

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA
AGRONÓMICA Y DEL MEDIO NATURAL

GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS
ALIMENTOS



ESTUDIO DE LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS DE FRESÓN (*Fragaria x ananassa*) DE ALTA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE A PARTIR DE LA FRUTA LIOFILIZADA

TRABAJO FIN DE GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

ALUMNA: Rosalía Rodríguez Esteban

DIRECTORA: Eva García Martínez

Curso Académico: 2015/2016

Valencia, Septiembre de 2016



ESTUDIO DE LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS DE FRESÓN (*Fragaria x ananassa*) DE ALTA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE A PARTIR DE LA FRUTA LIOFILIZADA

Autora: Rosalía Rodríguez Esteban

Tutora: Eva García Martínez

Valencia, Septiembre 2016

RESUMEN

Los fresones son una de las frutas más consumidas en todo el mundo y son muy comunes en la dieta mediterránea porque tienen un alto contenido en nutrientes esenciales y compuestos fitoquímicos beneficiosos para la salud. Sin embargo, su producción es estacional y su estabilidad en fresco es muy limitada, solamente un pequeño porcentaje de fresón alcanza el mercado para consumo en fresco, la mayoría son utilizadas en conservas. Por ello, resultaría interesante diseñar un nutraceutico a partir de extractos fresón, para lo cual partir de fruta liofilizada podría resultar adecuado.

En este trabajo, se ha estudiado el efecto de la liofilización y la adición de goma arábica como agente protector en algunos compuestos fitoquímicos del fresón y en su actividad antioxidante. Para ello se han empleado distintas mezclas de disolventes para obtener extractos de compuestos fenólicos, vitamina C y carotenoides, y se ha evaluado la actividad antioxidante de los mismos por los métodos DPPH, FRAP y ABTS. Además, se han secado los diferentes extractos obtenidos y se ha evaluado la influencia del proceso de obtención de los extractos sobre los mismos componentes y propiedades analizados en los extractos en disolución.

Los resultados mostraron que la liofilización puede ser un buen método para la elaboración de nutraceuticos, ya que se consiguió un fresón en polvo con alta calidad funcional. Este proceso repercutió positivamente favoreciendo la extracción de fenoles, pero disminuyó el contenido en vitamina C, lo cual repercutió negativamente en la actividad antioxidante de los extractos hidrofílicos. Aún así, los extractos hidrofílicos presentaron mayor actividad antioxidante que los extractos lipofílicos.

La obtención de los extractos secos disminuyó ligeramente los compuestos fitoquímicos estudiados entre 2-7%. La presencia de goma arábica mantuvo mejor el contenido de estos compuestos, impidiendo su degradación.

PALABRAS CLAVE: fresón, liofilización, actividad antioxidante, goma arábica, compuestos bioactivos.

ESTUDI DE L'OBTENCIÓ D'EXTRACTES DE MADUIXOT (*Fragaria x ananassa*) D'ALTA CAPACITAT ANTIOXIDANT A PARTIR DE LA FRUITA LIOFILITZADA

Autora: Rosalía Rodríguez Esteban

Tutora: Eva García Martínez

València, Setembre 2016

RESUM

Els maduixots són una de les fruites més consumides en tot el món i són molt comuns en la dieta mediterrània perquè tenen un alt contingut en nutrients essencials i compostos fitoquímics beneficiosos per a la salut. No obstant això, la seua producció és estacional i la seua estabilitat en fresc és molt limitada, només un xicotet percentatge de maduixot arriba al mercat per a consum en fresc, la majoria són utilitzades en conserves. Per això, resultaria interessant dissenyar un nutracèutic a partir d'extractes maduixot, per la qual cosa partir de fruita liofilitzada podria resultar adequat.

En aquest treball, s'ha estudiat l'efecte de la liofilització i l'addició de goma aràbiga com a agent protector en alguns compostos fitoquímics del maduixot i en la seua activitat antioxidant. Per a això s'han emprat distintes mescleres de dissolvents per a obtenir extractes de compostos fenòlics, vitamina C i carotenoides, i s'ha avaluat l'activitat antioxidant dels mateixos pels mètodes DPPH, FRAP i ABTS. A més, s'han assecat els diferents extractes obtinguts i s'ha avaluat la influència del procés d'obtenció dels extractes sobre els mateixos components i propietats analitzats en els extractes en dissolució.

Els resultats van mostrar que la liofilització pot ser un bon mètode per a l'elaboració de nutracèutics, ja que es va aconseguir un maduixot en pols amb alta qualitat funcional. Aquest procés va repercutir positivament afavorint l'extracció de fenols, però va disminuir el contingut en vitamina C, la qual cosa va repercutir negativament en l'activitat antioxidant dels extractes hidrofílics. Encara així, els extractes hidrofílics van presentar major activitat antioxidant que els extractes lipofílics.

L'obtenció dels extractes secs disminuir lleugerament els compostos fitoquímics estudiats entre 2-7%. La presència de goma aràbiga va mantenir millor el contingut d'aquests compostos, implicant la seva degradació.

PARAULES CLAU: maduixot, liofilització, activitat antioxidant, goma aràbiga, compostos bioactius.

STUDY OF THE OBTENTION OF HIGH ANTIOXIDANT CAPACITY STRAWBERRY (*Fragaria x ananassa*) EXTRACTS FROM FREEZE DRIED FRUIT

Author: Rosalía Rodríguez Esteban

Tutor: Eva García Martínez

Valencia, September 2016

ABSTRACT

Strawberries are one of the most consumed fruits worldwide and they are very common in the Mediterranean diet because they have a high content of phytochemicals and essential nutrients beneficial to health. However, their production is seasonal and its stability is very limited, only a small percentage of strawberry reaches the market for fresh consumption, most are used canned. Therefore, it would be interesting to design a nutraceutical from strawberry extracts, using freeze dried fruit as raw material.

In this study, we have studied the effect of freeze-drying and the addition of gum arabic as a protective agent in the main phytochemicals compounds of strawberry extracts and in their antioxidant activity. For this purpose, we have used different mixtures of solvents to obtain phenolic, vitamin C and carotenoid extracts, and we have evaluated their antioxidant activity by DPPH, FRAP and ABTS methods. In addition, these extracts were dried and the influence of the process was assessed in the same parameters analyzed in extracts in solution.

The results showed that freeze drying could be a good method for the preparation of nutraceuticals, because a high functional quality strawberry powder could be formulated. This process had a positive effect favoring the extraction of phenols, but decreased the content of vitamin C, which affected negatively the antioxidant activity of the hydrophilic extracts. Still, the hydrophilic extracts showed higher antioxidant activity than the lipophilic ones.

Extract dehydration step decreased slightly the phytochemical compounds studied among 2-7%. The presence of gum arabic favoured the stability of the phytochemicals studied, preventing its degradation.

KEYWORDS: strawberry, lyophilization, antioxidant activity, arabic gum, bioactive compounds.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría en primer lugar dar mi más sincero agradecimiento a mi tutora Eva García Martínez por darme la oportunidad de hacer este proyecto y sobre todo por toda la paciencia y ayuda que me ha prestado.

Quiero agradecerse también a toda mi familia, en especial a mi madre, Rosalía, porque siempre me ha apoyado en todas mis decisiones, es mi compañera para todo y para siempre y gracias a ella soy la persona que está aquí ahora. De mayor quiero ser como tú, mamá.

Darle las gracias también a toda la gente con la que me he cruzado estos años de carrera. A mis marys porque han convertido estos años en los mejores de mi vida. En especial a Nicole porque con ella he descubierto lo que es tener una mejor amiga.

Por último, me gustaría agradecer a mis mascotas, Sofrito y Monito, ya que con ellas las tardes de trabajo se me han hecho más entretenidas.

A todos, mil gracias.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVO	4
3. MATERIALES Y METODOS.....	5
3.1. MATERIA PRIMA.....	5
3.2. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS DE FRESÓN.....	5
3.3. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS DE FRESÓN EN DISOLUCIÓN Y SECOS	6
3.4. DETERMINACIONES ANALÍTICAS	7
3.4.1 Humedad	7
3.4.2 Compuestos bioactivos	7
3.4.3 Actividad antioxidante.....	8
3.5. EFICACIA ENCAPSULANTE	10
3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	10
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	11
4.1. EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA LIOFILIZACIÓN Y DE LA ADICIÓN DE GOMA ARÁBIGA.	11
4.1.1 Efecto en el contenido de humedad.	11
4.1.2 Efecto en el contenido de compuestos bioactivos.	12
4.1.3 Evaluación de la actividad antioxidante	16
4.2. CARACTERIZACIÓN DE LOS EXTRACTOS SECOS. EVALUACIÓN DE LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS Y DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.	19
4.2.1 Efecto en el contenido de compuestos bioactivos.	19
4.2.2 Evaluación de la actividad antioxidante	21
4.3. ESTIMACION DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL.....	24
4.4. ESTUDIO DE LA RELACIÓN ENTRE LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS Y LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS.	25
4.5. ESTUDIO DE LA EFICACIA DE LA ENCAPSULACIÓN.	27
5. CONCLUSIONES	28
6. BIBLIOGRAFÍA	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Nomenclatura utilizada para definir las muestras.....	5
Tabla 2. Valores medios y desviación estándar de contenido en agua (xw) de las muestras estudiadas de fresón fresco (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG), expresado en g de agua/100 g de muestra.....	11
Tabla 3. Valores medios y desviación estándar de la actividad antioxidante del extracto 1 de las muestras de fresón (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG), en mmol Trolox Equivalente/100 g sólidos de fresón.....	16
Tabla 4. Valores medios y desviación estándar de la actividad antioxidante del extracto 2 de las muestras de fresón (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG), en mmol Trolox Equivalente/100 g sólidos de fresón.....	17
Tabla 5. Valores medios y desviación estándar de la actividad antioxidante del extracto 3 de las muestras de fresón (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG), en mmol Trolox Equivalente/100 g sólidos de fresón.....	18
Tabla 6. Valores medios y desviación estándar del contenido en fenoles (mg de ácido gálico/100 g sólidos de fresón), carotenoides (mg de β -caroteno/100 g sólidos de fresón) y vitamina C (mg vitamina C/ 100g sólidos de fresón) de los extractos secos de las muestras de fresón fresco (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG).....	20
Tabla 7. Valores medios y desviación estándar de actividad antioxidante, en mmol Trolox Equivalente/100 g sólidos de fresón de los extractos fenólicos secos (extracto 1) de las muestras de fresón (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG).....	22
Tabla 8. Valores medios y desviación estándar de actividad antioxidante de los extractos lipofílicos (extracto 2) secos, en mmol Trolox Equivalente/100 g sólidos de fresón de los extractos secos de las muestras de fresón (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG).....	23
Tabla 9. Valores medios y desviación estándar de actividad antioxidante de los extractos de vitamina C (extracto 3) secos, en mmol Trolox Equivalente/100 g sólidos de fresón de los extractos secos de las muestras de fresón (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG).....	23
Tabla 10. Valores medios y desviación estándar de la actividad antioxidante total, en mmoles Trolox Equivalente/100 g sólidos de fresón de los extractos en disolución y secos de las muestras de fresón fresco (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma (FLG).....	25
Tabla 11. Coeficientes de correlación de Pearson entre la actividad antioxidante y los compuestos fenólicos, carotenoides y vitamina C por los tres métodos utilizados para la cuantificación de esta (ABTS, DPPH y FRAP).....	26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Contenido en fenoles totales (mg ácido gálico/100 g sólidos de fresón) de las diferentes muestras de fresón estudiadas, fresón fresco (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG). Las letras diferentes indican que existen diferencias significativas entre muestras establecidas por el ANOVA (valor $p < 0,05$)...12

Figura 2. Contenido en carotenoides (mg de β -caroteno/100 g sólidos de fresón) de las diferentes muestras de fresón estudiadas, fresón fresco (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG). Las letras diferentes indican que existen diferencias significativas establecidas por el ANOVA (valor $p < 0,05$).....14

Figura 3. Contenido en vitamina C (mg vitamina C/ 100g sólidos de fresón) de las diferentes muestras de fresón estudiadas, fresón fresco (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG). Las letras diferentes indican que existen diferencias significativas establecidas por el ANOVA (valor $p < 0,05$).....15

1. INTRODUCCIÓN

En la sociedad en la vivimos buscamos consumir alimentos que nos ayuden a mantener una dieta sana y equilibrada. Las frutas y verduras nos aportan grandes cantidades de nutrientes, además de poseer compuestos denominados fitoquímicos o sustancias bioactivas, sin ningún valor nutritivo propio pero beneficiosas para nuestra salud, ya que la mayoría de éstas poseen propiedades antioxidantes (Tomás-Barberán et al., 2001). Cuando se produce una oxidación, una especie cede electrones a la otra reduciéndola. En estas reacciones se producen radicales libres, que son especies químicas muy oxidativas capaces de provocar daños en el organismo. Los antioxidantes evitan la interacción entre los radicales libres y las principales biomoléculas del organismo (Barba et al., 2005).

