

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA
AGRONÓMICA Y DEL MEDIO NATURAL

GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS
ALIMENTOS



EFFECTO DE LOS PRETRATAMIENTOS DE DESHIDRATACIÓN E INCORPORACIÓN DE SOLUTOS EN EL VALOR FUNCIONAL DEL POMELO LIOFILIZADO.

TRABAJO FIN DE GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

ALUMNA: Rocío Díaz Sanchis

DIRECTORA: Nuria Martínez Navarrete

CODIRECTORA: Eva García Martínez

Curso Académico: 2014/2015

Valencia, Septiembre de 2015



TÍTULO: EFECTO DE LOS PRETRATAMIENTOS DE DESHIDRATACIÓN E INCORPORACIÓN DE SOLUTOS EN EL VALOR FUNCIONAL DEL POMELO LIOFILIZADO.

RESUMEN

Las frutas son una fuente importante de sustancias bioactivas que parecen estar relacionadas con efectos beneficiosos en la salud. El pomelo es uno de los cítricos que más cantidad de sustancias bioactivas aporta a la dieta, sin embargo, la estacionalidad y la corta vida útil del fruto limitan su consumo en fresco, además del ritmo de vida acelerado actual de las personas. Por ello, es fundamental la presentación de nuevas alternativas de mercado, en este sentido, podría ser de gran interés diseñar un producto nutracéutico a base de extractos de fruta. Para ello una opción es partir de fruta en polvo, sometiendo el producto a un proceso de deshidratación. La liofilización es una técnica que proporciona productos de elevada calidad y bajos contenidos en humedad, pero es altamente costosa respecto a tiempo y consumo energético. Por lo que puede resultar muy interesante la reducción de parte del agua a través de pretratamientos, como el secado por microondas, ayudando así a la reducción costes. Por otro lado, el producto liofilizado muestra fenómenos de pegajosidad, apelmazamiento y colapso estructural; dicha adherencia de partículas puede evitarse a través de la adición de solutos. En este estudio se evalúa el efecto del pretratamiento con microondas y la adición de goma arábiga y fibra de bambú sobre la calidad funcional de pomelo liofilizado. A las muestras de pomelo planteadas se les ha extraído y cuantificado, por diferente procedimiento según el compuesto, la Vitamina C, los fenoles totales y los carotenoides totales. Además se ha analizado la capacidad antioxidante de los tres extractos por tres métodos diferentes: ABTS, DPPH y FRAP. Los resultados mostraron que el pretratamiento con microondas produjo un aumento en el contenido en fenoles totales y carotenoides, pero una disminución de la vitamina C, y además no se observó ningún cambio significativo en la capacidad antioxidante. La liofilización aumentó el contenido en fenoles de las muestras con solutos pero disminuyó la cantidad de carotenoides y vitamina C. En cuanto a los métodos de cuantificación de actividad, el DPPH es el que mejor se correlaciona con el contenido en compuestos fenólicos y vitamina C. Ni éste ni el ABTS ni el FRAP parecen correlacionarse bien con el contenido en carotenoides.

Palabras clave: pomelo, fitoquímicos, microondas, liofilización, goma arábiga, fibra de bambú, actividad antioxidante.

Alumna: Rocío Díaz Sanchis

Directora: Nuria Martínez Navarrete

Codirectora: Eva García Martínez

Valencia, Septiembre de 2015

TÍTOL: EFECTE DELS PRETRACTAMENTS DE DESHIDRATACIÓ I INCORPORACIÓ DE SOLUTS AL VALOR FUNCIONAL DEL POMELO LIOFILITZAT.

RESUM

Les fruites són una font important de substàncies bioactives que semblen estar relacionades amb efectes beneficiosos en la salut. El pomelo és un dels cítrics que més quantitat de substàncies bioactives aporta a la dieta, però, l'estacionalitat i la curta vida útil del fruit limiten el seu consum en fresc, a més del ritme de vida accelerat actual de les persones. Per això, és fonamental la presentació de noves alternatives de mercat, en aquest sentit, podria ser de gran interès dissenyar un producte nutracèutic a base d'extractes de fruita. Per això una opció és partir de fruita en pols, sotmetent el producte a un procés de deshidratació. La liofilització és una tècnica que proporciona productes d'elevada qualitat i baixos continguts en humitat, però és altament costosa pel que fa a temps i consum energètic. Pel que pot resultar molt interessant la reducció de part de l'aigua a través de pretractaments, com l'assecat per microones, ajudant així a la reducció costos. D'altra banda, el producte liofilitzat mostra fenòmens de enganxositat, atapeïment i col·lapse estructural; aquesta adherència de partícules pot evitar mitjançant l'addició de soluts. En aquest estudi s'avalua l'efecte del pretractament amb microones i l'addició de goma aràbiga i fibra de bambú sobre la qualitat funcional d'aranja liofilitzat. A les mostres d'aranja plantejades se'ls ha extret i quantificat, per diferent procediment segons el compost, la Vitamina C, els fenols totals i els carotenoides totals. A més s'ha analitzat la capacitat antioxidant dels tres extractes per tres mètodes diferents: ABTS, DPPH i FRAP. Els resultats van mostrar que el pretractament amb microones va produir un augment en el contingut en fenols totals i carotenoides, però una disminució de la vitamina C, a més no es va observar cap canvi significatiu en la capacitat antioxidant. La liofilització va augmentar el contingut en fenols de les mostres amb soluts però va disminuir la quantitat de carotenoides i vitamina C. Quant als mètodes de quantificació d'activitat, el DPPH és el que millor es correlaciona amb el contingut en compostos fenòlics i vitamina C. Ni aquest ni el ABTS ni el FRAP semblen correlacionar-bé amb el contingut en carotenoides.

Paraules clau: aranja, fitoquímics, microones, liofilització, goma aràbiga, fibra de bambú, activitat antioxidant.

Alumna: Rocío Díaz Sanchis

Directora: Nuria Martínez Navarrete

Codirectora: Eva García Martínez

València, Setembre de 2015

TITLE: EFFECT OF DEHYDRATION AND INCORPORATION PRETREATMENTS OF SOLUTES IN THE FUNCTIONAL VALUE OF THE LYOPHILIZED GRAPEFRUIT.

ABSTRACT

Fruits are an important source of bioactive substances that appear to be related to beneficial effects on health. Grapefruit is a one of the citrus that most amounts of bioactive substances contributes to the diet, however, seasonality and its short shelf life limit fresh consumption, in addition to the current accelerated way of life. Therefore, it is essential the presentation of new market alternatives, in this sense, it could be of great interest to design a nutraceutical product based on fruit extracts. An option is subjecting the fruit to a dehydration process to obtain a product powder. Freeze-drying is a technique that provides high quality products with low moisture content, but is highly expensive with respect to time and energy consumption. It can be very interesting the reduction of water through pretreatments such as microwave drying, thus helping reducing costs. Furthermore, the freeze dried product shows phenomena of tackiness, lumping and structural collapse; such adhesion of particles can be avoided by adding solutes. In this study the effect of pretreatment with microwaves and addition of arabic gum and bamboo fiber on the functional quality of freeze dried grapefruit was evaluated. Vitamin C, total phenols and total carotenoids were extracted and quantified by different methods depending on the compound. Furthermore, antioxidant capacity of the three extracts obtained was analyzed by three different methods: ABTS, DPPH and FRAP. Results showed that microwave pretreatment increased the content of total phenols and carotenoids, but decreased vitamin C. No significant changes were observed in antioxidant capacity due to microwave pretreatment. Freeze drying increased phenol content of the samples with solutes but decreased the amount of carotenoids and vitamin C. As for the methods of quantifying antioxidant capacity, DPPH was the best correlated with phenolic compounds and vitamin C. Neither DPPH, nor ABTS and FRAP appear to correlate with carotenoids content.

Keywords: grapefruit, phytochemicals, microwave, freeze drying, arabic gum, bamboo fiber, antioxidant activity.

Student: Rocío Díaz Sanchis

Director: Nuria Martínez Navarrete

Codirector: Eva García Martínez

Valencia, September 2015

ÍNDICE

1. Introducción.....	1
2. Objetivo.....	4
3. Metodología.....	5
3.1 Materia prima.....	5
3.2 Obtención de las muestras.....	5
3.3 Obtención de los extractos.....	6
3.4 Determinaciones analíticas.....	6
3.4.1 Humedad.....	6
3.4.2 Compuestos bioactivos.....	6
3.4.2.1 Fenoles totales.....	7
3.4.2.2 Carotenoides totales.....	7
3.4.2.3 Vitamina C.....	7
3.4.3 Actividad antioxidante.....	8
3.4.3.1 FRAP.....	8
3.4.3.2 DPPH.....	8
3.4.3.3 ABTS.....	8
3.5 Análisis estadístico.....	9
4. Resultados y discusión.....	10
5. Conclusión.....	18
6. Bibliografía.....	19

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Código asignado a las muestras de pomelo estudiadas. Cantidad de goma arábica (GA) y fibra de bambú (FB) añadidas (g /100 g puré) y tecnología empleada para el procesado.....	5
Tabla 2. Media y desviación estándar del contenido en agua (x_w), expresado en g de agua/g de muestra, de las diferentes muestras.....	10
Tabla 3. Media y desviación estándar del contenido fenoles (mg de ácido gálico/100 g solutos de pomelo), en carotenoides (mg de β -caroteno/100 g solutos de pomelo) y en vitamina C (mg vitamina C/ 100g de solutos de pomelo).....	10
Tabla 4. Coeficientes de correlación de Pearson entre los compuestos fenólicos, carotenoides y vitamina C cuantificados en cada extracto y los métodos de cuantificación de actividad antioxidante realizados (DPPH, ABTS y FRAP).....	16

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Capacidad antioxidante del extracto 1 obtenido de las muestras PS, PM, PSL y PML, medida por los métodos DPPH, ABTS y FRAP.....	13
Figura 2. Capacidad antioxidante del extracto 2 obtenido de las muestras PS, PM, PSL y PML, medida por los métodos DPPH, ABTS y FRAP.....	14
Figura 3. Capacidad antioxidante del extracto 3 obtenido de las muestras PS, PM, PSL y PML, medida por los métodos DPPH, ABTS y FRAP.....	15
Figura 4. Suma de la capacidad antioxidante total de los extractos 1,2 y 3 obtenidos de las muestras PS, PM, PSL y PML, medida por los métodos DPPH, ABTS y FRAP.....	16

