a la familia *Ebanaceae* y género *Diospyros*, el cual cuenta con más de 300 especies. No obstante, solo cinco tienen importancia agronómica, entre las que se encuentra *Diospyros kaki* L. f., una de las más cultivadas en el mundo, y específicamente, en España (Hernández, 1999).

Aunque tiene su origen en Asia, el cultivo de caqui es tradicional en la Comunidad Valenciana (España). España se encuentra como el primer productor de Europa, obteniéndose una producción de 311.400 toneladas en 2016, y el tercero del mundo (figura 1). En 2016, la producción de caqui a nivel mundial fue de 5.430.365 toneladas, siendo Asia el principal productor con un 90,3%, seguido de Europa con un 6,7% (Fao.org, 2018).

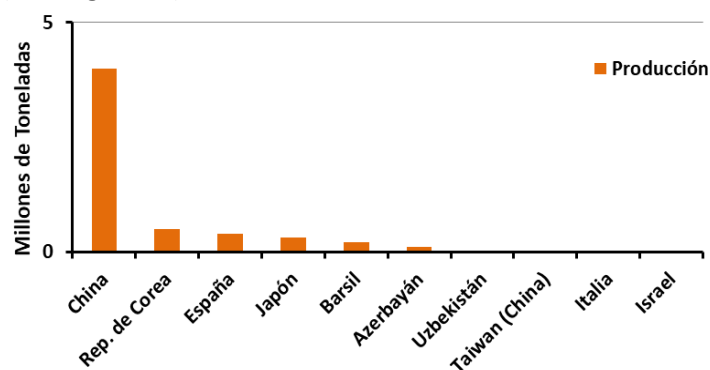


Figura 1. Principales países productores de caqui a nivel mundial, año 2016. Adaptado de Fao.org, 2018.

Desde un punto de vista comercial, las variedades de caqui se dividen en astringentes (Rojo Brillante, Triumph, Tomatero, etc.) y no astringentes (Fuyu, Hana-Fuyu, Jiro, etc.). La astringencia está relacionada con el contenido y la solubilidad de los taninos, por lo que en las variedades no astringentes los taninos están insolubilizados, lo que permite el consumo sin necesidad de tratamiento postcosecha y sin alcanzar la maduración fisiológica. Por su parte, las variedades astringentes presentan un elevado contenido en taninos solubles, que disminuye a medida que se alcanza la maduración (Hernández, 1999).

En España, la variedad más importante actualmente, tanto en términos de producción como de comerciabilidad, es la conocida como “Rojo Brillante”, que además es la única reconocida por la Denominación de Origen Kaki Ribera del Xúquer (Valencia, España) (Martínez-Las Heras *et al.*, 2017a). La mayor parte de la producción se comercializa bajo la marca registrada “Persimon”, con una alta firmeza y sin astringencia (Arnal y Del Río, 2003). No obstante, esta es una variedad astringente, por lo que antes de la comercialización, los frutos se someten a un tratamiento de desastringencia postcosecha, basado en la exposición de la fruta a una alta concentración de CO₂. Las condiciones óptimas establecidas para asegurar la eliminación de la astringencia en el caqui “Rojo Brillante” son 95% de CO₂ durante 24 h a 20 °C y 90% de humedad relativa (Salvador *et al.*, 2007). La efectividad de este método radica en la insolubilización de los taninos por el acetaldehído, generado por la respiración anaeróbica en la fruta que se desencadena cuando está expuesta a una atmósfera de alto contenido en CO₂ (Arnal y Del Río, 2003).

El fruto de esta variedad es una baya provista de un pedúnculo leñoso que termina en un cáliz cuadrilobulado. Es de tamaño medio-grueso, de forma oblonga y con sección transversal circular (figura 2). En la recolección es de color amarillo-anaranjado, mientras que, tras la maduración es rojo-anaranjado.



Figura 2. Fruto de caqui, variedad “Rojo Brillante”. Fuente: Martínez Las Heras, 2016

La industria alimentaria y, en particular, la industrialización de frutas y hortalizas genera anualmente una gran cantidad de residuos orgánicos y subproductos, que suelen estar infravalorados al emplearse como fertilizante o destinarse a alimentación animal. Sin embargo, la mayor parte de estos desechos agroindustriales, tales como cortezas y pieles, pulpas y semillas, tienen un elevado contenido en compuestos bioactivos, en muchas ocasiones incluso mayor al del fruto entero (Ayala-Zavala *et al.*, 2011). Por este motivo, revalorizar estos desechos y reintroducirlos en la cadena alimentaria es una opción interesante y necesaria para asegurar la sostenibilidad de la industria alimentaria y contribuir a la economía circular. De hecho, muchos de estos subproductos se podrían utilizar para obtener ingredientes funcionales que permitan mejorar la calidad, aspecto o textura de los alimentos, ya que son una fuente de antioxidantes naturales, compuestos antimicrobianos, colorantes y aromatizantes (Ayala-Zavala *et al.*, 2011). Entre los compuestos bioactivos presentes en la piel de caqui destacan los compuestos antioxidantes (polifenoles, flavonoides, carotenoides), la fibra dietética, minerales y vitaminas (Kim *et al.*, 2005b).

En el caso particular del caqui, la creciente industrialización del caqui “Rojo Brillante”, genera una gran cantidad de residuos que pueden dar lugar a problemas medioambientales (Akter *et al.*, 2010). Por un lado, se generan desechos procedentes de piezas de destrío y excedentes de mercado, a partir de los cuales se están desarrollando nuevos productos como batidos (Hernández-Carrión *et al.*, 2015), zumos (González *et al.*, 2015), complemento en dulces (Kim *et al.*, 2005a) o rodajas de caqui deshidratado (Doymaz, 2012). Por otro, la mayoría de residuos de caqui corresponde a la piel y el cáliz, que otros autores han propuesto para la producción de vino y vinagre (Ubeda *et al.*, 2011), o para la extracción de fibras para su uso como aditivo (Martínez-Las Heras, 2016).

Es en la piel de caqui donde reside la mayor concentración de compuestos antioxidantes (Gorinstein *et al.*, 1998) útiles para combatir ciertas enfermedades, dado que este tipo de compuestos es capaz de evitar o retrasar el daño oxidativo (Pérez-Burillo *et al.*, 2018). La piel del caqui suscita gran interés debido a su composición química, habiéndose atribuido a sus componentes un efecto beneficioso para la salud por sus efectos antimutagénicos, antiinflamatorios, inmunomoduladores y quimiopreventivos (Yaqub *et al.*, 2016). Además, los compuestos antioxidantes presentes en el caqui se han relacionado con la protección frente a enfermedades crónicas como la hipercolesterolemia, la diabetes, el cáncer o la hipertensión, entre otras (Pérez-Burillo *et al.*, 2018). No obstante, es necesario hacer hincapié en que la composición química del caqui puede variar dependiendo de la variedad, ya que sus propiedades cambian según las condiciones climáticas, tiempo de cultivo y procesado, entre otras variables (Pérez-Burillo *et al.*, 2018).

La fibra dietética presente en el caqui, es otro de los compuestos interesantes con respecto a la formulación de alimentos funcionales, ya que también aporta efectos beneficiosos sobre la salud: disminuye el colesterol, favorece el tránsito intestinal y los niveles glucémicos, entre otros (Dhingra *et al.*, 2011). Las dietas con un alto contenido en fibra (ricas en cereales, frutas y verduras) se asocian con la disminución de la incidencia de enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2 y ciertos tipos de cáncer (Dahl y Stewart, 2015). Dentro de la fibra dietética algunos tipos de fibra presentan la capacidad de proporcionar un efecto beneficioso por estimular de forma selectiva el crecimiento de determinadas bacterias probióticas. Este tipo de fibras, clasificadas generalmente dentro de la fibra soluble y fermentable (inulina, gomas, pectinas, oligosacáridos), se conocen como compuestos

prebióticos (Slavin, 2013). Se trata de compuestos no digeribles que llegan al colon y, una vez allí, aportan energía, metabolitos y micronutrientes estimulando el crecimiento selectivo de determinadas especies beneficiosas de la microbiota intestinal (Corzo *et al.*, 2015).

Los probióticos son típicamente bacterias de las especies *Lactobacillus* o *Bifidobacterium* que residen en la microbiota intestinal. El estrés, los cambios en la dieta, el tratamiento con antibióticos o las infecciones intestinales afectan a la microbiota intestinal (Gueniche *et al.*, 2009), encargada de ciertas funciones fundamentales, tales como: ayudar al desarrollo del sistema inmune intestinal, proteger frente a patógenos infecciosos, sintetizar vitaminas y aminoácidos esenciales, degradar polisacáridos complejos derivados de la dieta y mantener la homeostasis intestinal. Problemas relacionados con alguna de las funciones anteriores, pueden contribuir al desarrollo de enfermedades autoinmunes (Clemente *et al.*, 2018). Por ello, los probióticos contribuyen a la funcionalidad de los alimentos, puesto que, tras la ingestión pasan a formar parte de forma transitoria de la microbiota intestinal, ejerciendo un efecto beneficioso (Gueniche *et al.*, 2009). Entre sus efectos positivos para la salud destacan que mantienen el sistema inmune del hospedador y limitan la presencia de patógenos (Abdollahi-Roodsaz *et al.*, 2016). Generalmente, los probióticos se comercializan incluidos en alimentos lácteos, como el yogur u otras leches fermentadas, pero la evidencia clínica de sus beneficios sobre la salud, así como las demandas de los consumidores de productos probióticos sin lactosa o de origen vegetal, ha propiciado la incorporación de los probióticos en alimentos no lácteos y alimentos deshidratados (Vesterlund *et al.*, 2012; Granato *et al.*, 2010; Rivera-Espinoza y Gallardo-Navarro, 2010).

1.2. POLVOS DE BAGAZOS DE FRUTAS COMO INGREDIENTE SOSTENIBLE Y FUNCIONAL.

Los polvos alimentarios son uno de los productos más importantes en la industria alimentaria. Algunos de los que se encuentran disponibles en el mercado son: alimentos para bebés, café, extracto de té o hierbas, saborizantes, dulces, sopas, especias, polvos vegetales, etc. (Chen y Patel, 2008). En la industria, los polvos se pueden considerar como productos finales (azúcar, sal, café, especias, leche en polvo...) y también, como ingredientes para productos alimenticios (frutas, huevos, leche, cereales, etc.) (Murrieta-Pazos *et al.*, 2012). Los alimentos en polvo presentan grandes ventajas debido a su estabilidad fisicoquímica y microbiológica, además de mejorar las propiedades reológicas de los alimentos y aportar cualidades organolépticas. Asimismo, los alimentos en polvo son fáciles de conservar, transportar y almacenar (Cuq *et al.*, 2013), y fácilmente dosificables.

En los últimos años, los polvos de frutas y vegetales se han convertido en una nueva forma de consumir estos alimentos y su fabricación ha suscitado un creciente interés (Karam *et al.*, 2016; Neacsu *et al.*, 2015). Se trata de productos con propiedades beneficiosas para la salud que se presentan en forma concentrada y muy versátil, con posibilidad de ser utilizados de forma sencilla y rápida como aditivo, aliño o ingrediente funcional para la formulación de alimentos. La fabricación de polvos a partir de los subproductos de industrialización de frutas puede emplearse con fines similares, con la ventaja de estar convirtiendo un material de desecho en un ingrediente funcional estable, con un alto valor añadido. Este trabajo de investigación se enmarca en esta línea y ha sido financiado por el proyecto AICO/2017/049 "Desarrollo tecnológico del proceso de obtención de polvos para uso alimentario y con propiedades funcionales a partir de subproductos de mandarina, caqui y arándano" que tiene como finalidad obtener polvos de uso alimentario a partir de subproductos de mandarina, caqui y arándano, y valorar sus aplicaciones (ingredientes con compuestos bioactivos, colorantes, saborizantes o conservantes naturales, desarrollo de nuevos productos, emulsionantes, etc.).

1.3 INFLUENCIA DEL PROCESADO (SECADO Y MOLIENDA) EN LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y FUNCIONALES DE LOS POLVOS.

Respecto al proceso de obtención de los polvos de fruta o bagazos, el procedimiento a seguir es diferente en función de la fruta u hortaliza, pero generalmente, se realizan etapas de lavado, triturado y secado (Neacsu *et al.*, 2015). Desde el punto de vista tecnológico, el desarrollo de polvos con unas propiedades finales adecuadas exige determinar la forma y las condiciones en las que se llevan a cabo las operaciones de secado y molienda y, controlar a través de diferentes aproximaciones, la forma en la que estas afectan a las propiedades funcionales del polvo finalmente obtenido.

El secado es uno de los métodos más utilizados en la conservación de alimentos, pues la eliminación del agua conlleva una reducción de la disponibilidad de la misma para participar en las reacciones de deterioro que afectan a la calidad del producto (Karam *et al.*, 2016). Así pues, todos los métodos de deshidratación tienen como finalidad última reducir la actividad del agua (a_w) del producto, parámetro termodinámico que mide su disponibilidad para participar en las reacciones físicas, químicas o microbiológicas responsables del deterioro. Varios métodos de secado están disponibles y se utilizan habitualmente en la industria alimentaria, entre otros, el secado por atomización, secado por aire caliente, secado a vacío, secado por microondas o la liofilización. Cada método opera bajo diferentes condiciones, por lo que las propiedades fisicoquímicas del polvo de fruta variarán según el método empleado (Saifullah *et al.*, 2016).

En particular, en el **secado por aire caliente** el producto se expone a una corriente de aire caliente con una humedad relativa menor a la actividad del agua del producto. El gradiente de a_w (Δa_w) generado por esta diferencia entre la humedad relativa del aire y la actividad del agua del producto, promueve mecanismos de transferencia de materia que se acoplan con mecanismos de transferencia de calor como consecuencia de la evaporación (Fito *et al.*, 2001), y que conllevan una disminución de la humedad del producto y, en última instancia, la reducción de su a_w y el aumento de su vida útil. El secado por aire caliente se suele llevar a cabo a temperaturas relativamente elevadas (60 °C o incluso superiores) lo que en muchos casos ocasiona la pérdida de los compuestos bioactivos presentes en la materia prima. No obstante, se debe tener en cuenta que la temperatura del producto no será superior a la temperatura de saturación adiabática del aire mientras el producto esté lo suficientemente húmedo y el proceso se encuentre en su periodo de velocidad de secado constante, gobernado por la velocidad con la que el agua se evapora de la superficie del producto. Sin embargo, la temperatura del producto aumentará, acercándose cada vez más a la temperatura del aire de secado, una vez superado un valor de humedad crítica. En este momento el proceso entra en el periodo de velocidad de secado decreciente, en el cual la transferencia de materia está gobernada por la velocidad a la que el agua se transfiere (por difusión u otros mecanismos) a través del alimento, y la temperatura del producto aumenta.

Además de la posible degradación térmica de los compuestos bioactivos, la temperatura también es responsable de cambios en las propiedades ópticas del producto debido al desarrollo de reacciones de pardeamiento (reacciones de Maillard) que provocan cambios importantes en el color de los alimentos. Por otro lado, el secado por aire caliente es responsable de cambios estructurales importantes en los productos deshidratados (Karam *et al.*, 2016). El flujo de agua que abandona el producto provoca fenómenos de deformación irreversibles, que alteran sensiblemente la estructura del alimento, produciéndose importantes cambios microestructurales, tales como el encogimiento celular, y macroestructurales, como puede ser una reducción significativa del volumen de las muestras.

Por su parte, la **liofilización** es un método de secado que permite conservar en mayor medida las propiedades del producto que se está deshidratando. Durante la liofilización, la mayor parte del agua se elimina por sublimación, lo que implica trabajar por debajo del punto triple del agua, es decir, en condiciones de vacío y a temperaturas de congelación. Estas condiciones permiten limitar las reacciones de deterioro debido a la limitación de oxígeno y a las bajas temperaturas. El éxito de la

operación de liofilización se basa en la congelación lenta previa a la sublimación, proceso por el cual se generarán canales ocupados por cristales macroscópicos de hielo, que durante la sublimación darán lugar a canales porosos por los que escapa el vapor de agua. La generación de estos canales porosos es responsable del aspecto final de los productos liofilizados, es decir, productos porosos que mantienen su volumen original. Dado que la sublimación solo permite eliminar el agua congelable del producto, una última etapa de desorción es necesaria para eliminar parte del agua no congelable y llegar a los valores de humedad deseados. La desorción se realiza en condiciones de vacío, pero a temperaturas por encima del punto triple del agua. Las condiciones en las que se lleva a cabo el secado por liofilización permite un producto de gran calidad que conserva en gran medida las características funcionales del producto original; no obstante, es considerado uno de los procesos más caros para la obtención de productos deshidratados debido al coste que implica mantener las condiciones de presión y temperatura a las que tiene lugar (Ratti, 2001).

El proceso de **molienda**, ampliamente utilizado en la industria alimentaria, consiste en la reducción del tamaño de partículas sólidas cuando son sometidas a fuerzas mecánicas en las que se produce una fractura entre las fuerzas de unión moleculares internas y las externas. Los métodos más utilizados para el procesado de polvos son: molienda convencional (con trituradoras, picadoras, etc.), micronización (tamaño de partícula menor a 10 μm) y trituración criogénica (Karam *et al.*, 2016). La molienda se puede llevar a cabo antes o después del secado, o bien antes y después del secado (Schweiggert *et al.*, 2007). Según algunos autores, existe una interdependencia entre ambas operaciones, puesto que el secado facilita la posterior molienda y, a su vez, la molienda facilita la evaporación del agua, reduciendo los tiempos de secado, siendo necesario alternar ambas operaciones para obtener polvos de calidad (Djantou *et al.*, 2011). Cabe destacar que el tamaño de partícula de los polvos puede influir de forma determinante en algunas de sus propiedades. Un menor tamaño de partícula supone una mayor área superficial, lo que aumenta la interacción de las partículas con el medio, favoreciendo la extracción de compuestos bioactivos. Esto repercute en una mejora de las propiedades antioxidantes, de hidratación y retención de agua, y de absorción de aceite (Raghavendra *et al.*, 2006; Martínez-Las Heras, 2016)

En definitiva, las condiciones utilizadas durante el procesado del polvo, tanto en relación al secado como a la molienda, pueden influir en gran medida en las características sensoriales, funcionales y nutricionales, así como en las propiedades mecánicas y estructurales del producto final (Karam *et al.*, 2016).

2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

El **objetivo principal** del presente Trabajo Final de Grado consiste en la caracterización del polvo de bagazo de caqui deshidratado resultante de combinar el secado por aire caliente o liofilización con la operación de molienda, a través del estudio de las propiedades fisicoquímicas y funcionales. Así mismo, se pretende determinar la factibilidad de utilizar el residuo de caqui como vehículo de *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius* y desarrollar un polvo con efecto probiótico.

Para la consecución del objetivo principal se plantearon los siguientes **objetivos particulares**:

1. Obtener polvos de bagazo de caqui con una a_w que asegure su estabilidad, mediante el empleo de las operaciones de secado por aire caliente a varias temperaturas y tiempos de secado, así como la liofilización, combinados con la operación de molienda.
2. Caracterizar los polvos obtenidos en relación a sus propiedades fisicoquímicas y funcionales, con el fin de valorar sus posibles usos como ingrediente funcional en alimentos.
3. Realizar una primera aproximación a la obtención de polvos probióticos de bagazo de caqui, tras el crecimiento del microorganismo *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius* previo a las operaciones de estabilización.

