

INFLUENCIA DE LA SUPERFICIE DE LA MUESTRA Y DE LA APLICACIÓN DE ULTRASONIDOS DURANTE LA LIOFILIZACIÓN A PRESIÓN ATMOSFÉRICA DE MANZANA EN LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, EL CONTENIDO FENÓLICO Y LA RETENCIÓN DE VITAMINA C

Carlota Moreno Guerrero^{1,2}, Juan A. Cárcel ¹

RESUMEN

La liofilización a presión atmosférica (LPA), aunque es un proceso lento, permite obtener productos de alta calidad. La aplicación de ultrasonidos de potencia (US) es una alternativa para su intensificación. La superficie de las muestras es otra de las variables importantes para acelerar el proceso. Sin embargo, ambos factores pueden afectar a la calidad del producto. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación de US y de la superficie de las muestras en el potencial antioxidante de manzana.

Para ello, se estudió la aplicación de US (185 W) en láminas de manzana fresca. Se determinó el contenido de fenoles totales (FT), capacidad antioxidante (AC) y vitamina C (AA) inmediatamente después del tratamiento y en muestras almacenadas durante 3 días a 4 °C. Por otro lado, se secaron (LPA; -10 °C) muestras cilíndricas (diámetro: 9 mm y altura: 30 mm) y laminares (30 x 30 x 10 mm), sin y con US (21.7 kHz, 75 W). En las muestras deshidratadas se determinó el contenido de FT, CA y AA.

La aplicación de US en manzana fresca inicialmente redujo el contenido de FT aunque después de 3 días de almacenamiento éste fue superior. En cuanto a la LPA, el tiempo de secado para muestras cilíndricas fue un 45% menor que para las muestras laminares dado su mayor relación superficie/masa. La aplicación de US redujo hasta el 88% el tiempo de secado. En general, la LPA redujo el contenido de AA y CA. Su retención fue significativamente mayor en láminas que en cilindros debido a su menor relación superficie/masa. El secado con US incrementó la degradación de AA y redujo la CA, probablemente debido al daño celular producido por las ondas acústicas y la mejora en la transferencia de oxígeno.

PALABRAS CLAVE: ultrasónico, deshidratación, secado, calidad, antioxidantes

RESUM

La liofilització a pressió atmosfèrica (LPA), encara que és un procés lent, permet obtenir productes d'alta qualitat. L'aplicació d'ultrasons de potència (US) és una alternativa per a la seua intensificació. La superfície de les mostres és una altra de les variables importants para accelerar el procés. No obstant això, els dos factors

¹ Grupo de Análisis y Simulación de Procesos Agroalimentarios (ASPA), Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, E46022, Valencia. Tel.:+34 96 387 93 65

² Facultad de Ciencias de Ciencias de la Ingeniería. Universidad Tecnológica Equinoccial. Av. Mariana de Jesús s/n y Av. Mariscal Sucre. Quito, Ecuador.

poden afectar a la qualitat del producte. L'objectiu d'aquest treball va ser avaluar l'efecte de l'aplicació de US i de la superfície de les mostres en el potencial antioxidant de poma.

Per a això, es va estudiar l'aplicació d'US (185 W) en làmines de poma fresca. Es va determinar el contingut de fenols totals (FT), capacitat antioxidant (AC) i vitamina C (AA) immediatament després del tractament i en mostres emmagatzemades durant 3 dies a 4 °C. D'altra banda, es van assecat (LPA; -10 °C) mostres cilíndriques (diàmetre: 9 mm i altura: 30 mm) i laminars (30 x 30 x 10 mm), sense i amb US (21.7 kHz, 75 W). En les mostres deshidratades es va determinar el contingut de FT, CA i AA.

L'aplicació de *US en poma fresca inicialment va reduir el contingut de FT encara que després de 3 dies d'emmagatzematge, aquest va ser superior que el trobat a les mostres no tractades. Quant a la LPA, el temps d'assecat per a mostres cilíndriques va ser un 45% menor que per a les mostres laminars donat la seva major relació superfície/massa. L'aplicació d'US va reduir fins al 88% el temps d'assecat. En general, la LPA va reduir el contingut de AA i CA. La seva retenció va ser significativament major en làmines que en cilindres a causa de la seva menor relació superfície/massa. L'assecat amb US va incrementar la degradació de AA i va reduir la CA, probablement a causa del dany cel·lular produït per les ones acústiques i la millora en la transferència d'oxigen.

PARAULES CLAU: ultrasònic, deshidratació, assecat, qualitat, antioxidants

ABSTRACT

Atmosphere freeze drying (AFD) is a slow process that provides high quality dried products. Power ultrasound (US) can be used to intensify this process and the sample surface is another important factor to be into account to accelerate it. However, both factors can affect product quality. Therefore, the aim of this work was to address the influence of ultrasound application and the sample surface on the antioxidant potential of apple.

For that purpose, it was assessed the influence of US application (185 W) on fresh apple slabs. Total phenolic content (TPC), vitamin C (AA) and antioxidant capacity (AC) were measured immediately after US treatment and after storage for 3 days at 4 °C. Furthermore, slabs (30 x 30 x 10 mm) and cylinders (diameter: 9 mm and height: 30 mm) samples were dried (AFD; -10°C) without and with US (21.7 kHz, 75 W). In dried apple, TPC, AA and AC were also analyzed.

The US application reduced TPC in fresh apple just after treatment but after 3 days of storage, treated samples showed higher TPC than untreated ones. The drying time was 45% lower for cylindrical samples lower than for slabs ones probably due to their higher ratio surface/mass. The US application sped up the drying kinetics, achieving drying time reductions of up to 88%. In general, AFD produced a reduction on the retention of both the AA and AC. The retention was significantly higher for slabs than for cylinders. This fact can be also related to their lower ratio surface/mass. The US application significantly reduced the AA and AC retention probably due to some cellular damage produced by the acoustic waves and the oxygen transfer improvement.