1. INTRODUCCIÓN

El consumo de fruta en la dieta es muy importante para conseguir una nutrición adecuada y mantener un estilo de vida saludable (Dauchet et al., 2006; Luximon-Ramma et al., 2003; Stahl et al., 2005). Numerosos estudios epidemiológicos sugieren que este grupo de alimentos ejerce efectos beneficiosos en la salud, asociándose con un descenso en el desarrollo de distintos procesos crónicos, como enfermedades cerebrovasculares y cardiovasculares, algunos desórdenes neurológicos, ciertos procesos inflamatorios, distintos tipos de cáncer e incluso a la enfermedad de Alzheimer (John et al., 2002; Kaur y Kapoor, 2001; Liu et al., 2000; Martínez-Navarrete et al., 2008; Sánchez-Moreno et al., 1998; Stahl et al., 2005; Stanner et al., 2004; Vanamala et al., 2006; Xu et al., 2008). Dichos beneficios parecen estar relacionados con un amplio número de compuestos denominados fitoquímicos o sustancias bioactivas (Hensley et al., 2004; Xu et al., 2008; Yen et al., 2002). En este grupo de sustancias destacan los antioxidantes, compuestos de distinta naturaleza química que protegen a los sistemas biológicos contra los efectos perjudiciales de procesos o reacciones de oxidación. Las vitaminas C y E, polifenoles, carotenoides y terpenoides, entre otros, están incluidos entre estos compuestos bioactivos (Arnao et al., 2001; Bravo, 1998; García-Lafuente et al., 2009). Por todo ello, la función de estos compuestos es muy importante ya que, en la sociedad actual, el cáncer es la segunda causa de muerte después de las enfermedades cardiovasculares (Robles-Agudo et al., 2005). Como consecuencia, la Organización Mundial de la Salud recomienda el consumo diario de más de cinco raciones de frutas y hortalizas (OMS, 2015), ya que se ha demostrado que los individuos que siguen dicha recomendación, tienen aproximadamente la mitad de riesgo de padecer cáncer (Dembitsky et al., 2011).

El pomelo (*Citrus paradisi*) es el tercer cítrico con mayor producción mundial (supera las 3,8 millones de toneladas anuales) detrás de las naranjas y las mandarinas (Infoagro, 2015). Las variedades de pomelo pueden clasificarse principalmente en dos grupos según su tonalidad. Por un lado se encuentran las variedades blancas o comunes, que presentan una tonalidad amarillenta, donde se engloban las variedades Duncan y Marsh. Por otra parte se hallan las variedades pigmentadas, que tienen un color rosa o rojizo, donde se encuentran las variedades Burgundy, Ruby, Star Ruby, Thompson y Pink Marsh. En España, la Star Ruby es la más consumida ya que presenta mejor sabor y un color más intenso por su contenido en licopeno, pigmento que la hace más atractiva para el consumidor (Kimball, 1999). El pomelo, presenta gran interés desde el punto de vista nutricional y funcional debido a que aporta a la dieta más cantidad de sustancias bioactivas que la naranja, la mandarina, el limón y la lima (Peterson et al., 2006a; Peterson et al., 2006b; Xu et al., 2008). Es una fuente importante de vitamina C, fenoles y β -caroteno (provitamina A), compuestos con capacidad antioxidante que proporcionan beneficios para la salud (Burgess y Andrade, 2006; Igual et al., 2009; Xu et al., 2008), empleándose en tratamientos y prevención de diversas patologías (Del Caro et al., 2004; Pamplona, 2006). Sus frutos se consumen principalmente en fresco (Infoagro, 2015), sin embargo, el sabor amargo debido a la presencia de flavonoides como la naringina, la estacionalidad y la corta vida útil del fruto, limitan su consumo en fresco (Drewnowski et al., 1997), aumentado así su consumo en forma de mermeladas y zumos (Infoagro, 2015).

Actualmente, el ritmo de vida acelerado ha llevado a la gente a hábitos alimentarios inadecuados, conllevando a un déficit nutricional. Por otro lado, cada vez más, las personas son conscientes de la importancia que tiene la alimentación en la salud y en la reducción del riesgo de contraer enfermedades (Alvídrez et al., 2002). Debido a este hecho, la presentación de nuevas alternativas de mercado, que permitan el acercamiento de las

propiedades beneficiosas de alimentos como el pomelo a los consumidores, es un reto para la ciencia y tecnología de los alimentos. Por estas razones, el empleo del pomelo para la elaboración de nutraceúticos puede responder a dicha cuestión. Los nutraceúticos son suplementos dietéticos formulados como un concentrado de compuestos bioactivos beneficiosos para la salud, extraídos usualmente de los alimentos, presentados en una matriz no alimentaria para ser ingeridos como píldoras, pastillas, cápsulas o tónicos (Contreras-Calderón et al., 2010; Cruzado y Cedrón, 2012; Drago et al., 2006; Hasler, 2003; Roberfroid, 2007; Xu et al., 2008). Dada la diferente naturaleza y polaridad de las sustancias bioactivas, es necesario emplear distintos disolventes para su extracción (Boeing et al., 2014; Pérez-Jiménez & Saura-Calixto, 2006; Pérez-Jiménez et al., 2008).

Para la elaboración de nutraceúticos una opción es partir de fruta concentrada en polvo, siendo necesario someter al pomelo a un proceso de deshidratación (Bennet et al., 2011). La liofilización una de técnica de secado que proporciona productos de elevada calidad sensorial, nutritiva y funcional y bajos contenidos en humedad (Barbosa-Cánovas et al., 2005; Guio et al., 2000; López et al., 2006). Además, los productos obtenidos a partir de este método, suponen una ventaja adicional respecto al consumo de fruta fresca, ya que se pueden emplear en dietas modificadas para alimentación hospitalaria en pacientes con dificultades en masticación y deglución (De Luis et al., 2002). La liofilización se basa en la eliminación del agua por sublimación, en condiciones de baja presión y temperatura, de un producto previamente congelado (Berk, 2009). Debido a la disminución de la actividad del agua (a_w) y a las bajas temperaturas, la mayoría de reacciones de deterioro se detienen, obteniéndose productos de mayor calidad que los obtenidos por tratamientos térmicos (Igual et al., 2009).

Sin embargo, el producto obtenido es altamente higroscópico, pudiendo mostrar fenómenos de pegajosidad, apelmazamiento y colapso estructural (Gabas et al., 2007; Ross, 1995). Estos problemas están generalmente asociados al estado gomoso de la matriz. El cambio de estado de gomoso a vítreo, de máxima estabilidad, viene determinado por la temperatura de transición vítrea (T_g). La T_g se encuentra directamente relacionada con la composición del alimento, aumentando cuanto mayor sea el peso molecular promedio de los solutos de la matriz amorfa, y disminuyendo cuanto mayor sea la concentración de agua (Ross, 1995). Para favorecer el estado vítreo y evitar la adherencia de las partículas, se hace necesario aumentar el peso molecular promedio de la matriz amorfa, lo que puede conseguirse adicionando solutos (Gabas et al., 2007; Zhongxiang & Blesh, 2012). Los solutos utilizados en este estudio con dicho fin han sido la goma arábiga y la fibra de bambú. La goma arábiga es un hidrocoloide protector de origen natural, obtenido del exudado de plantas de diferentes especies *Acacia*, (Cozic et al., 2009) que contiene L-arabinosa, L-ramnosa, D-galactopiranososa y algunos ácidos derivados (Hao Wang et al., 2014). Además, este hidrocoloide presenta capacidad de agente encapsulante y estabilizante (Gabas et al., 2007; Hao Wang et al., 2014; Righetto & Netto, 2005). La fibra de bambú procede de una planta de subfamilia *Bambusoidae* y está compuesta por hemicelulosa, celulosa, pectina y lignina (Abdul Khalil, 2013; Eun-Jin & Deok Young, 2009; Ming-Fei et al., 2010; Pai et al., 2011; Scurlock et al., 2000). Además algunos estudios describen su contribución a prevención de enfermedades crónicas (Dello et al., 2004; Eun- Jin & Deok-Young, 2009; Mejía et al., 2009; O'Shea et al., 2012).

Por otro lado, la liofilización es una técnica altamente costosa, en cuanto a tiempo y consumo energético (Fellows, 2000; Kasper & Friess, 2011), por lo que la disminución previa de parte del agua del alimento podría contribuir a la obtención de productos de menor coste en menor tiempo (Barbosa-Cánovas et al., 2005; Benlloch-Tinoco et al., 2013;

Fahloul et al., 2009). En este sentido puede resultar muy interesante una deshidratación parcial por microondas, que, por su elevado rendimiento térmico, permite la eliminación de agua en un tiempo relativamente corto, lo que contribuye a una menor degradación de los compuestos termolábiles, obteniéndose productos de mejor calidad (Giese, 1992; Igual et al., 2012; Benlloch, 2015).

2. OBJETIVO

Con la intención de conocer la viabilidad de la liofilización para la obtención de un producto nutracéutico, el objetivo de este trabajo ha sido evaluar el efecto del pretratamiento con microondas y la adición de goma arábica y fibra de bambú sobre la calidad funcional de pomelo liofilizado. Para ello se ha estudiado el contenido en compuestos fenólicos, carotenoides y vitamina C de las muestras obtenidas, así como su capacidad antioxidante.

3. METODOLOGÍA

3.1 Materia prima

En este estudio se empleó pomelo (*Citrus paradisi*) de la variedad Star Ruby. Fue adquirido siempre en la misma cadena de supermercado de la ciudad de Valencia y las piezas utilizadas se seleccionaron en base a su tamaño, color, firmeza y ausencia de daños físicos superficiales, según apreciación visual.

En cuanto a los solutos utilizados como aditivos tecnológicos para la obtención de algunas muestras, se empleó goma arábiga (GA) de Scharlab S.L. (Sentmenat, España) y fibra de bambú (FB) de J.Rettenamaier & Söhne (JRS) (Rosenberg, Alemania).