Para la consecución del objetivo planteado se estableció el siguiente **PLAN DE TRABAJO**:

1. Obtención de bagazo de caqui a partir de caqui de destrío, y congelación hasta los ensayos de secado.
2. Combinación de las operaciones de secado por aire caliente a 60 °C (10 y 20 h) y 70 °C (10 h) o liofilización, con la molienda (antes y después o únicamente después) para obtener un polvo con una a_w por debajo de 0,3.
3. Caracterización del bagazo fresco y de los seis tipos de polvo obtenidos en relación a su humedad, a_w , sólidos solubles, tamaño de partícula, propiedades ópticas y propiedades antioxidantes (fenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS).
4. Caracterizar determinados polvos seleccionados (SAC60_20, SAC70_10 y LIOF) con respecto a su contenido en fibra (hemicelulosa, celulosa y lignina), isoterma de sorción, volumen específico, solubilidad, propiedades de hidratación y retención de agua (higroscopicidad, humectabilidad, capacidad de hinchamiento y capacidad de atrapar y retener agua), y propiedades emulsionantes (capacidad de retención de aceite, la actividad emulsionante y la estabilidad emulsionante).
5. Estudio del crecimiento de *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius* en bagazo de caqui triturado.
6. Obtención de polvo de bagazo de caqui enriquecido con *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius* mediante crecimiento del microorganismo y posterior estabilización por secado por aire caliente o liofilización y triturado.
7. Valoración del éxito del procesado a través de la caracterización de los polvos probióticos en términos de humedad, a_w , y propiedades antioxidantes (contenido en fenoles totales y actividad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS), así como a través de la evaluación de la viabilidad del microorganismo.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. OBTENCIÓN DE POLVOS DE PIEL DE CAQUI

3.1.1. Materia prima y procesos de obtención

3.1.1.1. Materia prima

Para este trabajo, se destinaron 50 kg de caquis frescos de destrío de la variedad “Rojo Brillante” que no habían sido sometidos a tratamiento de desastringencia, facilitados por la Cooperativa de Benaguasil. Primeramente, los caquis se lavaron con agua con la finalidad de eliminar cualquier compuesto o microorganismo no deseables presentes en la piel (Akter *et al.*, 2010). A continuación, se pelaron para separar la piel y el cáliz, de forma que se almacenaron en bolsas y se congelaron a -20 °C, para la posterior obtención del polvo.

3.1.1.2. Procedimientos de obtención del polvo de bagazo de caqui

Los procedimientos de obtención de polvo de bagazo de caqui se resumen en las **figuras 3 y 4**. La piel de caqui conservada en congelación se descongeló en las mismas bolsas en las que había sido congelada, dentro de un baño de agua termostataado a 50 °C (P. Selecta, Abrera, España). A continuación, la piel de caqui se sometió a varios procesos combinando operaciones de molienda y secado, con el fin de obtener diferentes polvos y evaluar sus características. Con respecto al secado, se utilizaron el secado por aire caliente (SAC) y la liofilización (LIOF), con el fin de reducir la a_w de las muestras por debajo de 0,3. Con respecto a la molienda, todas las temperaturas de secado y la liofilización se combinaron con dos moliendas, la primera pre-secado con el fin de desestructurar la piel, y la segunda post-secado con el fin de obtener el polvo (figura 3). Además, el SAC a 70 °C también se combinó con una única molienda, posterior al secado (figura 4), de modo que la muestra introducida en el secador correspondía a la piel entera, sin triturar. La elección de las variables de secado y molienda, se basó en estudios previos realizados en el mismo laboratorio (Roig, 2017; Sáez, 2017), así como en pruebas preliminares, siempre con el fin de conseguir reducir la a_w por debajo del 0,3 en los productos finales, y así asegurar la estabilidad del polvo deshidratado.

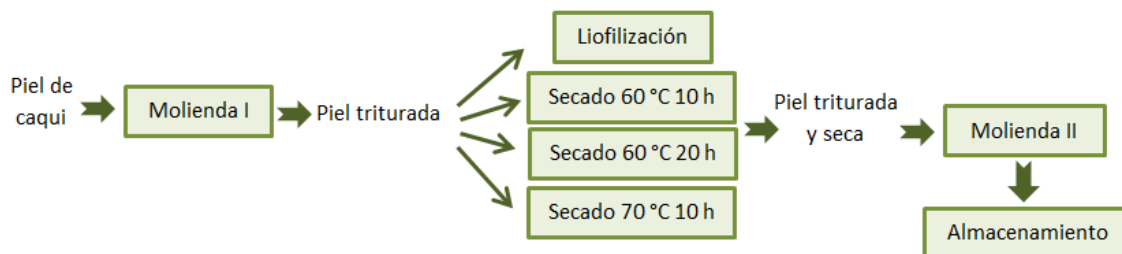


Figura 3. Diagrama de flujo del proceso de obtención de polvo de piel de caqui, a partir de dos moliendas y dos métodos de secado (liofilización y secado por aire caliente).

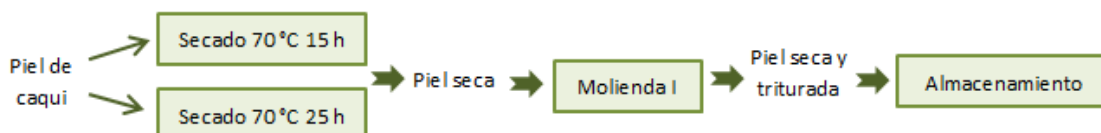


Figura 4. Diagrama de flujo del proceso de obtención de polvos de bagazo de caqui, a partir de una molienda y un método de secado (secado por aire caliente a 70 °C).

En los procesos en los que se llevaron a cabo dos moliendas (figura 3), se realizó un primer triturado en el procesador Thermomix® (Vorwerk, España) a 5000 rpm durante 4 s previo al secado. Tras esto, se fijaron distintas condiciones de secado por aire caliente, según se indica en la figura. Para el secado por aire caliente, la piel triturada se distribuyó homogéneamente en rejillas de plástico y se introdujeron en un secador convectivo (Pol-ekoAparatura, Katowice, Polonia), donde se secaron a 60

°C durante 10 h, 60 °C durante 20 h, o bien 70 °C durante 10 h. Para la liofilización, la piel triturada se distribuyó de forma homogénea en bandejas de aluminio, que se congelaron a -40 °C (18 h) y se liofilizaron (Liofilizador Telstar, modelo Lioalfa-6) en condiciones de congelación y presión subatmosférica ($P = 10^{-1}$ mbar), por debajo del punto triple del agua, para asegurar la eliminación por sublimación del agua congelable del producto. El ciclo completo de liofilización, incluyendo la sublimación y la desorción, se prolongó durante 24 h. Tras el secado, se llevó a cabo una segunda molienda en el procesador Thermomix® a 10000 rpm durante 20 segundos, para obtener el polvo definitivo. Finalmente, los polvos de piel de caqui se almacenaron en tarros de cristal cerrados y recubiertos con papel de aluminio para asegurar su conservación durante el tiempo en que se realizaron los análisis.

En aquellos procesos que combinan SAC y una única molienda (figura 4), la piel entera se colocó homogéneamente en rejillas de plástico, que se introdujeron en el secador convectivo (Pol-eKoAparatura, Katowice, Polonia), a 70 °C, durante 15 y 25 h. Posteriormente, se realizó la molienda en Thermomix® a 10000 rpm durante 25 s, tras la cual se obtuvo el polvo. Finalmente, al igual que en los casos anteriores, se almacenaron ambas muestras en tarros de cristal cerrados y recubiertos con papel de aluminio.

A partir de este momento, los polvos obtenidos por cada uno de los procedimientos descritos pasarán a identificarse con las siguientes abreviaturas, con la intención de facilitar la lectura del trabajo:

SAC60_10: Secado por aire caliente a 60 °C - 10 h. Molienda pre- y post-secado.

SAC60_20: Secado por aire caliente a 60 °C - 20 h. Molienda pre- y post-secado.

SAC70_10: Secado por aire caliente a 70 °C - 10 h. Molienda pre- y post-secado.

SAC70PE_15: Secado por aire caliente a 70 °C - 15 h de Piel Entera. Molienda post-secado.

SAC70PE_25: Secado por aire caliente a 70 °C - 25 h de Piel Entera. Molienda post-secado.

LIOF: Secado por liofilización. Molienda pre- y post-secado.

3.1.2. Determinaciones analíticas

La piel de caqui y los polvos obtenidos se caracterizaron fisicoquímicamente en términos de humedad, actividad del agua, sólidos solubles totales, tamaño de partícula, propiedades ópticas y propiedades antioxidantes. En base a los resultados obtenidos, se seleccionaron los tratamientos SAC60_20, SAC70_10 y LIOF, y se completó la caracterización de estos polvos mediante el análisis del contenido en fibra, el volumen específico, las isotermas de sorción, la solubilidad, las propiedades de hidratación y retención de agua y las propiedades emulsionantes. A continuación, se describe la metodología empleada para cada determinación. Todos los análisis se efectuaron por triplicado.

3.1.2.1. Humedad

La humedad se determinó siguiendo el procedimiento gravimétrico de doble pesada para alimentos ricos en azúcares (AOAC 934.06, 2000), basado en la eliminación del agua de la muestra por secado en estufa a vacío. Para ello, se introdujeron las muestras en crisoles que se secaron a 60 °C en una estufa a vacío (Vaciotem, J.P. Selecta, Barcelona, España) hasta alcanzar peso constante. Todas las pesadas se obtuvieron con una balanza de 1 mg de precisión (Mettler Toledo Inc., Barcelona, España). La humedad (en porcentaje) de las muestras se calculó a partir de la **ecuación 1**.

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{M_{0+mh} - M_{0+ms}}{M_{0+mh} - M_0} \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde:

M_0 : masa del crisol vacío (g)

M_{0+mh} : masa del crisol y de muestra húmeda, antes del secado (g).

M_{0+ms} : masa del crisol y de la muestra tras el secado en estufa a vacío (g).

3.1.2.2. Actividad del agua (a_w)

La actividad del agua (a_w) se determinó con un higrómetro de punto de rocío (Aqualab 4TE; Decagondevices Inc., Pullman WA, USA) con una precisión de $\pm 0,003$ y una temperatura de $25\text{ }^\circ\text{C}$, calibrado previamente con disoluciones saturadas de referencia.

3.1.2.3. Sólidos solubles totales (x_{ss})

Los sólidos solubles totales fueron obtenidos por refractometría a través de la medida de los grados Brix que indican la cantidad de sólidos solubles disueltos en 100 gramos de fase líquida. La medida de los grados Brix de las muestras se realizó a partir del extracto acuoso obtenido aplicando una relación 1:10 (m/v) y utilizando agua destilada como disolvente. Los grados Brix se leyeron gracias a un refractómetro de mesa termostataado a $20\text{ }^\circ\text{C}$ (AbbeAtago, 3-T, Japón) de acuerdo con el método ISO 1743:1982. El resultado obtenido en grados Brix se transformó a fracción másica de sólidos solubles (x_{ss}), a partir de la **ecuación 2**.

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

Donde:

x_{ss} : fracción másica de sólidos solubles (gss/gmuestra)

x_w : humedad de la muestra (gw/gmuestra)

m_w : cantidad de agua añadida para la extracción (10 g)

3.1.2.4. Tamaño de partícula

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

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

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

3.1.2.5. Propiedades ópticas

El objetivo de la colorimetría es la descripción numérica de los colores, de tal manera que permite una comunicación rápida y objetiva de la información de color (Broadbent, 2017). Una forma de cuantificar el color consiste en emplear el espacio de color conocido como CIELAB, el cual está desarrollado a partir de la transformación de las coordenadas X, Y y Z en coordenadas colorimétricas que representan la percepción humana del color (Gonnet, 1998). Estas coordenadas son: L^* , a^* , b^* , C_{ab}^* y h_{ab} . El valor de L^* da una medida de la luminosidad y varía entre 100 (blanco perfecto) y 0 (negro perfecto). Las coordenadas a^* y b^* forman un plano perpendicular a L^* , e indican las direcciones del color; definiéndose a^* como la desviación hacia el rojo para valores positivos y hacia el verde para

negativos, y b^* como la desviación hacia el amarillo para valores positivos y hacia el azul para negativos. La posición del punto que representa un color también se puede definir usando coordenadas cilíndricas, siendo C_{ab}^* (croma o saturación) la distancia radial desde el centro por el eje vertical blanco-negro; y h_{ab} (tono), el ángulo relativo medido desde el eje a^* positivo. La relación entre C_{ab}^* o h_{ab} con los parámetros a^* y b^* viene descrita por las ecuaciones 3 y 4, respectivamente (Broadbent, 2017).

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (\text{Ec. 3})$$

$$h_{ab} = \arctg \frac{b^*}{a^*} \quad (\text{Ec. 4})$$

Así pues, las propiedades ópticas de las muestras se determinaron a partir de las coordenadas de color CIELAB con un espectrocolorímetro (MINOLTA modelo CM-1000R) por reflectancia, utilizando el iluminante D65 y un ángulo de observador de 10° como referencia. El equipo se calibró con una cerámica blanca y una cámara negra suministrados por el fabricante. Las diferentes muestras se colocaron en una cubeta de metacrilato transparente de 25 mL con 2 cm de espesor.

3.1.2.6. Propiedades antioxidantes

Para poder realizar las determinaciones de compuestos antioxidantes, se procedió a realizar una extracción de los compuestos antioxidantes utilizando una disolución de metanol al 80% (v/v) en agua bidestilada como disolvente, y una relación de extracción 1:10 (m/v). La mezcla se mantuvo en agitación durante 1 h (agitador horizontal COMECTA WY-100). A continuación, el extracto se centrifugó durante 5 min a 13000 rpm (Medifriger BL-S, P-Selecta), tomándose muestras del sobrenadante para los ensayos.

3.1.2.6.1. Contenido en fenoles totales

Para determinar el contenido en fenoles totales las muestras se analizaron espectrofotométricamente, utilizando el método modificado de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999; Wolfe *et al.*, 2003), que mide la intensidad de coloración producida por la interacción entre el reactivo y los compuestos fenólicos, a una longitud de onda de 760 nm. Tras la fase de extracción, y después de varias pruebas, se determinó preparar las siguientes diluciones para cada muestra: 1:50 (v/v) para el polvo liofilizado, 1:30 (v/v) para el resto de polvos, y 1:20 (v/v) para el bagazo fresco.

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

3.1.2.6.2. Contenido en flavonoides totales

La determinación de flavonoides totales se realizó siguiendo el método colorimétrico modificado del cloruro de aluminio (AlCl_3) (Luximon-Ramma *et al.*, 2002). Tras la extracción de los compuestos, se realizaron las mismas diluciones que para el ensayo de fenoles totales. A partir de las diluciones, se mezclaron 1,5 mL de la muestra diluida con 1,5 mL de solución de AlCl_3 (2% m/v en metanol) que reacciona con los flavonoides desarrollándose un color amarillo. La reacción se dejó durante 30 minutos, tras los que se midió la absorbancia a 368 nm con un espectrofotómetro Helios Zeta UV/Vis (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Se realizó un blanco sustituyendo la

muestra por metanol al 80% en agua bidestilada. Los resultados de absorbancia se compararon con una curva patrón de quercetina (pureza $\geq 95\%$; Sigma-Aldrich) en el intervalo de concentraciones comprendido entre 0 y 0,2 g/L. El contenido en flavonoides totales se expresó en miligramos de quercetina equivalentes por gramo de materia seca (mg QE/g ms).

3.1.2.6.3. Capacidad antioxidante: DPPH y ABTS

La actividad antioxidante se evaluó siguiendo los métodos de radicales libres DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) y ABTS (ácido 2,20-azobis-3-etil benzotiazolin-6-sulfónico). Antes de realizar estos ensayos se procedió a la extracción de los antioxidantes contenidos en las diferentes muestras susceptibles de analizar, tal y como se ha comentado anteriormente. Tras esto, y después de varias pruebas, se determinó preparar una dilución 1:100 en agua bidestilada (v/v) para todas las muestras.

La capacidad antioxidante por el **método del radical DPPH** se determinó siguiendo el análisis descrito por Shahidi *et al.* (2006) con algunas modificaciones. Se basa en el cambio de absorbancia/coloración de la solución púrpura de DPPH, cuando reacciona con un compuesto antioxidante, que se mide espectrofotométricamente a 515 nm (Martínez-Las Heras *et al.*, 2017a). Para ello, en cada cubeta se adicionaron 0,1 mL de la muestra diluida y 2,9 mL de la disolución 0,06 mM de DPPH en metanol. La mezcla se dejó reaccionar durante 2 h, midiendo la absorbancia cada cierto tiempo con un espectrofotómetro (Helios Zeta UV/Vis, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Como referencia se analizó un blanco sustituyendo la muestra por metanol al 80% en agua bidestilada.

Los resultados se obtuvieron a partir del cálculo del porcentaje de inhibición (I%) del radical libre (**ecuación 5**), expresados como miligramos de trólox equivalentes por gramo de materia seca (mg TE/g ms), obtenidos a partir del porcentaje de inhibición para el antioxidante de referencia trólox (pureza $\geq 97\%$; Sigma-Aldrich) en el intervalo de concentraciones comprendido entre 0 y 400 mg/L.

$$I(\%) = \frac{A_B - A_M}{A_B} \times 100 \quad (\text{Ec. 5})$$

Donde:

I (%): porcentaje de inhibición del DPPH.

A_B: absorbancia del blanco.

A_M: absorbancia de las muestras.

La capacidad antioxidante por el método **ABTS o TEAC** (de las siglas en inglés Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) se llevó a cabo de acuerdo a Re *et al.* (1999), basado en la capacidad que tienen los compuestos antioxidantes de reaccionar con el radical ABTS⁺, el cual se obtiene tras la reacción del ABTS con persulfato potásico. Para ello, se preparó una disolución de ABTS 7 mM (pureza $\geq 99\%$; Sigma-Aldrich) en persulfato potásico al 2,45 mM, que permaneció en oscuridad durante 16 h y a temperatura ambiente, con la finalidad de liberar el radical ABTS⁺. A continuación, la disolución se diluyó en tampón fosfato hasta obtener una absorbancia a 734 nm de 0,70 \pm 0,02. A continuación, en cada cubeta de espectrofotómetro, se añadieron 90 μ l de la muestra diluida (dilución 1:200 para polvo liofilizado y 1:100 para el resto de muestras) y 2,9 mL de la disolución ABTS⁺ en tampón fosfato. Las absorbancias se midieron a 734 nm durante los minutos 1, 5 y 10 de reacción, tomándose el tiempo 10 min como definitivo. Como referencia se analizó un blanco sustituyendo la muestra por metanol al 80% en agua bidestilada.

Los resultados obtenidos se expresaron como miligramos de trólox equivalentes por gramo de materia seca (mg TE/g ms), utilizando la recta de calibrado de trólox (C₁₄H₁₈O₄) (pureza $\geq 97\%$; Sigma-Aldrich) como antioxidante estándar de referencia, para el intervalo de concentraciones comprendido entre 0 y 500 mg/L.