La organización mundial de la salud nos recomienda ingerir 5 raciones de fruta y verduras diarias (OMS, 2015). Mediante el consumo frecuente de éstas conseguimos disminuir el riesgo de problemas cardiovasculares, procesos inflamatorios y cáncer (Bazzano et al., 2002; Stoner et al., 2008; Aqil et al., 2012). La capacidad antioxidante es derivada de la acción de sustancias antioxidantes como la vitamina C y E, polifenoles, carotenoides, terpenoides y trazas de minerales (Pérez-Jiménez et al., 2008; Arnao et al., 2001).

Los fresones (*Fragaria x ananassa*) son una de las frutas más consumidas en todo el mundo y son muy comunes en la dieta mediterránea porque tienen un alto contenido en nutrientes esenciales y compuestos fitoquímicos beneficiosos (Giampieri et al., 2012). Las variedades cultivadas comercialmente son por lo general híbridos en especial *Fragaria x ananassa*, que ha reemplazado casi universalmente a la especie silvestre, *Fragaria vesca*, por el superior tamaño de sus frutos. Los fresones se utilizan como alimento y en el sector médico desde la antigua Grecia. Las hojas y las frutas se usan como antisépticos, diuréticos y laxantes, además de para tratar enfermedades cardiovasculares (Bnouham et al., 2002). Desde el punto de vista de sus propiedades nutritivas y funcionales, en comparación con otras frutas, contiene una cantidad moderada de hidratos de carbono (fundamentalmente son fructosa y glucosa) y su valor calórico es bajo. Destaca su aporte de vitamina C, con un porcentaje incluso superior en ocasiones al que posee la naranja, y antocianinas (flavonoides), sustancias ambas de acción antioxidante y, por lo tanto, con un claro papel funcional (Tomás-Barberán et al., 2001). Además, contiene vitamina E, ácido fólico y carotenoides, así como un importante contenido de ácidos orgánicos, entre ellos, el cítrico, málico, oxálico y salicílico (de acción anticoagulante y antiinflamatoria). También es rica en minerales como el potasio y el magnesio, entre otros (Pineli et al., 2011; Giampieri et al., 2012). La recolección de esta fruta se centra en los meses de primavera, por lo que la posibilidad de comerla fresca se reduce a un periodo de 3 meses. Posteriormente son procesadas y conservadas para la obtención de zumos, mermeladas, etc., lo que implica numerosos cambios desde la cosecha hasta su consumo. Durante las operaciones de acondicionamiento, procesamiento y almacenamiento se producen cambios que afectan a las propiedades nutritivas y funcionales del fresón.

Actualmente, el ritmo de vida acelerado y los hábitos alimentarios inadecuados, hacen que sea difícil llevar una dieta equilibrada, pudiendo conllevar a un déficit nutricional. En este sentido, la demanda de compuestos antioxidantes por parte del consumidor y la magnífica fuente de estos compuestos que, de forma natural, son las frutas, apunta la posibilidad de ofrecer al mercado un nutraceutico o suplemento dietético obtenido de frutas.

Los nutraceuticos se definen por primera vez en 1989 por el Dr. Stephen De Felice como alimentos o partes de alimentos que nos proporcionan beneficios en nuestra salud incluyendo el tratamiento de enfermedades (Bhaskaran, 2002). En la actualidad el término nutraceutico se aplica a un suplemento dietético concentrado formulado a partir de una sustancia natural bioactiva presente en los alimentos, que posee más beneficios para la salud que el alimento normal (Cruzado y Cedrón, 2012). Debido al aumento de la comercialización y el uso de estos productos, cada vez es más necesario la protección de los consumidores con una legislación que regule las falsedades que podemos encontrar en este tipo de suplementos alimenticios y responda a las necesidades de las industrias tanto en la innovación, comercialización y promoción (Cortés et al., 2005). La legislación europea se centra en el etiquetado y prohíbe atribuir propiedades preventivas, curativas o terapéuticas a estos productos (Silveira et al., 2003)

Una de las técnicas para elaborar nutraceuticos es la liofilización, ya que nos permite obtener fruta concentrada en polvo mediante deshidratación. A continuación a partir de esa fruta concentrada se puede extraer la sustancia fitoquímica de nuestro interés con más facilidad (Cortés Díaz., et al 2015). La liofilización es un proceso de conservación mediante sublimación con el que conseguimos reducir las pérdidas de las propiedades del alimento que suelen producirse con el uso de otros métodos de secado, como la deshidratación osmótica o el secado con aire caliente (Grajales-Agudelo et al., 2005). Con la liofilización se elimina el agua del producto previamente congelado y a continuación se sublima el hielo en condiciones de vacío (Bermejo, 1999). El resultado obtenido es una disminución de la actividad del agua del producto y por consiguiente una disminución de las reacciones químicas y en el crecimiento biológico (Moreira et al., 1993; Igual et al., 2009). Con la liofilización se consiguen productos con más calidad que con otros métodos de secado, conservándose mejor el sabor, el color y las propiedades funcionales del producto inicial, quedando protegidos los constituyentes oxidables y termolábiles (Grajales-Agudelo et al., 2005, Bermejo, 1999). Además, el producto en polvo final es muy estable en el tiempo, fácil de transportar y fácil de rehidratar. El único inconveniente de esta técnica es el costo del proceso y por ello se suele utilizar en productos de alto valor, como en la industria farmacéutica (Ramírez Navas, 2006).

Con la liofilización de frutas se obtiene un producto higroscópico que puede ser pegajoso y apelmazarse con facilidad debido a las altas cantidades de azúcares. Estos problemas están generalmente asociados al estado gomoso de la matriz (Gabas et al., 2009). Es necesario transformar el estado gomoso en estado vítreo para poder trabajar con él y para esto se debe superar la temperatura de transición vítrea (T_g) que es la marca el paso de vítreo a gomoso (Allison et al., 2000). 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 (Moreira et al., 1993). Estas sustancias pueden ser pectinas, silicato de calcio, maltodextrina, gomas y otras sustancias (Gabas et al., 2007, Abadio et al., 2004). La goma arábiga es un hidrocoloide procedente de la savia exudada de diferentes especies de árboles de la especie *Acacia*. Químicamente es una sal neutra con iones de calcio, magnesio y potasio y seis carbohidratos como la galactosa, ramnosa o arabinopiranosas. La goma arábiga está compuesta un 70% por cadenas de polisacáridos y un 30% por materiales de alto peso molecular y proteínas (Pasquel., 2001). En la industria agroalimentaria se utiliza como agente estabilizante y encapsulante para evitar la oxidación y volatilización de componentes, lo que hace aumentar la estabilidad del producto (Gabas et al., 2007).

Los compuestos antioxidantes que poseen las frutas se pueden extraer con diferentes disolventes orgánicos según la polaridad del componente que se desea extraer (Povilaitis et al., 2015). La extracción del compuesto bioactivo depende del tipo de disolvente utilizado, por ello la elección del mejor disolvente resulta un elemento clave para lograr una extracción más eficaz. Los más utilizados para compuestos hidrofílicos son mezclas de etanol/agua, acetona/agua y metanol/agua así como la extracción en medio ácido (pH=2) y en el caso de los compuestos lipofílicos el disolvente más común es el hexano (Pérez-Jiménez et al., 2007; Thaipong et al., 2006; Cardona et al., 2006, Giraldo Rojas et al., 2009).

2. OBJETIVO

El objetivo general de este estudio fue evaluar el efecto de la liofilización para la obtención de extractos de fresón con alto contenido en sustancias bioactivas y capacidad antioxidante. Además, se valoró el empleo de goma arábiga como agente encapsulante y protector de los compuestos fitoquímicos mayoritarios de esta fruta.

A fin de alcanzar el objetivo general, se establecieron los siguientes objetivos específicos:

- Obtención de extractos en disolución a partir de fresón fresco, fresón liofilizado y fresón liofilizado con goma arábiga ricos en compuestos fitoquímicos hidrofílicos y lipofílicos.
- Determinación del efecto de la liofilización y de la adición de goma arábiga sobre los compuestos fitoquímicos mayoritarios de los extractos de fresón.
- Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos de fresón obtenidos mediante diferentes técnicas de análisis.
- Obtención de extractos secos de fresón ricos en compuestos fitoquímicos hidrofílicos y lipofílicos a partir de los extractos en disolución.
- Evaluación del impacto del secado de los extractos de fresón en los compuestos fitoquímicos mayoritarios y en la actividad antioxidante de los mismos.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. MATERIA PRIMA

La fruta utilizada en este trabajo fue el fresón (*Fragaria x ananassa*), procedente de Huelva y adquiridos en un supermercado de Valencia. Dada la estacionalidad de esta fruta, para asegurar la disponibilidad de un lote homogéneo de muestra a lo largo de la realización de este estudio, se emplearon fresones congelados. Para la obtención de la fruta liofilizada con adición de solutos con efecto encapsulante, a una parte de la pulpa de fresón se le añadió goma arábica (GA) en proporción 6 g/100 g de fruta, según estudios anteriores (Agudelo et al., 2014).

3.2. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS DE FRESÓN

La pulpa de fresón congelada se descongeló durante 12h en refrigeración. Una vez descongelada, la pulpa se trituró con una batidora (Thermomix TM 21, Vorwerk, Spain). El puré obtenido se dividió en tres partes, una primera parte no recibió ningún tipo de tratamiento y sirvió como control, constituyendo la muestra que denominaremos F; otra parte del puré se liofilizó (FL) y a la tercera parte se le añadió GA previamente a su liofilización (FLG). En la tabla 1 se resume la nomenclatura utilizada. La adición de la GA se realizó en el mismo robot de cocina utilizado para la trituración de la fruta. Para la obtención de los productos liofilizados, el fresón triturado sin y con GA se dispuso en bandejas de aluminio con 0,5 cm de espesor y se congeló a -45°C (Liebherr Mediline 7083 207-00) durante 48 horas. Posteriormente las muestras se liofilizaron (liofilizador Telstar Lioalfa-6) a 0,021 mPa y a una temperatura de -45 °C en el condensador, durante 48 horas. Una vez obtenidas las muestras liofilizadas, se trituraron hasta conseguir un polvo homogéneo. Las muestras se introdujeron en tubos de plástico de cierre hermético envasados en bolsas a vacío (envasadora Tecnotrip EVO86154, España) a temperatura ambiente y en oscuridad hasta su análisis.

Tabla 1. Nomenclatura utilizada para definir las muestras.

MUESTRA	NOMENCLATURA
Fresón	F
Fresón liofilizado	FL
Fresón liofilizado con goma arábica	FLG

3.3 OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS DE FRESÓN EN DISOLUCIÓN Y SECOS

Para la obtención de los distintos extractos ricos en compuestos bioactivos de las muestras F, FL y FLG, se utilizaron diferentes tipos de disolventes dependiendo de la naturaleza lipofílica o hidrofílica de los compuestos bioactivos que se querían extraer.