3.2 Obtención de las muestras

Para la obtención de las muestras, los pomelos se lavaron, pelaron, cortaron y, finalmente, se trituraron mediante un robot de cocina (Thermomix TM 21, Vorwerk, Spain). Con el puré de pomelo obtenido se prepararon las cuatro muestras que se detallan en la Tabla 1. La cantidad de solutos adicionada, así como los tratamientos empleados se seleccionaron de acuerdo a las formulaciones optimizadas de estudios previos (Marchirant, 2014).

TABLA 1. Código asignado a las muestras de pomelo estudiadas. Cantidad de goma arábiga (GA) y fibra de bambú (FB) añadidas (g /100 g_{puré}) y tecnología empleada para el procesado.

Código muestra	Tecnología	GA	FB
PS	-	3,78	0,476
PSL	Liofilización	3,78	0,476
PM	Microondas	0	0
PML	Microondas+ Liofilización	0	0

A una parte del puré de pomelo obtenido se le adicionaron los solutos (GA y FB) en el mismo robot de cocina utilizado para la trituración de la fruta (Thermomix TM 21, Vorwerk, Spain). El puré de pomelo con los solutos añadidos constituyó la muestra PS. Parte de esta muestra se dispuso en bandejas de aluminio con 0,5 cm de espesor de puré, se congeló a -40 °C (Liebherr Mediline 7083 207-00) durante 48 horas y posteriormente se liofilizó a 0,021 mPa y -59 °C en el condensador, durante 48 horas. La liofilización se realizó en un liofilizador Telstar Lioalfa-6. La torta obtenida la liofilización se trituró, obteniéndose la muestra PSL, que se envasó a vacío y se almacenó en un desecador con silicagel hasta que se analizó.

Para obtener las muestras PM y PML otra parte del puré de pomelo obtenido se sometió a un tratamiento de deshidratación parcial con microondas, a 2 W/g (Moulinex Ultimys Duocombi), hasta un nivel de humedad de 72 g agua/100 g producto. Para asegurar dicha humedad, se determinó la humedad del puré de pomelo (apartado 3.4.1) y con ella se aplicó un balance de agua para conocer el peso de la muestra cuando hubiera alcanzado dicha humedad, el cual se fue controlando a diferentes tiempos del proceso. Parte del producto obtenido constituyó la muestra PM, mientras que la otra parte se liofilizó, tal y como se ha descrito para la muestra PSL, para obtener la muestra PML.

3.3 Obtención de los extractos

En función de su naturaleza lipo o hidrofílica la extracción de compuestos antioxidantes en alimentos vegetales se puede realizar con una gran cantidad de disolventes, entre los cuales se encuentran el metanol, el etanol, la acetona, y mezclas de los mismos con diferentes proporciones de agua (Pérez-Jiménez & Saura-Calixto, 2006).

En este caso, en primer lugar se realizó una extracción con una mezcla metanol: agua (70:30). Este disolvente mostró los mejores resultados en estudios previos para la extracción de compuestos fenólicos (Farinha, 2014; Spaggiari, 2014). Se pesó 1 g de muestra y se le añadieron 9 mL del disolvente de extracción. Seguidamente se mezcló en agitación magnética durante 20 minutos y se centrifugó a 8000 rpm, durante 10 minutos a 20°C (Selecta Medifriger-BL, España). El sobrenadante se denominó extracto 1. Este extracto se empleó para la cuantificación de compuestos fenólicos (apartado 3.4.2.1) y también se determinó su actividad antioxidante (apartado 3.4.3). Por otra parte, a 1 g del precipitado se le añadieron 9 mL de la mezcla hexano:acetona:etanol (50:25:25). La mezcla se agitó y centrifugó como se ha descrito para la obtención del extracto 1. El sobrenadante se denominó extracto 2. Este extracto se empleó para la cuantificación de compuestos carotenoides (apartado 3.4.2.2) y también se determinó su la actividad antioxidante (apartado 3.4.3).

Por otro lado, se realizó una extracción con ácido oxálico al 1% en agua (p/v). Se pesó 1 g de muestra y se le añadieron 9 mL del disolvente de extracción y se mezcló y centrifugó igual que los extractos 1 y 2. El sobrenadante se denominó extracto 3. Este extracto se empleó para la cuantificación de la vitamina C (apartado 3.4.2.3) y para la determinación de la actividad antioxidante (apartado 3.4.3).

3.4 Determinaciones analíticas

3.4.1 Humedad

La humedad se determinó siguiendo el método oficial 20.013 (AOAC, 1990) que se basa en la determinación de la pérdida de peso de una muestra cuando se seca en una estufa a una temperatura constante de 60 °C ± 1°C y una presión <100 mmHg, hasta alcanzar peso constante. Se utilizó una estufa Vacioterm, J.P. (Selecta). Los resultados se expresaron en g agua/ g muestra.

3.4.2 Compuestos bioactivos

A las muestras PS, PSL, PM y PML se les analizó, por triplicado, el contenido en vitamina C, fenoles totales y carotenoides. Se calculó la media y la desviación estándar. Con fines comparativos, todos los resultados se expresaron referidos a 100 g de solutos de pomelo (sp), aplicando la ec. 1.

$$m_i = \frac{m \left(\frac{m_m + v \cdot \rho}{m_m} \right)}{m_m \cdot (1 - X_w) \cdot X_{sp/st}} \cdot 100 \quad (1)$$

Donde:

m_i : cantidad de compuesto analizado (mg/100 g sp)

m : cantidad de compuesto analizado en el extracto (mg/g disolución)

m_m : masa de muestra analizada (g)

v : volumen de disolvente de extracción (mL)

ρ : densidad del disolvente de extracción (g/mL)

X_w : humedad de la muestra analizada (g agua/g muestra)

$X_{sp/st}$: (g solutos de pomelo/g solutos totales) en la muestra analizada

3.4.2.1 Fenoles totales

El análisis se realizó mediante el Ensayo Folin-Ciocalteu, según Benzie y Strain (1999) y Selvendran y Ryden (1990). A 250 μ L del extracto 1 se le añadieron 15 mL de agua bidestilada y 1,25 mL de reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, Alemania). Las muestras se mezclaron y se dejaron reposar durante 8 minutos en oscuridad. A continuación se añadieron 3,75 mL de carbonato de sodio 7,5% (p/v) y se ajustó a un volumen final de 25 mL con agua bidestilada. Se mantuvieron en oscuridad a temperatura ambiente durante 2 horas. Tras esto, se midió la absorbancia a 765 nm con un espectrofotómetro UV-visible (Thermo Electron Corporation, USA). Se utilizaron diferentes disoluciones de ácido gálico (Sigma-Aldrich, Alemania) para construir la recta patrón utilizada para la cuantificación de los fenoles. El resultado se expresó en mg de ácido gálico/ 100 g sp.

3.4.2.2 Carotenoides totales

La determinación de los carotenoides se realizó mediante espectrofotometría según el método AOAC (1996). Para ello se adicionaron 15 mL de agua bidestilada a 100 ml del extracto 2. Seguidamente, las muestras se homogenizaron unos segundos en un agitador Vortex para lograr la separación de fases. Del sobrenadante (fase hexano) se tomaron 600 μ L, que se llevaron a evaporar con nitrógeno. A continuación se les adicionó 1 mL de THF/ACN/Metanol (15:30:55 v/v/v) y se midió la absorbancia a 446 nm (Thermo Electron Corporation, USA). Para la cuantificación de los carotenoides se construyó una recta patrón utilizando diferentes disoluciones de β -caroteno (Fluka, España). Los resultados se expresaron como mg de β - caroteno/100 g sp.

3.4.2.3 Vitamina C

Para determinación de la vitamina C se procedió a la reducción del ácido dehidroascórbico (DHAA) a ácido ascórbico (AA) utilizando el reactivo DL-ditiotretiol (DDT) (Sigma-Aldrich), según Sánchez-Mata et al. (2000) y Sánchez-Moreno et al. (2003). Los análisis se realizaron por el método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) según Xu et al. (2008), midiendo la absorbancia a 243 nm. Se empleó un equipo HPLC (Jasco, Italia) con una bomba ternaria (Jasco PU-1580 HPLC pump), un generador de gradiente (LG-1580-02 Ternary Gradient Unit) y un detector UV-visible (MD-1510),

con un intervalo de longitud de onda de 190 hasta 650 nm. Se empleó una columna Zorbax SB-C18 de 5µm (4,6 x 25mm), junto con una precolumna (C18 Teknokroma). Los resultados se expresaron como mg de vitamina C/100 g sp.

3.4.3 Actividad antioxidante

A los extractos 1, 2 y 3 se le midió la actividad antioxidante empleando 3 métodos: FRAP, DPPH y ABTS.

3.4.3.1 FRAP

El método FRAP se llevó a cabo según Benzie y Stain (1996), Pulido et al., (2000) y Thaipong et al., (2006). En una cubeta espectrofotométrica se introdujeron 9 µL de reactivo FRAP mantenido en un baño a 37°C, 30 µL de agua bidestilada y 30 µL del extracto correspondiente o del disolvente de extracción en el caso del blanco. A continuación se homogeneizó y se realizó la medida de la absorbancia a 593 nm (espectrofotómetro UV-visible (Thermo Electron Corporation, USA)). Se utilizaron diferentes disoluciones de Trolox (Sigma–Aldrich, Alemania) para construir la recta patrón. Los resultados finales fueron expresados como mmol Trolox equivalente /100 g sp.

3.4.3.2 DPPH

El método del DPPH se basa en la capacidad de las sustancias antioxidantes para captar radicales libres (Puupponen-Pimiä et al., 2003). Este ensayo es recomendado por distintos autores (Brand-Williams et al., 1995; Sánchez-Moreno et al., 2003). Para realizarlo, se colocaron en una cubeta espectrofotométrica 3 mL de reactivo DPPH y 30 µL del extracto correspondiente. Finalmente, se homogeneizó y se midió la absorbancia a 515 nm (espectrofotómetro Thermo Electron Corporation, USA). El porcentaje de DPPH fue calculado según la ecuación (2). Se utilizaron diferentes disoluciones de Trolox (Sigma–Aldrich, Alemania) para construir la recta patrón. Los resultados finales fueron expresados como mmol Trolox equivalente /100 g sp.

$$\%DPPH = \frac{(A_{control} - A_{muestra})}{A_{control}} \times 100 \quad (2)$$

Dónde: A control= absorbancia a tiempo 0; A muestra= absorbancia a tiempo 2,5 minutos cuando la reacción se estabilizó.