3.1.2.7. Contenido en fibra

Para el análisis del contenido en fibra se empleó el método descrito por Van Soest (Mertens, 2002). Con este ensayo se determinó la FND (Fibra Neutro-Detergente) que es la proporción del alimento insoluble en una disolución del detergente neutro sulfato de lauril-sodio a pH 7, cuyo valor incluye la lignina, la celulosa y la hemicelulosa. Además, se evaluó la FAD (Fibra Ácido-Detergente) que es la proporción del alimento insoluble en una solución detergente en medio ácido, y que corresponde a la celulosa y lignina. Por último, se halló el valor de FDL (Lignina con Detergente Ácido), que indica el valor de la lignina pura que se obtiene incorporando a las fibras insolubles ácido sulfúrico al 72% después de 3 h de contacto. Con estos parámetros, se pudo calcular la cantidad de hemicelulosa (fracción menos lignificada y más digerible), la cantidad de celulosa y lignina (correspondiente a la fibra insoluble), y la fibra dietética total. El contenido de cada fracción se expresó en porcentaje y en base seca.

3.1.2.8. Isotermas de sorción

Las isotermas de sorción se obtuvieron siguiendo el método gravimétrico estático propuesto por Wolf *et al.* (1985). Para ello, las muestras se colocaron en crisoles (por triplicado) que se pesaron y se introdujeron en cámaras cerradas junto a disoluciones saturadas de diferentes sales de a_w conocida, cubriendo el intervalo 0,1-0,9 (tabla 1). Además, para prevenir una posible contaminación por hongos, en las cámaras con una sal de $a_w \geq 0,5$ se añadió una disolución saturada de timol (PANREAC QUÍMICA S.A., Barcelona, España). Las diferentes muestras fueron pesadas cada semana hasta que se alcanzó un peso constante, ya que es entonces cuando se alcanza el equilibrio con la atmósfera creada dentro de la cámara, igualándose la a_w de las muestras con la humedad relativa del ambiente. Durante el tiempo de ensayo las cámaras se mantuvieron en un lugar con ausencia de luz para evitar la oxidación de producto, y a temperatura constante de 25 °C. En el equilibrio, se obtuvo la humedad en base seca para cada muestra y se modelizaron los datos de sorción mediante los modelos BET y GAB, de amplio uso en alimentos (Martínez Navarrete *et al.*, 1998).

Tabla 1. Sales empleadas para la obtención de las isotermas de sorción con sus respectivas actividades de agua (Greenspan, 1977).

Sal	LiCl	CH ₃ COOK	MgCl ₂	K ₂ CO ₃	Mg(NO ₃) ₂	NaCl	KCl	BaCl ₂
a_w	0,1	0,23	0,3	0,43	0,5	0,7	0,85	0,9

El modelo de BET desarrollado por Brunauer, Emmet y Teller, es considerado como el modelo básico de fisiorción y el más popular en la caracterización de la sorción de agua en alimentos. Una de las limitaciones de este modelo es que los datos solo se ajustan adecuadamente al intervalo de actividades de agua de 0 a 0,55. Este modelo se expresa siguiendo la **ecuación 6** (Martínez Navarrete *et al.*, 1998).

$$w_e = \frac{w_0 \cdot C \cdot a_w}{(1 - a_w) \cdot (1 + (C - 1) \cdot a_w)} \quad (\text{Ec. 6})$$

Donde:

w_e : humedad de equilibrio (g de agua/g materia seca).

a_w : actividad del agua.

w_0 : humedad del producto correspondiente a una capa monomolecular de agua adsorbida (g de agua/g materia seca).

C: constante característica del material relacionada con el calor desprendido en el proceso de sorción.

En relación al modelo de GAB, propuesto por Guggenheim, Anderson y De Boer, se basa en el modelo anterior, pero se puede aplicar al intervalo completo de actividades de agua, de 0 a 0,9 (Telis *et al.*, 1999). Matemáticamente se describe por tres parámetros y se expresa a partir de la **ecuación 7** (Martínez-Navarrete *et al.*, 1998).

$$W_e = \frac{w_0 \cdot C \cdot K \cdot a_w}{(1 - K \cdot a_w) \cdot (1 + (C - 1) \cdot K \cdot a_w)} \quad (\text{Ec. 7})$$

Donde:

w_e : humedad de equilibrio (g de agua/g materia seca).

a_w : actividad del agua.

w_0 : humedad de la monocapa (g de agua/g materia seca).

C: constante de Guggenheim, característica del producto y relacionada con el calor de sorción de la monocapa.

K: factor de corrección relacionado con el calor de sorción de la multicapa.

3.1.2.9. Volumen específico

Para la determinación del volumen específico de los diferentes polvos de caqui, se midió el volumen ocupado por 5 g de cada muestra en una probeta graduada de 10 mL.

3.1.2.10. Solubilidad

La solubilidad se determinó a partir del método descrito por Mimouni *et al.* (2009), basado en la obtención de la fracción másica de los sólidos disueltos (SD) en la muestra hidratada; los cuales se calculan como el cociente entre los sólidos solubles (SS) y los sólidos totales (ST), tal y como se indica en la **ecuación 8**.

$$SD = \frac{SS}{ST} \quad (\text{Ec. 8})$$

Para determinar los ST, se preparó una disolución de 1 g de muestra en 50 mL de agua destilada. De esta disolución se tomaron 20 g en un vaso de precipitados que se mantuvo en agitación para obtener una disolución homogénea. A continuación, las diferentes muestras se introdujeron en la estufa, primero, a presión atmosférica a 60 °C durante 24 h donde se eliminó parte de humedad y, después, en estufa a vacío a 60 °C durante 48 h para eliminar la mayor cantidad de agua posible (Vaciotem, P-SELECTA, Barcelona, España). Para obtener los SS, se tomó la misma cantidad de muestra y se centrifugó en refrigeración (4 °C) a 10000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se filtró a vacío con filtros Whatman N° 1 y se sometió al mismo proceso de secado descrito para los ST. Finalmente, las muestras se pesaron, tanto para ST como para SS, obteniéndose una variación de la masa tras el secado en estufa a vacío.

3.1.2.11. Propiedades de hidratación y retención de agua

3.1.2.11.1. Higroscopicidad

La higroscopicidad se explica como la capacidad que tiene el producto para absorber la humedad. Esta se determinó siguiendo el método propuesto por Cai y Corke (2000). Para ello, se pesó una cantidad conocida de cada una de las diferentes muestras de polvo, en crisoles de vidrio; y se introdujeron en una cámara junto con una disolución saturada de sulfato sódico (Na_2SO_4). Pasada una semana, a temperatura ambiente (25 °C), se pesaron las muestras para determinar la cantidad de agua que habían ganado. El resultado se expresó en g de agua/100 g de muestra.

3.1.2.11.2. Humectabilidad

Para precisar la humectabilidad, se pusieron en contacto 2 g de la muestra con 20 mL de agua destilada. Posteriormente, se determinó cuánto tiempo tardó esa cantidad de muestra en mojarse por completo.

3.1.2.11.3. Capacidad de hinchamiento (CH)

La capacidad de hinchamiento indica la medida de la relación del volumen ocupado cuando la muestra se sumerge en un exceso de agua, con la masa original de la muestra (Raghavendra *et al.*, 2006). Para determinar la CH se pesó 1 g de polvo de piel de caqui en un tubo cónico graduado y se

añadieron 10 mL de agua, dejándose hidratar a 25 °C durante 18 h. A continuación, se observó el volumen ocupado por la muestra hidratada, y se calculó la CH a partir de la **ecuación 9**:

$$CH \left(\frac{\text{mL}}{\text{g}} \right) = \frac{VM}{PM_0} \quad (\text{Ec. 9})$$

Donde:

VM: volumen ocupado por la muestra (mL).

PM₀: peso inicial de la muestra (g).

3.1.2.11.4. Capacidad de atrapar agua (CAA)

La capacidad de atrapar agua se explica como la cantidad de agua que es retenida por la muestra sin la aplicación de ninguna fuerza externa, exceptuando la gravedad y la presión atmosférica (Raghavendra *et al.*, 2006). Para su determinación, se pesaron 0,2 g de muestra, aproximadamente, en un tubo cónico graduado y se añadieron 10 mL de agua. Las muestras se dejaron 18 h a 25 °C, permitiendo así la hidratación. Posteriormente, se eliminó el sobrenadante, obteniendo así el peso del residuo húmedo o decantado; que seguidamente, se liofilizó obteniéndose el peso seco de la muestra (RL). Finalmente, la CAA se calculó como la relación entre la cantidad de agua que es retenida por el polvo y el peso seco de este tras liofilizar, a partir de la **ecuación 10**.

$$CAA \left(\frac{\text{g}}{\text{g}} \right) = \frac{RH-RL}{RL} \quad (\text{Ec. 10})$$

Donde:

RH: peso del residuo húmedo (g).

RD: peso del residuo liofilizado (g).

3.1.2.11.5. Capacidad de retención de agua (CRA)

La capacidad de retención de agua se define como la capacidad de una muestra para retener agua cuando se somete a una fuerza externa como la presión o la centrifugación (Martínez *et al.*, 2012), a diferencia de la CAA. Para ello, se pesó alrededor de 1 g de polvo en un tubo cónico de centrífuga y se añadieron 10 mL de agua. Las muestras se dejaron 18 h a 25 °C, permitiendo así la hidratación. Tras este tiempo, se centrifugó a 2000 rpm durante 30 minutos. Posteriormente, se descartó el sobrenadante, obteniéndose el peso del residuo decantado; que seguidamente, se liofilizó obteniéndose el peso seco de la muestra (RL). Finalmente, la CRA se calculó como la relación entre el agua retenida por el polvo y el peso seco del residuo, siguiendo la **ecuación 11**.

$$CRA \left(\frac{\text{g}_w}{\text{g}_R} \right) = \frac{W}{R} \quad (\text{Ec. 11})$$

Donde:

W: cantidad de agua retenida (g).

R: residuo seco (g).

3.1.2.12. Propiedades emulsionantes

3.1.2.12.1. Capacidad de retención de aceite

La capacidad de retención de aceite se determinó según el método definido por Garau *et al.* (2007). Para ello, se mezclaron las muestras (0,2 g aprox.) con 1,5 g de aceite de girasol, se dejaron durante una noche en reposo a temperatura ambiente, y luego, se centrifugaron a 1500xg durante 5 minutos. El sobrenadante se decantó y se pesó para obtener el peso del residuo. Por lo tanto, la capacidad de retención de aceite se evaluó en base al aumento de peso de la muestra y se expresó en g de aceite absorbido por g de muestra inicial.

3.1.2.12.2. Actividad emulsionante

La actividad emulsionante se midió por método de Yasumatsu *et al.* (1972). Para ello, se mezclaron 7 mL de disolución acuosa del polvo al 2% (m/v) con 7 mL de aceite de girasol, y se homogeneizaron durante 5 minutos a 2400 rpm con un Vortex (Reax top, Heidolph, Germany). A

continuación, la muestra se centrifugó a 10000 rpm durante 5 minutos, y se midió el volumen de emulsión formada a partir de la **ecuación 12**.

$$AE(\%) = \frac{VE}{V} \times 100 \quad (\text{Ec. 12})$$

Donde:

AE: actividad emulsionante (%).

VE: volumen de la emulsión (mL).

V: volumen total del fluido (mL).

3.1.2.12.3. Estabilidad emulsionante

La estabilidad emulsionante se evaluó a partir del método modificado de Yasumatsu *et al.*, (1972). Para ello, se mezclaron 7 mL de disolución acuosa del polvo al 2% (m/v) con 7 mL de aceite de girasol, y se homogeneizaron durante 5 minutos a 2400 rpm con un Vortex (Reax top, Heidolph, Germany). Las emulsiones se calentaron a 80 °C durante 30 minutos, se enfriaron durante 15 minutos en agua corriente y se centrifugaron a 2000 rpm durante 5 minutos. La estabilidad de la emulsión se calculó siguiendo la **ecuación 13**.

$$EE(\%) = \frac{VE}{V} \times 100 \quad (\text{Ec. 13})$$

Donde:

EE: estabilidad emulsionante (%).

VE: volumen de la emulsión (mL).

V: volumen total del fluido (mL).

3.2. OBTENCIÓN DE POLVO DE RESIDUO DE CAQUI ENRIQUECIDO CON *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius*

3.2.1. Crecimiento del microorganismo *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius* en bagazo de caqui.

Con el fin de obtener polvos probióticos de bagazo de caqui, se utilizó la bacteria *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius* (CECT 4063), microorganismo con el que se trabaja habitualmente en el laboratorio en el que se ha desarrollado el presente trabajo. El microorganismo se recuperó a partir del liófilo, utilizando como medio de cultivo MRS Broth (SharlauChemie®, Barcelona, España) y se incubó a 37 °C durante 24 h. Para proceder a la realización de este ensayo, se tomaron 100 g de bagazo fresco de caqui y se trituraron en Thermomix® (Vorwerk, España) a 5000 rpm durante 4 segundos. Seguidamente, la muestra se sometió a un tratamiento de pasteurización (72 °C, 15-20 s) con el fin de asegurar una baja carga microbiana y facilitar el crecimiento del microorganismo que se sembraría posteriormente. La pasteurización se realizó en un baño de agua caliente a 80 °C, introduciendo la muestra en vaso de precipitados cubierto con papel de aluminio, y en agitación constante, asegurando que el centro térmico de la muestra llegara a los 72 °C. Una vez se alcanzó esta temperatura, se mantuvo durante 15-20 segundos. Todos los materiales empleados fueron esterilizados en autoclave a 120 °C (2 h) (Systec GmbH, modelo VB-40; Linden, Alemania) para evitar posibles contaminaciones de otras especies.

A continuación, las muestras se inocularon añadiendo 1 mL de inóculo conteniendo del orden de 10⁸ UFC *L. salivarius* spp. *salivarius* por mL de caldo MRS (SharlauChemie® Barcelona, España), a 100 g de bagazo de caqui triturado. La muestra inoculada se llevó a estufa de incubación (PSelecta modelo Incudigit) a 37 °C, evaluando el crecimiento microbiano a las 2, 5, 7, 15, 20, 24, 30, 40, 48 y 72 h. A cada tiempo, se tomaron 3 g de muestra y se homogeneizaron junto con 27 mL de agua de peptona estéril (SharlauChemie®, Barcelona, España) en una bolsa de *Stomacher* con filtro. Seguidamente, se realizaron diluciones seriadas en tubos con 9 mL de agua de peptona, para la posterior siembra en placa con medio MRS-agar (SharlauChemie®, Barcelona, España). La siembra se realizó por inmersión en agar doble capa, debido a las características microaerofílicas de la bacteria. Las placas se incubaron en estufa a 37 °C durante 24 h. Trascorrido este tiempo, se procedió al recuento de Unidades

Formadoras de Colonias (UFC) en las placas que presentaran entre 30 y 300 UFC, para obtener la cinética de crecimiento de *L. salivarius*, y así evaluar el punto de máxima viabilidad bacteriana. El ensayo se realizó por triplicado.

3.2.2. Condiciones de obtención de polvos enriquecidos con *L. salivarius*

Para la obtención el polvo enriquecido con *L. salivarius*, se procedió a inocular el bagazo con dicho microorganismo hasta alcanzar el punto de máxima concentración microbiana, teniendo en cuenta los resultados de la cinética de crecimiento descrita en el apartado anterior. Tras el crecimiento, el bagazo se sometió a los procesos de secado y molienda descritos a continuación para obtener los polvos. Asimismo, se obtuvieron polvos deshidratados que no habían sido inoculados, en las mismas condiciones de secado por aire caliente y liofilización e incluyendo la pasteurización previa, para disponer de muestras control.

Se llevaron a cabo dos procedimientos de secado distintos para la obtención de polvo de bagazo de caqui enriquecido con el probiótico: liofilización y secado por aire caliente. En el caso de la liofilización, tanto el bagazo inoculado como el control, se distribuyeron de forma homogénea en bandejas de aluminio, que se congelaron a -40 °C (18 h) y se secaron a vacío en el liofilizador durante 24 h. Para el secado por aire caliente, tanto el bagazo inoculado como el control, se distribuyeron homogéneamente en rejillas de plástico que se sometieron a distintas condiciones de secado (Pol-eKoAparatura, Katowice, Polonia): un primer secado a 60 °C durante 1 h tras el cual se realizó un recuento microbiano; un segundo secado a 60 °C durante 1 h tras el cual se realizó un recuento microbiano; y finalmente, un secado a 40 °C durante 20 h. El secado en varias etapas y los controles intermedios se definieron de ese modo, teniendo en cuenta que a 55 °C la viabilidad celular se ve afectada (Gardiner et al., 2000).

Finalmente, para cada procedimiento, se llevó a cabo una molienda en Thermomix® a 10000 rpm durante 20 segundos para obtener el polvo. Los polvos obtenidos a partir del bagazo inoculado se sometieron a un recuento microbiano para comprobar la viabilidad del microorganismo tras el procesado. Todos los polvos fueron almacenados en tarros de cristal cerrados y recubiertos con papel de aluminio evitando así el deterioro de las muestras.

Cabe señalar que, a partir de este momento, los polvos obtenidos por cada uno de los procedimientos descritos pasarán a identificarse con las siguientes abreviaturas, con la intención de facilitar la lectura del trabajo:

LIOF_INOC: Secado por liofilización. Enriquecido con el probiótico.

LIOF_NO INOC: Secado por liofilización. Control (no enriquecido con el probiótico).

SAC_INOC: Secado por aire caliente. Enriquecido con el probiótico.

SAC_NO INOC: Secado por aire caliente. Control (no enriquecido con el probiótico).

3.2.3. Determinaciones analíticas de los polvos probióticos

Las características fisicoquímicas se determinaron para los polvos enriquecidos con la bacteria probiótica y para los polvos control. Se caracterizaron según las propiedades fisicoquímicas básicas (humedad, actividad del agua) y propiedades antioxidantes. A continuación, se describe la metodología empleada para cada determinación. Todos los análisis se efectuaron por triplicado.

3.2.3.1. Caracterización fisicoquímica

Se llevó a cabo la determinación del porcentaje de humedad y de la actividad del agua, de igual forma a la descrita en los apartados 3.1.2.1. y 3.1.2.2., respectivamente, de material y métodos. Además, se evaluó el pH de bagazo de caqui fresco, mediante un pH-metro digital (Mettler-Toledo GmbH., Schwezenbach, Switzerland), calibrando previamente con disoluciones tampón a pH 4 y pH 7.

3.2.3.2. Propiedades antioxidantes

En cuanto a las propiedades antioxidantes, se determinó el contenido en fenoles totales y la capacidad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS. Estos análisis se realizaron de igual forma a la descrita en el apartado 3.1.2.10. de materiales y métodos.

3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todas las determinaciones analíticas se realizaron al menos por triplicado. Los resultados se analizaron estadísticamente usando el programa Statgraphics Centurion (versión Centurion XVI.I, StatPoint Technologies, Inc.). Para ello, se realizaron análisis de la varianza (ANOVA simple) con objeto de evaluar las diferencias estadísticamente significativas entre las medias, con un nivel de confianza del 95% (p -valor $<0,05$).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DE LOS POLVOS DE BAGAZO DE CAQUI

En la **tabla 2** se indican los resultados correspondientes al porcentaje de humedad, actividad del agua (a_w) y sólidos solubles totales (x_{ss}), para el bagazo de caqui fresco y los diferentes polvos obtenidos.

Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas del bagazo de caqui y de los polvos de bagazo de caqui deshidratado. Media \pm desviación estándar de tres repeticiones. SAC60_10: secado por aire caliente a 60 °C 10 h; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h; SAC70PE_15: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 15 h; SAC70PE_25: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 25 h; LIOF: liofilizado. % Humedad ($g_w/100g_{total}$), a_w : actividad del agua, x_{ss} : fracción másica de sólidos solubles (g_{ss}/g_{total}).

	% Humedad	a_w	x_{ss} (g_{ss}/g_{total}).
Bagazo de caqui	76,9 \pm 1,0 ^d	0,9734 \pm 0,0019 ^f	0,167 \pm 0,002 ^a
SAC60_10	7,51 \pm 0,03 ^c	0,3710 \pm 0,0008 ^e	0,670 \pm 0,007 ^c
SAC60_20	3,8 \pm 0,2 ^a	0,210 \pm 0,003 ^a	0,683 \pm 0,007 ^{cd}
SAC70_10	4,73 \pm 0,09 ^{ab}	0,2647 \pm 0,0007 ^d	0,672 \pm 0,007 ^c
SAC70PE_15	5,0 \pm 1,2 ^b	0,2552 \pm 0,0010 ^c	0,540 \pm 0,007 ^b
SAC70PE_25	4,1 \pm 0,3 ^{ab}	0,251 \pm 0,002 ^b	0,547 \pm 0,006 ^b
LIOF	4,84 \pm 0,12 ^{ab}	0,2508 \pm 0,0016 ^b	0,70 \pm 0,02 ^d

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

Los resultados indican que el secado afecta de forma significativa a los valores de humedad y actividad del agua (a_w), los cuales disminuyen significativamente (p -valor $<$ 0,05) respecto al bagazo de caqui fresco. La a_w indica la disponibilidad del agua para participar en las reacciones responsables del deterioro de los alimentos; para productos secos, esta se encuentra en el intervalo 0,2-0,4 (Vesterlund *et al.*, 2012). Por lo tanto, se puede afirmar que los valores de a_w obtenidos aseguran la estabilidad de los polvos. No obstante, se constata que el secado a 60 °C durante 10 horas es menos eficiente, dada la elevada humedad que presenta este polvo y su a_w , por encima de los 0,3 que se habían fijado inicialmente como límite máximo para asegurar su estabilidad. Los polvos de bagazo de caqui presentan una a_w similar a la de otros polvos de bagazos de frutas, tales como polvo bagazo de arándano (Juliá, 2017) y piel de mandarina (Sáez, 2017). Por su parte, Martínez-Las Heras *et al.* (2017a), sobre fibras extraídas de piel de caqui y posteriormente deshidratadas, obtuvieron valores de humedad y a_w superiores a los obtenidos en el presente trabajo. En este caso, las diferencias podrían deberse a las variaciones en las condiciones de secado empleadas (Karam *et al.*, 2016).

La fracción másica de sólidos solubles también presenta diferencias estadísticamente significativas (p -valor $<$ 0,05) entre los distintos polvos. La deshidratación implica un aumento de la cantidad de sólidos solubles presentes en las muestras debido a la concentración por eliminación parcial del agua. Los polvos obtenidos a partir de piel entera presentan menor contenido en sólidos solubles que el resto de polvos, probablemente debido a una menor extracción de sólidos solubles, dado que no se desestructuró el tejido antes del secado. Además, la doble molienda, antes y después del secado, podría ocasionar mayores roturas en las cadenas largas de carbohidratos liberando más sólidos solubles. Por su parte, el polvo liofilizado presenta el valor más alto, ya que las características estructurales del bagazo liofilizado (mayor volumen y porosidad), permiten obtener un polvo más fino, lo que mejora el rendimiento de la extracción de los compuestos que conforman el polvo. Esta afirmación, se corrobora con los resultados del análisis del tamaño de partícula que se discuten en el siguiente apartado.

4.2. TAMAÑO DE PARTÍCULA

El tamaño de partícula puede influir de forma determinante en algunas propiedades fisicoquímicas del polvo tales como las propiedades de hidratación o las emulsionantes, dado que un menor tamaño de partícula supone una mayor área superficial, aumentando la interacción de los componentes que conforman las partículas con el medio, pudiendo mejorar las propiedades de hidratación y de absorción de aceite (Raghavendra *et al.*, 2006). El análisis del tamaño de partícula se realizó tanto por vía seca como por vía húmeda, para todos los polvos de bagazo de caqui obtenidos, con el fin de evaluar las posibilidades de los polvos en la formulación de alimentos líquidos como puede ser refrescos o zumos, donde puede resultar de interés la información obtenida por vía húmeda, y de alimentos sólidos, donde es conveniente la determinación por vía seca.

En la **figura 5** se han representado las curvas de distribución de tamaño de partícula de los diferentes tipos de polvo de caqui, por vía seca y por vía húmeda. Estas curvas representan el volumen de partículas (en %) que tienen un tamaño determinado. De este modo, las curvas que presentan una mayor amplitud de tamaño (conocida también como *span*) indicarían mayor variabilidad entre las diferentes partículas que lo componen. Por el contrario, cuando la distribución es más estrecha, significa que el tamaño de partícula es más homogéneo.

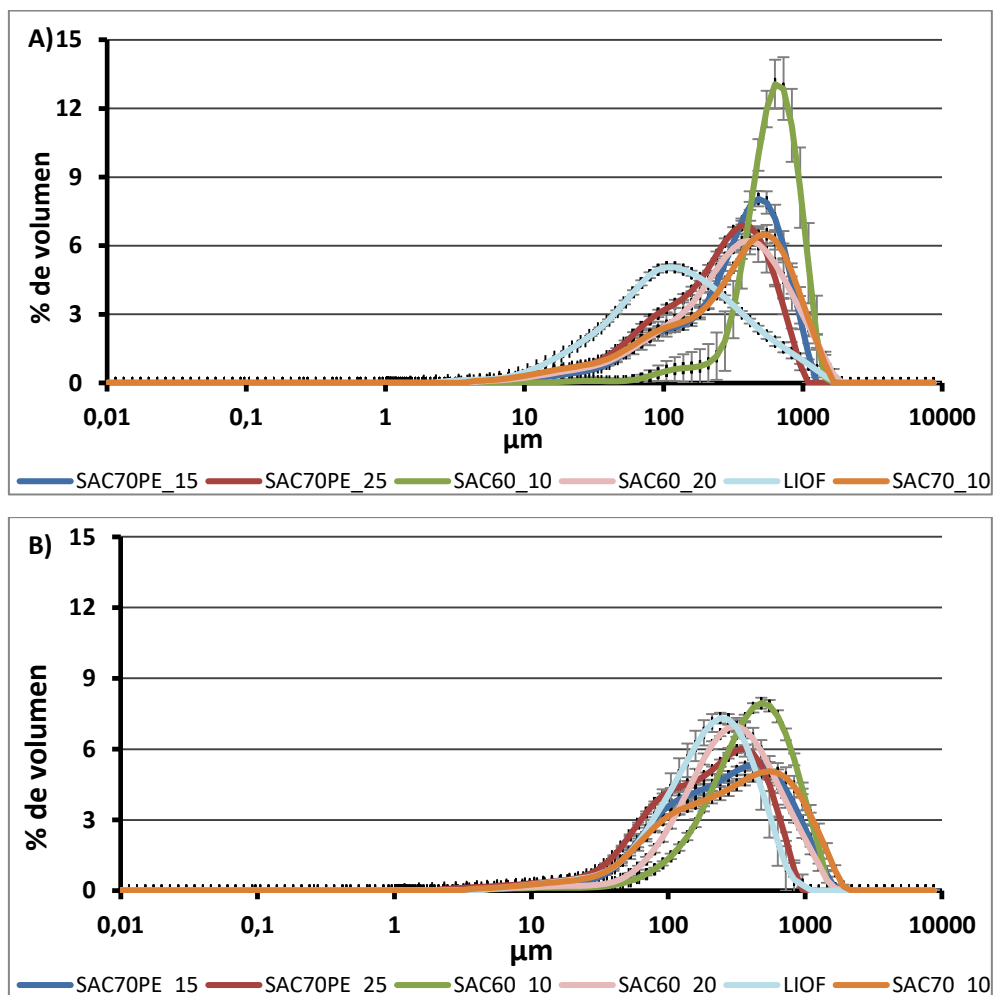


Figura 5. Distribución del tamaño de partícula (D [4,3]). A) Vía seca. B) Vía húmeda. SAC60_10: secado por aire caliente a 60 °C 10 h; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h; SAC70PE_15: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 15 h; SAC70PE_25: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 25 h; LIOF: liofilizado.

El análisis por vía seca muestra diferencias importantes entre los polvos liofilizados, los secados a 60 °C 10 horas y el resto (SAC70_10, SAC70PE_15, SAC70PE_25 y SAC60_20). En particular, las partículas del polvo SAC60_10 presentan un tamaño más homogéneo y mayor (cerca de 1000 micras), mientras que la distribución del polvo liofilizado es significativamente más ancha y sus partículas de menor tamaño, con una mediana alrededor de las 100 micras. Estas diferencias quedarían justificadas teniendo en cuenta las condiciones de secado. Por un lado, la liofilización daría lugar a una muestra seca de mayor porosidad que facilita el triturado, permitiendo obtener un polvo más fino; y por otro, el secado a 60 °C durante 10 h dificultaría la molienda debido a la mayor humedad de esta muestra (tabla 2) como consecuencia de las propiedades plastificantes del agua (Matveev *et al.*, 2001). Dicho de otro modo, la molienda puede resultar más efectiva cuanto más seco está el material (Djantou *et al.*, 2011).

En el caso del tamaño de partícula por vía húmeda, las distribuciones registradas son más similares entre sí. Por un lado, las distribuciones de los polvos liofilizados y secados a 60 °C son más homogéneas que el resto, presentando el polvo secado a 60 °C durante 10 h un tamaño algo mayor, en línea con el análisis por vía seca. Sin embargo, la distribución correspondiente al polvo liofilizado no se diferencia por presentar un tamaño menor en este caso. En general se observa una reducción del tamaño de partícula o desplazamiento de la distribución hacia tamaños más pequeños cuando el ensayo se realiza por vía húmeda. Esto es más evidente para los polvos de mayor tamaño, y no se observa en el caso del polvo liofilizado. Según otros estudios realizados (Roig, 2017; Sáez, 2017), esto podría deberse a la solubilización de los sólidos solubles que forman parte del polvo, reduciendo el tamaño de las partículas cuando éstas se dispersan en agua. Además, en el caso del polvo liofilizado, las partículas de menor tamaño podrían haberse visto completamente solubilizadas, resultando por vía húmeda una distribución de mayor tamaño de partícula. De hecho, esto concuerda con los valores de sólidos solubles comentados anteriormente (tabla 2) habiéndose observado que el polvo liofilizado presenta un contenido mayor de estos, lo que confirmaría esta hipótesis.

En la **tabla 3** se muestran los valores de D [4,3], D [3,2], d₁₀, d₅₀ y d₉₀, para vía seca y húmeda, evidenciándose diferencias estadísticamente significativas (p-valor<0,05) entre las partículas que conforman los distintos polvos.

Tabla 3. Parámetros característicos del tamaño de partícula obtenidos por vía seca y húmeda. Media ± desviación estándar de tres repeticiones. SAC60_10: secado por aire caliente a 60 °C 10 h; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h; SAC70PE_15: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 15 h; SAC70PE_25: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 25 h; LIOF: liofilizado. D [4,3]: diámetro volumen equivalente; D [3,2]: diámetro área equivalente; d₉₀, d₅₀ y d₁₀ representan los percentiles de la distribución.

	VÍA SECA					
	SAC60_10	SAC60_20	SAC70_10	SAC70PE_15	SAC70PE_25	LIOF
D [4, 3]	671±79 ^d	425±42 ^c	440±23 ^c	414±23 ^c	315±12 ^b	221±17 ^a
D [3, 2]	454±160 ^c	132±21 ^{ab}	119±8 ^{ab}	163±11 ^b	118±5 ^{ab}	64±1 ^a
d ₁₀	335±113 ^b	66±12 ^a	56±5 ^a	76±5 ^a	57±3 ^a	29,3±0,5 ^a
d ₅₀	653±65 ^e	338±52 ^c	371±28 ^{cd}	382±27 ^d	272±14 ^b	129±4 ^a
d ₉₀	1047±79 ^e	920±60 ^d	937±37 ^d	803±33 ^c	646±21 ^b	536±58 ^a
	VÍA HÚMEDA					
	SAC60_10	SAC60_20	SAC70_10	SAC70PE_15	SAC70PE_25	LIOF
D [4, 3]	499±14 ^d	388±12 ^b	446±28 ^c	383±19 ^b	264±8 ^a	254±37 ^a
D [3, 2]	226±12 ^b	161±7 ^a	121±8 ^a	117±4 ^a	84±3 ^a	114±12 ^a
d ₁₀	145±7 ^b	101±4 ^a	63±4 ^a	65,6±1,7 ^a	49,7±1,1 ^a	63±7 ^a
d ₅₀	439±13 ^c	308±13 ^b	321±30 ^b	284±17 ^b	211±7 ^a	216±31 ^a
d ₉₀	947±28 ^e	797±378 ^c	1030±60 ^f	858±45 ^d	565±18 ^b	500±74 ^a

^{a,b,c...} letras diferentes en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95%.

Respecto al diámetro de las partículas ($D [4,3]$ y $D [3,2]$), existen diferencias estadísticamente significativas, sobre todo, en el caso de la vía seca y, menos notables, en la vía húmeda, coincidiendo con las distribuciones mostradas en la **figura 5**. Así pues, las partículas del polvo liofilizado son de menor tamaño, mientras que las que se han secado en menor medida (SAC60_10 y SAC60_20) presentan un tamaño mayor, confirmándose de nuevo que la molienda es más efectiva cuanto más seco está el material (Djantou *et al.*, 2011).

4.3. PROPIEDADES ÓPTICAS

Para la determinación del color, tanto del bagazo fresco como de los diferentes polvos de caqui, se empleó el espacio de color CIELAB según lo descrito en el apartado de material y métodos. En la **figura 6** se muestra la distribución de coordenadas $L^*a^*b^*$, donde cada punto representa una muestra.

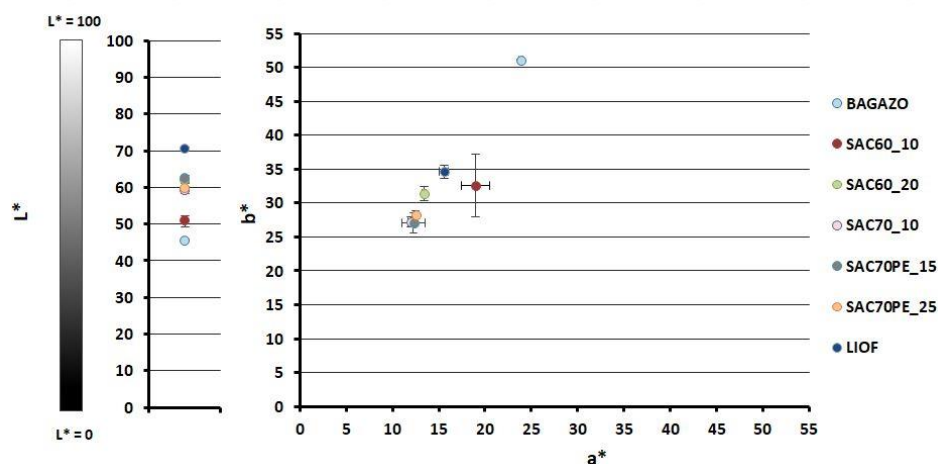


Figura 6. Distribución de coordenadas $L^*a^*b^*$ del bagazo de caqui fresco y de los polvos. SAC60_10: secado por aire caliente a 60 °C 10 h; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h; SAC70PE_15: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 15 h; SAC70PE_25: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 25 h; LIOF: liofilizado.

En lo referente a la luminosidad (L^*), el bagazo fresco presenta un valor más bajo que el resto, siendo pues, más oscuro. Tanto el tipo de tratamiento como la temperatura aplicada influyen de manera significativa en la luminosidad del polvo obtenido. El polvo liofilizado sería el más claro, con una luminosidad de 70, mientras que las muestras secadas por aire caliente presentan una luminosidad menor como consecuencia de las reacciones de pardeamiento que pueden tener lugar durante el secado a temperaturas elevadas. En cuanto a la coordenada de color a^* (+rojo/verde-), para todos los casos los valores son positivos, lo que indica una desviación hacia el color rojo, siendo más intenso para el bagazo fresco. Por otra parte, en la coordenada de color b^* (+amarillo/azul-), los valores para todos los casos también son positivos, existiendo así, una desviación hacia el color amarillo, siendo de nuevo más intenso para el bagazo fresco.

En la **tabla 4** se muestran los valores de los parámetros de color croma (C^*) y tono (h^*). En relación a C^* , se observa que existen diferencias significativas (p -valor $<0,05$) entre las diferentes muestras. El bagazo fresco es el que presenta un mayor croma, indicativo de una mayor saturación o pureza de color. En cuanto al tono (h^*), también existen diferencias significativas (p -valor $<0,05$) entre las muestras. Este parámetro indica el ángulo medido por el eje a^* positivo, por lo que tal y como se observa en la **figura 6**, aquellos puntos situados en el mismo ángulo tendrán una tonalidad similar. Todos los resultados obtenidos indican valores que se corresponden una tonalidad anaranjada, presentando el polvo SAC60_10 un valor de h^* más bajo.

Tabla 4. Parámetros de color C* y h* del bagazo y de los polvos de caqui. Media \pm desviación estándar de tres repeticiones. SAC60_10: secado por aire caliente a 60 °C 10 h; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h; SAC70PE_15: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 15 h; SAC70PE_25: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 25 h; LIOF: liofilizado.

	C*	h*
Bagazo de caqui	56,43 \pm 0,17 ^d	64,94 \pm 0,16 ^b
SAC_60_10	38 \pm 5 ^c	59,6 \pm 1,7 ^a
SAC_60_20	34,1 \pm 1,1 ^b	66,9 \pm 0,4 ^c
SAC_70_10	29,7 \pm 0,6 ^a	66,3 \pm 1,1 ^{ab}
SAC_70PE_15	29,7 \pm 1,9 ^a	65,7 \pm 1,0 ^{ab}
SAC_70PE_25	30,9 \pm 0,5 ^{ab}	66,1 \pm 0,7 ^{ab}
LIOF	38,0 \pm 1,1 ^c	65,80 \pm 0,06 ^{ab}

^{a,b,c...}letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95%.

4.4. PROPIEDADES ANTIOXIDANTES

El proceso óptimo para preservar o desarrollar mayor número de compuestos antioxidantes puede ser diferente según el producto que se esté obteniendo. El tratamiento térmico puede degradar compuestos antioxidantes, pero también liberar y activar por cambios de conformación algunos compuestos antioxidantes naturalmente presente en los productos vegetales, incluida la piel de caqui (Kim *et al.*, 2005b). Por otro lado, los cambios estructurales promovidos por el secado y el triturado pueden favorecer la extracción de algunos compuestos debido a cambios en la matriz del producto durante el procesado, ya que tras este la estructura se vuelve más interconectada y abierta, facilitando la entrada del disolvente y la extracción de los compuestos antioxidantes (Martínez-Las Heras, 2016).

Contenido en fenoles totales y flavonoides totales

En la **figura 7** quedan representados el contenido de fenoles totales expresado en mg de ácido gálico equivalentes por gramo de materia seca, así como, el contenido de flavonoides totales expresado en mg de quercetina equivalentes por gramo de materia seca, tanto para el bagazo fresco, como para los polvos de caqui.