En la extracción de compuestos fenólicos, se utilizó una mezcla de metanol y agua, en proporción 70:30 (v/v). Este disolvente mostró los mejores resultados en estudios previos para esta extracción (Farinha, 2014; Spaggiari, 2014). El procedimiento de extracción empleado fue el sugerido por Tomás-Barberán et al. (2001). El primer paso fue pesar 1 g de muestra y añadir 9 mL de la mezcla de disolvente. A continuación se homogeneizó en un agitador magnético durante 30 min y pasado ese tiempo se centrifugó a 8000 rpm durante 15 min a 20 °C (Selecta Medifriger-BL, España), recogiendo el sobrenadante. Este sobrenadante constituyó el extracto 1. A este extracto se le midió el contenido en fenoles totales (apartado 3.4.2.1) y además se le determinó su actividad antioxidante (apartado 3.4.3).

Para la extracción de compuestos fitoquímicos de naturaleza lipofílica del fresón se utilizó una mezcla de hexano, acetona y etanol, en proporción 50:25:25 (Olives et al., 2006). El procedimiento de extracción seguido fue el mismo que el descrito para el extracto 1. A este extracto rico en compuestos bioactivos lipofílicos se le denominó extracto 2 y se le midió el contenido en carotenoides totales (apartado 3.4.2.2) y su actividad antioxidante (apartado 3.4.3).

Además se realizó un tercer extracto (extracto 3) con ácido oxálico al 0,1% (p/v) en agua (Xu et al., 2008). El procedimiento de extracción seguido fue el mismo que el descrito para el extracto 1 y 2. Con este extracto midió la vitamina C (apartado 3.4.2.3) y su actividad antioxidante (apartado 3.4.3).

Con la finalidad de obtener los extractos secos, evaluar el efecto del proceso de obtención de los mismos en su contenido en compuestos bioactivos y sobre su poder antioxidante, y comprobar su estabilidad para su aplicación en la elaboración de un nutracéutico, se procedió de la siguiente manera: en el extracto 1 fenólico, en primer lugar se evaporó el disolvente orgánico mediante rotavapor (50°C) durante 20 min para eliminar todo el metanol, y a continuación la fase acuosa restante se congeló durante 48 horas y se liofilizó 48 horas en las mismas condiciones descritas que para la obtención de la fruta liofilizada. Para la obtención del extracto lipofílico seco, el disolvente orgánico se eliminó mediante rotavapor tal y como se ha descrito para el

extracto 1; para obtener el extracto 3 seco, el extracto se congeló y se liofilizó según procedimiento descrito para la obtención del extracto seco 1.

3.4 DETERMINACIONES ANALÍTICAS

3.4.1 Humedad

Para la determinación de humedad (x_w) de las muestras F, FL y FLG se utilizó el método oficial para alimentos ricos en azúcares (AOAC 934.06, 2000). Este método consiste en la determinación de la pérdida de peso de la muestra mediante desecación de la misma en una estufa de vacío (Vacioterm, J.P. Selecta) a una temperatura de 60°C y P<100mm Hg, dejando secar hasta peso constante. Los resultados se expresaron en g agua/100g muestra.

3.4.2 Compuestos bioactivos

A los correspondientes extractos en disolución y los extractos secos obtenidos a partir de las muestras F, FL, FLG se les analizó, por triplicado, el contenido en fenoles totales, carotenoides totales, vitamina C y actividad antioxidante. Con fines comparativos, todos los resultados se expresaron referidos a 100 g de sólidos de fresón. Para el análisis de los extractos secos, éstos se reconstituyeron con el correspondiente disolvente de extracción.

3.4.2.1 Fenoles totales

El protocolo de análisis de los fenoles totales se basó en el ensayo de Folin–Ciocalteu, según Benzie y Strain (1999) y Selvendran y Ryden (1990). Este ensayo se realizó sobre el extracto 1.

Para la realización del análisis se utilizaron 0,25 mL de extracto, añadieron 15 mL de agua biodespilada y 1,25 mL de reactivo Folin–Ciocalteu (Sigma-Aldrich, Alemania). A continuación se dejó reposar la mezcla durante 8 minutos en ausencia de luz y transcurrido ese tiempo se añadió 3,75 mL de carbonato sodio 7,5% (p/v), y se aforó el matraz con agua biodespilada hasta 25 mL. Por último, dejamos los matraces protegidos de la luz y a temperatura ambiente durante 2 horas y pasado ese tiempo se midió la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro UV-visible (Thermo Electron Corporation USA).

Para la posterior preparación de la recta de calibrado se tomaron como patrón disoluciones de ácido gálico (Sigma–Aldrich, Alemania) a diferentes concentraciones. Los resultados se expresaron como mg de ácido gálico / 100 g sólidos de fresón.

3.4.2.2 Carotenoides totales

La determinación de los carotenoides totales se llevó a cabo por espectrofotometría según AOAC (1996) y Olives et al., (2006). Este ensayo se realizó sobre el extracto 2.

Para la realización del análisis se añadieron 15 mL de agua biodespilada a 100 mL del extracto 2 y se agitó la muestra, tras lo cual se dejó en reposo para lograr una separación de fases. De la fase superior orgánica se tomaron 600 μ L que se evaporaron con nitrógeno y a continuación se le añadió 1 mL de disolución de THF:ACN:MeOH (15:30:55, v/v/v). Por último, se procedió a medir la absorbancia a 446 nm.

Para la posterior cuantificación se preparó una recta de calibrado con distintas concentraciones de β -caroteno (Fluka, España). Los resultados se expresaron como mg de β -caroteno / 100 g sólidos de fresón.

3.4.2.3 Vitamina C

La determinación del ácido ascórbico o vitamina C se realizó siguiendo la metodología descrita por AOAC (1980) para frutas y vegetales (Pearson, 1998; Mattissek et al., 1998). Se trata de un análisis volumétrico empleando ácido metafosfórico para inactivar la enzima ascorbato oxidasa. El ácido ascórbico se determina por su acción reductora sobre el colorante azul 2,6 diclorofenol-indofenol. El método básicamente consiste en pesar 0,5 g de muestra, adicionar 5 mL de disolución acuosa de ácido metafosfórico al 25% y enrasar a 25 mL con agua destilada y hervida. Tras agitar y filtrar, se valoran 10 mL del filtrado con el indicador hasta alcanzar rosa persistente durante 30 segundos. El resultado se expresó en mg ácido ascórbico/100 g sólidos de fresón.

3.4.3 Actividad antioxidante

Las propiedades antioxidantes de cada uno de los extractos obtenidos se evaluaron mediante tres métodos: FRAP, DPPH y ABTS. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado y en todos los casos se utilizó un espectrofotómetro UV-visible Thermo Electron Corporation, USA.

Los resultados se expresaron como mmol Trolox equivalente / 100 g sólidos de fresón.

3.4.3.1 DPPH

El método DPPH consiste en el uso del radical estable 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). La neutralización de este radical el cual pierde su color violeta, nos indicara la capacidad antioxidante de nuestro compuesto (Molyneux, 2003).

Para el método del DPPH se utilizó la metodología de Puupponen-Pimiä et al., (2003), Brand-Williams et al., (1995) y Sanchez –Moreno et al., (2003). El procedimiento

realizado consiste en colocar en una cubeta 3 mL de reactivo DPPH y 30 μ L de extracto. A continuación se agitó para homogenizar todo y se midió la absorbancia a 515 nm (espectrofotómetro Thermo Electron Corporation, USA) a tiempo 0 y pasados 2,5 minutos.

Para el cálculo del porcentaje de DPPH se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% DPPH = \frac{(A_{control} - A_{muestra})}{A_{control}} * 100 \quad (1)$$

donde:

$A_{control}$ es la absorbancia a tiempo 0 min.

$A_{muestra}$ es la absorbancia a tiempo 2,5 min, cuando la reacción se había estabilizado.

En la posterior preparación de la recta de calibrado se tomó como patrón disoluciones de Trolox (Sigma–Aldrich, Alemania).

3.4.3.2 FRAP

El método FRAP consiste en el poder antioxidante de reducir el Fe^{3+} a Fe^{2+} a pH bajos. El complejo reducido posee una coloración azul intensa que presenta su máxima absorción a 593 nm. Para el método FRAP se utilizó la metodología de Benzie y Stain (1996), Pulido et al., (2000) y Thaipong et al., (2006). El procedimiento realizado consistió en colocar en una cubeta 900 μ L de reactivo FRAP, 30 μ L de agua biodestillada y 30 μ L de extracto. A continuación se homogenizó y se midió la absorbancia a 593 nm (espectrofotómetro Thermo Electron Corporation, USA) a tiempo 0 y pasados 30 min incubados a 37°C.

En la preparación de la recta de calibrado se tomó como patrón disoluciones de Trolox (Sigma–Aldrich, Alemania).

3.4.3.3 ABTS

El radical ABTS^{•+} se forma a partir de la oxidación del ABTS mediante persulfato de potasio y se reduce en presencia de antioxidantes donantes de hidrogeno. En este método tiene mucha influencia la concentración del antioxidante en la reacción de inhibición del radical catiónico (Re et al., 1999).

Para el método ABTS se utilizó la metodología de (Re et al., 1999, Arnao et al., 2001) y Thaipong et al. (2006). El procedimiento realizado consistió en colocar en una cubeta 10 μ L de extracto y 1 mL del reactivo ABTS. A continuación se agitó hasta homogenizar

y se midió la absorbancia a 734 nm (espectrofotómetro Thermo Electron Corporation, USA) a tiempo 0 y pasado 1 min.

En la preparación de la recta de calibrado se tomó como patrón disoluciones de Trolox (Sigma–Aldrich, Alemania).

3.5 EFICACIA ENCAPSULANTE

La Eficacia encapsulante indica la capacidad que tiene el agente encapsulante, en este caso la goma arábica, para encapsular las moléculas de compuestos bioactivos. Según distintos autores que emplean la técnica de liofilización junto la adición de un soluto encapsulante para encapsular los compuestos bioactivos sensibles y los aromas, y mejorar la estabilidad de los productos en polvo obtenidos (Dib Taxi et al., 2003; Righetto y Netto, 2005, Murali et al., 2014), la Eficacia encapsulante puede calcularse basándose en la cantidad de bioactivo inicial en la fruta antes y después de la encapsulación, según método sugerido por Risch y Reineccius (1988) (ecuación 2):

$$\frac{\text{Compuesto bioactivo en el fresón}}{\text{Compuesto bioactivo en el extracto encapsulado}} \quad (2)$$

3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para estudiar las posibles diferencias significativas entre las muestras se realizaron análisis de la varianza unifactoriales (ANOVA), a un nivel de confianza del 95% ($p < 0,05$).

También se realizaron correlaciones de Pearson entre la actividad antioxidante y los compuestos bioactivos en cada extracto. Para llevar a cabo dichos análisis se utilizó el programa Statgraphics Centurion XV.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA LIOFILIZACIÓN Y DE LA ADICIÓN DE GOMA ARÁBIGA.

4.1.1 Efecto en el contenido de humedad.

En la siguiente tabla (tabla 2), se muestra la media y la desviación estándar (entre paréntesis), de los valores obtenidos de humedad (x_w), de las diferentes muestras de fresón estudiadas: F, FL, FLG.

Tabla 2. Valores medios y desviación estándar de contenido en agua (x_w) de las muestras estudiadas de fresón (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG), expresado en g de agua/100 g de muestra.

Muestra	x_w
F	89,9 (1,3)
FL	2,4 ^a (0,2)
FLG	2,29 ^a (0,08)

^{a-b} Los superíndices diferentes indican que existen diferencias estadísticamente significativas establecidas por el ANOVA (valor $P < 0,05$) entre las muestras liofilizadas.