3.4.3.3 ABTS

Según lo propuesto por Re et al. (1999), Arnao et al. (2001) y Thaipong et al. (2006), se preparó una disolución de ABTS 7 mM y persulfato de potasio 2,45 mM (1:0,5) y se mantuvo en refrigeración y en oscuridad entre 12 y 16 horas para que se formase el radical ABTS•+. Una vez transcurrido el tiempo se diluyó en etanol hasta obtener un valor de absorbancia a 734 nm de 0,7 nm. 10 µL de extracto junto con 1 mL del reactivo anterior, se introdujeron en una cubeta para realizar la medida de la absorbancia a 734nm a tiempo cero y pasado un minuto, cuando la reacción ya se había estabilizado (espectrofotómetro UV-visible, Thermo Electron Corporation, USA). Se utilizaron diferentes disoluciones de Trolox (Sigma–Aldrich, Alemania) para construir la recta patrón. Los resultados finales fueron expresados como mmol Trolox equivalente /100 g sp.

3.5 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los resultados se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) utilizando el test de comparación simple con un nivel de confianza del 95% ($p < 0,05$). Además, se realizaron análisis de correlación de Pearson entre la actividad antioxidante y los compuestos bioactivos estudiados. Para llevar a cabo estos análisis se empleó el programa Statgraphics Plus versión 5.1.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 2, se muestran la media y la desviación estándar, entre paréntesis, de los valores obtenidos de humedad (x_w) de las diferentes muestras estudiadas PS, PM, PML, PSL.

TABLA 2. Media y desviación estándar del contenido en agua (x_w), expresado en g de agua/ g de muestra, de las diferentes muestras.

Muestra	x_w
PS	0,851 (0,004)
PM	0,698 (0,004)
PSL	0,019 ^a (0,002)
PML	0,017 ^a (0,001)

La misma letra en superíndice indica los grupos homogéneos establecidos por el ANOVA ($p < 0,05$) entre las muestras liofilizadas

Se partió de pomelo con una humedad de 0,867(0,001) g agua/g muestra, valor similar al obtenido en otros estudios con esta fruta (Igual et al., 2015), el puré de pomelo con solutos presentó 0,851 (0,004) g agua /g muestra. Al aplicar el tratamiento por microondas al pomelo fresco, prácticamente se alcanzó la humedad objetivo de 72 g agua/100 g muestra. Las muestras liofilizadas, PSL y PML, no presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en su contenido en agua, además ambas presentaron unos valores de humedad del orden de los sugeridos por otros autores para alimentos liofilizados (Fellows, 2000).

En la tabla 3 se pueden observar los valores medios (con su desviación estándar) de los fenoles, carotenoides totales y vitamina C de las muestras.

TABLA 3. Media y desviación estándar del contenido en fenoles (mg de ácido gálico/100 g solutos de pomelo), carotenoides (mg de β -caroteno/100 g solutos de pomelo) y vitamina C (mg vitamina C/ 100g de solutos de pomelo).

Muestra	Fenoles	Carotenoides	Vitamina C
PS	688 ^a (24)	99 ^b (1)	506 ^d (2)
PM	974 ^c (24)	103 ^b (6)	235 ^b (5)
PSL	764 ^b (25)	76 ^a (5)	449 ^c (6)
PML	774 ^b (16)	102 ^b (16)	198 ^a (7)

La misma letra en superíndice, dentro de una misma columna, indica los grupos homogéneos establecidos por el ANOVA ($p < 0,05$).

Los valores obtenidos de fenoles totales para la muestra de pomelo fresco con solutos (95 mg ácido gálico/100 g pomelo) fueron del orden de los obtenidos en otros estudios para pomelo (Igual et al., 2015) y para otras frutas cítricas, en concreto naranja (Klimczak et al., 2007).

Parece ser que existe una controversia en las conclusiones obtenidas por distintos autores en relación al efecto del tratamiento térmico en el contenido en compuestos fenólicos de las frutas. Algunos estudios confirman el efecto negativo del tratamiento térmico sobre estas sustancias, como el realizado por Igual et al. (2011) o Benlloch-Tinoco et al. (2014), en los que muestras de zumo de pomelo o puré de kiwi, respectivamente, sometidas a una pasteurización convencional o por microondas, presentaron un descenso en el contenido de fenoles aunque menor con el tratamiento por microondas. De hecho, la pasteurización ha sido descrita como un tratamiento suficientemente severo como para

reducir el contenido en compuestos bioactivos de diferentes productos de fruta (Rawson et al., 2011). Sin embargo, otros estudios, obtuvieron un incremento del contenido fenólico al someter muestras de harina de calabaza a tratamiento térmico (secado con aire caliente) (Que et al., 2008). En las muestras de pomelo estudiadas, el tratamiento con microondas parece aumentar significativamente ($p < 0,05$) el contenido de estos compuestos. El aumento de fenoles en la muestra PM respecto a la muestra fresca podría deberse a que el tratamiento por microondas pudo inducir la ruptura de las cadenas polifenólicas, a la consecuente liberación de grupos fenólicos libres y la formación de otras sustancias fenólicas, tal y como afirman algunos autores (Hayat et al., 2010). Otros autores también afirman que las temperaturas a las que la muestra ha sido expuesta durante el secado por microondas, puede producir una disrupción celular importante, facilitando la extracción de estos compuestos (Carranza-Concha et al., 2012; Benlloch, 2015). Por otra parte, se observó que el proceso de liofilización afectó de distinta manera a las muestras. Así, la liofilización disminuyó un 21% el contenido en compuestos fenólicos de las muestras pre-tratadas con microondas, pero aumentó un 11% los fenoles en la muestra con solutos añadidos. El aumento en compuestos fenólicos debido al proceso de liofilización ha sido observado en otros estudios trabajando con *Tuberaria lignosa* (Pinela et al., 2012). Estos autores explican el aumento de fenoles con la liofilización debido a los efectos de la congelación a la que se somete la a fruta previamente al secado por liofilización, sobre la matriz de la fruta. Durante la congelación se forman cristales de hielo que pueden romper la estructura celular y liberar los fitoquímicos de la matriz, facilitando la posterior entrada del disolvente y mejorando así su extracción (Dorta et al., 2010). Sin embargo, los ácidos fenólicos libres formados durante el tratamiento con microondas parecen ser más sensibles y resisten peor la liofilización. En cualquier caso, no se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las dos muestras liofilizadas (PML y PSL).

Por otro lado, respecto al contenido en carotenoides, los resultados obtenidos para PS (14 mg β -caroteno/100 g pomelo) coinciden con los valores obtenidos para pomelo fresco (Igual et al., 2015) y para otras frutas cítricas, según bibliografía (Xu et al., 2008). Las muestras, PS y PM no presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$). Lee y Coates (1999) tampoco encontraron diferencias significativas en el contenido de carotenoides después de la pasteurización térmica de zumo de pomelo rosa. No todas las técnicas de procesado afectan en la misma medida a estas sustancias. La inestabilidad de los carotenoides se debe al hecho de que son compuestos altamente insaturados, degradándose fundamentalmente debido a procesos oxidativos. Otros factores como la temperatura, la luz o el pH también pueden producir importantes cambios cualitativos en estos compuestos debido a reacciones de isomerización (Meléndez-Martínez et al., 2004). Durante el tratamiento térmico puede ocurrir la degradación de los isómeros cis y trans, la isomerización de las formas trans a cis, y al mismo tiempo, una mayor extracción de carotenoides de la matriz del alimento. El calentamiento puede inducir a la ruptura celular y a la liberación de carotenoides, principalmente en la forma trans, así como a la inactivación de enzimas responsables de su degradación (Shi et al., 2008). Algunos autores han observado en procesado de tomate a distintas temperaturas, que la isomerización y la degradación de carotenoides puede ocurrir simultáneamente, lo que puede conllevar a un inconsistente cambio en la concentración de los mismos (Lin & Che, 2005). La liofilización produjo pérdidas significativas ($p < 0,05$), del 23% de estos compuestos, en la muestra de pomelo con solutos. Wagner y Warthesen (1995) evaluaron la estabilidad de α y β -caroteno en polvo de zanahoria encapsulado en diferentes tipos de almidón hidrolizado, comprobando que la degradación de los carotenos estudiados como consecuencia del almacenamiento a temperaturas comprendidas entre

37°C y 65°C, se debía fundamentalmente a procesos de autooxidación debido a la presencia de la enzima lipoxigenasa.

La muestra de pomelo fresco con solutos fue la que presentó mayor contenido en vitamina C (68 mg / 100 g pomelo), estos valores fueron similares a los descritos por otros autores para esta fruta (Iguar et al., 2015) y para otros cítricos como la naranja (Sánchez-Moreno et al 2003; Klimczak et al., 2007; Xu et al., 2008). El secado con microondas disminuyó de manera significativa ($p < 0,05$) el contenido de vitamina C, produciendo unas pérdidas del 53% de este compuesto. Otros autores como Páez et al. (2008) también obtuvieron pérdidas del contenido en vitamina C al someter muestras de fruta a un tratamiento térmico de pasteurización. Estas pérdidas tan acusadas parece ser que son producidas porque la vitamina C es un compuesto muy termolábil (Grajales-Agudelo et al., 2005). Además el proceso de liofilización también disminuyó de manera significativa ($p < 0,05$) el contenido de esta vitamina, produciendo, en las muestras con solutos y en las muestras predeshidratadas, unas pérdidas de un 41% y un 16% de vitamina C, respectivamente. Si, en el caso de la muestra PML se calcula la pérdida total, como consecuencia del tratamiento por microondas y la liofilización, ésta es de un 61 %. En otros estudios también se han observado pérdidas de este componente en distintas frutas durante la liofilización (Castañeda et al., 2010). Estos autores afirman que a la degradación de esta vitamina puede contribuir el efecto degradativo del oxígeno, más accesible en la estructura porosa de la muestra liofilizada. No obstante, las pérdidas detectadas en este caso por estos autores, fueron inferiores a las causadas por otros métodos de deshidratación, como la deshidratación osmótica a vacío, el secado convectivo, o métodos combinados.