KEYWORDS: ultrasonic, dehydration, drying, quality, antioxidants

INTRODUCCIÓN

La liofilización a presión atmosférica (LPA) es un proceso de secado convectivo durante el cual el producto se mantiene congelado y la eliminación del agua se produce por sublimación. Como indica su nombre, y a diferencia de la liofilización a vacío, el proceso tiene lugar a presión atmosférica. En estas condiciones, es imprescindible utilizar un aire de secado con una humedad relativa muy baja para conseguir un gradiente de presiones de vapor que posibilite la sublimación y el transporte del agua (Santacatalina et al., 2015b, García-Pérez et al., 2012, Claussen et al., 2007). La cinética de deshidratación por LPA depende, entre otras variables, de la temperatura de secado, el espesor del material (tamaño del producto), o el contenido inicial de humedad (Claussen et al., 2007).

La LPA permite obtener productos de una calidad sensorial, nutricional y funcional comparable a los que se consiguen por liofilización a vacío, y mayor que la de aquellos productos obtenidos por deshidratación por aire caliente (Santacatalina et al., 2014, García-Pérez et al., 2012). Sin embargo, el principal inconveniente de este proceso es la baja velocidad de secado. Esto incrementa mucho los costes del mismo y resulta necesario intensificar el proceso. Para ello, se puede plantear el uso de una tecnología alternativa que acelere la cinética de la operación y que mantenga, al mismo tiempo, la calidad del producto (García-Pérez et al., 2012).

En los últimos años, la aplicación de US ha sido propuesta como una opción para mejorar la transferencia de materia y energía en los procesos de secado convencional por aire caliente de frutas y vegetales (García-Pérez et al., 2012). Así, la aplicación US durante el secado produce una serie de efectos mecánicos, tanto en interfase sólido-gas como en el interior del material a ser deshidratado, que incrementan la cinética de deshidratación con un bajo efecto térmico (Awad et al., 2012, Cárcel et al., 2012). Cuando una onda ultrasónica atraviesa un material sólido, induce una serie de compresiones y expansiones que producen el denominado “efecto esponja”. Este estrés mecánico puede además inducir la formación de microcanales que facilitan la salida de agua del alimento al reducir la resistencia interna al transporte de materia. Por otro lado, los US generan microcorrientes en las interfases sólido-gas y cambios en la turbulencia del aire que contribuyen a disminuir el espesor de la capa límite de difusión y, por lo tanto, la resistencia externa a la transferencia de materia (Cárcel et al., 2012). La magnitud del efecto de la aplicación de US depende de variables del proceso como la temperatura y la velocidad del aire, la densidad de la carga másica, la energía acústica aplicada o las características del material a ser procesado (García-Pérez et al., 2012, Cárcel et al., 2012, Cárcel et al., 2011, Santacatalina et al., 2015b, Ozuna et al., 2014a, Gamboa-Santos et al., 2014)

En el caso más concreto de la LPA de frutas, vegetales y pescado, la aplicación de US incrementa la velocidad de transferencia de masa reduciendo significativamente el tiempo de proceso debido a la mejora de la difusión de vapor y la convección externa (Cárcel et al., 2012, Santacatalina et al., 2014, Ozuna et al., 2014b, García-Pérez et al., 2012, Santacatalina et

al., 2015b, Santacatalina et al., 2012, Bantle y Eikevik, 2011). En este sentido, la aplicación de US constituye una alternativa interesante para la intensificación de los procesos de LPA. Sin embargo, su efecto en la calidad nutricional y funcional de los productos obtenidos está todavía poco estudiado.

La manzana es una fruta muy consumida a nivel mundial, tanto en fresco como procesada en diferentes productos como zumos, mermeladas o incluso en forma deshidratada. Ésta última se usa en la preparación de diferentes alimentos como snacks, cereales para desayuno y otros alimentos funcionales. Se ha identificado como una fuente importante de fibra, polifenoles, ácido ascórbico, azúcar, ácidos orgánicos, y minerales (Reyes et al., 2011). Sus propiedades antioxidantes se aducen principalmente al elevado contenido de compuestos fenólicos (Vrhovsek et al., 2004, Heras-Ramírez et al., 2012). Sin embargo, éstos pueden verse afectados durante el proceso de LPA (Santacatalina et al., 2014, Reyes et al., 2011, Stawczyk et al., 2007). Así, Stawczyk et al. (2007) determinaron que el secado convectivo de cubos de manzana a bajas temperaturas (entre -4 y -16°C) redujo significativamente la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles con respecto a la muestra fresca. En el caso de láminas de manzana, (Reyes et al., 2011) observaron que la LPA produjo una importante reducción en el contenido de polifenoles totales (39%) y ácido ascórbico (70%), mientras que la capacidad antioxidante se vio afectada en menor forma (6%), en comparación con los productos obtenidos mediante liofilización al vacío. Por su parte, Santacatalina et al. (2014) concluyeron que la aplicación de US (20 kW/m^3) durante la LPA de cubos de manzana a -5 y -10°C , incrementó la velocidad de transferencia de masa, reduciendo hasta el 77% el tiempo de secado. Sin embargo, se evidenció una mayor degradación de los compuestos polifenólicos y una mayor reducción de la capacidad antioxidante en comparación con las muestras deshidratadas sin asistencia de ultrasonidos.

Por otro lado, durante el secado, la superficie que ofrecen las muestras para el intercambio (relacionada con su tamaño y su geometría), y que es uno de los factores que más influyen en el tiempo de proceso (Claussen et al., 2007), también podría afectar a aspectos de calidad de los productos obtenidos. Sin embargo, no se han encontrado referencias acerca de estudios de la influencia de este factor en el potencial antioxidante de los productos.