En el caso del contenido en fenoles totales, existen diferencias estadísticamente significativas (p -valor $<$ 0,05) entre las distintas muestras. Lo primero que puede observarse es que, a excepción de la liofilización, los procesos de deshidratación y molienda suponen un descenso del contenido fenólico de las muestra. Aumentar la temperatura de secado de 60 a 70 °C tiene consecuencias negativas sobre estos compuestos. Los polvos obtenidos a partir de piel entera presentaron valores aún inferiores, sugiriendo que la molienda previa es importante para favorecer la liberación de los compuestos de interés. Por su parte, el polvo liofilizado presenta un contenido fenólico muy elevado, comparable al de polvos de granada y frutos rojos (Crozier *et al.*, 2011). Parece evidente que durante el triturado la matriz sufre un proceso de desestructuración que aumenta la posibilidad de extracción de fenoles (Elleuch *et al.*, 2011). Además, la congelación lenta y posterior sublimación del agua durante la liofilización implica un gran daño microestructural a nivel celular que contribuye al proceso de extracción. Por otro lado, un menor tamaño de partícula también mejora el rendimiento de extracción al verse incrementada el área superficial que permite el contacto entre sólido y disolvente. Todo esto, unido al hecho de que en esta operación se trabaja a bajas temperaturas y en condiciones de vacío que limitan las reacciones de oxidación, pueden ser los motivos por los cuales el contenido en fenoles del polvo liofilizado es significativamente mayor. Los valores de fenoles obtenidos son superiores a los publicados para el fruto del caqui por Martínez-Las Heras (2017a) y a los de arándano (Roig, 2017).

En relación al contenido en flavonoides totales (figura 7B), únicamente existen diferencias estadísticamente significativas (p -valor $<$ 0,05) entre el polvo liofilizado y el resto de muestras, siendo el liofilizado el que mayor contenido en flavonoides presenta. Comparando los resultados con otros estudios, el contenido en flavonoides para el bagazo y polvos de caqui se encuentra por debajo del de otras frutas tales como, fresa, mora y níspero (Lin y Tang, 2007), y son mayores a los obtenidos por

Martínez-Las Heras et al. (2017a) para el fruto entero. Al igual que ocurría con los fenoles totales y, según se ha comentado en la introducción del presente documento, para muchas frutas la cantidad de compuestos antioxidantes es mayor en la piel que en la pulpa.

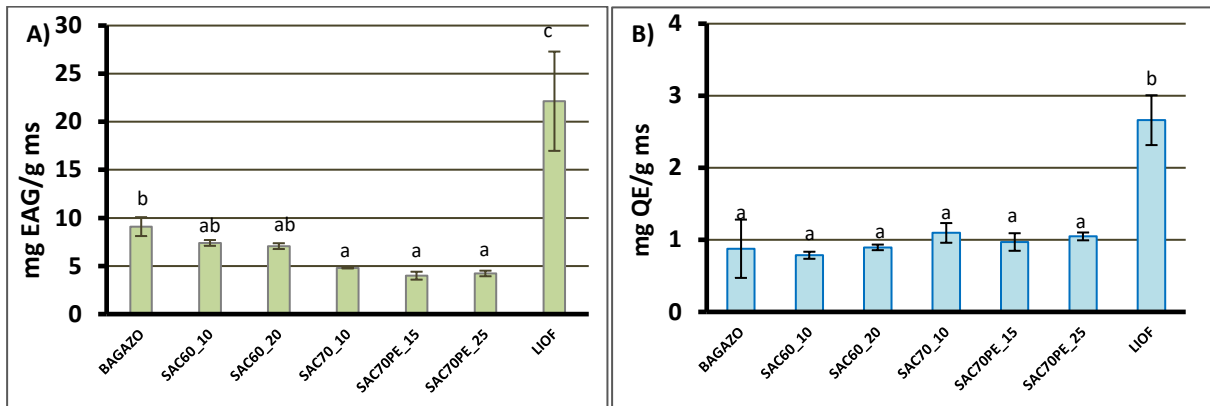


Figura 7. A) Contenido de fenoles totales expresado en mg de ácido gálico equivalentes (EAG) por gramo de materia seca en el bagazo fresco y polvos de caqui. B) Contenido de flavonoides totales expresado en mg de quercetina equivalentes (QE) por gramo de materia seca en el bagazo fresco y polvos de caqui. SAC60_10: secado por aire caliente a 60 °C 10 h; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h; SAC70PE_15: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 15 h; SAC70PE_25: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 25 h; LIOF: liofilizado. Diferentes letras superpuestas indican diferencias significativas para un nivel de confianza del 95%.

Capacidad antioxidante

La actividad antioxidante del bagazo fresco y los diferentes polvos de caqui se evaluó determinando la capacidad de inhibición de radicales libres por los métodos DPPH y ABTS. En la **figura 8** se representa la evolución de la inhibición de DPPH, para el bagazo fresco y los diferentes polvos de caqui a una dilución 1:100, durante dos horas de reacción. Los resultados indican que el tipo de tratamiento térmico llevado a cabo determina la actividad de los compuestos antioxidantes presentes en el producto.

La evolución de las diferentes cinéticas de la reacción DPPH depende de la naturaleza de los compuestos presentes. En la **figura 8**, se observa que para el polvo liofilizado el comportamiento de la cinética fue muy rápido, llegando a la estabilidad en menos de un minuto. En cambio, para los otros casos, la cinética de reacción correspondió a una curva hiperbólica, comportamiento característico de los componentes que reaccionan lentamente con el DPPH (Brand-Williams *et al.*, 1995; Sendra *et al.*, 2006). Estos resultados indicarían que en el caso del polvo liofilizado se conseguirían extraer o preservar, además de los compuestos antioxidantes de reacción lenta que caracterizan las otras curvas, otros compuestos antioxidantes de reacción rápida, como el ácido ascórbico. Cabe señalar que, en el caso del bagazo fresco y de los polvos SAC60_10 y SAC60_20 no se consiguió alcanzar por completo el estado estacionario durante las 2 h de reacción.

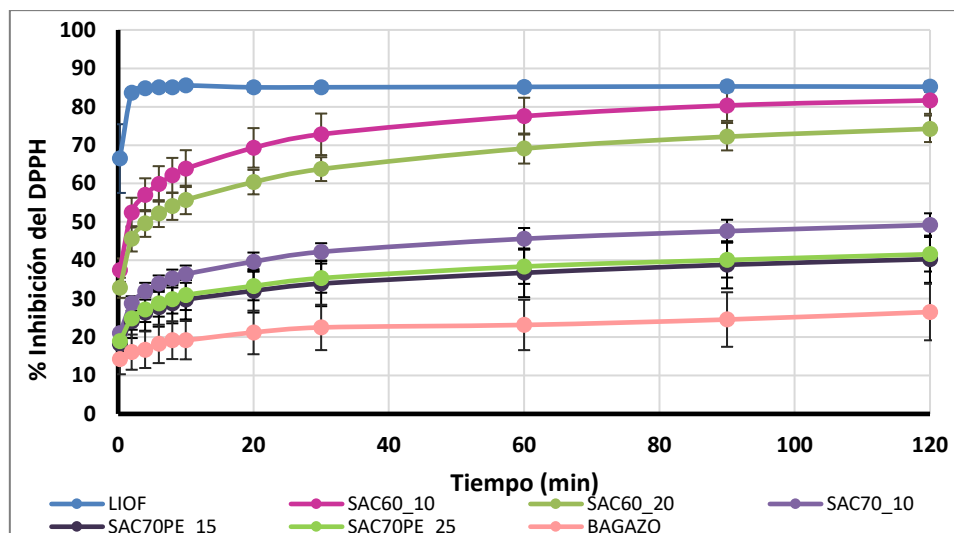


Figura 8. Evolución de la reacción de los compuestos antioxidantes presentes en las muestras con el radical DPPH durante 2 h, para los siete productos de caqui analizados. SAC60_10: secado por aire caliente a 60 °C 10 h; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h; SAC70PE_15: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 15 h; SAC70PE_25: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 25 h; LIOF: liofilizado.

En la **tabla 5** se muestran los resultados de la actividad antioxidante para el bagazo fresco y los diferentes tipos de polvos, por los métodos DPPH y ABTS, expresados en mg de trólox equivalente por gramo de materia seca. En ambos casos se observan diferencias estadísticamente significativas (p -valor $<0,05$) entre las muestras estudiadas. Por un lado, en el caso de la cuantificación de la actividad antioxidante por el método DPPH, el polvo de caqui liofilizado es el que presentó mayor valor de trólox equivalente, mientras que, los tres polvos que fueron sometidos a un proceso de secado a 70 °C, presentaron los valores más bajos. En cuanto a la actividad antioxidante por el método ABTS, todas las muestras exhibieron cierta capacidad para capturar el radical libre ABTS, siendo también el polvo liofilizado el que presentó mayor valor de trólox equivalente a los 10 min de reacción. En consonancia con los resultados de DPPH, los polvos secados a 70 °C fueron los que presentaron los valores más bajos. No obstante, en este caso, los resultados obtenidos para el bagazo fresco fueron los más bajos, lo cual podría deberse a un menor éxito en la extracción de los compuestos que reaccionan con el ABTS.

Tabla 5. Resultado de actividad antioxidante, expresado en mg de trólox equivalente (TE) por gramo de materia seca, para los métodos DPPH y ABTS. Media \pm desviación estándar para tres repeticiones. SAC60_10: secado por aire caliente a 60 °C 10 h; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h; SAC70PE_15: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 15 h; SAC70PE_25: secado por aire caliente de la piel entera a 70 °C 25 h; LIOF: liofilizado.

	Bagazo	SAC60_10	SAC60_20	SAC70_10	SAC70PE_15	SAC70PE_25	LIOF
DPPH (mg TE/g ms)	37 \pm 7 ^c	37 \pm 2 ^c	31,3 \pm 1,9 ^b	17,6 \pm 1,7 ^a	13 \pm 3 ^a	13 \pm 3 ^a	37,8 \pm 0,7 ^c
ABTS (mg TE/g ms)	34 \pm 4 ^a	59,5 \pm 1,1 ^c	57,8 \pm 0,4 ^c	44 \pm 6 ^b	41 \pm 3 ^{ab}	37 \pm 6 ^a	117,2 \pm 1,2 ^d

^{a,b,c...} letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95%.

Las diferencias entre los valores obtenidos por el método DPPH y el método ABTS, se deben a que cada ensayo difiere en su sensibilidad a los compuestos antioxidantes de diferente naturaleza presentes en los productos de caqui (Seguí *et al.*, 2015). Si se comparan los resultados obtenidos con los publicados para otros productos, se observa que son superiores a los de polvo de fibras de piel de caqui y polvos de fibras comerciales de limón, naranja, melocotón y manzana (Martínez-Las Heras *et al.*, 2017a).

4.5. CONTENIDO EN FIBRA

El término fibra dietética describe la parte del material vegetal que es resistente a la digestión enzimática, y está compuesta por carbohidratos no digeribles y lignina (Dahl y Stewart, 2015). La forma más común de clasificar la fibra dietética es atendiendo a su solubilidad, distinguiéndose entre fibras insolubles en agua (menos fermentables): celulosa, hemicelulosa, lignina; y fibras solubles en agua (fermentables): pectina, gomas y mucílagos (Dhingra *et al.*, 2011). La fibra dietética es un ingrediente importante en la formulación de alimentos funcionales, ya que aporta efectos beneficiosos sobre la salud, según se ha descrito anteriormente en el apartado de introducción. Conviene destacar, además, que en el caso de emplear el polvo de caqui como ingrediente funcional, su contenido en fibra podría producir cambios en la consistencia, textura, comportamiento reológico y características organolépticas del producto final al que se adicionen (Dhingra *et al.*, 2011).

En este apartado y sucesivos, los análisis que se presentan únicamente incluyen los resultados correspondientes a los polvos SAC60_20, SAC70_10 y LIOF. Los resultados discutidos hasta el momento habrían permitido descartar los polvos obtenidos a partir de piel entera, sin triturado previo, debido principalmente a la menor liberación de compuestos antioxidantes constatada en estos casos, y el polvo obtenido al secar a 60 °C durante 10 horas, debido a que no se alcanzan los valores a_w objetivo, y a que su mayor contenido en humedad afecta decididamente a otras propiedades fisicoquímicas relevantes tales como el tamaño de partícula.

Así pues, la **tabla 6** muestra los resultados correspondientes al contenido en fibra de los polvos de caqui SAC60_20, SAC70_10 y LIOF. Cabe destacar que, el polvo SAC70_10 es el que presenta un mayor porcentaje de cada fracción de fibra analizada, lo que podría relacionarse con un tamaño de partícula superior. Por el contrario, una granulometría inferior, ocasionada por una molienda más intensa, puede generar rotura de las fibras y un consecuente incremento de la fracción de sólidos solubles. Estos valores concuerdan con las fracciones másicas de sólidos solubles correspondientes a estos polvos (Tabla 2). De acuerdo a los resultados obtenidos, existen diferencias estadísticamente significativas (p -valor<0,05) entre los tres polvos para todas las fracciones de fibra analizada, excepto para el porcentaje de lignina (p -valor>0,05).

Tabla 6. Valores del contenido en hemicelulosa, celulosa, lignina, fibra insoluble y fibra total. Porcentaje en base seca. Media \pm desviación estándar. LIOF: liofilizado; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h.

	Hemicelulosa (%)	Celulosa (%)	Lignina (%)	Fibra insoluble (%)	Fibra total (%)
LIOF	4,51 \pm 0,04 ^a	4,83 \pm 0,03 ^a	2,11 \pm 0,07 ^a	6,94 \pm 0,11 ^a	11,44 \pm 0,14 ^a
SAC60_20	5,0 \pm 0,5 ^a	5,1 \pm 0,4 ^a	2,11 \pm 0,08 ^a	7,2 \pm 0,3 ^a	12,3 \pm 0,8 ^a
SAC70_10	6,1831 \pm 0,0008 ^b	5,914 \pm 0,015 ^b	2,8 \pm 0,3 ^b	8,7 \pm 0,4 ^b	14,9 \pm 0,4 ^b

^{a,b,c...} letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95%.

El contenido de fibra dietética total para los tres casos se compone en un porcentaje algo mayor de fibra insoluble. No obstante, los valores de fibra total obtenida son inferiores a los de otras publicaciones sobre polvo de piel de caqui. Por ejemplo, Akter *et al.* (2010) obtuvieron valores superiores al 50% en base seca. Otros autores indican que el caqui es un fruto rico en fibras solubles, y que las fibras del fruto del caqui se caracterizan por su potencial efecto prebiótico (Martínez-Las Heras *et al.*, 2017b); no obstante, algunos autores refieren que los procesos de secado pueden reducir el contenido en fibra soluble (Larrauri, 1999).

Si se comparan los resultados de contenido en fibra con el de otros polvos de frutas, se puede deduce que en los valores obtenidos para polvo de piel de caqui son inferiores. El polvo de limón de la variedad Fino presenta un contenido en fibra del 35% en materia seca (Lario, 2003), el contenido en fibra para polvos de pulpa de manzana es de 89,8% en materia seca (Figuerola *et al.*, 2005), para polvos de piel de banana es de 83-89,35% en materia seca (Wachirasiri *et al.*, 2009), para polvos de arándano

es de 33,7-38,5% en materia seca (Roig, 2017) y en el caso de polvos de cáscara mandarina es de 31,5-35% en materia seca (Sáez, 2017). No obstante, el polvo de piel de caqui tiene un valor de fibra total similar al de la harina de piña, que contiene un 13,65% (Ramírez, 2009).

4.5. ISOTERMAS DE SORCIÓN

Las isotermas de sorción del agua describen la relación entre el contenido de humedad de equilibrio en base seca (g agua/g materia seca) y la actividad del agua, a temperatura y presión constante (Kaymak-Ertekin y Gedik, 2004). Indica para una temperatura dada la cantidad de agua que un alimento retiene, en el equilibrio, en función de la humedad relativa de la atmósfera que rodea al mismo. Si un alimento no se encuentra en equilibrio termodinámico con el entorno que le rodea, este ganará o perderá agua hasta alcanzarlo (Mosquera, 2010). Son una forma adecuada de analizar el grado de interacción del agua con el sustrato (Martínez-Navarrete *et al.*, 1998), de modo que la información que proporcionan es de particular importancia para predecir la estabilidad de las matrices alimentarias, así como para orientar sobre las condiciones óptimas de secado, envasado y almacenamiento (Telis *et al.*, 1999).

Para determinar las isotermas de sorción, se procedió tal y como se indica en el apartado de material y métodos, obteniéndose las curvas correspondientes a los polvos LIOF, SAC60_20 y SAC70_10. Seguidamente, se representó la curva de sorción de cada polvo (figura 9), donde se puede observar que a medida que aumenta la actividad del agua, también lo hace la humedad en el equilibrio. Es importante señalar que en el intervalo de actividades de agua menores a 0,5 pequeñas variaciones de humedad pueden aumentar bastante la actividad de agua de las muestras, disminuyendo su estabilidad. Este aspecto debe ser tenido en cuenta para llevar a cabo un adecuado envasado y almacenamiento de los polvos.

Las curvas obtenidas se modelizaron de acuerdo con los modelos de BET y GAB indicados en el apartado de material y métodos. La modelización de los datos experimentales se consigue a partir de la linealización del modelo de BET (ecuación 14) en el intervalo de a_w entre 0,1 y 0,5, y el ajuste del modelo de GAB a un polinomio de segundo grado (ecuación 15).

$$\frac{a_w}{(1-a_w) \cdot W_e} = \frac{1}{W_o \cdot C} + \frac{C-1}{W_o \cdot C} \cdot a_w \quad (\text{Ec. 14})$$

Donde:

W_e : humedad en equilibrio (g_{agua}/g_{materia seca}).

W_o : humedad de la capa molecular (g_{agua}/g_{materia seca}).

C: parámetro empírico relacionado con el calor de sorción.

$$\frac{a_w}{W_e} = \frac{1}{W_o \cdot C \cdot K} + \frac{C-2}{W_o \cdot C} \cdot a_w + \frac{K \cdot (1-C)}{W_o \cdot C} \cdot a_w^2 \quad (\text{Ec. 15})$$

Donde:

W_e : humedad en equilibrio (g_{agua}/g_{materia seca}).

W_o : humedad de la monocapa (g_{agua}/g_{materia seca}).

C: constante de Guggenheim, característica del producto y relacionada con el calor de adsorción de la monocapa.

K: factor de corrección relacionado con el calor de sorción de la multicapa.