La actividad antioxidante de las diferentes muestras de pomelo fue medida según los métodos descritos en el apartado de metodología. Puesto que la actividad antioxidante de una muestra es debida a reacciones sinérgicas entre distintos compuestos (vitaminas, polifenoles, minerales, compuestos de Maillard), es recomendable emplear más de un método para medir correctamente dicha actividad (Thaipong et al., 2006). Las comparaciones entre resultados de capacidad antioxidante solo se pueden realizar para un mismo método y para muestras obtenidas con los mismos disolventes (Pérez-Jiménez et al., 2008).

En la figura 1 se presentan los valores de capacidad antioxidante del extracto 1, según los tres métodos de cuantificación utilizados en este estudio. Para este extracto, el método FRAP fue el que dio los valores más bajos.

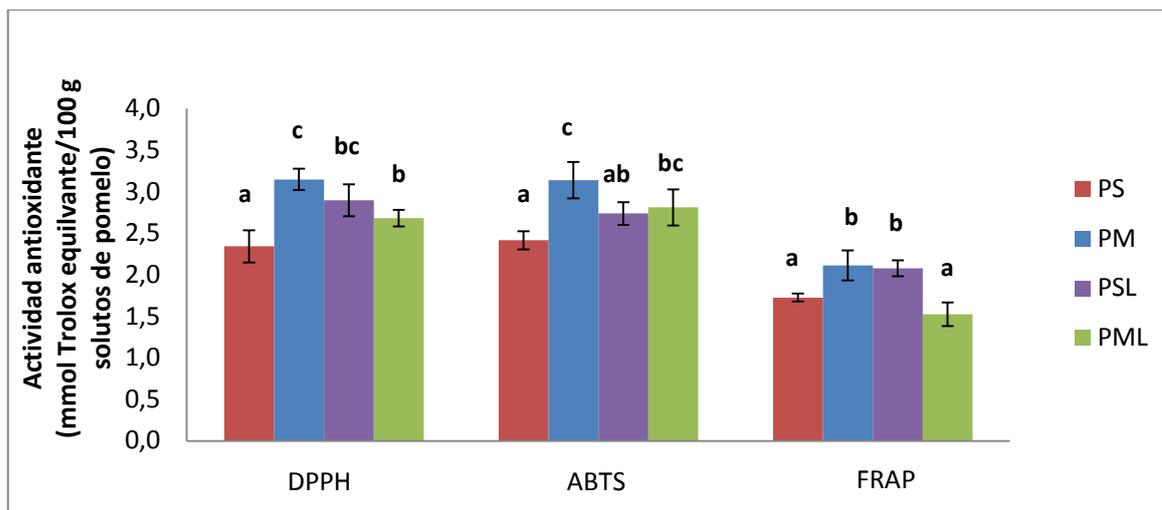


FIGURA 1. Capacidad antioxidante del extracto 1 obtenido de las muestras PS, PM, PSL y PML, medida por los métodos DPPH, ABTS y FRAP. La misma letra en superíndice, para un mismo método de cuantificación, indica los grupos homogéneos establecidos por el ANOVA ($p < 0,05$).

Con cualquiera de los métodos, la muestra PM fue la que presentó mayor actividad antioxidante. En el estudio realizado por Que et al., (2008), también se obtuvo un incremento de la capacidad antioxidante en el caso de muestras de harina de calabaza sometidas a tratamiento térmico. La mayor capacidad antioxidante de la muestra PM puede ser debida a la producción de melanoidinas generadas en las reacciones de Maillard durante el procesado por microondas. Se ha comprobado que estos compuestos tienen actividad antioxidante, con lo que su presencia podría aumentar la actividad antioxidante de las muestras (Que et al., 2008; Ahmad-Qasem et al., 2013). Además a esta mayor actividad antioxidante de las muestras PM también puede contribuir la mayor cantidad de fenoles totales analizados en ella. También el efecto de la liofilización fue como el observado para los fenoles. Así, en el caso de las muestras con solutos, la liofilización produjo un incremento de la capacidad antioxidante (entre un 17 y un 19%). Sin embargo, el tratamiento de liofilización produjo una disminución de entre un 15 y un 27%, según el método, de la actividad antioxidante en las muestras de pomelo pre-tratadas por microondas. Por su parte, no se observaron diferencias significativas en la capacidad antioxidante, obtenida por los métodos DPPH ni ABTS, de las dos muestras liofilizadas.

En la figura 2 se presentan los valores de capacidad antioxidante del extracto 2, con el que se han extraído principalmente los carotenoides (Cardona et al., 2003). En general los valores de actividad antioxidante de los extractos lipofílicos fueron inferiores a los obtenidos en el extracto 1, tal y como han observado otros autores (Pérez-Jiménez et al., 2008). Esto parece lógico, en este caso, porque también el contenido en fenoles del extracto 1 es mucho mayor que el contenido en carotenoides del extracto 2.

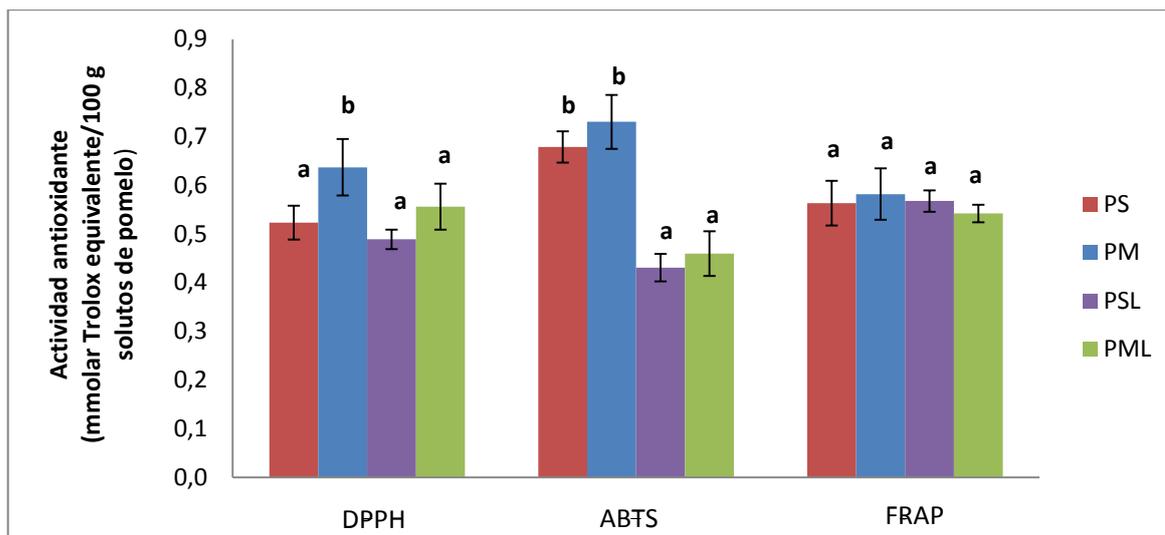


FIGURA 2. Capacidad antioxidante del extracto 2 obtenido de las muestras PS, PM, PSL y PML, medida por los métodos DPPH, ABTS y FRAP. La misma letra en superíndice, para un mismo método de cuantificación, indica los grupos homogéneos establecidos por el análisis estadístico ANOVA ($p < 0,05$).

En este caso, el comportamiento observado difiere un poco del obtenido al cuantificar los carotenoides de las muestras. En todos los casos se observa un aumento de la actividad antioxidante asociada al tratamiento con microondas, aunque este aumento sólo fue significativo ($p < 0,05$) en el caso del método DPPH, siendo de un 17,9%. Como ya se ha comentado, algunos autores asocian este incremento a la formación de nuevos compuestos antioxidantes, compuestos de Maillard y estructuras poliméricas de polifenoles, algunos de los cuales pueden haberse extraído con la fase liposoluble (Pérez-Jiménez et al., 2008). En cuanto a la liofilización, sólo se observó un efecto negativo de ésta en la actividad antioxidante cuando ésta se analiza por el método ABTS y también por el DPPH en el caso de la muestra tratada con microondas. En este caso, por ninguno de los 3 métodos, se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las dos muestras liofilizadas.

El método menos sensible para detectar los cambios de la actividad antioxidante comentados es el FRAP, que no mostró diferencias significativas ($p > 0,05$) entre ninguna de las muestras.

En la figura 3 se muestran los valores de capacidad antioxidante del extracto 3. En este caso, también la tendencia observada es la misma que se ha observado para la vitamina C, excepto en el caso de la muestra PML analizada por el método ABTS que dio un valor excepcionalmente alto. La muestra con mayor actividad antioxidante fue PS. Tanto el pretratamiento con microondas aplicado como el proceso de liofilización, con la excepción comentada, disminuyeron de manera significativa ($p < 0,05$) la capacidad antioxidante de las muestras.