Inicialmente el fresón tenía unos valores de humedad de 89,9 g de agua/100 g de producto, estos valores fueron muy similares a los obtenidos en otros estudios con fresa donde se obtuvo un 90% de humedad (Restrepo et al., 2009). Tras la liofilización se consiguió un producto en polvo con unos valores de humedad del orden de los sugeridos por otros autores para alimentos liofilizados (Guevara-Pérez et al., 1998; Fellows, 2000). El fresón liofilizado FL presentó unos valores de humedad de 2,4 g de agua/100 g de producto y el fresón liofilizado con goma arábica ligeramente inferiores (2,29 g de agua/100g de producto). No se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre la humedad de ambas muestras liofilizadas. En otros estudios con borjón liofilizado se observó una disminución de la humedad del producto liofilizado al adicionarle diferentes solutos de alto peso molecular, como maltodextrina o goma arábica (Mosquera, 2010). En este estudio se concluyó que la adición de polisacáridos de alto peso molecular como la goma arábica favorece la eliminación del agua en el posterior proceso de liofilización, lo que podría estar relacionado con un aumento del agua congelable de la muestra. Además, la adición de solutos provoca una disminución de las propiedades higroscópicas de los productos en polvo, proporcionando les mayor estabilidad y

disminuyendo los fenómenos de pegajosidad y apelmazamiento típicos de este tipo de productos de fruta deshidratados (Gabas et al., 2007).

4.1.2 Efecto en el contenido de compuestos bioactivos.

En la figura 1 se muestran los valores medios y desviación estándar del contenido en compuestos fenólicos (mg de ácido gálico/100 g sólidos de fresón) de las muestras de fresón (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG).

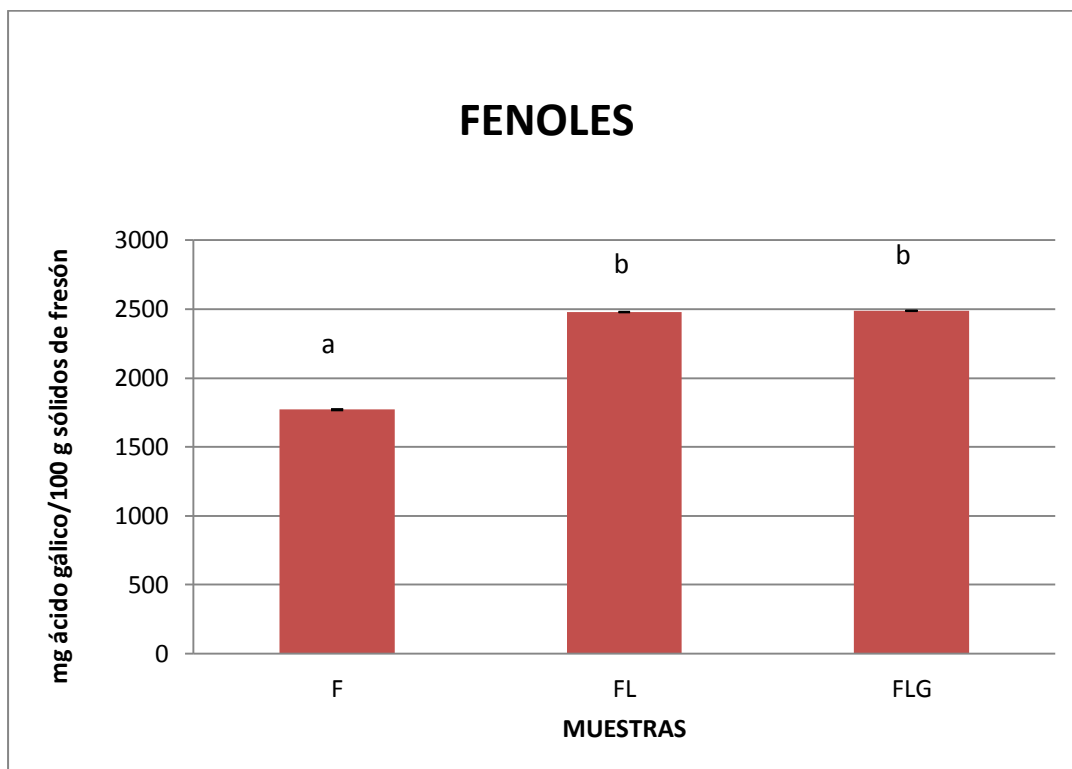


Figura 1. Contenido en fenoles totales (mg ácido gálico/100 g sólidos de fresón) de las diferentes muestras de fresón estudiadas: fresón (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG). Las letras diferentes indican que existen diferencias significativas entre muestras establecidas por el ANOVA (valor $p < 0,05$).

El fresón presentó un contenido en fenoles totales de 1770,54 mg de ácido gálico/ 100 g sólidos de fresón, estos valores son superiores a los obtenidos en estudios similares con diferentes variedades de fresón (Carvajal de Pabón et al., 2012; Restrepo et al., 2010). La variabilidad del contenido de compuestos fenólicos en las frutas en distintos estudios de investigación puede ser atribuida no solo a factores, como el grado de maduración durante la cosecha, diferencias entre variedades, prácticas culturales o factores medioambientales (temperatura, humedad, luz, etc.) durante el desarrollo del

fruto (Gunduz y Ozdemir, 2014), sino también a los distintos disolventes empleados en el proceso de extracción (Garau et al., 2007).

La liofilización ocasionó un aumento significativo ($p < 0,05$) del contenido en fenoles del fresón. Así el fresón liofilizado y fresón liofilizado con goma presentaron unos valores de 2478,59 y 2488,33 mg de ácido gálico/ 100 g sólidos de fresón, respectivamente. No se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre el contenido en compuestos fenólicos de las muestras FL y FLG. El aumento de fenoles fue de 40% en fresón liofilizado y fresón liofilizado con goma, respecto a la muestra fresca. En otros estudios con diferentes frutas se observó también un aumento del contenido en fenoles al someterlas a un proceso de liofilización (Benites et al., 2011). Este aumento significativo puede explicarse ya que durante la congelación previa a la liofilización, se forman cristales de hielo capaces de romper la estructura celular de la fruta. De esta forma se facilita la posterior entrada del disolvente y consecuentemente se mejora la extracción de los compuestos fenólicos (Bermejo, 1999). Además la técnica de liofilización, al emplear temperaturas más bajas que otras técnicas de deshidratación, protege estos compuestos fitoquímicos, que con temperaturas superiores se podrían degradar (Wu et al., 2010). Spigno et al., (2007) también observaron un aumento en el contenido en fenoles de extractos de uva liofilizada respecto al extracto de la muestra fresca. Estos autores argumentan que la liofilización ocasiona un aumento del tamaño de partícula de la muestra, lo cual favorece la superficie de contacto con el disolvente y provoca un aumento del rendimiento de extracción. Estos mismos autores realizaron una extensa recopilación de literatura apoyando este hecho.

En la figura 2 se muestran los valores medios y desviación estándar del contenido en carotenoides (mg de β -caroteno/100 g sólidos de fresón) de las muestras de fresón (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG).

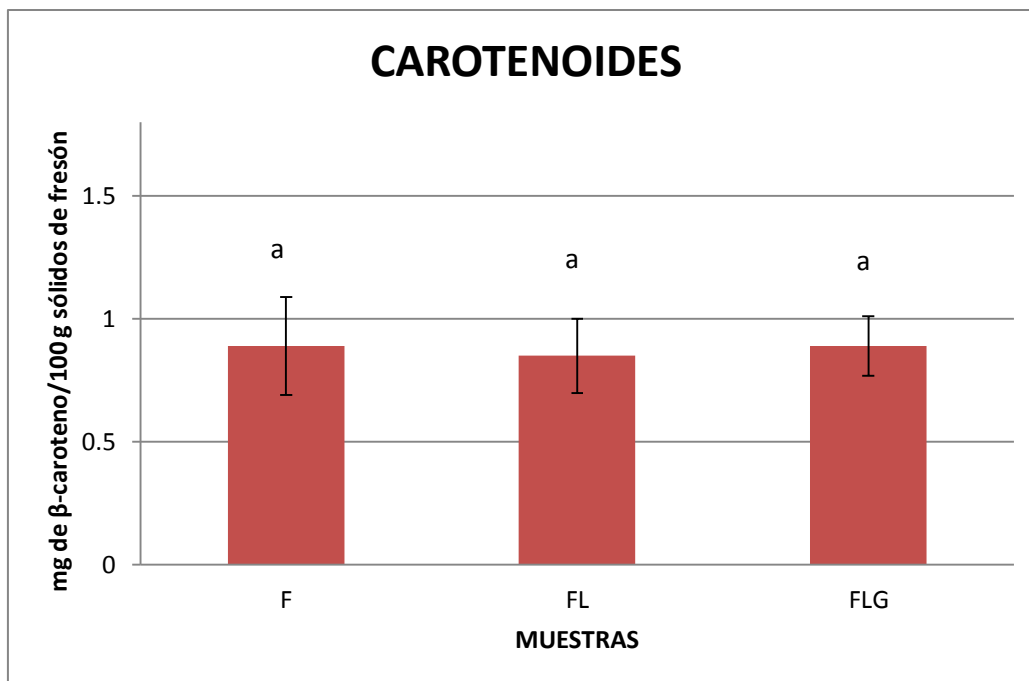


Figura 2. Contenido en carotenoides (mg de β -caroteno/100 g sólidos de fresón) de las diferentes muestras de fresón de fresón estudiadas, fresón (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG). Las letras diferentes indican que existen diferencias significativas entre muestras establecidas por el ANOVA (valor $p < 0,05$).

El fresón presentó unos valores de carotenoides de 0,89 mg de β -caroteno/100 g sólidos de fresón, estos valores son muy similares ($p > 0,05$) a los obtenidos en fresón liofilizado y liofilizado con goma (0,85 y 0,89 mg de β -caroteno/100 g sólidos de fresón respectivamente). Ni la liofilización ni la adición de goma arábica supusieron ningún cambio significativo ($p > 0,05$) en el contenido en carotenoides del fresón. En general, no hay muchos estudios donde se cuantifique el contenido en carotenoides del fresón, ya que es una fruta en bajo contenido en estos compuestos. En un estudio realizado por Gross (1982), se midió el contenido en carotenoides de la fresa en diferentes estados de maduración, los resultados para la fruta madura fueron de 0,8 mg β -caroteno /100 g sólidos secos. Por otra parte, Barros et al. (2010) obtuvieron valores inferiores a 1,3 mg β -caroteno /100 g sólidos secos, por lo que en ambos estudios son bastante similares a los obtenidos en este trabajo.

En la figura 3 se muestran los valores medios y desviación estándar del contenido en vitamina C (mg vitamina C /100 g sólidos de fresón) de las muestras de fresón (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG).