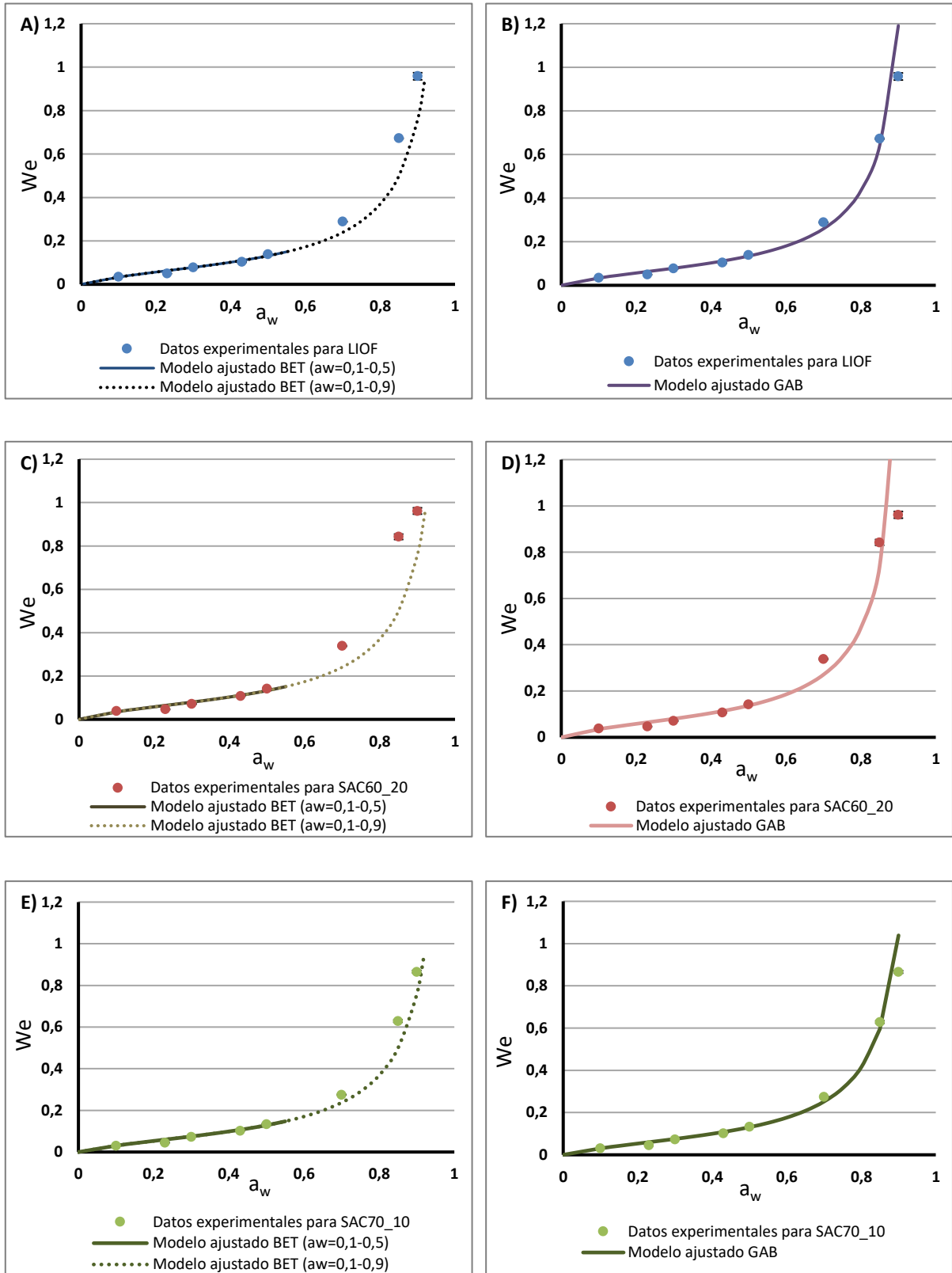


Figura 9. Isothermas de sorción de los polvos LIOF, SAC60_20 y SAC70_10. Resultados experimentales y modelos ajustados de BET y GAB. Se representa la humedad en equilibrio (We) (expresada en g de agua/g de materia seca) frente a la actividad de agua (a_w). LIOF: liofilizado; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h.

En la **tabla 7** se muestran los parámetros obtenidos tras ajustar ambos modelos a los datos experimentales, mientras que en las figuras que representan las isothermas (figura 9) se ha incluido también los valores predichos por cada modelo ajustado en el intervalo de aplicación. La forma que presentan las curvas (figura 9) y el valor para el parámetro $C > 2$ de la ecuación BET (tabla 7) indican que las isothermas de sorción de los polvos de caqui en estudio son sigmoideas. Atendiendo a la clasificación de Brunauer (Brunauer *et al.*, 1940) se trata de curvas de tipo II, típica de frutas y hortalizas (Martínez-Navarrete *et al.*, 1998). Las curvas obtenidas son muy similares a las de otros autores, como es el caso de piel de caqui seca (Telis *et al.*, 1999; Martínez Las Heras *et al.*, 2014), polvo del bagazo de arándano (Roig, 2017) o polvo de piel de mandarina (Sáez, 2017). También se clasifican dentro de este tipo las isothermas de hojas y tallos de melisa (Argyropoulos *et al.*, 2012) o las del polvo de zumo de naranja (Edrisi y Langrish, 2014).

Tabla 7. Parámetros w_0 (humedad de la monocapa) y C del modelo de BET. Parámetros w_0 , C y K del modelo de GAB. Valor de R^2 para los tres polvos y ambos modelos. LIOF: liofilizado; SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h.

		w_0 (g _w /g _{ms})	C	K	R^2
BET	LIOF	0,0773	5,6065	-	0,9658
	SAC60_20	0,0774	5,9427	-	0,9323
	SAC70_10	0,0774	4,8915	-	0,9802
GAB	LIOF	0,0747	5,6458	1,0422	0,9763
	SAC60_20	0,0735	6,1527	1,0613	0,9299
	SAC70_10	0,0756	4,8840	1,0315	0,984

Ambos modelos se ajustan de forma óptima a los datos experimentales, puesto que los coeficientes de regresión (R^2) son muy próximos a la unidad (tabla 7). Cabe destacar que el modelo de BET suele emplearse para describir los datos de humedad de equilibrio dentro del intervalo de actividades del agua 0,1-0,5 (Kaymak-Ertekin y Gedik, 2004), habiéndose empleado los valores correspondientes a este intervalo para realizar el ajuste. No obstante, también se ha representado el modelo de BET en el intervalo completo (0,1-0,9) de actividad del agua con fines ilustrativos (Fig. 9 A, C y E), evidenciándose un peor ajuste del mismo por encima de 0,55. Por otra parte, el modelo de GAB es el modelo habitualmente empleado para expresar los datos de sorción en todo el intervalo de actividades del agua (Kaymak-Ertekin y Gedik, 2004). En la representación de las curvas de sorción de la **figura 9 (B, D y F)** se observa cómo este modelo se ajusta muy bien en todo el intervalo de a_w , principalmente en los polvos liofilizados y SAC70_10.

Las ecuaciones de BET y GAB predicen el contenido de humedad de la monocapa (w_0) y son útiles para evaluar la estabilidad durante el almacenamiento de los alimentos, especialmente para alimentos secos (Aviara *et al.*, 2002). La humedad de la monocapa se refiere a la cantidad de agua (g_w/g_{ms}) que está fuertemente unida a todos los sitios activos de la fase sólida adsorbente del alimento y es considerada como el valor de humedad para el cual el alimento es estable durante el almacenamiento. La humedad de los polvos obtenidos (tabla 2) transformada a base seca, resulta en los siguientes valores: LIOF 0,046 g_w/g_{ms}, SAC70_10 0,045 g_w/g_{ms} y SAC60_20 0,037 g_w/g_{ms}, valores en todo caso por debajo de las respectivas humedades de la monocapa, lo que asegura la estabilidad de los polvos obtenidos.

4.7. SOLUBILIDAD, VOLUMEN ESPECÍFICO Y PROPIEDADES DE HIDRATACIÓN Y EMULSIONANTES DE LOS POLVOS DE BAGAZO DE CAQUI SELECCIONADOS

En la **tabla 8** se resumen el resto de parámetros analizados en los polvos de bagazo de caqui seleccionados: solubilidad, volumen específico, propiedades de hidratación y propiedades emulsionantes.

Tabla 8. Resultados de solubilidad, volumen específico, propiedades de hidratación y retención de agua y propiedades emulsionantes de los polvos de caqui. Media \pm desviación estándar de tres repeticiones. SAC60_20: secado por aire caliente a 60 °C 20 h; SAC70_10: secado por aire caliente a 70 °C 10 h; LIOF: liofilizado.

	SAC60_20	SAC70_10	LIOF
Solubilidad (%)	73 \pm 6 ^a	65 \pm 6 ^a	69 \pm 8 ^a
Volumen específico (mL/g)	1,393 \pm 0,012 ^b	1,193 \pm 0,012 ^a	1,91 \pm 0,02 ^c
Propiedades de hidratación y retención de agua			
Higroscopicidad (%) (g agua/100g de muestra)	55,3 \pm 0,4 ^c	37,2 \pm 0,3 ^a	41,1 \pm 0,2 ^b
Humectabilidad (min)	26,2 \pm 0,8 ^a	83,3 \pm 0,6 ^b	134 \pm 10 ^c
Capacidad de hinchamiento (mL/g)	6,9 \pm 0,4 ^b	5,4 \pm 0,5 ^a	10,5 \pm 0,3 ^c
Capacidad de atrapar agua (g/g)	11,3 \pm 1,7 ^a	11 \pm 2 ^a	13 \pm 2 ^a
Capacidad de retención de agua (g_w/g_{prod sec})	6,4 \pm 0,3 ^b	6,7 \pm 0,3 ^b	5,3 \pm 0,2 ^a
Propiedades emulsionantes			
Capacidad de retención de aceite (g_{aceite}/g_{muestra})	3,0 \pm 0,3 ^a	3,00 \pm 0,13 ^a	3,500 \pm 0,011 ^b

^{a,b,c} Letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95%.

La solubilidad es un factor importante para determinar el comportamiento y dispersabilidad de los polvos en una fase acuosa, que además, puede depender de factores como la composición inicial de la materia prima, el modo de secado y las propiedades de los polvos (humedad y tamaño de partículas) (Du *et al.*, 2014). Los resultados indican que no existen diferencias estadísticamente significativas (p -valor $>$ 0,05) entre los tres tipos de polvo. Estos resultados se asemejan a los que se encuentran en bibliografía para polvos de caqui (52-77% según Du *et al.*, 2014). Por otra parte, los valores de solubilidad obtenidos han resultado superiores a los de polvos de tomate (17,7-26,7%, según Sousa *et al.* (2008)); e inferiores a polvos de frutas como la piña, con una solubilidad del 81,6% (Abadio *et al.*, 2004).

Respecto al volumen específico, existen diferencias estadísticamente significativas (p -valor $<$ 0,05) entre los tres tipos de polvo en estudios; siendo el liofilizado, con un tamaño de partícula menor, el que mayor volumen específico presenta. Estos valores se acercan a los obtenidos en el estudio sobre fibras de piel de caqui realizado por Martínez-Las Heras *et al.* (2017a). Tal y como se ha comentado a lo largo del documento, el procedimiento de liofilización confiere una mayor porosidad a las muestras que el secado por aire caliente, lo que se traduciría en un mayor volumen específico. Por otro lado, el secado por aire caliente puede provocar contracciones en la estructura de las muestras y, en consecuencia, una menor porosidad.

Las propiedades de hidratación y retención del agua de los polvos de piel de caqui, las cuales determinan la capacidad del producto para absorber agua, están muy relacionadas con su composición fisicoquímica, como es la distribución de los grupos funcionales que se unen a las moléculas de agua, la estructura morfológica o el tamaño de partícula (Tao *et al.*, 2018).

Por lo que respecta a la **higroscopicidad**, esta se define como la capacidad de un material para absorber la humedad del ambiente (Bhusari *et al.*, 2014). En general, aquellos polvos considerados como buenos, son los que presentan baja higroscopicidad, baja humedad, bajo grado de apelmazamiento y alta solubilidad (Bakar *et al.*, 2012). Los valores obtenidos para los polvos de caqui (tabla 8) presentan diferencias estadísticamente significativas (p -valor $<$ 0,05), siendo el polvo SAC60_20 el que mayor higroscopicidad presenta. El polvo secado a 70 °C presenta menor higroscopicidad debido a su menor porosidad y mayor tamaño de partícula, lo cual se traduce en menor superficie para la adsorción de agua; y a su mayor contenido en componentes de fibra insoluble. No obstante, todos los polvos presentan valores de higroscopicidad superiores a los polvos de caqui analizados por Du *et al.* (2014), que refieren valores en un intervalo de 22 a 29 g/100g de materia seca.

En relación a la **humectabilidad**, definida como la capacidad que tienen las partículas de adsorber agua en su superficie (Ceballos et al., 2012), existen diferencias estadísticamente significativas (p -valor $<0,05$) para los tres polvos, siendo el polvo LIOF el que de mayor humectabilidad. Las diferencias se justificaría teniendo en cuenta el tamaño de partícula, dado que menor tamaño implica más tiempo de humectabilidad (Serna-Cock et al., 2015).

En cuanto a la **capacidad de hinchamiento (CH)**, existen diferencias significativas (p -valor $<0,05$) entre los tres polvos, siendo el resultado mayor para el polvo liofilizado. La capacidad de hinchamiento tiene implicaciones sobre la matriz del alimento, además ejerce un efecto saciante durante el proceso digestivo (Martínez-Las Heras et al., 2017a). Si se comparan estos valores obtenidos para polvos de caqui con el de otras fibras de frutas, como son las de maracuyá (7,2 mL de agua/g de muestra), piña (6,6 mL de agua/g de muestra) y mango (4,60 mL de agua/g muestra) (Martínez et al., 2012), los polvos de caqui SAC60_20 y SAC70_10, presentan una capacidad de hinchamiento similar.

Respecto a la **capacidad de atrapar agua (CAA)**, no existen diferencias estadísticamente significativas (p -valor $>0,05$) entre los tres polvos, siendo el mayor resultado el del polvo LIOF. Por otra parte, en los resultados obtenidos sobre la **capacidad de retención de agua (CRA)** existen diferencias estadísticamente significativas (p -valor $<0,05$) entre los tres polvos, siendo el mayor resultado el del polvo SAC70_10, y el menor el del polvo LIOF. En comparación con algunas fibras comerciales (limón, naranja, melocotón y manzana) analizadas por Martínez-Las Heras et al. (2017a) los valores de CAA están dentro del mismo intervalo, pero los resultados de la CRA son menores. Los valores de CRA obtenidos para los polvos de caqui, SAC60_20 y SAC70_10, son del mismo orden que los polvos de cáscara de mango (6-8 g agua/g producto seco) (Serna-Cock et al., 2015).

Las propiedades emulsionantes son un factor importante, puesto que el aceite es considerado como potenciador del sabor de los alimentos (Aremu et al., 2007). En este caso, no se obtuvieron resultados concluyentes para la actividad emulsionante y estabilidad emulsionante, no obstante, sí que se obtuvieron para la capacidad de retención de aceite. Respecto a la **capacidad de retención de aceite**, relacionada con la composición de la fibra dietética, se ha determinado que las fibras insolubles tienen una mayor capacidad para absorber aceite que las solubles, debido a su contenido en lignina y a su mayor tamaño de partícula (Villaruel et al., 2003). Este parámetro se ve afectado por el tipo, tamaño, forma, área superficial y composición química de las partículas de fibra (López et al., 1996). Los resultados obtenidos no presentan diferencias estadísticamente significativas (p -valor $>0,05$), siendo los valores de los tres tipos de polvos algo superiores a los publicados por Martínez-Las Heras et al. (2017a), sobre fibras de caqui liofilizadas (2,5-3 g aceite/g muestra seca) y secadas por aire caliente (1,5-2 g aceite/g muestra seca). Cabe destacar que, los valores obtenidos para la absorción de aceite son menores que para la absorción de agua, lo cual podría deberse a la presencia de un alto número de grupos hidrófilos capaces de unirse a moléculas de agua, y a la presencia de fibras solubles que son las que tienen alta capacidad de absorber agua (Mokhtar et al., 2018).

4.7. OBTENCIÓN DE POLVO DE RESIDUO DE CAQUI ENRIQUECIDO CON MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS

4.7.1. Cinética de crecimiento microbiano

En la **figura 10** se representa la cinética de crecimiento del microorganismo probiótico *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius*, una vez incorporado al bagazo de caqui fresco. Cabe recordar que el bagazo de caqui fue previamente triturado y sometido a un proceso de pasteurización (72 °C, 15-20 s) con el fin de reducir la carga microbiana de las muestras y favorecer el crecimiento del probiótico. Posteriormente, se incubó a 37 °C a lo largo de 72 horas. Además, se analizó el pH del bagazo de caqui con la finalidad de averiguar si era adecuado para el crecimiento microbiano o si requería modificación. El valor de pH obtenido fue de $6,10 \pm 0,10$, del orden del publicado por otros autores (6,2 según Ciardiello et al., 2004), y adecuado para el crecimiento de los microorganismos.

La curva del crecimiento microbiano representa la evolución del número de células viables presente en un cultivo microbiano a lo largo del tiempo de estudio. En este caso, se han representado el número de células viables por gramo, al tratarse de un cultivo en medio sólido. Esas curvas se caracterizan por presentar cuatro fases: la fase de latencia, la fase de crecimiento exponencial o logarítmico, la fase estacionaria y la fase de muerte celular (Ramírez *et al.*, 2005). Cabe destacar que el objetivo de este análisis no es analizar cada una de estas fases, sino identificar el momento en el cual la concentración microbiana es máxima, para asegurarnos de que se procederá al secado del bagazo inoculado en el momento óptimo. A tenor de los resultados, el crecimiento máximo se asegura a las 24 horas, coincidiendo con los resultados obtenidos para este mismo microorganismo en zumo de mandarina (Betoret *et al.*, 2012). Un tiempo de incubación mayor, implica la entrada en la fase de muerte celular, observándose un descenso del crecimiento. Por lo tanto, se decidió incubar el microorganismo durante 24 horas antes de proceder a las operaciones de secado o liofilización.

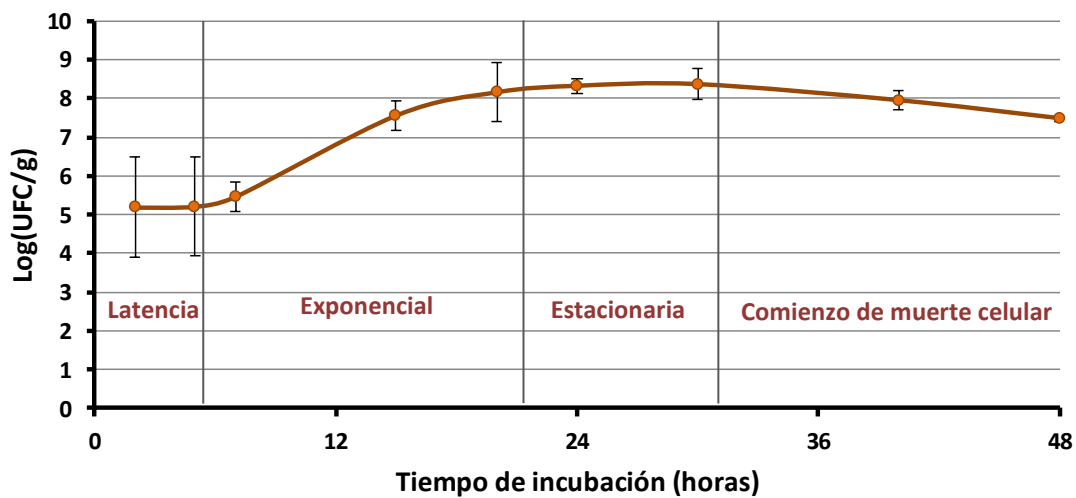


Figura 10. Cinética de crecimiento de *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius* (CECT 4063) expresado en Log UFC/g de bagazo de caqui, durante 48 horas.