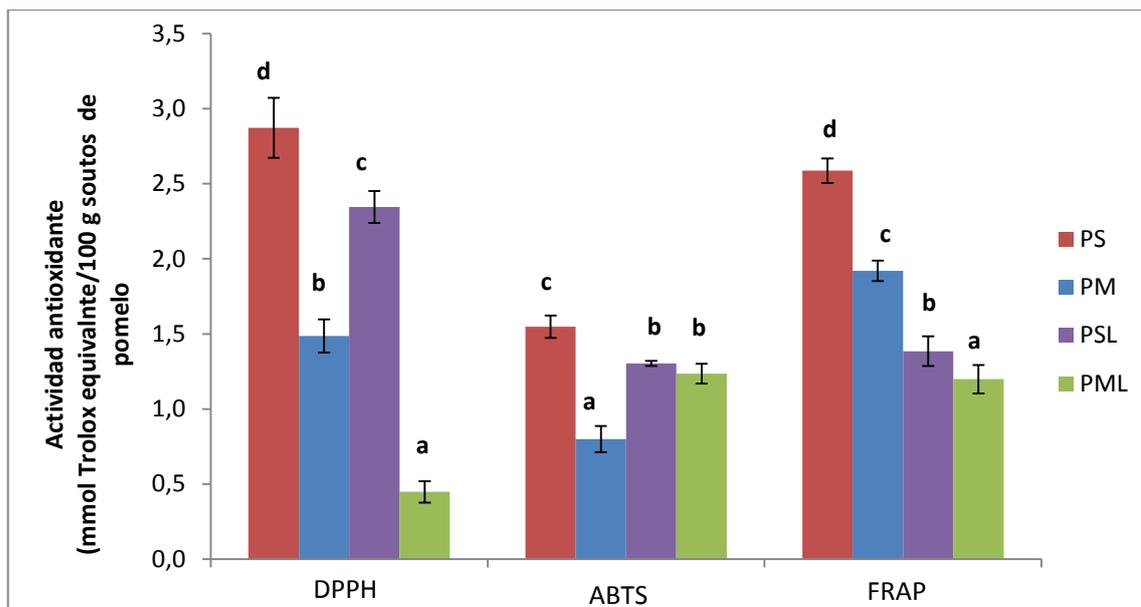


FIGURA 3. Capacidad antioxidante del extracto 3 obtenido de las muestras PS, PM, PSL y PML, medida por los métodos DPPH, ABTS y FRAP. La misma letra en superíndice, dentro de una mismo método de cuantificación, indica los grupos homogéneos establecidos por el análisis estadístico ANOVA ($p < 0,05$).

Bajo condiciones estandarizadas, la actividad antioxidante de una mezcla de compuestos hidro y liposolubles es aditiva. Así, con el objetivo de estimar la capacidad antioxidante total de las muestras, se sumaron las actividades antioxidantes de los tres extractos para cada muestra (Van der Berg et al., 1999; Pérez-Jiménez et al., 2008), obteniéndose los valores mostrados en la figura 4. Puesto que la capacidad antioxidante total de una muestra viene dada por interacciones sinérgicas entre diferentes compuestos, en esta estimación se pueden cometer algunos errores subestimando la capacidad antioxidante total de las muestras. Además, a pesar de haber utilizado combinaciones de disolventes con distinta polaridad para facilitar la extracción de todos los compuestos antioxidantes, lipo y hidrofílicos, también habría que tener en cuenta que pueden haber ciertos compuestos con potencial antioxidante que no hayan sido extraídos con los disolventes utilizados en este estudio. Van der Berg et al., (1999) compararon la actividad antioxidante total teórica calculada como suma de las actividades antioxidantes de los distintos componentes (vitamina C, vitamina E, hesperidina, naringina y narirutina) de muestras de zumo de naranja y uva, con la actividad antioxidante total medida, resultando ésta superior, lo cual indicó la presencia de sustancias antioxidantes “desconocidas” no contabilizadas.

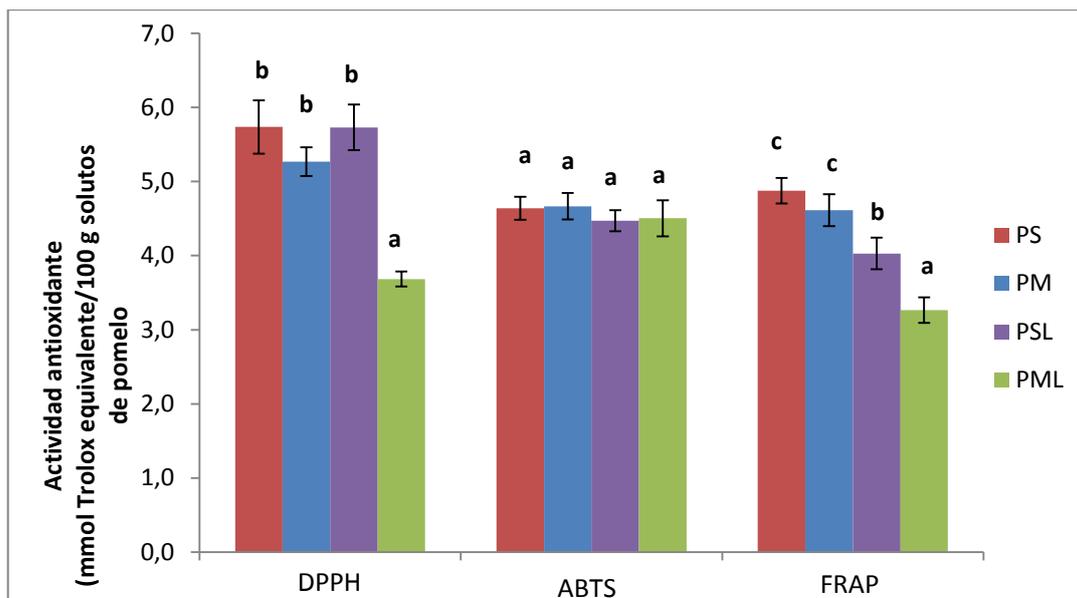


FIGURA 4. Suma de la capacidad antioxidante total de los extractos 1, 2 y 3 obtenidos de las muestras PS, PM, PSL y PML, medida por los métodos DPPH, ABTS y FRAP. La misma letra en superíndice, dentro de un mismo método de cuantificación, indica los grupos homogéneos establecidos por el análisis estadístico ANOVA ($p < 0,05$).

Por el método ABTS no se observan diferencias significativas entre ninguna de las muestras. Los métodos DPPH y FRAP no diferencian por efecto del pretratamiento con microondas pero los dos reflejan la disminución de la actividad antioxidante de la muestra pretratada por efecto de la liofilización.

Para identificar si existe alguna correlación entre de los métodos de cuantificación de la actividad antioxidante utilizados y cada uno de los compuestos extraídos mayormente, se realizaron análisis estadísticos de correlación de Pearson (Tabla 5). El coeficiente de correlación de Pearson es un índice que mide el grado de variación entre distintas variables relacionadas linealmente. El intervalo de variación de este coeficiente es de -1 a +1 y mide la fuerza de relación lineal entre las variables.

TABLA 4. Coeficientes de correlación de Pearson entre los compuestos fenólicos, carotenoides y vitamina C cuantificados en cada extracto y los métodos utilizados para el análisis de la actividad antioxidante (DPPH, ABTS y FRAP).

	DPPH	ABTS	FRAP
FENOLES	0,8104*	0,8047*	0,5348
CAROTENOIDES	0,5557	0,4600	0,0060
VITAMINA C	0,9191*	0,7338*	0,7542*

*Estadísticamente significativo (nivel de confianza del 95%)

Como se puede observar en la tabla 4, existe una correlación positiva entre la actividad antioxidante cuantificada por cualquiera de los tres métodos y el contenido en

fenoles totales y en vitamina C de las diferentes muestras de pomelo. Esta correlación es significativa ($p < 0,05$) en todos los casos, excepto para la relación fenoles totales-método FRAP. Un estudio realizado por Prior et al. (2005) también demostró que el método FRAP estaba mal correlacionado con la cuantificación de compuestos antioxidantes y en otros trabajos también se vio una fuerte correlación entre el contenido en compuestos fenólicos y la actividad antioxidante evaluada por el método ABTS (Ramful et al., 2010). En este caso, tanto para los fenoles como para la vitamina C, el coeficiente de correlación más alto se obtuvo con el método DPPH. Por su parte, las correlaciones de Pearson de los carotenoides no fueron significativas con la actividad antioxidante cuantificada por ninguno de los tres métodos. Pulido et al. (2000) tampoco observaron relación de los carotenoides con el método FRAP, concluyendo que estas sustancias no parecen contribuir a la reducción del hierro. Pérez Jiménez et al. (2008), sugieren la aplicabilidad de este método de cuantificación de la capacidad antioxidante para compuestos hidrofílicos, y el método DPPH para ambos extractos, lipo e hidrofílico.

V. CONCLUSIÓN

El pretratamiento con microondas produjo un aumento en el contenido en fenoles totales y carotenoides de las muestras de pomelo y una disminución de la vitamina C. Como resultado, no se observó ningún cambio significativo en la capacidad antioxidante cuantificada por ninguno de los tres métodos. Aunque la liofilización aumentó el contenido en fenoles de las muestras con solutos, disminuyó la cantidad de carotenoides y vitamina C en todos los casos. Como resultado, las muestras liofilizadas con solutos mostraron bastante mayor cantidad de vitamina C, aunque algo menor de carotenoides, que las pretratadas por microondas, que consecuentemente fueron las que presentaron menor actividad antioxidante. Desde este punto de vista, no se recomendaría la aplicación de un pretratamiento de deshidratación por microondas para acortar el tiempo de liofilización. En cuanto a los métodos de cuantificación de actividad, el DPPH es el que mejor se correlaciona con el contenido en compuestos fenólicos y vitamina C. Ni éste ni el ABTS ni el FRAP parecen correlacionarse bien con el contenido en carotenoides.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- Abdul Khalil, H.P.S.; Bhat, I.U.H.; Jawaid, M.; Zaidon, A.; Hermawan, D.; Hadi, H.S. 2013. Bamboo fibre reinforced biocomposites: A review. *Materials and Design*, **42**:353–368.
- Ahmad-Qasem, M. H.; Barrajon-Catalan, E.; Micol, V.; Mulet, A.; Garcia-Perez, J. V. 2013. Influence of freezing and dehydration of olive leaves (var. Serrana) on extract composition and antioxidant potential. *Food Research International*, **50**: 189-196.
- Alvídrez, M.A.; González, M.B.E.; Jiménez, S.Z. 2002. Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales. *Revista Salud Pública y Nutrición*, **3(3)**.
- AOAC. 1990. Official methods of analysis of AOAC International (15th ed.). Arlington USA: Association of Official Analytical Chemists.
- AOAC. 1996. Official methods of analysis of AOAC International (16th ed.). Arlington USA: Association of Official Analytical Chemists.
- Arnao, M.B.; Cano, A.; Acosta, M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*, **73(2)**:239-244.
- Barbosa-Canovas, G.; Ortega-Rivas, E.; Juliano, P., Yan, H. 2005. Food powders: physical properties, processing and functionality. Kluwer Academic/Plenum Publisher New York, N.Y. 372.
- Benlloch-Tinoco, M., Igual, M., Rodrigo, D., Martínez-Navarrete, N., 2013. Comparison of microwaves and conventional thermal treatment on enzymes activity and antioxidant capacity of kiwifruit puree. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* , **19**:166–172.
- Benlloch-Tinoco, M., Igual, M., Salvador, A., Rodrigo, D., Martínez-Navarrete, N., 2014. Quality and Acceptability of Microwave and Conventionally Pasteurised Kiwifruit Puree. *Food Bioprocess Technol.* **7**:3282–3292.
- Benlloch. M., 2015. Estudio comparativo de la calidad y seguridad de un puré de kiwi pasteurizado por calentamiento convencional o por microondas. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- Bennett, L. E.; Jegasothya, H.; Konczakb, I.; Frankb, D.; Sudharmarajana, S.; Clingefferc, P.R. 2011. Total polyphenolics and anti-oxidant properties of selected dried fruits and relationships to drying conditions. *Journal of functional foods*, **3(2)**:115-124.
- Benzie, I.F.F.; Strain, J.J.196. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, **239(1)**:70-76.
- Benzie, I.F.F.; Strain, J.J.1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, **299**: 15-27
- Berk, Z. 2009. Freeze Drying (Lyophilization) and Freeze Concentration. *Food Process Engineering and Technology*. Ed. Elsevier. New York. 511-523.