Por ello, el objetivo de este trabajo fue el estudio de ambos factores, la superficie de intercambio de las muestras y la aplicación de ultrasonidos, en algunos parámetros relacionados con la calidad de los productos obtenidos por liofilización a presión atmosférica como es la capacidad antioxidante, el contenido fenólico o la capacidad de retención de vitamina C.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se dividió en dos etapas principales. En la primera, se estudió la influencia de los US en el potencial antioxidante de

láminas de manzana fresca, inmediatamente después de su aplicación y después de un corto almacenamiento en refrigeración (4°C). En la segunda etapa, se analizó la influencia de la superficie de intercambio de la muestra (láminas y cilindros) y de la aplicación de ultrasonidos durante el secado en el potencial antioxidante de manzana deshidratada.

Materia prima

Para las experiencias se utilizaron manzanas (*Malus domestica* cv. Granny Smith) adquiridas en un mercado local de la ciudad de Valencia, España. Las frutas se seleccionaron con un tamaño y grado de madurez uniforme y se almacenaron a 4 ± 1 °C hasta su procesado.

Para la primera parte del estudio, se utilizaron láminas de manzana (30 x 30 x 10 mm) obtenidas de la parte central de la pulpa de las frutas. Las muestras fueron pretratadas, para evitar el pardeamiento enzimático, mediante su inmersión en una solución al 1% ácido cítrico (p/v) durante 10 minutos. La relación utilizada entre solución y muestra fue de 4:1 (p/p). Después, se secaron con papel absorbente e inmediatamente se trataron con US como se describe en el apartado siguiente.

En la segunda parte del estudio se trabajó con muestras de dos geometrías diferentes: láminas (LAM; 30 x 30 x 10 mm) y cilindros (CIL; 30 mm de largo y 9 mm de diámetro). En este caso, para evitar el pardeamiento enzimático durante las posteriores experiencias de secado, las muestras fueron pretratadas por inmersión en una solución de ácido ascórbico y ácido cítrico al 2 y 1% (p/v), respectivamente. Al cabo de 10 min, se extrajeron y se secaron con papel absorbente. Posteriormente, las muestras se colocaron en un portamuestra, se introdujeron en una bolsa de plástico totalmente impermeable y se colocaron a un congelador (-18°C ± 1°C) donde permanecieron, al menos, 24 h antes de su posterior deshidratación. La carga másica utilizada fue similar para ambos tipos de geometrías (25 - 30 g). El contenido de humedad de las muestras frescas, pretratadas y deshidratadas se determinó por diferencia de peso antes y después de permanecer en una estufa a 70°C y 200 mmHg hasta peso constante (AOAC., 1997).

Experiencias de caracterización de la influencia directa de la aplicación de ultrasonidos en manzana fresca

Con este tipo de ensayos se pretendió identificar la existencia de alguna influencia directa de la aplicación de US en el potencial antioxidante de muestras de manzana. Para ello, láminas de manzana pretratadas fueron expuestas directamente a ultrasonidos de potencia (US, 185 W) durante 5, 10 y 15 min. Los US se aplicaron mediante un transductor tipo plato escalonado. El sistema se compone de un módulo de generación, un amplificador y un adaptador de impedancias que proporcionan la energía eléctrica en condiciones adecuadas a un transductor piezoeléctrico (Figura 1). Éste genera una vibración que se transmite a través de un vástago a un plato focalizado circular (40 cm de diámetro) que vibra a una frecuencia de

resonancia de 25.8 kHz. El sistema es capaz de producir un campo de US de 170 dB al aplicar una potencia eléctrica máxima de 200 W.

La influencia del tratamiento se evaluó mediante la determinación del potencial antioxidante de la muestra recién pretratada, inmediatamente después del tratamiento con US y después de 3 días de almacenamiento refrigerado a 4°C. Los ensayos se realizaron al menos por triplicado.

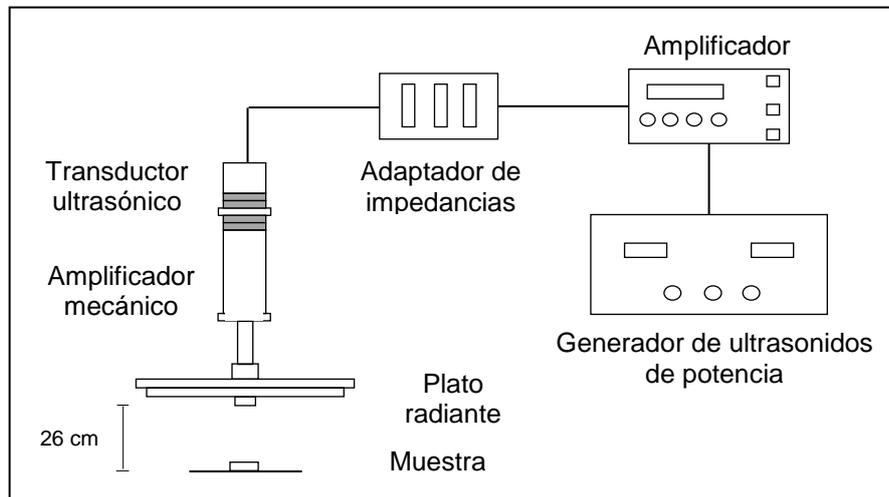


FIGURA 1. Esquema del sistema de aplicación de ultrasonidos con un transductor tipo plato escalonado.

Experiencias de liofilización a presión atmosférica

Por otra parte, se realizó otro grupo de experiencias para evaluar la influencia, tanto de la aplicación de US durante la LPA como de la superficie de intercambio de las muestras, en el potencial antioxidante de las mismas. Las experiencias de LPA se realizaron en un secadero convectivo con recirculación de aire y dotado de un sistema de aplicación de US descrito por García-Pérez et al. (2012). El sistema está provisto con control automático de temperatura y velocidad del aire, registro de peso de las muestras y una cámara de secado que consiste en un cilindro vibrante activado acústicamente por un transductor ultrasónico (21.9 kHz de frecuencia y 90 W de potencia). Los ultrasonidos se transmiten desde la pared de la cámara de secado (emisor) hacia el aire y finalmente alcanzan la muestra (Figura 2).