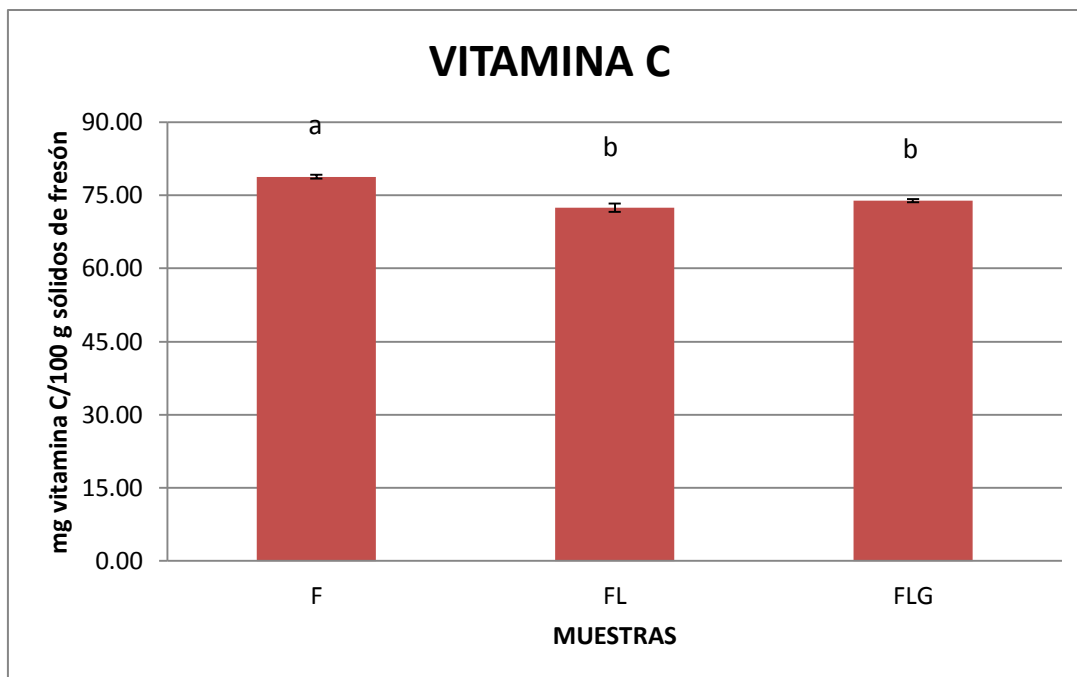


Figura 3. Contenido en vitamina C (mg vitamina C/ 100g sólidos de fresón) de las diferentes muestras de fresón de fresón estudiadas, fresón (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG). Las letras diferentes indican que existen diferencias significativas entre muestras establecidas por el ANOVA (valor $p < 0,05$).

El fresón presentó unos valores de vitamina C de 78,82 mg vitamina C/ 100g sólidos de fresón, estos valores son más altos que los obtenidos en otros estudios con fresones (Beltrán et al., 2010, Lee y Kader, 2000). El contenido en vitamina C del fresón es mayor que el de otras frutas como la naranja, limón, kiwi, manzana, melocotón o uva (Tavarini et al., 2008). La liofilización ocasionó pérdidas de vitamina C del 8%, obteniéndose valores de 72,50 y 73,87 mg vitamina C/ 100g sólidos de fresón en fruta liofilizada y liofilizada con goma, respectivamente. La goma arábica no parece ejercer un efecto protector sobre esta vitamina, puesto que no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en el contenido en vitamina C de ambas muestras liofilizadas, con y sin este soluto. Esta disminución en el caso de las muestras liofilizadas puede ser debido a que la vitamina C es un compuesto que se caracteriza por ser muy lábil, termosensible y fácilmente oxidable, por lo que se degrada fácilmente (Grajales-Agudelo et al., 2005; Klimczak et al., 2007). En este sentido, la liofilización aumenta la porosidad de la muestra, por lo que la vitamina C podría estar más expuesta al oxígeno, lo cual podría afectar negativamente a su estabilidad. En otros estudios con fresa, se observó que la vitamina C disminuyó sobre un 22% al procesar la fresa para la elaboración de zumos, debido a las operaciones de trituración y filtrado empleadas (Klopotek et al., 2005). Otros estudios con pulpa de mango mostraron una disminución

de la vitamina C al someter a la fruta a temperaturas altas de 60-80°C (Ordoñez-Santos y Yoshioka-Tamayo, 2012). Otro estudio con pimiento verde mostró unas pérdidas de 46% de la vitamina C al someterlo a una cocción en agua a 98°C (Quipo-Muñoz et al., 2013).

4.1.3 Evaluación de la actividad antioxidante

En la siguiente tabla se representan los valores medios de capacidad antioxidante del extracto 1 mediante los tres métodos utilizados en este estudio. Dada la complejidad de la naturaleza de los compuestos fitoquímicos que originan la actividad antioxidante, se hace necesario el empleo de al menos dos métodos para su determinación (Du et al., 2009). Los métodos elegidos en este estudio (el método ABTS, empleando el reactivo ABTS, como oxidante; el método FRAP basado en la capacidad de reducción férrica y el método DPPH basado en el potencial captador de radicales libres de este reactivo) son los recomendados por distintos autores (Brand-Williams et al., 1995; Ozgen et al., 2007). Puesto que cada método está basado en un fundamento distinto, no pueden compararse resultados entre diferentes métodos (Pérez-Jiménez et al., 2007). El objetivo de la tabla es mostrar las diferencias ocasionadas por la liofilización y la adición de goma arábiga, para cada método de análisis y en cada extracto concreto.

Tabla 3. Valores medios y desviación estándar de la actividad antioxidante del extracto 1 de las muestras de fresón (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábiga (FLG), en mmol Trolox Equivalente/100 g sólidos de fresón.

MUESTRA	ABTS	DPPH	FRAP
F	16 ^a (3)	5,8 ^a (0,4)	7,9 ^a (0,5)
FL	12,4 ^b (1,1)	5,4 ^a (0,2)	6,1 ^b (0,7)
FLG	12,1 ^b (0,3)	5,6 ^a (0,3)	6,1 ^b (0,4)

Los superíndices diferentes indican que existen diferencias significativas entre las muestras establecidas por el ANOVA (valor $p < 0,05$).

En general, al observar la tabla 3 podemos observar que en el extracto 1, la muestra de fresón fue la que mayor capacidad antioxidante presentó ($p < 0,05$). Por otra parte, no se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en la actividad antioxidante de las muestras liofilizadas con y sin goma, medidas por ABTS, FRAP y DPPH. La disminución de la capacidad antioxidante en fresón liofilizado respecto a la fruta fresca fue de 23%

en ABTS y FRAP y de 7% en DPPH. La evolución de la capacidad antioxidante de las muestras con el tratamiento de liofilización no siguió la misma tendencia que la observada para los compuestos fenólicos, que aumentaron en el fresón tras ser liofilizado. El diferente comportamiento, entre los fenoles totales y la actividad antioxidante del extracto 1, puede ser debido a que en la extracción con la disolución metanol:agua se podrían haber extraído otros compuestos hidrosolubles, como por ejemplo la vitamina C que, como ya se ha visto, se pierde durante el proceso de liofilización, contribuyendo a la disminución observada de la actividad antioxidante tras este proceso (Castañeda et al., 2010; Klimczak et al., 2007). Tampoco se observó un efecto protector de la goma arábica sobre la actividad antioxidante de las muestras liofilizadas, al igual que en otros estudios como el Tonon et al., (2010) sobre zumo de açai, donde se observó una disminución de las antocianinas de 13% y de la actividad antioxidante de 9% tras la liofilización utilizando diferentes tipos de solutos, como goma arábica.

En la siguiente tabla (Tabla 4) se representan los valores medios de capacidad antioxidante del extracto 2 mediante los tres métodos de cuantificación de este estudio.

Tabla 4. Valores medios y desviación estándar de la actividad antioxidante del extracto 2 de las muestras de fresón (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG), en mmol Trolox Equivalente/100 g sólidos de fresón.

MUESTRA	ABTS	DPPH	FRAP
F	1,02 ^a (0,03)	0,45 ^a (0,02)	0,7 ^a (0,3)
FL	1,32 ^b (0,01)	0,712 ^b (0,006)	0,643 ^b (0,006)
FLG	1,5 ^c (0)	0,831 ^c (0,001)	0,852 ^c (0,002)

Los superíndices diferentes indican que existen diferencias significativas entre las muestras establecidas por el ANOVA (valor $p < 0,05$).

Observando la tabla 4 se puede decir que la actividad antioxidante del extracto 2, que es el extracto lipofílico, es mucho menor la actividad antioxidante del extracto 1, como han observado otros autores anteriormente en otras frutas (Pérez-Jiménez et al., 2008). Esto puede ser debido a que el contenido en carotenoides en fresón fue mucho menor que el de fenoles.

En la tabla se puede observar que en todos los métodos de medición de la actividad antioxidante, FLG fue la muestra que más actividad antioxidante presentó. Lo cual puso

en manifiesto el papel protector de la goma arábica sobre los compuestos bioactivos liposolubles, proporcionando en general una mayor estabilidad de estos componentes durante la liofilización (Gabas et al., 2007). La actividad antioxidante del fresón liofilizado aumentó significativamente ($p < 0,05$) respecto al fresón un 29% en ABTS y 58% en DPPH. Por otro lado, el fresón liofilizado con goma aumentó significativamente la capacidad antioxidante respecto el fresón fresco en 47% en ABTS y 85% en DPPH. La tendencia de la actividad antioxidante del extracto lipofílico no es la misma que la seguida por los compuestos carotenoides (Figura 2). Esto puede ser debido a que en la extracción de compuestos lipofílicos pueden haberse extraído otros compuestos liposolubles como vitamina E o tocoferoles presentes en el fresón. Estos componentes no han sido cuantificados en este trabajo, pero pueden haberse extraído con la mezcla hexano/acetona/etanol y pueden afectar a la capacidad antioxidante del extracto (Sundram y Gapor., 1994; Pellegrini et al, 2007). En otro estudio se cuantificó la vitamina E en fresas y fue de 23,46 mg α - tocoferol/100 g muestra fresca (Barros et al., 2010).

En la siguiente tabla (Tabla 5) se representan los valores medios de capacidad antioxidante del extracto 3 mediante los tres métodos de cuantificación de este estudio.

Tabla 5. Valores medios y desviación estándar de la actividad antioxidante del extracto 3 de las muestras de fresón (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG), en mmol Trolox Equivalente/100 g sólidos de fresón.

MUESTRA	ABTS	DPPH	FRAP
F	9,57 ^a (0,49)	6,61 ^b (0,24)	11,48 ^a (0,01)
FL	7,96 ^b (0,03)	5,28 ^a (0,09)	9,33 ^b (0,05)
FLG	8,87 ^c (0,13)	5,48 ^a (0,13)	9,5 ^b (0,03)

Los superíndices diferentes indican que existen diferencias significativas entre muestras establecidas por el ANOVA (valor $P < 0,05$).

Al igual que ocurría con la vitamina C, principal componente extraído en este extracto, la mayor capacidad antioxidante se encontró en el fresón fresco. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en la actividad antioxidante de las muestras liofilizadas y frescas. La muestra de fresón liofilizado disminuyó significativamente ($p < 0,05$) la capacidad antioxidante respecto el fresón fresco en un 17% en ABTS, 20% en DPPH y 19% en FRAP. En el método DPPH y FRAP no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los extractos liofilizados con y sin goma arábica. En ABTS

se observó el poder protector de la goma, ya que mejoró la capacidad antioxidante respecto a la muestra FL. Las pérdidas observadas en la actividad antioxidante de estos extractos puede relacionarse con lo comentado anteriormente para la vitamina C. Esta vitamina, al ser termosensible y fácilmente oxidable se puede degradar con la liofilización y las pérdidas de estos compuestos quedan reflejadas en la menor actividad antioxidante del extracto FL y FLG (Castañeda et al., 2010; Klimczak et al., 2007).

4.2 CARACTERIZACIÓN DE LOS EXTRACTOS SECOS. EVALUACIÓN DE LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS Y DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.

Como ya se ha descrito en el apartado de Material y Métodos, la obtención de los extractos secos supuso la deshidratación de los extractos en disolución. Para conocer si la deshidratación de los extractos ha influido en el contenido de compuestos bioactivos y en la actividad antioxidante de los mismos, se analizaron los mismos parámetros que en los extractos en disolución (Apartado 3.3). Los resultados obtenidos se pueden observar en las tablas 6 a 9. Tras obtener los resultados, se realizó un análisis estadístico ANOVA para conocer si existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los resultados de los extractos secos y los correspondientes de los extractos en disolución. Aquellos resultados que presentan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) se han marcado con un asterisco (*).

4.2.1 Efecto en el contenido de compuestos bioactivos.

La tabla 6 muestra los resultados del contenido de compuestos bioactivos (fenoles totales, carotenoides y vitamina C) de los extractos secos.