4.7.2. Caracterización de los polvos

Caracterización fisicoquímica (humedad, a_w)

En la **tabla 9** se indican los resultados obtenidos respecto al porcentaje de humedad y a_w para los polvos enriquecidos con el microorganismo probiótico y los polvos control.

Tabla 9. Humedad y actividad del agua de los polvos de bagazo de caqui inoculados con *L. salivarius* y los polvos control. Media \pm desviación estándar de tres repeticiones. LIOF_INOC: polvo liofilizado inoculado con el probiótico; LIOF_NO INOC: polvo liofilizado sin inocular; SAC_INOC: polvo secado por aire caliente a 60 °C 2 h y a 40 °C 20 h inoculado con el probiótico; SAC_NO INOC: polvo secado por aire caliente a 60 °C 2 h y a 40 °C 20 h sin inocular. Porcentaje (%) de humedad ($g_w/100g_{total}$), a_w : actividad del agua.

	%humedad	a_w
LIOF_INOC	6,53 \pm 0,19 ^a	0,231 \pm 0,005 ^a
LIOF_NO INOC	6,53 \pm 0,19 ^a	0,228 \pm 0,004 ^a
SAC_INOC	11,7 \pm 0,9 ^b	0,315 \pm 0,016 ^b
SAC_NO INOC	11,7 \pm 0,9 ^b	0,316 \pm 0,012 ^b

^{a,b,c...} letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95%.

Los resultados obtenidos indican que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los polvos inoculados y los polvos control. Las diferencias encontradas se deben únicamente al procedimiento de secado empleado (p -valor $<$ 0,05), presentando valores superiores los polvos secados por aire caliente. Cabe señalar que, para los alimentos probióticos sometidos a un proceso de secado,

la a_w es un factor especialmente importante para mantener la viabilidad microbiana. En estos casos, se suele recomendar que la a_w sea inferior a 0,25 (Vesterlund *et al.*, 2012), lo que solo se consiguió en el caso del polvo liofilizado. Mediante el secado por aire caliente llevado a cabo en varias etapas, tal y como se describe en el apartado 3.2.2. de material y métodos, se alcanzaron valores superiores a 0,3.

Viabilidad del microorganismo probiótico en el polvo deshidratado

Aunque cada vez se encuentran más alimentos probióticos distintos de los productos lácteos, como pueden ser, zumos, cereales, snacks o suplementos (Granato *et al.*, 2010; Rivera-Espinoza y Gallardo-Navarro, 2010), mantener la viabilidad del microorganismo probiótico en un nuevo producto es un reto, ya que existen muchos factores que pueden ocasionar pérdida de viabilidad de los microorganismos. La temperatura, humedad, pH o proceso de obtención del producto, son algunos de los factores que disminuyen el crecimiento de las bacterias probióticas (Vesterlund *et al.*, 2012). En este caso, como se ha comentado anteriormente, se obtuvieron dos tipos de polvos inoculados con la bacteria *L. salivarius* spp. *salivarius*, uno por secado por aire caliente y otro por liofilización. Antes y después de los procesados se realizó un recuento microbiano, puesto que los probióticos deben estar vivos cuando son administrados para ejercer efectos positivos para la salud. La dosis diaria de probióticos necesaria para que su ingesta repercuta positivamente en la salud, es de 10^8 - 10^9 células viables. Para conseguir este consumo, los alimentos probióticos suelen contener alrededor de 10^7 - 10^8 UFC por gramo de producto (Vesterlund *et al.*, 2012; Betoret *et al.*, 2012).

En la **figura 11** se muestran los resultados correspondientes a este análisis, es decir la concentración bacteriana (Log UFC/g producto, figura 11 A; y Log UFC/g de materia seca, figura 11 B) antes y después de cada proceso, incluyendo las etapas intermedias del SAC. La concentración microbiana por gramo de producto da información sobre el aporte de microorganismos viables por cada gramo de producto húmedo o seco, mientras que los valores por gramo de materia seca permiten concretar el efecto del proceso de secado sobre la viabilidad microbiana, sobre la misma base de cálculo.

Los resultados demuestran que el proceso de secado disminuye la concentración de microorganismos viables en todos los casos. Con respecto al secado por aire caliente, se observa que durante las dos primeras etapas del secado, llevado a cabo a 60 °C durante 1 hora cada una de ellas, la viabilidad de las bacterias se ve reducida, pero se mantiene cercana al orden inicial (10^8). Sin embargo, un secado prolongado a 40 °C implica un descenso muy significativo de la viabilidad celular, llegando a valores por debajo del orden de 10^4 , notablemente alejados de la concentración habitual de viables en alimentos probióticos (Vesterlund *et al.*, 2012; Betoret *et al.*, 2012). Por el contrario, el polvo liofilizado presenta una concentración final de *L. salivarius* del orden de 10^7 , lo que confirmaría que las condiciones en las que se desarrolla este tipo de secado (bajas temperaturas) permite asegurar una suficiente viabilidad celular como para calificar el polvo resultante de probiótico. No obstante, al expresar los valores de viables por gramo de materia seca, se evidencia que existe una importante pérdida de viabilidad por ambos métodos de secado, la cual se habría visto parcialmente compensada por la concentración, resultado de la propia deshidratación.

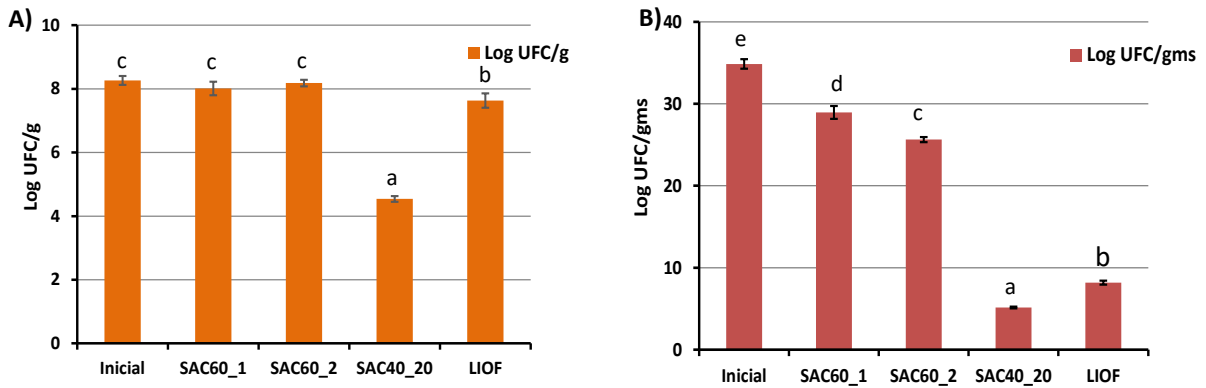


Figura 11. Concentración de *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius* en el triturado inicial y los diferentes polvos obtenidos. A) Logaritmo de unidades formadoras de colonia (UFC) por gramo de producto y B) Log de UFC por gramo de materia seca. SAC60_1: polvo inoculado con el probiótico y secado por aire caliente a 60 °C 1 h; SAC60_2: polvo inoculado con el probiótico y secado por aire caliente a 60 °C 2 h; SAC40_20: polvo inoculado con el probiótico y secado por aire caliente a 40 °C 20 h, LIOF: polvo liofilizado inoculado con el probiótico. Diferentes letras superpuestas indican diferencias significativas para un nivel de confianza del 95%.

Cabe señalar que, esta parte del trabajo se desarrolló como una prueba de concepto, y que sería necesario profundizar en aspectos tales como las temperaturas y la duración de las diferentes etapas de secado por aire caliente. El secado por aire caliente es un proceso más económico que la liofilización, y mucho más extendido a nivel industrial. Durante este tipo de secado, el producto en contacto con la corriente de aire tiene una temperatura menor a este, dado que la propia evaporación del agua se encarga de enfriar la superficie del producto (Fito *et al.*, 2001). Por este motivo, el inicio de la operación puede desarrollarse a temperaturas más elevadas sin dañar el producto, siempre y cuando el material esté lo suficientemente húmedo. A partir de una humedad crítica, la temperatura del producto aumenta y con ella el riesgo de la pérdida de actividad o viabilidad, puesto que al evaporarse menos agua el producto se calienta en mayor medida, acercándose su temperatura a la de la corriente del aire empleado. Por lo tanto, una manera de aumentar la viabilidad microbiana tras el SAC sería diseñar el proceso en varias etapas, combinando tiempos y temperaturas en sentido decreciente. Además, habría que considerar que el proceso de secado influye de forma inevitable sobre la estructura celular y la compartimentación del tejido, lo que puede dificultar la salida del agua de su interior, y por lo tanto reducir el éxito de la misma.

Propiedades antioxidantes

El metabolismo microbiano puede afectar de manera significativa a las propiedades antioxidantes del producto fermentado (Su y Chien, 2007; Nazzaro *et al.*, 2008; Gil *et al.*, 2000). Según la bibliografía consultada, la inoculación de microorganismos probióticos puede disminuir de forma significativa la actividad de los compuestos antioxidantes presentes en la materia original, aunque también se han reportado mejoras. En particular, Nazzaro *et al.* (2008) sobre zumo de zanahoria enriquecido con *L. rhamnosus* constataron una disminución de los valores con respecto al producto no inoculado; mientras que el enriquecimiento con *L. bulgaricus* supuso una mejora de las propiedades antioxidantes (Nazzaro *et al.*, 2008). Para evaluar la influencia de la inoculación del crecimiento de *L. salivarius* spp. *salivarius* sobre las propiedades antioxidantes de los polvos, se determinó el contenido en fenoles (figura 12) y la actividad antioxidante frente a los radicales DPPH y ABTS (figura 13 y tabla 10). Los análisis realizados sugieren que la actividad del microorganismo no afecta a las propiedades antioxidantes del polvo cuando este se obtiene mediante secado por aire caliente, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre los polvos SAC inoculados y el respectivo control (p-valor > 0,05). Por el contrario, sí aparecen diferencias estadísticamente significativas cuando los polvos se deshidratan por liofilización (p-valor < 0,05), de forma que la actividad microbiana reduciría las propiedades antioxidantes del polvo. Las diferencias obtenidas en función del tipo de secado empleado podrían deberse a que los microorganismos estarían degradando algunos de los compuestos

que la liofilización permite conservar, evidenciándose su degradación microbiana en las muestras inoculadas y liofilizadas. Por el contrario, el secado por aire caliente degradaría esos compuestos e incluso otros, dado el menor valor que se obtiene tanto para fenoles totales como para mg TE/g.

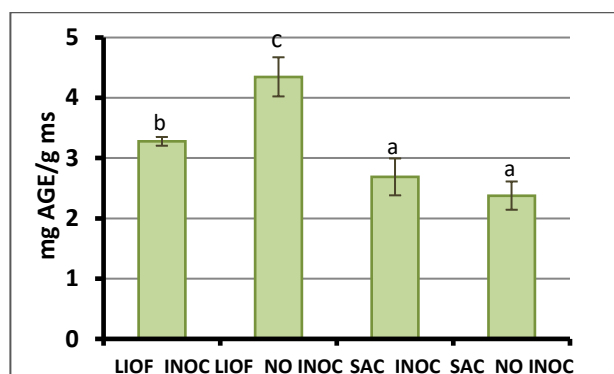


Figura 12. Contenido de fenoles totales expresado en mg de ácido gálico equivalentes (AGE) por gramo de materia seca en el bagazo fresco y polvos de caqui. LIOF_INOC: polvo liofilizado inoculado con el probiótico; LIOF_NO INOC: polvo liofilizado sin inocular; SAC_INOC: polvo secado por aire caliente a 60 °C 2 h y a 40 °C 20 h inoculado con el probiótico; SAC_NO INOC: polvo secado por aire caliente a 60 °C 2 h y a 40 °C 20 h sin inocular con el probiótico. Diferentes letras superpuestas indican diferencias significativas para un nivel de confianza del 95%.

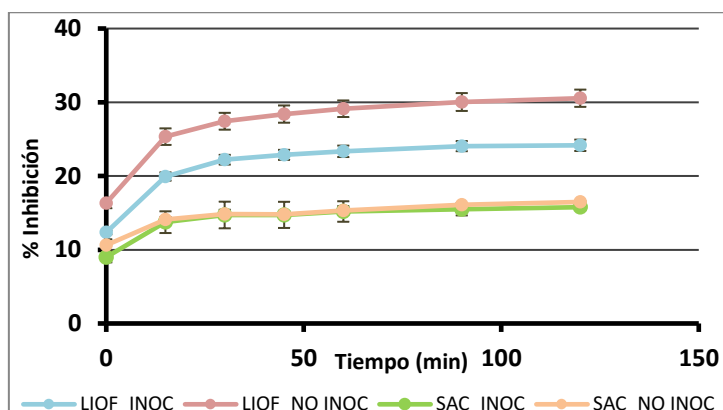


Figura 13. Evolución de la reacción DPPH durante 2 h para los extractos de los polvos enriquecidos con *L. salivarius* spp. *salivarius* y sus respectivos controles. LIOF_INOC: polvo liofilizado inoculado con el probiótico; LIOF_NO INOC: polvo liofilizado sin inocular; SAC_INOC: polvo secado por aire caliente a 60 °C 2 h y a 40 °C 20 h inoculado con el probiótico; SAC_NO INOC: polvo secado por aire caliente a 60 °C 2 h y a 40 °C 20 h sin inocular.

Profundizando en la **figura 13** y recordando los resultados sobre los polvos no probióticos (figura 8), puede observarse cómo el tratamiento térmico previo (pasteurización) habría degradado parte de los compuestos de reacción rápida, dado que en este caso todas las curvas presentan una forma hiperbólica. En particular, todas las curvas serían características de productos con compuestos de reacción rápida + lenta (Sendra *et al.*, 2006), pero la cantidad de compuestos de reacción rápida se habría visto reducida frente a los polvos que provienen de un triturado no pasteurizado. Algunos de los compuestos que podrían haberse degradado como consecuencia del tratamiento térmico y que característicamente presentan reacción muy rápida son la vitamina C o ácido ascórbico (Dhuique-Mayer *et al.*, 2007).

Tabla 10. Actividad antioxidante (AO) expresada en mg de Trólox equivalente (TE) por gramo de materia seca, para los métodos DPPH y ABTS. Media \pm desviación estándar para tres repeticiones. LIOF_INOC: polvo liofilizado inoculado con el probiótico; LIOF_NO INOC: polvo liofilizado sin inocular con el probiótico; SAC_INOC: polvo secado por aire caliente inoculado con el probiótico; SAC_NO INOC: polvo secado por aire caliente sin inocular con el probiótico.

	LIOF_INOC	LIOF_NO INOC	SAC_INOC	SAC_NO INOC
Capacidad AO DPPH (mgTE/g _{ms})	3,5 \pm 0,5 ^b	6,9 \pm 0,5 ^c	1,3 \pm 0,2 ^a	0,79 \pm 0,05 ^a
Capacidad AO ABTS (mgTE/g _{ms})	14,9 \pm 1,1 ^b	20,3 \pm 1,0 ^c	11,8 \pm 0,9 ^a	10,2 \pm 0,7 ^a

^{a,b,c...} letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95%.

5. CONCLUSIONES

El incremento en la producción de caqui y los residuos orgánicos que genera su industrialización, excedentes y destrío, junto con las propiedades funcionales de este material (contenido en fibra y propiedades antioxidantes), ponen de manifiesto el interés por elaborar polvos de residuo de caqui con el fin de emplearlos como aditivo, aliño o ingrediente funcional en la formulación de alimentos, convirtiendo, de esta manera, un producto de desecho en un producto con alto valor añadido.

Las operaciones de secado ensayadas en el presente trabajo han permitido obtener polvos de bagazo de caqui deshidratado con una adecuada estabilidad, en particular, cuando el secado se habría combinado con moliendas antes y después del mismo. La combinación de moliendas y secado, junto con las características del proceso de secado, determinan decididamente las propiedades del polvo obtenido. La extracción de los compuestos solubles y antioxidantes se ve favorecida por la desestructuración previa al secado, mientras que el método de secado influye de manera significativa en el éxito de la molienda posterior que, a su vez, determina el tamaño de partícula final del polvo. Asimismo, este tamaño de partícula determina muchas de las propiedades del polvo, desde las propiedades antioxidantes, hasta las propiedades de hidratación y emulsionantes.

En este sentido, sin bien la liofilización permite obtener un polvo de óptimas características teniendo en cuenta las distintas propiedades analizadas, el encarecimiento del proceso a nivel industrial no recomendaría su aplicación para la producción a gran escala, a no ser que el coste del producto estuviera justificado. En consecuencia, el polvo secado a 60 °C durante 20 horas podría constituir una buena alternativa al polvo liofilizado.

En relación a la obtención de polvos de bagazo de caqui enriquecidos con la bacteria probiótica *Lactobacillus salivarius* spp. *Salivarius* (CECT 4063), se concluye que las propiedades del bagazo triturado son adecuadas para el crecimiento de la bacteria. Los resultados de viabilidad celular en los polvos obtenidos invitan a afirmar que es posible obtener polvos probióticos a partir de bagazo de caqui, aunque sería conveniente profundizar en las operaciones de deshidratación para diseñar un proceso económicamente viable para su escalado a nivel industrial.

En términos generales, se concluye que los polvos obtenidos a partir de bagazo de caqui son una alternativa interesante para la reincorporación de estos desechos orgánicos a la cadena alimentaria, constituyendo un ingrediente sostenible y funcional con múltiples aplicaciones en la formulación de alimentos, y que podrían ser incluidos en matrices alimentarias de distinta naturaleza (zumos, *smoothies*, purés, gazpachos, yogures, productos de bollería, barritas de cereales, etc.).