Los ensayos de secado se realizaron a -10 °C y una velocidad de aire de 1 m/s, con (AIR+US; 21.7 kHz, 30.8 kW/m³) y sin (AIR) aplicación de ultrasonidos. Durante las experiencias de secado, la humedad del aire se mantuvo siempre por debajo del 15±5%. La cinética de secado se determinó a partir del contenido de humedad inicial de las muestras pretratadas y de la evolución del peso de las muestras registrado a lo largo del secado. Las experiencias, que se realizaron por triplicado, se prolongaron hasta que se alcanzó el 73% de pérdida de masa con respecto a la masa inicial de la muestra.

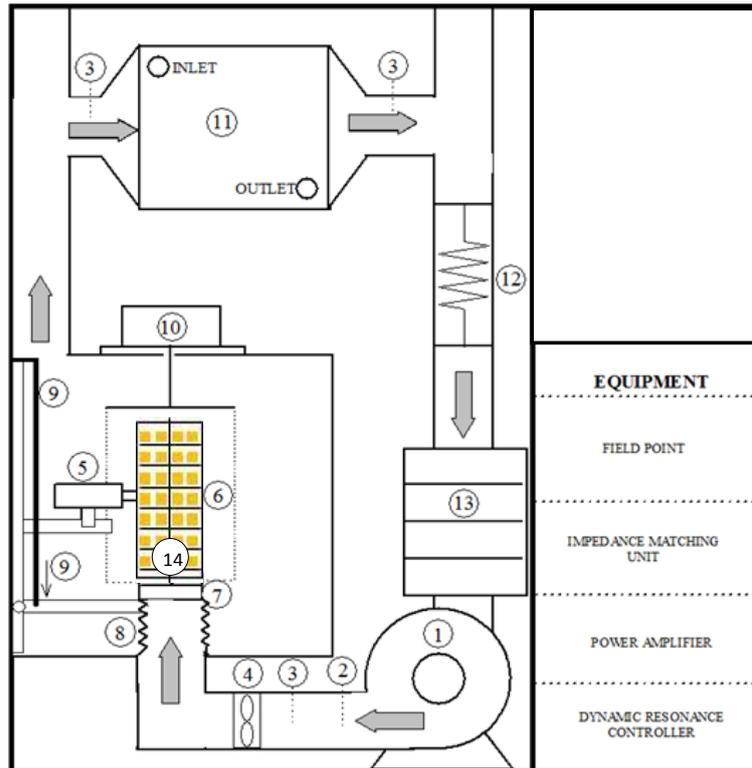


FIGURA 2. Esquema del secadero convectivo asistido por ultrasonidos. 1. Ventilador; 2. Sensor Pt-100; 3. Sensor de temperatura y humedad relativa; 4. Anemómetro; 5. Transductor ultrasónico; 6. Cilindro vibrante; 7. Dispositivo de carga de muestra; 8. Tubo retráctil; 9. Actuador piezoeléctrico; 10. Módulo de pesado; 11. Intercambiador de calor; 12. Resistencia eléctrica; 13. Cámara de bandejas de desecante; 14. Portamuestra.

Para evaluar la cinética del proceso, se utilizó un modelo experimental (Ecuación 1):

$$W = W_i \cdot e^{(m \cdot t + n)} \quad (1)$$

donde: W = humedad de la muestra (kg agua/kg materia seca, m.s.); W_i = humedad inicial; t = tiempo (h); m y n = parámetros del modelo.

El modelo es válido para tiempos de proceso suficientemente alejados del inicio. En ese caso, el parámetro m ofrece una estimación de la velocidad de secado y engloba el efecto de cualquier variable del proceso en la cinética del mismo.

Potencial antioxidante

El potencial antioxidante de las muestras frescas, pretratadas y deshidratadas se estudió mediante la determinación del contenido de compuestos fenólicos totales, de vitamina C y de la capacidad antioxidante.

Todas las determinaciones se realizaron por triplicado en extractos etanólicos de las muestras.

PREPARACIÓN DE EXTRACTOS

Para la preparación de los extractos, en el caso de manzana fresca o manzana pretratada, se partió de aproximadamente 1 g de muestra, mientras que para manzana deshidratada se utilizaron 0.5 g. Las muestras se colocaron en 10 mL de etanol (96% v/v) y se homogeneizaron durante 1 min con un ultraturrax (T25 Digital, IKA, Germany) a 13000 rpm. A continuación, se filtró y el extracto se almacenó protegido de la luz a 4°C hasta su análisis.

CONTENIDO DE FENOLES TOTALES

El contenido de fenoles totales (FT) se midió usando el método propuesto por Singleton et al. (1998) con ligeras modificaciones. Una alícuota de 0.1 mL de extracto se homogeneizó con 0.2 mL de reactivo Folin-Ciocalteu y 2 mL de agua destilada. Esta mezcla se dejó a temperatura ambiente durante 3 minutos. Inmediatamente se añadieron 0.2 mL de Na₂CO₃ al 20% (p/v), se homogeneizó y se mantuvo en reposo en la oscuridad durante una hora a temperatura ambiente. Finalmente, se midió la absorbancia de las muestras a 765 nm en un espectrofotómetro (Helios Gamma, Thermo Spectronic, Cambridge, UK). El contenido FT se determinó empleando una recta de calibración con ácido gálico. Los resultados se expresaron como miligramos de ácido gálico equivalente por gramo de materia seca (mg AGE/g m.s.).

CONTENIDO DE VITAMINA C

El contenido de vitamina C se estimó mediante la determinación del contenido de ácido ascórbico (AA) por el método propuesto por Jagota y Dani (1982) con ligeras modificaciones. Para ello se mezclaron 0.5 mL de extracto de la muestra con 0.5 mL de una solución al 7.5% de ácido tricloroacético. La disolución se homogeneizó, se dejó en reposo durante 5 minutos a 4°C y se filtró. En una celda espectrofotométrica de 4.5 mL, se colocaron 0.2 mL del extracto preparado, 2 mL de agua destilada y 0.2 mL de una solución diluida (1:10 v/v) del reactivo de Folin-Ciocalteu. Después de 10 minutos a temperatura ambiente, se midió la absorbancia a 760 nm. Se preparó una curva de calibración con soluciones etanólicas de concentración conocida de ácido ascórbico. Los resultados se expresaron como miligramos de ácido ascórbico por gramo de materia seca (mg AA/g m.s.).