Tabla 6. Valores medios y desviación estándar del contenido en fenoles (mg de ácido gálico/100 g sólidos de fresón), carotenoides (mg de β -caroteno/100 g sólidos de fresón) y vitamina C (mg vitamina C/ 100g sólidos de fresón) de los extractos secos de las muestras de fresón (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG).

MUESTRA	FENOLES	CAROTENOIDES	VITAMINA C
F	1650 ^a (2)	0,83 ^a (0,07)	73,39 ^{a*} (0,15)
FL	2334 ^b (3)	0,82 ^a (0,13)	67,7 ^{b*} (0,7)
FLG	2381 ^b (2)	0,87 ^a (0,04)	72,3 ^a (0,5)

Los superíndices diferentes indican que existen diferencias significativas entre las muestras establecidas por el ANOVA (valor $P < 0,05$). El asterisco (*) indica que hay diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el extracto seco y en disolución.

En general la deshidratación de los extractos no afectó ($p > 0,05$) al contenido de compuestos fenólicos de los mismos. Al comparar los extractos disueltos y los secos se observaron unas pérdidas de compuestos fenólicos de 7% en el fresón fresco seco, 6% en fresón liofilizado seco y 4% en fresón liofilizado con goma arábica, respecto a los extractos disueltos. Algunos estudios muestran que los procesos de deshidratación, en particular a altas temperaturas y largos tiempos, pueden destruir algunos compuestos fenólicos (Li et al., 2006). En nuestro caso, para la obtención del extracto seco, se sometió al extracto en disolución metanol: agua a la evaporación del disolvente orgánico a 50°C durante 20 min, lo cual a pesar de no tratarse de elevadas temperaturas, pudo afectar de manera negativa a estos compuestos. La posterior congelación de la fase acuosa del extracto, así como la operación de liofilización para eliminar el agua, pudieron también afectar a estos compuestos extraídos. Los fenoles una vez extraídos, se encuentran más expuestos a factores oxidantes al encontrarse desprotegidos de la matriz de la fruta, pudiendo este hecho disminuir su estabilidad. En este sentido, pudo apreciarse el efecto protector de la adición de GA, siendo el extracto seco de FLG la muestra con mayor contenido en fenoles. El efecto protector que produce la goma arábica sobre estos compuestos también ha sido descrita por otros autores (Krishnan et al., 2005).

Otros estudios de Ahmad-Qasem et al., (2015) mostraron que la deshidratación de extractos de hoja de olivo a 120°C y a 55°C a vacío, causó una reducción del contenido fenólico de alrededor de 10%. Esta reducción también ha sido reportada por otros autores cuando distintos extractos naturales se han secado por diferentes métodos. Así,

Fang y Bhandari (2011) trabajaron con zumo de frutas del bosque, también observaron una disminución de compuestos fenólicos al someter las muestras a un secado con atomización, concretamente se observaron pérdidas del 6%. Por otro parte, los mismos autores al aplicar al zumo temperaturas de 40°C, las pérdidas de fenoles fueron del 9%.

Los resultados obtenidos para el contenido en carotenoides en los extractos secos siguieron la misma tendencia que en los extractos lipofílicos disueltos. No se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) entre F, FL y FLG. Las pérdidas ocasionadas en el proceso de obtención del extracto seco fueron de 7% en F, 4% en FL y 2% en FLG. En este caso el extracto lipofílico en disolución hexano:acetona:etanol se sometió a calentamiento a 50°C/20 min en rotavapor. Los carotenoides son compuestos con cierta inestabilidad ya que son altamente insaturados, pudiendo así degradarse fácilmente por reacciones de oxidación, siendo afectados también por la temperatura, o la luz (Meléndez-Martínez et al., 2004). En ninguno de los casos estas pérdidas fueron estadísticamente significativas ($p>0,05$).

Por lo que respecta a los extractos de vitamina C secos (Tabla 6), se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$) en el contenido de vitamina C de los extractos de F y FL respecto a los respectivos extractos en disolución. En estos casos, la congelación y posterior liofilización a que se somete el extracto acuoso en disolución para la obtención de los extractos secos produjo pérdidas significativas ($p<0,05$) de la vitamina C. Estas pérdidas fueron de 7% en ambos casos. Por el contrario, en las muestras de fresón liofilizado con goma, no se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) entre el extracto seco y en disolución, produciéndose unas pérdidas en vitamina C del 2%. En este sentido, la presencia de goma arábica parece mantener mejor el contenido de ácido ascórbico, impidiendo su degradación en el extracto seco. Estudios con distintos agentes encapsulantes (como la maltodextrina, la goma arábica, almidones modificados, pectina, etc.) afirman que estos solutos actúan como barrera física al oxígeno y a la luz, protegiendo además de la degradación química y enzimática (Wang et al., 2009).

4.2.2 Evaluación de la actividad antioxidante

En la siguiente tabla (Tabla 7) se representan los valores medios de capacidad antioxidante del extracto 1 seco mediante los tres métodos de cuantificación utilizados en este estudio.

Tabla 7. Valores medios y desviación estándar de actividad antioxidante, en mmol Trolox Equivalente/100 g sólidos de fresón de los extractos fenólicos secos (extracto 1) de las muestras de fresón (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG).

MUESTRA	ABTS	DPPH	FRAP
F	15,05 ^{a*} (0,05)	5,37 ^{a*} (0,01)	7,33 ^{a*} (0,04)
FL	11,79 ^b (0,06)	4,93 ^{b*} (0,12)	5,66 ^{b*} (0,03)
FLG	12,01 ^c (0,03)	5,56 ^a (0,12)	5,93 ^b (0,02)

Los superíndices diferentes indican que existen diferencias significativas entre las muestras establecidas por el ANOVA (valor $p < 0,05$). El asterisco (*) indica que hay diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el extracto seco y en disolución.

En general la actividad de los extractos secos 1 fueron menores que los correspondientes extractos fenólicos en disolución. La muestra F presentó la mayor actividad antioxidante ($p < 0,05$) medida por los tres métodos de análisis. La presencia de goma arábica mejoró la actividad antioxidante de los extractos secos respecto a la muestra liofilizada FL (Tonon et al., 2010; Kuck et al., 2016). Así, con el método ABTS se encontraron unas pérdidas de 6% ($p < 0,05$) en F, 5% en FL y 1% en FLG; con el método DPPH fueron de 7% ($p < 0,05$) en F, 9% ($p < 0,05$) en FL y 1% en FLG. Por último, al utilizar el método FRAP, las pérdidas fueron de 7% ($p < 0,05$) en F y en FL y 3% en FLG. Los estudios anteriormente citados de Ahmad-Qasem et al., (2015) explican que la deshidratación de extractos de hoja de olivo a 120°C y a 55°C con vacío, causó un efecto significativo ($p < 0,05$) en su potencial antioxidante, reduciendo AAO alrededor de 10%, independientemente del método de secado empleado.

En la siguiente tabla (Tabla 8) se representan los valores medios de capacidad antioxidante del extracto lipofílico 2 seco mediante los tres métodos de cuantificación de este estudio.

Tabla 8. Valores medios y desviación estándar de actividad antioxidante de los extractos lipofílicos (extracto 2) secos, en mmol Trolox Equivalente/100 g sólidos de fresón de los extractos secos de las muestras de fresón (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG).

MUESTRA	ABTS	DPPH	FRAP
F	0,95 ^a (0,02)	0,42 ^a (0,02)	0,68 ^a (0,01)
FL	1,24 ^b (0,01)	0,7 ^b (0)	0,61 ^a (0,01)
FLG	1,48 ^c (0,01)	0,81 ^c (0,01)	0,82 ^b (0,03)

Los superíndices diferentes indican que existen diferencias significativas entre las muestras establecidas por el ANOVA (valor $p < 0,05$). El asterisco (*) indica que hay diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el extracto seco y en disolución.

La AAO de los extractos lipofílicos en disolución no resultó ser significativamente diferente ($p > 0,05$) a la AAO de los extractos lipofílicos seco. En los extractos lipofílicos secos también se aprecia el poder protector de la goma arábica, si comparamos las muestras FL y FLG. Con el método ABTS, la actividad antioxidante disminuyó un 7% en F, 6% en FL y 1% en FLG, respecto al extracto disuelto. Por otro lado, con el método DPPH las pérdidas fueron de 7% en F, 2% en FL y 3% en FLG. Por último, con el método FRAP estas pérdidas fueron de 3% en F, 5% en FL y 4% FLG.

En la siguiente tabla (Tabla 9) se presentan los valores medios de capacidad antioxidante del extracto 3 reconstituido mediante los tres métodos de cuantificación de este estudio.

Tabla 9. Valores medios y desviación estándar de actividad antioxidante de los extractos de vitamina C (extracto 3) secos, en mmol Trolox Equivalente/100 g sólidos de fresón de los extractos secos de las muestras de fresón (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma arábica (FLG).

MUESTRA	ABTS	DPPH	FRAP
F	9,11 ^{a*} (0,28)	6,38 ^a (0,01)	10,98 ^{a*} (0,02)
FL	7,69 ^b (0,03)	5,13 ^b (0,02)	9,125 ^b (0,004)
FLG	8,65 ^c (0,03)	5,38 ^b (0,3)	9,4 ^b (0)

Los superíndices diferentes indican que existen diferencias significativas entre las muestras establecidas por el ANOVA (valor $p < 0,05$). El asterisco (*) indica que hay diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el extracto seco y en disolución.

Como se muestra en la tabla, los extractos secos de vitamina C siguen la misma tendencia que los extractos disueltos. Como ya se comentó en el contenido en vitamina C, la mayor actividad antioxidante la encontramos en la muestra F. También, se aprecia el papel protector de la goma arábiga, siendo la actividad antioxidante de los extractos secos de FLG ligeramente mayor que F ($p > 0,05$). Estableciendo un análisis estadístico entre las muestras en disolución y los extractos secos, se observó que la obtención del mismo únicamente ocasionó pérdidas significativas ($p > 0,05$) de la actividad antioxidante en F cuando empleamos los métodos ABTS y FRAP. Concretamente se produjeron pérdidas de la actividad antioxidante de los extractos de un 5% en F, 3% en FL y 2% en FLG, utilizando el método de medida ABTS. Con el método DPPH, estas pérdidas fueron de 3% en F, 3% en FL y 2% en FLG. Por último, con el método FRAP la actividad antioxidante disminuyó un 4% en F, 2% en FL y 1% en FLG, respecto al extracto disuelto.

4.3. ESTIMACION DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL.

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 los extractos, 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 tabla 10. 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, flavonoides) 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.

Tabla 10. Valores medios y desviación estándar de la actividad antioxidante total, en mmoles Trolox Equivalente/100 g sólidos de fresón de los extractos en disolución y secos de las muestras de fresón (F), fresón liofilizado (FL) y fresón liofilizado con goma (FLG).

MUESTRAS	ABTS		DPPH		FRAP	
	Extracto en disolución	Extracto seco	Extracto en disolución	Extracto seco	Extracto en disolución	Extracto seco
F	26,6 ^{a-1}	25,1 ^{a-2}	12,9 ^{a-1}	12,2 ^{a-2}	20,1 ^{a-1}	19 ^{a-2}
FL	21,7 ^{b-1}	20,7 ^{b-2}	11,4 ^{b-1}	10,8 ^{a-2}	16 ^{b-1}	15,4 ^{b-2}
FLG	22,5 ^{c-1}	22,1 ^{c-1}	11,9 ^{b-1}	11,7 ^{a-1}	16,5 ^{b-1}	16,2 ^{c-1}

^{a-c}: Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras para cada extracto en disolución o seco.

¹⁻²: Números diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras de los extractos en disolución y secos para cada método.

Para todos los métodos de análisis, se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) de la actividad antioxidante total entre los extractos en disolución y secos en las muestras F y FL, no en el caso de los extractos de fresón liofilizado con goma arábica ($p > 0,05$). Para cada método, los extractos que mayor actividad antioxidante mostraron fueron los de F, seguidos de FLG.