- Boeing, J.S.; Barizão, E.O.; Silva, B.C.; Montanher, P.F.; Almeida, V.C.; Visentainer, J.V. 2014. Evaluation of solvent effect on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities from the berries: application of principal component analysis. *Chemistry Central Journal*, **8(1)**:48.
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technology*, **28**:25-30.
- Bravo, L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, **56(11)**:317-333.
- Burgess, J.R.; Andrade, J.E. 2006. Antioxidant effects of citrus flavonoid consumption. *Potential Health Benefits of Citrus*, **936(12)**:161-174.
- Castañeda, J.; Arteaga, H.; Siche, R.; Rodriguez, G. 2010. Estudio comparativo de la pérdida de vitamina C en chalarina (*Casimiroa edulis*) por cuatro métodos de deshidratación. *Scientia Agropecuaria* , **1**:75 – 80.
- Cardona, E. M.; Ríos, L. A., 2006. Extraction of the carotenoid lycopene from from chonto tomato (*Lycopersicum esculentum*). *Vitae*,**13(2)**, 44-53.
- Carranza-Concha, J.; Benlloch, M.; Camacho, M.M.; Martínez-Navarrete, N. 2012. Effects of drying and pretreatment on the nutritional and functional quality of raisins. *Food and Bioproducts Processing*, **90**:243-248.
- Contreras-Calderón, J.; Calderón-Jaimes, L.; Guerra-Hernández, E.; García-Villanova, B. 2010. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and see from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Research International*, **44(7)**: 2047-2053.
- Cozic C.; Picton L.; Marie-Rose, G.; Marlhoux F.; Cerf Le D. 2009. Analysis of arabic gum: Study of degradation and water desorption processes. *Journal Food Hydrocolloids*, **23(7)**: 1930-1934.
- Cruzado, M.; Cedrón, J.C. 2012. Nutraceúticos, alimentos funcionales y su producción. *Revista de química PUCP*, **26**: 33-36.
- Dauchet, L.; Amouyel, P.; Hercberg, S.; Dallongeville, J. 2006. Fruit and vegetable consumption and risk of coronary heart disease: A meta-analysis of cohort studies. *The journal of Nutrition*, **136(10)**:2588-2593.
- Del Caro, A.; Piga, A.; Vacca, V.; Agabbio, M. 2004. Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. *Food Chemistry*, **84(1)**:99-105.
- Dello, S.M.; Bertola, N.; Martino, M.; Bevilacqua, A. 2004. Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of yogurt. *International Dairy Journal*, **14(3)**:263-268.
- De Luis, D. A.; Aller, R.; Cabezas, G.; Rojo, S.; Terroba, C.; Izaola, O.; Cuéllar, I.; González-Sagrado, M. 2002. Aplicación de productos liofilizados en dietas modificadas de texturas en un hospital. *Nutrición Hospitalaria*, **17(5)**:240-243.
- Dembitsky, V.M.; Poovarodom, S.; Leontowicz, H.; Leontowicz, M.; Vearasilp, S.; Trakhtenberg, S.; Gorinstein, S. 2011. The multiple nutrition properties of some exotic

- fruits: Biological activity and active metabolites. *Food Research International*, **44(7)**:1671-1701.
- Dorta, E.; Lobo, M. G.; González, M. 2012. Using drying treatments to stabilize mango peel and seed: Effect on antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, **45**:261-268.
- Drago, S.M.E.; López, L.M.; Sainz, E.T.R. 2006. Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, **37(4)**:58-68.
- Drewnoski, A.; Henderson, S.A.; Shore, A.B. 1997. Taste responses to naringina, a flavonoid, and the acceptance of grapefruit juice are related to genetic sensitivity to 6-n-propylthiouracil. *The American Society for Clinical Nutrition*, **66(2)**:391-397.
- Eun-Jin, P.; Deok-Young, J. 2009. Effects of bamboo shoot consumption on lipid profiles and bowel function in healthy young women. *Nutrition*, **25(7)**:723-728.
- Fahloul, D.; Lahbari, M.; Benmoussa, H.; Mezdour, S. 2009. Effect of osmotic dehydration on the freeze drying kinetics of apricots. *Journal of Food Agriculture and Environment*, **7(2)**:117-121.
- Farinha, P. 2014. Efeito da liofilização e da adição de goma arábica no potencial bioativo de extratos de morango e kiwi. Tesina Final de Master. Instituto Politécnico de Castelo Branco (Portugal).
- Fellows, P. 2000. Tecnología del procesado de los alimentos: principios y práctica. Acribia, Ed., Zaragoza. 706pp.
- Gabas, A.L.; Telis, V.R.N.; Sobral, P.J.A.; Telis-Romero, J. 2007. Effect of maltodextrin and arabic gum in water vapor sorption thermodynamic properties of vacuum dried pineapple pulp powder. *Journal of Food Engineering*, **82(2)**:246-252.
- García-Lafuente, A.; Guillamon, E.; Villares, A.; Rostagno, M.A.; Martínez, J.A. 2009. Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. (Report). *Inflammation Research*, **58(9)**:537-553.
- Giese, J. 1992. Advances in microwave food processing. *Food Technology*, **46(9)**:118-123.
- Grajales-Agudelo, L.M.; Cardona-Perdomo, W.A.; Orrego-Alzate, C.E. 2005. Liofilización de carambola (*Averrhoa carambola L.*) osmodeshidratada. *Revista científica y Tecnológica*, **7(2)**:19-26.
- Guio, S.; Barresi, A.; Rovero, G. 2000. A Comparison of Evaporative and Conventional freezing prior to freeze-drying of fruits and vegetables. *Food and Bioproducts Processing*, **78(4)**:187-192.
- Hao Wang, P.A. Williams, C. Senan, 2014. Synthesis, characterization and emulsification properties of dodecyl succinic anhydride derivatives of gum Arabic. *Food Hydrocolloids*, **37**:143-148.
- Hasler, C.M. 2003. Nutraceuticals. *American Journal of Clinical Nutrition*, **77(4)**: 996-997.

- Hayat, K.; Zhang, X.; Chen, H.; Xia, S.; Jia, C.; Zhong, F. 2010. Liberation and separation of phenolic compounds from citrus mandarin peels by microwave heating and its effect on antioxidant activity. *Separation and Purification Technology*, **73**: 371-376.
- Klimczak, I.; Malecka, M.; Szlachta, M.; Gliszczynska-wig?o, A., 2007. Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of oranges juices. *Journal of Food Composition and Analysis*, **20**: 313-322.
- Hensley, K.; Benaksas, E.J.; Bolli, R.; Comp, P.; Grammas, P.; Hmadheydari, L. 2004. New perspectives on vitamin E: γ -tocopherol and carboxyethylhydroxymethyl metabolites in biology and medicine. *Free Radicals in Biology and Medicine*, **36(1)**: 1-15.
- Igual, M.; García-Martínez, E.; Camacho, M.M.; Martínez-Navarrete, N. 2009. Effect of thermal treatment and storage on the stability of organic acids and the functional value of grapefruit juice. *Food Chemistry*, **118(2)**:291-299.
- Igual, M.; García-Martínez, E.; Camacho, M.M.; Martínez-Navarrete, N. 2011. Changes in flavonoid content of grapefruit caused by thermal treatment and storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **12**:153-162.
- Igual, M.; García-Martínez, E.; Camacho, M.M.; Martínez-Navarrete, N. 2015. Stability of micronutrients and phytochemicals of grapefruit jam as affected by the obtention process. *Food Science and Technology International*, DOI:1082013215585417.
- Igual, M.; García-Martínez, E.; Martín-Esparza, M.E.; Martínez-Navarrete, N. 2012. Effect of processing on the drying kinetics and functional value of dried apicot. *Food Research International*, **47(2)**:284-290.
- Infoagro. 2015. El cultivo del pomelo, [en línea]. Madrid. Dirección URL: <<http://www.infoagro.com/citricos/pomelo.htm>>. [Consulta: 30 Mayo de 2015].
- John, J.H.; Ziebland, S.; Yudkin, P.; Roe, L.S.; Neil, H.A. 2002. Effects of fruit and vegetable consumption on plasma antioxidant concentrations and blood pressure: A randomized controlled trial. *The Lancet*, **359(9322)**:1969-1974.
- Kasper, J.C.; Friess, W. 2011. The freezing step in lyophilization: Physico-chemical fundamentals, freezing methods and consequences on process performance and quality attributes of biopharmaceuticals. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutic*, **78(2)**:248-263.
- Kaur, C.; Kapoor, H.C. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology*, **36(7)**:703-725.
- Kimball, D.A., 1999. Procesado de cítricos. Ed. Acrabia, S.A., Zaragoza, España.
- Lee, H.S.; Coates, G.A. 1999. Thermal pasteurization effects on color of red grapefruit juices. *Journal of Food Science*, **64(4)**:663-666.
- Lin, C.H.; Che, B.H. 2005. Stability of carotenoids in tomato juice during storage. *Food Chemistry*, **90**:837-846.