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL

La capacidad antioxidante (CA) se midió mediante el método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) con ligeras modificaciones (Pulido et al., 2000). En una cubeta de 1.5 ml se mezclaron 30 µL de agua destilada, 30 µL

de extracto y 900 μL de reactivo FRAP. Dicho reactivo se preparó a partir de cantidades iguales de solución tampón de acetato sódico anhidro 0.3 M a pH 3.6, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20 mM y complejo férrico-2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) 10 mM en HCl 40 mM. A continuación las cubetas se incubaron en un baño termostático (Tecton 200, P-Selecta, España) a 37°C durante 30 min. Transcurrido este tiempo, se midió la absorbancia a 595 nm. Para cuantificar la CA se realizó una recta de calibrado a partir de soluciones de concentración conocida de Trolox en el mismo solvente en el que se prepararon los extractos. Los resultados se expresaron como mg Trolox/g m.s. de manzana.

RETENCIÓN DE FT, AA Y CA

Para determinar el efecto de la superficie de intercambio y de la aplicación de ultrasonidos en la calidad de las muestras deshidratadas, se calculó el porcentaje de retención (Ecuación 2) de FT, AA y CA.

$$\% \text{Retención} = \frac{C_o}{C_f} \cdot 100 \quad (2)$$

donde: C_o = contenido inicial (antes del secado) de FT, AA o CA;
 C_f = contenido final (después del secado) de FT, AA o CA.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA, $p < 0.05$) y la significación de las diferencias entre tratamientos se estableció con la prueba de diferencias mínimas significativas (LSD, Least Significant Difference) utilizando el programa Statgraphics Centurion XVI.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Influencia de la aplicación de ultrasonidos en el potencial antioxidante manzana fresca y almacenada

El contenido de FT, AA y CA de manzana fresca fue de 4.4 ± 0.6 mg AGE/g m.s., 2.6 ± 0.1 mg AA/g m.s. y 17.72 ± 1.99 mg Trolox/g m.s., respectivamente. El valor obtenido de FT se encuentra en el rango del publicado por otros autores como Vega-Gálvez et al. (2012) (1.6 ± 0.01 mg AGE/g m.s.) o Heras-Ramírez et al. (2012) (11.9 ± 1.0 mg AGE/g m.s.). La CA fue mayor que el valor obtenido por Santacatalina et al. (2014) (8.0 ± 0.1 mg Trolox/g m.s.) probablemente por el diferente solvente usado para la preparación de extractos en este estudio (metanol).

Por otro lado, los resultados experimentales mostraron que el pretratamiento que se aplicó a las muestras para evitar su pardeamiento enzimático, no influyó en el potencial antioxidante de las mismas. De hecho,

el contenido de FT, el de AA y la CA de las muestras de manzanas frescas y de las pretratadas no fue significativamente ($p < 0.05$) diferente.

La aplicación de US no produjo cambios significativos en el contenido de AA y en la CA de la manzana (Tabla 1). En cuanto al contenido de FT, las muestras sin aplicación de US presentaron un valor (4.4 ± 0.6 mg AGE/g m.s.) mayor que el de las muestras tratadas con US. Estas diferencias, aunque solamente resultaron significativas en el caso de los tratamientos de 5 y 15 min podrían indicar un efecto negativo sobre estos compuestos. En este sentido, Wiktor et al. (2015) aplicaron ultrasonidos (24 kHz) en discos de manzana (var. Ligol) a través de la vibración de una malla de acero inoxidable acoplada a un sonotrodo de anillo. Estos autores observaron que para tiempos de 5, 10 y 20 min de tratamiento con US, el contenido de compuestos fenólicos aumentó respectivamente el 77, 29 y 34% con respecto a la muestra fresca. Probablemente, esto se deba a que el tratamiento ultrasónico permitió una mejor extracción de los compuestos fenólicos. Sin embargo, cuando el tiempo de tratamiento fue de 30 min, obtuvieron una disminución del contenido de FT del 30%. Este hecho podría atribuirse a dos razones: a la degradación oxidativa provocada por el oxígeno localizado en los poros del tejido y a la intensificación de la actividad enzimática que reduce los compuestos fenólicos, sobre todo después de tiempos largos de tratamiento.

TABLA 1. Potencial antioxidante de láminas de manzana tratadas con US, antes y después del almacenamiento (t) refrigerado a 4°C.

t (días)	Tratamiento US (min)	Fenoles Totales (mg AGE/g m.s.)	Vitamina C (mg AA/g m.s.)	Capacidad Antioxidante (mg Trolox/g m.s.)
0	0	4.60 ± 0.19 ^a	2.51 ± 0.05 ^a	18.21 ± 0.69 ^a
	5	3.61 ± 0.34 ^b	2.28 ± 0.15 ^a	15.46 ± 1.74 ^a
	10	4.15 ± 0.49 ^{ab}	2.46 ± 0.07 ^a	17.43 ± 0.27 ^a
	15	3.75 ± 0.65 ^b	2.65 ± 0.17 ^a	13.90 ± 3.10 ^a
3	0	2.11 ± 0.21 ^d	2.44 ± 0.05 ^a	15.37 ± 3.20 ^a
	5	2.27 ± 0.22 ^d	2.38 ± 0.09 ^a	17.94 ± 2.28 ^a
	10	2.67 ± 0.29 ^{cd}	2.63 ± 0.30 ^a	15.40 ± 0.71 ^a
	15	3.04 ± 0.16 ^c	2.39 ± 0.44 ^a	13.04 ± 3.34 ^a

Media ± desviación estándar

Letras minúsculas diferentes en la misma columna muestran diferencias significativas de acuerdo al intervalo LSD ($p < 0.05$).