4.4 ESTUDIO DE LA RELACIÓN ENTRE LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS Y LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS.

Para identificar si existe alguna correlación entre los métodos de cuantificación de la actividad antioxidante y cada uno de los compuestos bioactivos extraídos, se realizaron análisis estadísticos de correlación de Pearson (Tabla 11). El coeficiente de Pearson es un índice que mide el grado de variación entre distintas variables relacionadas linealmente. El rango de variación de este coeficiente va de -1 a +1, y mide la fuerza de relación lineal entre las variables.

Tabla 11. Coeficientes de correlación de Pearson entre la actividad antioxidante y los compuestos fenólicos, carotenoides y vitamina C por los tres métodos utilizados para la cuantificación de esta (ABTS, DPPH y FRAP).

	ABTS	DPPH	FRAP
Fenoles	-0,63	-0,56	- 0,71
Carotenoides	-0,06	-0,11	0,72
Vitamina C	0,92*	0,998*	0,991*

(*) Correlaciones estadísticamente significativas (nivel de confianza 95%).

Se observó una correlación negativa entre la actividad antioxidante evaluada por cualquiera de los tres métodos y el contenido en fenoles totales de las diferentes muestras de fresón. Este resultado puede explicarse, tal y como se ha comentado anteriormente a que otras sustancias hidrofílicas presentes en esta fruta han podido extraerse junto con los compuestos fenólicos, como por ejemplo la vitamina C, y están afectando en su cuantificación (Moo-Huchin et al., 2014).

Por su parte, las correlaciones de Pearson de los carotenoides fueron negativas para los métodos ABTS y DPPH y no significativas ($p > 0,05$). La correlación negativa entre carotenoides totales y la actividad antioxidante, ha sido observada también por otros autores (Thaipong et al., 2006; Rios de Souza et al., 2014). Esto indica que los carotenoides no son los principales agentes antioxidantes de la fracción lipofílica del fresón, pudiendo existir otras sustancias interferentes, como ya se ha comentado en apartados anteriores. Así, en la actividad antioxidante del extracto lipofílico puede existir influencia de la acción de otros componentes no evaluados en este trabajo, como la vitamina E (Sundram y Gapor., 1994; Pellegrini et al, 2007).

Los extractos de vitamina C fueron los que mejor se correlacionaron con la actividad antioxidante, concretamente 0,92 con ABTS, 0,998 con DPPH y 0,991 con FRAP. En todos los casos esta correlación fue significativa ($p < 0,05$).

4.5 ESTUDIO DE LA EFICACIA DE LA ENCAPSULACIÓN.

La Eficacia encapsulante indica la capacidad que tiene el agente encapsulante, en este caso la goma arábica para encapsular las moléculas de compuestos bioactivos. Según distintos autores que emplean la técnica de liofilización junto la adición de un soluto encapsulante (goma arábica, maltodextrina) para encapsular compuestos bioactivos sensibles y aromas, y con el objetivo de mejorar la estabilidad de los productos en polvo obtenidos (Dib Taxi et al.,2003; Righetto y Netto, 2005 y Murali et al., 2014) la Eficacia encapsulante puede calcularse basándose en la cantidad de bioactivo inicial en la fruta antes y después de la encapsulación, según método sugerido por Risch y Reineccius (1988), tal y como se ha descrito en Material y Métodos (apartado 3.5). Siguiendo este procedimiento y comparando respecto al contenido en la fruta de partida, se obtuvo que la Eficacia encapsulante de los compuestos fenólicos fue del 71% y de los carotenoides fue de 78%, mientras que la de la vitamina C fue del 100%.

Además, para no tener en cuenta en el cálculo de este parámetro el efecto del aumento de compuestos bioactivos que en algunos casos se produce con el proceso de liofilización, y enmascarar así el efecto causado únicamente por la adición de goma arábica, también se calculó la Eficacia encapsulante tomando como control el extracto seco del fresón liofilizado sin goma arábica. Es decir se compararon los valores de compuestos bioactivos en el extracto seco de FL respecto al extracto seco de FLG. De esta manera, la eficacia encapsulante de los compuestos fenólicos fue del 100%, de los carotenoides fue del 77% y de la vitamina C del 94%.

5. CONCLUSIONES

- La liofilización permitió obtener productos de fresón en polvo ricos en compuestos bioactivos y de alta capacidad antioxidante. Este proceso favoreció la extracción de compuestos fenólicos y, por el contrario, disminuyó el contenido de vitamina C, dado su carácter termolábil. Sería necesario realizar un estudio de almacenamiento para comprobar cuanto tiempo permanece viable esta vitamina en las muestras liofilizadas en polvo, dado que algunos estudios sugieren una mayor estabilidad para la vitamina C en productos liofilizados.
- Por otra parte, la liofilización parece afectar negativamente a la actividad antioxidante de las muestras cuando se analizaron los extractos hidrofílicos, con pérdidas respecto a la muestra fresca de entorno al 20 % en el extracto fenólico y en el extracto de vitamina C. Sin embargo, la liofilización aumentó la actividad antioxidante del extracto lipofílico hasta 50%. Esto parece indicar que pudieron extraerse también otros fitonutrientes lipofílicos presentes en el fresón como la vitamina E, no analizados en este estudio, que pueden estar siendo contabilizados al evaluar la capacidad antioxidante de este extracto.
- En general, los extractos hidrofílicos, es decir, el extracto fenólico (obtenido con una disolución de metanol y agua) y el extracto de vitamina C (obtenido con ácido oxálico) del fresón fueron los que mayor actividad antioxidante mostraron, en comparación con el extracto lipofílico.
- La vitamina C fue el compuesto que mejor se correlacionó con la actividad antioxidante del fresón.
- En general, la adición de goma arábiga favoreció la estabilidad de los fitoquímicos estudiados, demostrando su acción encapsulante y protectora de los mismos. Además, mejoró la actividad antioxidante de los extractos.
- La deshidratación de los extractos disminuyó los compuestos fitoquímicos estudiados entre 2-7%. La presencia de goma arábiga mantuvo mejor el contenido de estos compuestos, impidiendo su degradación. El extracto fenólico

el lipofílico secos no mostraron diferencias significativas respecto a los correspondientes extractos iniciales en disolución.

6. BIBLIOGRAFÍA

ABADIO, F.D.B.; DOMINGUES, A.M.; BORGES, S.V.; OLIVEIRA, V.M. (2004). Physical properties of powdered pineapple (*Ananas comosus*) juice—effect of malt dextrin concentration and atomization speed. *Journal of Food Engineering*, 64: 285-287.

AGUDELO, C.; IGUAL, M.; CAMACHO, M.M.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. (2014). Effect of process technology on the nutritional, functional and physycal quality of grapefruit powder. *Food Science and Technology International*, 1: 1-14.

AHMAD-QASEM MATEO, M. H. (2015). *Assessment of the influence of processing conditions on the antioxidant potential of extracts obtained from olive oil industry byproducts*. Tesis doctoral. Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad politécnica de Valencia.

ALLISON, S.D.; MOLINA, M.D.C.; ANCHORDOQUY, T. (2000). Stabilization of lipid/DNA complexes during the freezing step of the lyophilization process: the particle isolation hypothesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, 1468: 127-138.

AOAC, 1996. Official methods of analysis. Arligton, Supplement March.

AQUIL, F.; GUPTA, A.; MUNAGALA, R.; JEYEBALAN, J.; KAUSAR, H.; SHARMA, R.C. (2012). Antioxidant and antiproliferative activities of anthocyanin/ellagitannin-enriched extracts from *Syzygium cumini* L.(Jamun, the Indian Blackberry). *Nutrition and cancer*, 64(3): 428-438.

ARNAO, M.B.; CANO, A; ACOSTA, M. (2001). The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*, 73: 239-244.

BARBA, A.O.; HURTADO, M.C.; MATA, M.S.; RUIZ, V.F.; DE TEJADA, M.L.S. (2005). Application of a UV–vis detection-HPLC method for a rapid determination of lycopene and β -carotene in vegetables. *Food Chemistry*, 95: 328-336.

BARROS, L.; CARVALHO, A.M; SÁ MORAIS, J; FERREIRA, I. (2010). Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: detailed characterization in nutrients 2 and phytochemicals with antioxidant properties. *Food chemistry* , 120(1): 247-254.

BAZZANO, L.A.; JIANG, H.; LORRAINE, G.O.; CATHERINE, M.L.; SUMA, V.; LEANN, M.; PAUL, K.W. (2002). Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease in US adults: the first National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study. *The American Journal of CLINICAL NUTRITION*, 76: 93-99.

BELTRÁN, A.; RAMOS, M.; ALVAREZ, M. (2010). Estudio de la Vida Útil de Fresas (*Fragaria vesca*) Mediante Tratamiento con Radiación Ultravioleta de Onda Corta (UV-C). *Revista Tecnológica ESPOL*, 23(2): 17-24.

BENITES VÍLCHEZ, J.; DÍAZ GARCÍA, R.; LÓPEZ VIVAR, J.; GAJARDO SOLARI, S.; KUSCH FUSCHLOCHER, F.; ROJAS ARREDONDO, M. (2011). Actividad antioxidante y antibacteriana de seis cáscaras de frutos del oasis de Pica. *Biofarbo*, 19(1): 1-7.

- BENZIE, I. F., AND STRAIN, J. J. (1999). [2] 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.
- BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239:70-76.
- BERMEJO, M.V. (1999). Seminario Liofilización Baxter. *Universidad de Valencia*. 27 pp.
- BHASKARAN. (2002). Nutraceuticals. *Health Administrator*, 18: 76-77.
- BNOUHAM, M.; MEKHFI, H.; LEGSSYER, A.; ZIYYAT, A (2002). Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *Diabetes and Metabolism*, 10: 33-50.
- BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., & BERSET, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1): 25-30.
- CARDONA, E.M. AND RÍOS, L.A. (2006). Extraction of the carotenoid lycopene from from chonto tomato (*Lycopersicum esculentum*). *Vitae*, 13(2): 44-53.
- CARVAJAL DE PABÓN, L.M.; YAHIA, E.H.; CARTAGENA, R.; PELÁEZ, C.; GAVIRIA, C.; ROJANO, B.A. (2012). Capacidad antioxidante de dos variedades de *Fragaria x ananassa* (Weston) Duchesne (fresa) sometidas a variaciones en la nutrición vegetal. *Revista cubana de plantas medicinales*, 17(1): 37-53.
- CASTAÑEDA, J.; MIÑANO, H.A.; JARA, R.S.; RODRÍGUEZ, G. (2010). Estudio comparativo de la pérdida de vitamina C en chalarina (*Casimiroa edulis*) por cuatro métodos de deshidratación. *Scientia Agropecuaria*, 1: 75-80.
- CORTÉS, M.; CHIRALT, A.; PUENTE, L. (2005). Alimentos funcionales: una historia con mucho presente y futuro. *Revista de la facultad de química farmacéutica*, 12: 5-14.
- CORTÉS DÍAZ, G.M.; PRIETO SUÁREZ, G.A.; ROZO NUÑEZ, W.E. (2015). Caracterización bromatológica y fisicoquímica de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) y su posible aplicación como alimento nutracéutico. *Revista Ciencia en Desarrollo*, 6:87-97.
- CRUZADO, M. AND CEDRÓN, J.C. (2012). Nutracéuticos, alimentos funcionales y su producción. *Revista de Química PUCP*, 26: 33-36.
- DIB TAXI, C. M. A.; DE MENEZES, H. C.; SANTOS, A. B.; GROSSO, C. R. F. (2003). Study of the microencapsulation of camu-camu (*Myrciaria dubia*) juice. *Journal of microencapsulation*, 20(4): 443-448.
- DU, G., LI, M., MA, F., & LIANG, D. (2009). Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and vitamin C in *Actinidia* fruits. *Food Chemistry*, 113(2): 557-562.
- FANG, Z. AND BHANDARI, B. (2011). Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols. *Food Chemistry*, 129(3): 1139-1147.