- Liu, S.; Manson, J.E.; Lee, I.M.; Cole, S.R.; Hennekens, C.H.; Willet, W.C.; Buring, J.E. 2000. Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease: The Women's Health study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **72(4)**:922-928.
- López, H. O. D.; Cernada, M. A.; Fernández, C. R.; Torres, A. L., Sanabria, G. M. L. 2006. Influencia del uso de aditivos sobre el rendimiento del proceso de secado por aspersión de extracto acuoso de *Calendula officinalis* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, **11(1)**:1-8.
- Luximon-Ramma, A.; Bahorun, T.; Crozier, A. 2003. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **83(5)**:496-502.
- Machirant, E. 2014. Optimización de la formulación de pulpa de pomelo liofilizada. Tesina de Máster Universitario en Ciencia e Ingeniería de Alimentos. Univ. Politécnica de Valencia, Valencia-España. 20 pp.
- Martínez-Navarrete, N.; Camacho, M.M.; Martínez, J.J. 2008. Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. *Actividad dietética*, **12(2)**:64-68.
- Mejía, G. A. I.; Gallardo, C. C.; Vallejo, O. J. J.; Ramírez, L. G.; Arboleda, E. C.; Durango, A. E. S.; Jaramillo, Y. F. A.; Cadavid, T. E. 2009. Plantas del género bambusa: importancia y aplicaciones en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria. *Revista de la facultad de química farmacéutica*, **16(3)**:396-405.
- Meléndez-Martínez, A.J.; Vicario, I.M.; Heredia, F.J. 2004. Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, **54 (2)**: 1-12.
- Ming-Fei, L.; Yong-Ming, F.; Feng, X.; Run-Cang, S.; Xun-Li, Z. 2010. Cold sodium hydroxide/urea based pretreatment of bamboo for bioethanol production: Characterization of the cellulose rich fraction. *Industrial Crops and Products*, **32(3)**:551-559.
- Montenegro, M., Jacquot, M., Scher, J. e Desobry, S. 2012. Gum arabic: more than an edible emulsifier. *Products and applications of biopolymers*,1-25.
- OMS. 2015. Simposio para ampliar la iniciativa «Cinco al día» de promoción del consumo de frutas y verduras, [en línea]. Madrid. Dirección URL: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2003/es/>. [Consulta: 28 Mayo de 2015].
- O'Shea, N.; Arendt, E.K.; Gallagher, E. 2012. Dietary fibre and phytochemical characteristics of fruit and vegetable by-products and their recent applications as novel ingredients in food products. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **16**:1-10.
- Páez, G.; Freay, J.; Moreno, M.; Mármol, Z.; Araujo, K.; Rincón, M. 2008. Cinética de la degradación del ácido ascórbico en jugo de parchita. *Revista de Química Teórica y Aplicada*, **553(32)**:51-55.
- Pai, P.; Feng, P.; Jing, B.; Feng, X.; Run-Cang, S.; Kennedy, J.F. 2011. Isolation and structural characterization of hemicelluloses from the bamboo species *Phyllostachys incarnata* Wen. *Carbohydrate Polymers*, **86(2)**:883-890.

- Pamplona, J. 2003. *Salud por los alimentos*. Ed. Safeliz. Madrid. 382 pp.
- Pérez-Jiménez, J.; Saura-Calixto, F. 2006. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Research International*, **39(7)**:791–800.
- Pérez-Jiménez, J.; Arranz, S.; Taberero, M.; Díaz-Rubio, M.E.; Serrano, J.; Goñi, I.; Saura-Calixto, F. 2008. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*, **41(3)**:274–285.
- Peterson, J.; Beecher, G.; Bhagwat, S.; Gebhardt, S.; Haytowitz, D.; Holden, J. 2006. Flavanones in grapefruit, lemons and limes: a compilation and review of the data from the analytical literature. *Journal of Food Composition and Analysis*, **19**:S74-80. **a**
- Peterson, J.; Beecher, G.; Bhagwat, S.; Gebhardt, S.; Haytowitz, D.; Holden, J. 2006. Flavanones in oranges, tangerines (mandarins), tangors, and tangelos: a compilation and review of the data from the analytical literature. *Journal of Food Composition and Analysis*, **19**:S66-73. **b**.
- Pinela, J., Barros, L.; Dueñas, M.; Carvalho, A. M.; Santos-Buelga, C.; Ferreira, I. C. 2012. Antioxidant activity, ascorbic acid, phenolic compounds and sugars of wild and commercial *Tuberaria lignosa* samples: Effects of drying and oral preparation methods. *Food Chemistry*, **135(3)**, 1028-1035.
- Prior, R. L.; Wu, X. L.; Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**:4290–4302.
- Pulido, R.; Bravo, L.; Saura-Calixto, F. 2000. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/ antioxidant power assay. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **48**: 3396-3402.
- Puupponen-Pimiä, R.; Häkkinen, S.T.; Aarni, M.; Suortti, T.; Lampi, A.M.; Euroola, M.; Piironen, V.; Nuutila, A.M.; Oksman-Caldentey, K.M. 2003. Blanching and long-term freezing affect various bioactive compounds of vegetables in different ways. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **83**: 1389-1402.
- Que, F.; Mao, L.; Fang, X.; Wu, T. 2008. Comparison of hot air-drying and freeze-drying on the physicochemical properties and antioxidant activities of pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) flours. *International Journal of Food Science and Technology*, **43**: 1195–1201.
- Ramful, D.; Baborun, T.; Bourdon, E.; Tarnus, E.; Aruoma, O. I. 2010. Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian citrus fruits: Potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology*, **278**: 75–87.
- Rawson, A.; Patras, A.; Tiwari, B.K.; Noci, F.; Koutchma, T.; Brunton, N. 2011. Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: review of recent advances. *Food Research International*, **44**: 1875-1877.

- 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**: 1231–1237.
- Righetto, A.M.; Netto, F.M. 2005. Effect of encapsulating material on water sorption, glass transition and stability of juice from immature acerola. *International Journal of Food Properties*, **8(2)**:337-346.
- Roberfroid, M. 2007. Prebiotics: The concept Revisited. *The Journal of Nutrition*, **137(3)**:830-837.
- Robles-Agudo, F.; Sanz-Segovia, F.; López-Arrieta, J.M.; Beltrán de la Ascensión, M. 2005. Alimentación y cáncer. *Revista Española de Geriatria y Gerontología*, **40(3)**:184-194.
- Roos, Y. 1995. Characterization of Food Polymers Using State Diagrams. *Journal of Food Engineering*, **24(3)**:339-360.
- Sánchez-Mata, M.C.; Cámara-Hurtado, M.; Díez-Marqués, C.; Torija-Isasa, M.E. 2000. Comparison of high-performance liquid chromatography and spectrofluorometry for vitamin C analysis of green beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *European Food Research and Technology*, **210**:220-225.
- Sánchez-Moreno, C.; Larrauri, J.A.; Saura-Calixto, F. 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **76(2)**:270-276.
- Sánchez-Moreno, C.; Plaza, L.; De Ancos, B.; Cano, M.P. (2003). Quantitative bioactive compounds assessment and their relative contribution to the antioxidant capacity of commercial orange juices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **83**: 430–439.
- Scurlock, J.M.O.; Dayton, D.C.; Hames, B. 2000. Bamboo: an overlooked biomass resource. *Biomass and Bioenergy*, **19(4)**:229-244.
- Selvendran, R.R.; Ryden, P. 1990. *Methods in plant biochemistry*, vol 2. Academic Press, Ed., London, United Kingdom.
- Shi, J.; Dai, Y.; Kakuda, Y.; Mittal, G.; Jun Xue, S.J. 2008. Effect of heating and exposure to light on the stability of lycopene in tomato puree. *Food Control*, **19**: 514–520.
- Spaggiari, M. 2014. Ottimizzazione del proceso di estrazione di composti bioattivi di *Actinidia* spp., *Fragaria ananassa*, *Morus nigra* e *Humulus lupulus*, per la formulazione di prodotti nutraceutici ad alta capacità antiossidante. Trabajo Final de Carrera. Università degli Studi di Parma (Italia).
- Stahl, W.; Sies, H. 2005. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochemical and Biophysical Acts*, **1740(2)**:101-107.
- Stanner, S.; Hughes, J.; Buttriss, J. 2004. A review of the epidemiological evidence for the antioxidant hypothesis. *Public Health nutrition*, **7(3)**:407-422.
- Thaipong, K.; Boonprakob, U.; Crosby, K.; Cisneros-Zevallos, L.; Byrne, D.H. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant

- activity from guava fruit extracts. *Journal of food composition and analysis*, **19**: 669-675.
- Van den Berg, R.; Haenen, G. R.; van den Berg, H.; Bast, A. A. L. T. 1999. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chemistry*, **66(4)**: 511-517.
- Vanamala, J.; Leonardi, T.; Patil, B.S.; Tadeo, S.S.; Murphy, M.E.; Pike, L.M.; Chapkin, R.S.; Lupton, J.R.; Turner, N.D. 2006. Suppression of colon carcinogenesis by bioactive compounds in grapefruit. *Carcinogenesis*, **27(6)**:1257-1265.
- Wagner, L.A.; Warthesen, J.J. 1995. Stability of spray-dried encapsulated carrot carotenes. *Journal of Food Science*, **60**: 1048-1052.
- Xu, G.; Liu, D.; Chen, J.; Ye, X.; Ma, Y.; Shi, J. 2008. Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China. *Food Chemistry*, **106(2)**:545-551.
- Yen, G.C.; Duh, P.D.; Tsai, H.L. 2002. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food Chemistry*, **79(3)**:307-313.
- Zhongxiang, F.; Bhesh, B. 2012. Comparing the efficiency of protein and maltodextrin on spray drying of bayberry juice. *Food Research International*, **48(2)**:478-483.