Por otra parte, el almacenamiento de las muestras afectó a su contenido de FT. Así, después de tres días de almacenamiento, se observó que las muestras no tratadas con US presentaron menor contenido de FT y, por lo tanto, una mayor reducción de los mismos respecto a las muestras frescas (51.4%). Por el contrario, la aplicación de US contribuyó a una cierta preservación de los mismos. Así, la reducción del contenido FT fue inferior

cuanto mayor fue el tiempo de tratamiento con US: 47.8, 38.6 y 30.2% para 5, 10 y 15 min de tratamiento, respectivamente. Esto podría deberse a la formación de nuevos compuestos fenólicos durante el almacenamiento en respuesta al estrés abiótico provocado por la aplicación del tratamiento de US. El estrés abiótico afecta la acumulación o pérdida de compuestos fitoquímicos mediante la inducción de un aumento o reducción en la actividad de las enzimas claves de las vías metabólicas secundarias que generan otros compuestos bioactivos (Pirovani et al., 2015). En este sentido Cisneros-Zevallos (2003) planteó que los tratamientos de estrés abiótico controlados pueden ser utilizados como herramientas para obtener productos de mejor calidad nutricional. Asimismo, Hodges y Toivonen (2008) concluyeron que la comprensión de los cambios inducidos por el estrés abiótico en el metabolismo son la clave para el desarrollo de estrategias eficaces para modular los efectos en la calidad de frutas o vegetales frescos cortados.

En cuanto al contenido de AA y la CA de las muestras después de 3 días de almacenamiento refrigerado, no resultó significativamente diferente del observado en manzana fresca, independientemente del tiempo de aplicación de US.

Influencia de la superficie de las muestras y la aplicación de ultrasonidos en la cinética de secado

La cinética experimental de secado resultó diferente para las dos geometrías de muestra ensayadas (Figura 3). Así, en las experiencias AIR el tiempo de secado necesario para alcanzar 1 kg agua/kg m.s. para las muestras CIL (35.0 ± 2.4 h) fue un 45% inferior que el obtenido para las muestras LAM (63.4 ± 5.1 h). Las diferencias entre las condiciones de secado ensayadas se cuantificaron a partir del ajuste del modelo experimental propuesto (Ecuación 1).

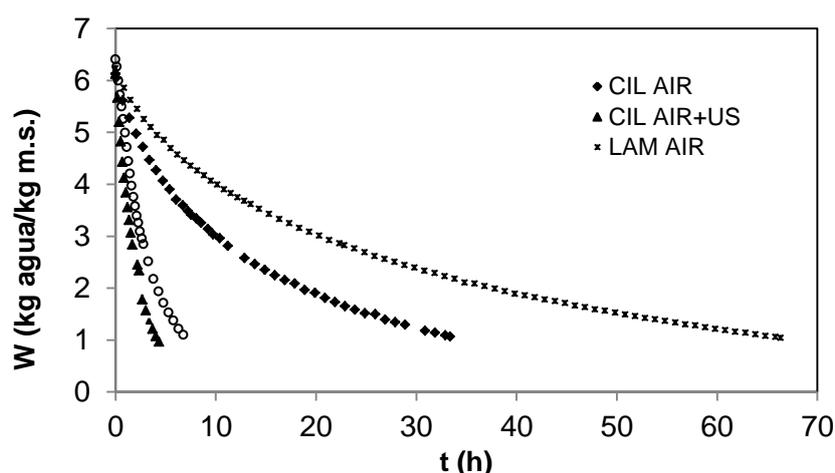


FIGURA 3. Cinética de secado experimental a -10°C de muestras cilíndricas (CIL) y laminares (LAM) de manzana con (AIR+US) o sin (AIR) la aplicación de US.

En general, el modelo describió adecuadamente la evolución de la humedad de las muestras a tiempos largos de secado como se puede observar en la Figura 4.