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.

GABAS, A.L.; TELIS-ROMERO, J.; GIRALDO-GÓMEZ, G.I.; TELIS, V.R.N. (2009). Propiedades termodinámicas de sorción de agua de la pulpa de lulo en polvo con encapsulantes. *Ciencia y tecnología de los alimentos Campinas*, 29(4): 911-918.

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): 1014-1024.

GIAMPIERI, F.; ALVAREZ-SUAREZ, J.M.; GONZÁLES-PARAMÁS, A.M.; SANTOS-BUELGA, C.; BOMPADRELL, S.; QUILES, J.L.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. (2012). Photoprotective Potential of Strawberry (*Fragaria × ananassa*) Extract against UV-A Irradiation Damage on Human Fibroblasts. *Food Chemistry*, 60(9): 2322-2327.

GIAMPIERI, F.; TULIPANI, S.; ALVAREZ-SUAREZ, J.M.; QUILES, J.L.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. (2012). The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition*, 28: 9-19.

GIRALDO ROJAS, F.J.; GIL GARZÓN, M.A.; ALZATE TAMAYO, L.M.; RESTREPO DUQUE, A.M.; MILLAN CARDONA, L.; ORDOÑEZ CASTILLO, F.; RESTREPO, C.E. (2009). Comparación de métodos de extracción de oleoresina de paprika (*Capsicum annum* L.) convencionales con una tecnología amigable al medio ambiente. *Producción más limpia*, 4: 17-20.

GRAJALES-AGUDELO, L.M.; CARDONA-PERDOMO, W.A.; ORREGO-ALZATE, C.E. (2005). Liofilización de carambola (*Averrhoa carambola* L.) osmodeshidratada. *Ingeniería y Competitividad*, 7(2): 19-26.

GROSS, J. (1982). Changes of Chlorophylls and Carotenoids in Developing Strawberry Fruits (*Fragaria ananassa*) cv. Tenira. *Die Gartenbauwissenschaft*, 47(3): 142-144.

GUEVARA-PÉREZ, A.; ROJAS-AYERVE, T.; ARAUJO-VARGAS, J.M. (1998). Obtención de fresa (*Fragaria chiloensis*) deshidratada por atomizacion y liofilización. *Revista Peruana de ingeniería química*, 1(2): 217-230.

GUNDUZ, K. AND ÖZDEMIR, E. (2014). The effects of genotype and growing conditions on antioxidant capacity, phenolic compounds, organic acid and individual sugars of strawberry. *Food chemistry*, 155: 298-303.

- 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: 291-299.
- KLIMCZAK, I.; MAŁECKA, M.; SZLACHTA, M.; GLISZCZYŃSKA-ŚWIGŁO, A. (2007). Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(3): 313-322.
- KLOPOTEK, Y.; OTTO, K.; BÖHM, V. (2005). Processing Strawberries to Different Products Alters Contents of Vitamin C, Total Phenolics, Total Anthocyanins, and Antioxidant Capacity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53: 5640-5646.
- KRISHNAN, S., KSHIRSAGAR, A. C., & SINGHAL, R. S. (2005). The use of gum arabic and modified starch in the microencapsulation of a food flavoring agent. *Carbohydrate polymers*, 62(4): 309-315.
- KUCK, L. S., & NOREÑA, C. P. Z. (2016). Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. *Food chemistry*, 194: 569-576.
- LEE, S.K. AND KADER, A.A. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 20: 207–220.
- LI, B. B., SMITH, B., & HOSSAIN, MD. M. (2006). Extraction of phenolics from citrus peels. I. Solvent extraction method. *Separation and Purification Technology*, 48: 182–188.
- MATTISSEK, R.; SCHENEPEL, F. Y STEINER, G. (1998). Análisis de alimentos: fundamentos practicos, métodos y aplicaciones. Ed.Acribia S.A. Zaragoza, España.
- MELÉNDEZ MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO ROMERO, I.; MIRA, H. (2004). Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 54 (2): 209- 215.
- MOLYNEUX, P. (2003). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26(2) : 211-21.
- MOO-HUCHIN, V.M.; ESTRADA-MOTA, I.; ESTRADA-LEÓN, R.; CUEVAS-GLORY, L.; ORTIZ-VÁZQUEZ, E.; VARGAS, M.D.L.V.; SAURI-DUCH, E. (2014). Determination of some physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food chemistry*, 152: 508-515.
- MOREIRA, T.; GUTIÉRREZ, A.; DELGADO, H. (1993). Aspectos físicos relacionados con los aditivos en el proceso de liofilización. Papel relevante de los carbohidratos. *Sociedad iberolatina de biotecnología aplicada a la salud*, 11(2): 113-119.
- MOSQUERA, L.H. (2010). *Influencia de la humedad y de la adición de solutos (maltodextrina o goma arábica) en las propiedades fisicoquímicas de borjón y fresa en polvo (doctoral dissertation)*. Tesis doctoral. Universidad politécnica de Valencia (España).

MURALI, S.; ABHIJIT KAR, A.; MOHAPATRA, D.; KALIA, P. (2014). Encapsulation of black carrot juice using spray and freeze drying. *Food Science and Technology International*, 21(8): 604–612.

OLIVES BARBA, A.I.; CÁMARA HURTADO, M.; SÁNCHEZ MATA, M.C.; FERNÁNDEZ RUIZ, V.; LÓPEZ SÁENZ DE TEJADA, M. (2006). Application of a UV–vis detection-HPLC method for a rapid determination of lycopene and b-carotene in vegetables. *Food Chemistry*, 95: 328-336.

OMS. (2015). Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud. Visto el 21 de Diciembre de 2015 <http://www.who.int/dietphysicalactivity/fruit/es/>

ORDÓÑEZ-SANTOS, L.E. AND YOSHIOKA-TAMAYO, L.S. (2012). Cinética de degradación térmica de vitamina C en pulpa de mango (mangifera indica). *Vitae*, 19(1): 81-83.

OZGEN, M., SERCE, S., GUNDUZ, K., YEN, F., KAFKAS, E., & PAYDAS, S. (2007). Determining Total Phenolics and Antioxidant Activity of Selected Fragaria Genotypes. *Asian Journal of Chemistry*, 3219: 5573-5581.

PASQUEL, A. (2001). Gomas: Una aproximación a la industria de alimentos. *Revista Amazónica de Investigación Alimentaria*, 1(1):1-8.

PEARSON, D. (1998). Técnicas de laboratorio para análisis de alimentos. Ed.Acribia S.A. Zaragoza, España.

PELLEGRINI, N.; COLOMBI, B.; SALVATORE, S.; BRENNI, O.V.; GALAVERNA, G.; DEL RIO, D.; BIANCHI, M.; BENNETT, R. N.; BRIGHENTI, F. (2007). Evaluation of antioxidant capacity of some fruit and vegetable foods: efficiency of extraction of a sequence of solvents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87:103–111.

PÉREZ- JIMÉNEZ, J. AND 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.; TABERNERO, 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.

PINELI, L.L.O.; MORETTI, C.L.; DOS SANTOS, M.S.; CAMPOS, A.B.; BRASILEIRO, A.V.; CÓRDOVA, A.C.; CHIARELLO, M.D. (2011). Antioxidants and other chemical and physical characteristics of two strawberry cultivars at different ripeness stages. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24: 11-16.

POVILAITIS, D.; SULNIUTE, V.; VENSKUTONIS, P.R.; KRAUJALIENE, V. (2015). Antioxidant properties of wheat and rye bran extracts obtained by pressurized liquid extraction with different solvents. *Journal of Cereal Science*, 62: 117-123.

- 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., EUROLA, M. & OKSMAN-CALDENTY, 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(14): 1389-1402.
- QUIPO-MUÑOZ, F.E.; RAMÍREZ-MUÑOZ, A.M.; ROJAS-PÉREZ, J.A.; ORDOÑEZ-SANTOS, L.E. (2013). Cambios en la Vitamina C y el Color durante la Cocción del Pimentón Verde (*Capsicum Annuum* L). *Tecnológicas*, 31: 141-150.
- RAMÍREZ-NAVAS, J.S. (2006). *Liofilización de alimentos*. Universidad del Valle.44 pp.
- 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(9): 1231-1237.
- RESTREPO, A.M.; CORTES, M.; ROJANO, B. (2009). Shelf life of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) fortified with vitamin E. *Revista Universidad nacional de Colombia*, 76: 163-175.
- RESTREPO, A.M.; CORTES, M.; ROJANO, B. (2010). Enhancement of the antioxidant capacity of strawberries (*Fragaria ananassa* Duch.) by incorporation of vitamin E using the vacuum impregnation technique.. *Vitae, revista de la facultad de química farmacéutica*, 17(2): 135-140.
- RIGHETTO, A. AND NETTO, FM. (2005). Effect of encapsulation materials on water sorption, glass transition, and stability of juice from immature acerole. *International Journal of Food Properties* 8: 337–346.
- RIOS DE SOUZA, V.; PEREIRA, P.; THAIS LOMÔNACO TEODORO DA SILVA, T.; DE OLIVEIRA LIMA, L.; PIO, R. & QUEIROZ, F. (2014). Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chemistry*, 156: 362-368.
- RISCH, S.J. AND REINECCIUS G.A. (1988). *Spray-dried orange oil*. Effect of emulsion size on flavour retention and shelf stability. En: Risch SJ and Reineccius GA (eds) Flavor encapsulation. ACS symposium series 370. Washington, DC: American Chemical Society, pp. 67–77.

ROSS, Y. (1995). Characterization of Food Polymers Using State Diagrams. *Journal of Food Engineering*, 24(3):339-360.

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(5): 430-439.

SELVENDRAN, R.R.; RYDEN, P. (1990). *Methods in plant biochemistry*, vol 2. Academic Press, Ed., London, United Kingdom.

SILVEIRA RODRÍGUEZ, M.B.; MONEREO MEGÍAS, S.; MOLINA BAENA, B. (2003). Alimentos funcionales y nutrición óptima ¿Cerca o lejos?. *Revista española salud pública*, 77: 317-331.

SPAGGIARI, M. (2014). *Ottimizzazione del processo 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).

SPIGNO, G.; TRAMELLI, L.; DE FAVERI, D.M. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering* 81: 200–208.

STONER, G.D.; WANG, L.S.; CASTO, B.C. (2008). Laboratory and clinical studies of cancer chemoprevention by antioxidants in berries. *Carcinogenesis*, 29(9): 1665-1674.

SUNDRAM, K. AND GAPOR, A. (1994). La vitamina E del aceite de palma: su extracción y propiedades nutricionales. *Revista Palmas*, 15(1): 77-82.

TAVARINI, S.; DEGL'INNOCENTI, E.; REMORINI, D.; MASSAI, R.; GUIDI, L. (2008). Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenols and carotenoids changes during harvest and after storage of Hayward kiwifruit. *Food Chemistry*, 107: 282-288.

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(6): 669-675.

TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; GIL, M.I.; CREMIN, P.; WATERHOUSE, A.L.; HESS-PIERCE, B.; KADER, A.A. (2001). HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10): 4748-4760.

TONON, R.; BRABET, C.; HUBINGER, M.D. (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier. *Food Research International*, 43: 907-914.

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.

WANG, Y., LU, Z., LV, F., & BIE, X. (2009). Study on microencapsulation of curcumin pigments by spray drying. *European Food Research and Technology*, 229(3): 391-396.

WU, R.; FREI, B.; KENNEDY, J. A.; ZHAO, Y. (2010). Effects of refrigerated storage and processing technologies on the bioactive compounds and antioxidant capacities of 'Marion' and 'Evergreen' blackberries. *LWT-Food Science and Technology*, 43(8): 1253-1264.

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.