6. BIBLIOGRAFÍA

- Aamir, M., Ovissipour, M., Sablani, S. and Rasco, B. (2013). Predicting the Quality of Pasteurized Vegetables Using Kinetic Models: A Review. *International Journal of Food Science*, 2013, pp. 1-29.
- Abadio, F., Domingues, A., Borges, S. and Oliveira, V. (2004). Physical properties of powdered pineapple (*Ananas comosus*) juice—effect of malt dextrin concentration and atomization speed. *Journal of Food Engineering*, 64(3), pp.285-287.
- Abdollahi-Roodsaz, S., Abramson, S., Scher, J. (2016). The metabolic role of the gut microbiota in health and rheumatic disease: mechanisms and interventions. *Nature Reviews Rheumatology*, 12(8), pp. 446-455.
- Akter, M., Ahmed, M., Eun, J. (2010). Dietary fibre components, antioxidant activities and hydration properties of ripe persimmon (*Diospyros kaki* L. cv. Daebong) peel powders as affected by different washing treatments. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(7), pp.1464-1471.
- AOAC Official Method 934.06 Moisture in Dried Fruits. *JAOAC* 17, 215(1934); 18, 80(1935).
- Aremu, M.O., Olonisakin, A., Atolaye, B.O., Ogbu, C.F. (2007). Some Nutritional Composition and Functional Properties of *Prosopis Africana*. *Bangladesh J. Sci. Ind. Res.* 42(3), pp. 269-280.
- Argyropoulos, D., Alex, R., Kohler, R., Müller, J. (2012). Moisture sorption isotherms and isosteric heat of sorption of leaves and stems of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) established by dynamic vapor sorption. *LWT-Food science and technology*, 47(2), pp. 324-331.
- Arnal, L. y Del Río, M.A. (2003). Removing Astringency by Carbon Dioxide and Nitrogen-Enriched Atmospheres in Persimmon Fruit cv. "Rojo brillante." *Journal of Food Science*, 68(4), pp. 1516-1518.
- Aviara, N.A. y Ajibola, O.O. (2002). Thermodynamics of moisture sorption in melon seed and cassava. *Journal of Food Engineering*, 55(2): 107-113.
- Ayala-Zavala, J.F., Vega-Vega, V., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodriguez, J.A., Wasim Siddiqui, Md., Dávila-Aviña, J.E., González-Aguilar, G.A. (2011). Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International*, 44(7), pp. 1866-1874.
- Bakar, J., Ee, S., Muhammad, K., Hashim, D. and Adzahan, N. (2012). Spray-Drying Optimization for Red Pitaya Peel (*Hylocereus polyrhizus*). *Food and Bioprocess Technology*, 6(5), pp. 1332-1342.
- Betoret, E., Betoret, N., Arilla, A., Bennár, M., Barrera, C., Codoñer, P. and 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), pp. 289-293.
- Bhusari, S, Muzaffar, K, Kumar, P. (2014). Effect of carrier agents on physical and microstructural properties of spray dried tamarind pulp powder. *Powder Technology*, 266, pp. 354-364.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), pp.25-30.
- Broadbent, A.D. (2017). Colorimetry Methods. In Lindon, J., Tranter, G.E. and Koppenaal, D. (Eds). *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*, 3rd ed. USA: Elsevier.
- Brunauer, S., Deming, L., Deming, W. and Teller, E. (1940). On a Theory of the van der Waals Adsorption of Gases. *Journal of the American Chemical Society*, 62(7), pp.1723-1732.
- Cai, Y.Z., Corke, H. (2000). Production and Properties of Spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments. *Journal of Food Science*, 65 (7), pp. 1248-1252.
- Ceballos, A., Giraldo, G., Orrego, C. (2012). Effect of freezing rate on quality parameters of freeze dried soursop fruit pulp. *Journal of Food Engineering*, 111 (2), pp. 360–365.
- Chen, X. y Patel, K. (2008). Manufacturing Better Quality Food Powders from Spray Drying and Subsequent Treatments. *Drying Technology*, 26(11), pp. 1313-1318.
- Ciardiello, M., Tamburrini, M., Tuppo, L., Carratore, V., Giovane, A., Mattei, B., Camardella, L. (2004). Pectin Methyltransferase from Kiwi and Kaki Fruits: Purification, Characterization, and Role of pH in the Enzyme Regulation and Interaction with the Kiwi Proteinaceous Inhibitor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(25), pp. 7700-7703.
- Clemente, J., Manasson, J., Scher, J. (2018). The role of the gut microbiome in systemic inflammatory disease. *BMJ*, 360:j5145
- Corzo, N., Alonso, J. L., Azpiroz, F., Calvo, M. A., Cirici, M., Leis, R., Lombo, F., Mateosaparicio, I., Plou, F. J., RuaS-Madiedo, P., Rúperez, P., Redondo-CuencA, A., SANZ, M. L. y Clemente, A. (2015). Prebióticos; concepto, propiedades y efectos beneficiosos. *Nutrición Hospitalaria*, 31(1), pp. 99-118.
- Crozier, S., Preston, A., Hurst, J., Payne, M., Mann, J., Hainly, L. and Miller, D. (2011). Cacao seeds are a "Super Fruit": A comparative analysis of various fruit powders and products. *Chemistry Central Journal*, 5(1), p.5.

- Cuq, B., Gaiani, C., Turchiuli, C., Galet, L., Scher, J., Jeantet, R., Mandato, S., Petit, J., Murrieta-Pazos, I., Barkouti, A., Schuck, P., Rondet, E., Delaloue, M.; Dumoulin, E., Delaplace, G. y Ruiz, T. (2013). Advances in Food Powder Agglomeration Engineering. *Advances in Food and Nutrition Research*, 69, pp. 41-103.
- Dahl, W., Stewart, M. (2015). Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Health Implications of Dietary Fiber. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 115(11), pp. 1861-1870.
- Dhingra, D., Michael, M., Rajput, H., Patil, R. (2011). Dietary fibre in foods: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 49(3), pp. 255-266.
- Dhuique-Mayer, C., Tbatou, M., Carail, M., Caris-Veyrat, C., Dornier, M. and Amiot, M. (2007). Thermal Degradation of Antioxidant Micronutrients in Citrus Juice: Kinetics and Newly Formed Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10), pp. 4209-4216.
- Di Cagno, R., Surico, R., Paradiso, A., De Angelis, M., Salmon, J., Buchin, S., De Gara, L., Gobbetti, M. (2009). Effect of autochthonous lactic acid bacteria starters on health-promoting and sensory properties of tomato juices. *International Journal of Food Microbiology*, 128(3), pp. 473-483.
- Di Cagno, R., Minervini, G., Rizzello, C., De Angelis, M., Gobbetti, M. (2011). Effect of lactic acid fermentation on antioxidant, texture, color and sensory properties of red and green smoothies. *Food Microbiology*, 28(5), pp. 1062-1071.
- Djantou, E., Mbofung, C., Scher, J., Phambu, N. and Morael, 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.
- Doymaz, I. (2012). Evaluation of some thin-layer drying models of persimmon slices (*Diospyros kaki* L.). *Energy Conversion and Management*, 56, pp. 199-205.
- Du, J., Ge, Z., Xu, Z., Zou, B., Zhang, Y. and Li, C. (2014). Comparison of the Efficiency of Five Different Drying Carriers on the Spray Drying of Persimmon Pulp Powders. *Drying Technology*, 32(10), pp. 1157-1166.
- Edrisi Sormoli, M. and Langrish, T. (2014). Moisture sorption isotherms and net isosteric heat of sorption for spray-dried pure orange juice powder. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), pp. 875-882.
- Fao.org. (2018). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. *FAOSTAT*. [online] Available at: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> [Accessed 18 Jun. 2018].
- Figuerola, F., Hurtado, M.L., Estevez, A.M., Choffelle, I., Asenjo, F. (2005). Fibre concentrates from apple pomace and citrus peels as potential fibre sources for food enrichment. *Food Chemistry*, 91, pp. 395-401.
- Fito, P., Andrés, A., Barat, J.M., Albors, A.M. (2001). *Introducción al secado de alimentos por aire caliente*. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia.
- Garau, M. C., Simal, S., Rossello, C., Femenia, A. (2007). Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties of dietary fibre and antioxidant capacity of orange (*Citrus aurantium* v. Canoneta) by-products. *Food chemistry*, 104(3), pp. 1014-1024.
- Gardiner, G., O'Sullivan, E., Kelly, J., Auty, M., Fitzgerald, G., Collins, J., Ross, R., Stanton, C. (2000). Comparative Survival Rates of Human-Derived Probiotic *Lactobacillus paracasei* and *L. salivarius* Strains during Heat Treatment and Spray Drying. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(6), pp. 2605-2612.
- Gil, M., Tomás-Barberán, F., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. and Kader, A. (2000). Antioxidant Activity of Pomegranate Juice and Its Relationship with Phenolic Composition and Processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), pp. 4581-4589.
- Gonnet, J.F. (1998). Colour effects of co-pigmentation of anthocyanins revisited-1. A colorimetric definition using the CIELAB scale. *Food Chemistry* 63 (3), pp. 409-415.
- González, E., Vegara, S., Martí, N., Valero, M. and Saura, D. (2015). Physicochemical Characterization of Pure Persimmon Juice: Nutritional Quality and Food Acceptability. *Journal of Food Science*, 80(3), pp. C532-C539.
- Gorinstein, S., Kulasek, G., Bartnikowska, E., Leontowicz, M., Zemser, M., Morawiec, M. and Trakhtenberg, S. (1998). The Influence of Persimmon Peel and Persimmon Pulp on the Lipid Metabolism and Antioxidant Activity of Rats Fed Cholesterol. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 9(4), pp. 223-227.
- Granato, D., Branco, G., Nazzaro, F., Cruz, A., Faria, J. (2010). Functional Foods and Nondairy Probiotic Food Development: Trends, Concepts, and Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(3), pp. 292-302.
- Greenspan, L. (1977). Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions. *Journal of research of the national bureau of standards*, 81(1), pp. 89-96.
- Gueniche, A., Slum, S., Castie, I. (2009). Probiotics for Skin Benefits. *Nutritional Cosmetics: Beauty from Within*, pp. 421-439.

- Hernández-Carrión, M., Varela, P., Hernando, I., Fizman, S. and Quiles, A. (2015). Persimmon milkshakes with enhanced functionality: Understanding consumers' perception of the concept and sensory experience of a functional food. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), pp. 384-392
- Hernández, A. (1999). El cultivo de kaki en la comunidad valenciana. Cuadernos de tecnología agraria serie fructicultura No. 3 Generalitat Valenciana Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- ISO. (1997). ISO 1743:1982. Glucose syrup determination of dry matter content. Refractive index method. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- 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, pp. 32-49.
- Kaymak-Ertekin, F. Gedik, A. (2004). Sorption isotherms and isosteric heat of sorption for grapes, apricots, apples and potatoes. *LWT - Food Science and Technology*, 37(4), pp.429-438.
- Kim, J.H., Kang, W.W., Kim, J.K. (2005a). Quality evaluation of yut (Korean traditional candy) prepared from low quality dried-persimmon. *Korean Journal of Food Preservation* 12(2), pp. 135-140.
- Kim, S., Jeong, S., Kim, S., Jeon, K., Park, E., Park, H. and Lee, S. (2005b). Effect of Heat Treatment on the Antioxidative and Antigenotoxic Activity of Extracts from Persimmon (*Diospyros kaki* L.) Peel. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 70(4), pp. 999-1002.
- Lario, Y. (2003). Preparation of high dietary fiber powder from lemon juice by-products. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*.
- Larrauri, J. A. (1999). New approaches in the preparation of high dietary fibre powders from fruit by-products. *Trends in Food Science & Technology*, 10(1), pp.3-8.
- Lin, J. and Tang, C. (2007). Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food Chemistry*, 101(1), pp.140-147.
- López, G., Ros, G., Rincón, F., Periago, M., Martínez, M. and Ortuño, J. (1996). Relationship between Physical and Hydration Properties of Soluble and Insoluble Fiber of Artichoke. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(9), pp.2773-2778.
- 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, pp. 5042–5047.
- Martínez-Las Heras, R., Heredia, A., Castelló, M. and Andrés, A. (2014). Moisture sorption isotherms and isosteric heat of sorption of dry persimmon leaves. *Food Bioscience*, 7, pp.88-94.
- Martínez Las Heras, R. (2016). Valorización del cultivo del caqui. Universidad Politécnica de Valencia. Tesis doctoral. 1-221.
- Martínez-Las Heras, R., Landines, E., Heredia, A., Castelló, M. and Andrés, A. (2017a). Influence of drying process and particle size of persimmon fibre on its physicochemical, antioxidant, hydration and emulsifying properties. *Journal of Food Science and Technology*, 54(9), pp.2902-2912.
- Martínez-Las Heras, R., Pinazo, A., Heredia, A. and Andrés, A. (2017b). Evaluation studies of persimmon plant (*Diospyros kaki*) for physiological benefits and bioaccessibility of antioxidants by in vitro simulated gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 214, pp.478-485.
- Martínez Navarrete, N; Andrés Grau, A.M.; Chilart Boix, A.; Fito Maupoey, P. (1998). Termodinámica y cinética de sistemas alimento entorno. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia.
- Matveev, Y., Grinberga, V., Tolstoguzov, V. (2000). The plasticizing effect of water on proteins, polysaccharides and their mixtures. Glassy state of biopolymers, food and seeds. *Food Hydrocolloids*, 14(5), pp. 425-437.
- Mertens, D.R. (2002). Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. *Mertens: Journal of AOAC International*, 85(6), pp. 1217-1240.
- Mimouni, A.; Deeth, H.C.; Whittaker, A.K.; Gidley, M.J. y Bhandari, B.R. (2009). Rehydration process of milk protein concentrate powder monitored by static light scattering. *Food Hydrocolloids*, 23(7), pp. 1958–1965.7
- Mokhtar, S., Swailam, H. and Embaby, H. (2018). Physicochemical properties, nutritional value and techno-functional properties of goldenberry (*Physalis peruviana*) waste powder concise title: Composition of goldenberry juice waste. *Food Chemistry*, 248, pp.1-7.
- Murrieta-Pazos, I., Gaiani, C., Galet, L., Calvet, R., Cuq, B. and Scher, J. (2012). Food powders: Surface and form characterization revisited. *Journal of Food Engineering*, 112(1-2), pp. 1-21.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., Sada, A., Orlando, P. (2008). Synbiotic potential of carrot juice supplemented with *Lactobacillus* spp. and inulin or fructo oligosaccharides. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(13), pp.2271-2276.

- Neacsu, M., Vaughan, N., Raikos, V., Multari, S., Duncan, G. J., Duthie, G. G., Russell, W. R. (2015). Phytochemical profile of commercially available food plant powders: their potential role in healthier food reformulations. *Food chemistry*, 179, pp. 159-169.
- Pérez-Burillo, S., Oliveras, M., Quesada, J., Rufián-Henares, J., Pastoriza, S. (2018). Relationship between composition and bioactivity of persimmon and kiwifruit. *Food Research International*, 105, pp. 461-472.
- Raghavendra, S. N., Swamy, S. R., Rastogi, N. K., Raghavarao, K. S. M. S., Kumar, S., Tharanathan, R. N. (2006). Grinding characteristics and hydration properties of coconut residue: A source of dietary fiber. *Journal of Food Engineering*, 72(3), pp. 281-286
- Ramírez, A., Pacheco de Delahaye, E. (2009). Propiedades funcionales de harinas altas en fibra dietética obtenidas de piña, guayaba y guanábana. *Interciencia*, 34(4).
- Ramírez, J., Contreras, G., Gómez M.C. (2005). La fase estacionaria en la bacteria *Escherichia coli*. *Revista Latinoamericana de microbiología*, 47(3-4), pp. 92-101.
- Ratti, C. (2001). Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. *Journal of food engineering*, 49(4), pp. 311-319.
- 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, pp. 1231-1237.
- Rivera-Espinoza, Y. y Gallardo-Navarro, Y. (2010). Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*, 27(1), pp. 1-11.
- Roig, S. (2017). Caracterización del polvo obtenido a partir de residuo de arándano y su uso como ingrediente funcional en la formulación de galletas. Universidad Politécnica de Valencia. Trabajo fin de grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. 1-47.
- Sáez, R. (2017). Caracterización de polvos de piel de mandarina para su uso como ingrediente funcional en alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. Trabajo final de máster universitario en ingeniería agrónoma. 1-42.
- Saifullah, M., Yusof, Y., Chin, N. and Aziz, M. (2016). Physicochemical and flow properties of fruit powder and their effect on the dissolution of fast dissolving fruit powder tablets. *Powder Technology*, 301, pp. 396-404.
- Salvador, A., Arnal, L., Besada, C., Larrea, V., Quiles, A. and Pérez-Munuera, I. (2007). Physiological and structural changes during ripening and deastringency treatment of persimmon fruit cv. 'Rojo Brillante'. *Postharvest Biology and Technology*, 46(2), pp. 181-188.
- Schweiggert, U., Carle, R. and Schieber, A. (2007). Conventional and alternative processes for spice production – a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18(5), pp. 260-268.
- Seguí, L., Calabuig-Jiménez, L., Betoret, N., Fito, P. (2015). Physicochemical and antioxidant properties of non-refined sugarcane alternatives to white sugar. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(12), pp.2579-2588.
- Sendra, J.M., Sentandreu, E., Navarro, J.L. (2006). Reduction kinetics of the free stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH') for determination of the antiradical activity of citrus juices. *European Food Research and Technology*, 223, pp. 615-624.
- Serna-Cock, L., Torres-León, C., Ayala-Aponte, A. (2015). Evaluación de Polvos Alimentarios obtenidos de Cáscaras de Mango (*Mangifera indica*) como fuente de Ingredientes Funcionales. *Información tecnológica*, 26(2), pp.41-50.
- Shahidi, F., Liyana-Pathirana, C. and Wall, D. (2006). Antioxidant activity of white and black sesame seeds and their hull fractions. *Food Chemistry*, 99(3), pp.478-483.
- Silva, F., Gibbs, P. (2004). Target Selection in Designing Pasteurization Processes for Shelf-Stable High-Acid Fruit Products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(5), pp. 353-360.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 299, 152-178.
- Slavin, J. (2013). Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. *Nutrients*, 5(4), pp. 1417-1435.
- Sousa, A., Borges, S., Magalhães, N., Ricardo, H., Azevedo, A. (2008). Spray-dried tomato powder: reconstitution properties and colour. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 51(4), pp.607-614.
- Su, M. y Chien, P. (2007). Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation. *Food Chemistry*, 104(1), pp. 182-187.
- Tao, Y., Wu, Y., Yang, J., Jiang, N., Wang, Q., Chu, D., Han, Y., Zhou, J. (2018). Thermodynamic sorption properties, water plasticizing effect and particle characteristics of blueberry powders produced from juices, fruits and pomaces. *Powder Technology*, 323, pp.208-218.
- Telis, V., Gabas, A., Menegalli, F. and Telis-Romero, J. (1999). Water sorption thermodynamic properties applied to persimmon skin and pulp. *Thermochimica Acta*, 343(1-2), pp.49-56.

- Tsotsas, E. and Mujumdar, A. (2011). *Modern drying technology*. Weinheim: Wiley-VCH.
- Ubeda, C., Hidalgo, C., Torija, M., Mas, A., Troncoso, A. and Morales, M. (2011). Evaluation of antioxidant activity and total phenols index in persimmon vinegars produced by different processes. *LWT - Food Science and Technology*, 44(7), pp. 1591-1596.
- Vesterlund, S., Salminen, K., Salminen, S. (2012). Water activity in dry foods containing live probiotic bacteria should be carefully considered: A case study with *Lactobacillus rhamnosus* GG in flaxseed. *International Journal of Food Microbiology*, 157(2), pp.319-321.
- Villarroel, M.; Acevedo, C.; Yañez, E. y Bioley, E. (2003). Propiedades funcionales de la fibra del musgo *Sphagnum magellanicum* y su utilización en la formulación de productos de panadería. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 53(4).
- Wachirasiri, P., Julakarangka, S., Wanlapa, S. (2009). The effects of banana peel preparations on the properties of banana peel dietary fibre concentrate. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 31, pp. 1–7.
- Wolf, W.; Spiess, W.E.L. y Jung, G. (1985). Standardization of Isotherm Measurements (COST-Project 90 and 90 bis). *Properties of Water in Foods*. 661–679.
- Wolfe, K., Wu, X., Liu, R. H. (2003). Antioxidant activity of apple peels. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(3), 609-614.
- Yaqub, S., Farooq, U., Shafi, A., Akram, K., Murtaza, M., Kausar, T. and Siddique, F. (2016). Chemistry and Functionality of Bioactive Compounds Present in Persimmon. *Journal of Chemistry*, 2016, pp. 1-13.
- Yasumatsu, K., Sawada, K., Moritaka, S., Misaki, M., Toda, J., Wada, T., Ishii, K. (1972). Whipping and emulsifying properties of soybean products. *Agricultural and Biological Chemistry*, 36(5), pp. 719-727.