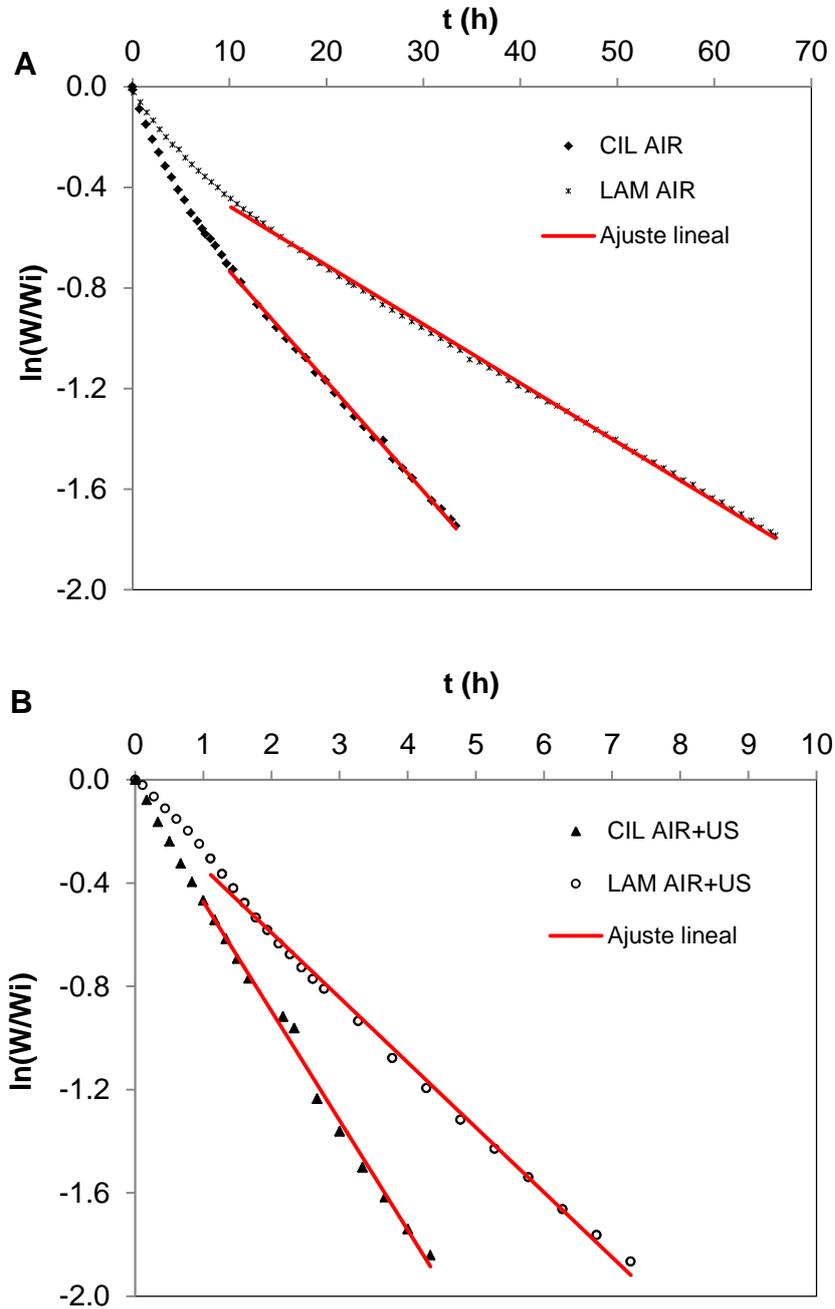


FIGURA 4. Evolución del logaritmo de la humedad adimensional de muestras CIL y LAM de manzana durante el secado sin (A) y con (B) la aplicación de ultrasonidos.

Como se comentó en el apartado de "Materiales y Métodos", el parámetro m es un indicador de la cinética del proceso que incluye la influencia de cualquier variable en la velocidad de secado. Así, en las

experiencias AIR, el valor de m identificado en el caso de las muestras CIL resultó un 62.5% superior que el de las muestras LAM (Tabla 2). Estas diferencias pueden atribuirse a la diferente relación superficie/masa de las muestras para cada geometría. Así, para una misma masa, las muestras CIL ofrecieron una mayor superficie de transferencia lo que facilitó el transporte de agua acelerando el proceso de secado. En este sentido, Claussen et al. (2007) determinaron que el tiempo del proceso de LPA disminuyó considerablemente al reducir el tamaño y espesor de los productos a deshidratar. Por su parte, Boeh-Ocansey (1985) concluyeron que el tiempo de secado de discos de zanahoria (-5 y -10 °C) disminuyó con la reducción del espesor de la muestras.

TABLA 2. Tiempo de secado (t) y parámetro m del modelo cinético experimental (Ecuación 1) identificado para la LPA de muestras CIL y LAM de manzana con (AIR+US) o sin (AIR) la aplicación de ultrasonidos.

		t (h)	Δt (%)	m	Δm (%)
CIL	AIR	35.0 ± 2.6		-0.0421 ± 0.0020	
	AIR+US	4.1 ± 0.4	88.4	-0.4236 ± 0.0581	906.2
LAM	AIR	63.4 ± 5.1		-0.0259 ± 0.0018	
	AIR+US	7.8 ± 0.6	87.7	-0.2060 ± 0.0283	694.5

Media ± desviación estándar

Δt reducción (%) del tiempo de secado debido a la aplicación de ultrasonidos

Δm incremento (%) del parámetro m debido a la aplicación de ultrasonidos

Por otro lado, la aplicación de US aceleró de manera muy importante el proceso de LPA. Así, el tiempo de secado para conseguir una humedad final de 1 kg de agua/kg m.s. se redujo en un 88.4 y un 87.7% para muestras CIL y LAM, respectivamente. Este incremento de la cinética también se tradujo en un aumento significativo del parámetro m identificado a partir del ajuste de la Ecuación 1. Así, tanto para las muestras CIL como para las LAM, la aplicación de US supuso un incremento de m de un orden de magnitud (Tabla 2). Durante la LPA, la eliminación del agua por sublimación hace que el volumen de la muestra apenas cambie durante el proceso. Esto supone que los productos así deshidratados presenten una estructura muy porosa. La elevada porosidad en un producto hace que disminuya la diferencia de impedancias con el aire mejorando el acople de ambos medios (Ozuna et al., 2014a). Esto beneficia la transmisión de energía acústica y, por tanto, los efectos de los US en la transferencia de materia, favoreciendo así la salida de agua del producto. Dichos efectos pueden relacionarse con la reducción de la resistencia a la transferencia de masa, tanto interna como externa, que se produce por el efecto mecánico de las ondas ultrasónicas (Cárcel et al., 2012). Así, la generación de expansiones y contracciones (el denominado “efecto esponja”) que provocan las ondas ultrasónicas cuando viajan en un medio sólido, contribuye no sólo a acelerar el transporte de agua sino también a la formación de microcanales internos que facilitan el movimiento

del vapor de agua en el interior del sólido (Santacatalina et al., 2014, Cárcel et al., 2012). Además, la atenuación de las ondas acústicas pueden proporcionar energía adicional para promover la sublimación del agua (Gallego-Juárez, 2010). Por otro lado, la generación de microcorrientes en la interfase aire-sólido facilita el transporte convectivo. En este sentido, Santacatalina et al. (2014) y García-Pérez et al. (2012) observaron que la aplicación de US durante LPA de cubos de manzana a 20.5 kW/m^3 , -10°C y 19.5 kW/m^3 , -14°C , incrementó considerablemente la velocidad de secado y redujo un 77% y 70% del tiempo de proceso, respectivamente. Santacatalina et al. (2015b) encontraron que la aplicación de US resultó muy efectiva para acelerar el proceso de LPA de cubos de manzana, aún niveles bajos de potencia acústica aplicada. Por su parte, Bantle y Eikevik (2011) obtuvieron un máximo de reducción del 10% del tiempo en el secado de guisantes a -3°C usando un radiador ultrasónico comercial (20 kHz) de baja eficiencia. Esto revela que el transporte de masa es muy sensible a la aplicación de US durante la LPA y, de esta forma, se puede reducir la cantidad de energía consumida en el proceso debido al menor tiempo de secado requerido.

Influencia de la superficie de las muestras y de la aplicación de ultrasonidos en el potencial antioxidante de la manzana deshidratada

La medida del contenido de compuestos fenólicos totales (FT), de ácido ascórbico (AA) y de la capacidad antioxidante (CA) de las muestras deshidratadas permitió obtener el porcentaje de retención de los mismos tras el secado y cuantificar así la influencia de las variables de proceso estudiadas, la superficie de las muestras y la aplicación de US.

CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES

El contenido de FT de manzana antes del secado fue de $8.8 \pm 1.5 \text{ mg AGE/g m.s.}$ Después de las experiencias de secado AIR, este valor disminuyó significativamente, lo que se tradujo en un menor porcentaje de retención de FT (Figura 5). El valor de este porcentaje de retención se vio influenciado por la geometría de las muestras, siendo menor para muestras LAM (61%) que para muestras CIL (83%). La degradación de los compuestos fenólicos puede relacionarse con el daño celular causado durante congelación que, entre otras cosas, ayuda a la liberación de enzimas oxidativas. En este sentido, Santacatalina et al. (2014) observaron una menor retención de compuestos fenólicos en cubos de manzana (10 mm de lado) deshidratados mediante LPA a -10°C (65%) que en secados realizados con muestras sin congelar a 0 y 5°C (72-74%). Asimismo, Stawczyk et al. (2007) determinaron que el contenido de FT disminuyó el 28.6% y el 23.9% después del secado convectivo de cubos de manzana (1 mm de lado, pretratados en una solución al 3% de ácido cítrico), a temperaturas entre -8 y -12°C , respectivamente. Mientras que Reyes et al. (2011) encontraron que el proceso de LPA provocó una importante reducción del contenido de FT (39%) en muestras de manzana (8 x 12 x 40 mm y 8 x 12 x 40 mm) con respecto a las muestras liofilizadas a vacío. Por lo

tanto, dado que el proceso de congelación podría contribuir a la liberación de enzimas oxidativas, el tiempo de secado, más prolongado en muestras LAM que en CIL, podría explicar una mayor degradación de compuestos fenólicos durante el proceso.

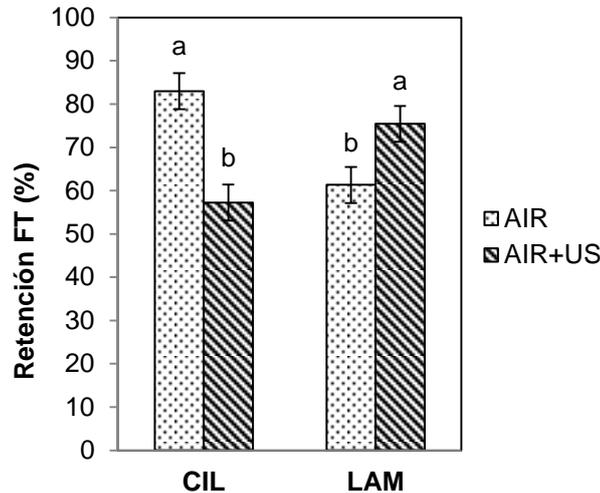


FIGURA 5. Retención de fenoles totales (FT) en CIL y LAM de manzana después del secado con (AIR+US) o sin (AIR) la aplicación de ultrasonidos. Letras diferentes muestran diferencias significativas de acuerdo al intervalo LSD ($p < 0.05$)

En cuanto a la aplicación de US durante LPA, en general provocó una reducción del contenido fenólico. Así, en el caso de las muestras CIL, las secadas mediante AIR+US presentaron una retención de FT significativamente menor (57%) que la de las muestras AIR (83%). Santacatalina et al. (2014) obtuvieron un resultado similar en muestras cúbicas de manzana, en las que el tratamiento con US produjo menor retención de los FT (55%) en comparación con las secadas sin aplicación de US (65%). Este comportamiento podría relacionarse con cierto daño estructural que el estrés acústico puede producir en las células. Por otro lado, las muestras LAM secadas mediante AIR+US, presentaron una mayor retención de FT (75%) en comparación que las muestras secadas mediante AIR (61%). Estos resultados coinciden con los publicado por Santacatalina et al. (2015a) para muestras de cubos de manzana deshidratadas a -1°C e impregnadas con una infusión de hojas de olivo. En este caso, las muestras secadas con aplicación de US presentaron mayor contenido de compuestos fenólicos que las muestras secadas únicamente con aire. Estos resultados podrían deberse a que el estrés provocado por el tratamiento ultrasónico durante el tiempo del proceso, que fue mayor que para la deshidratación de muestras CIL, podría inducir la formación de otros compuestos fenólicos mediante la reacción de los existentes o por la activación de vías metabólicas secundarias que generan otros compuestos bioactivos. Además, también se debería considerar alguna posible inactivación de enzimas oxidativas que podría producir el tratamiento con US (Islam et al., 2014).

CONTENIDO DE VITAMINA C

La LPA disminuyó el contenido de AA en las dos geometrías de muestra utilizada. Esta reducción se podría atribuir a reacciones de oxidación durante el secado. En el caso de las experiencias AIR, la retención de AA fue significativamente menor para las muestras CIL (79.9%) en comparación con las muestras LAM (89.9%) como se puede observar en la Figura 6. La diferente relación superficie/masa que presentan ambos tipos de muestra podría explicar estos resultados. Así, las muestras CIL presentan una mayor superficie para una misma cantidad de masa lo que facilita que tengan lugar dichas reacciones de oxidación y, por lo tanto, disminuya su porcentaje de retención. Duan et al. (2013) obtuvieron valores menores de retención de AA para manzana de la variedad Fuji. Así, la retención para muestras cúbicas (10 mm de lado) de manzana deshidratadas a -10°C fue 56.4%. Por otro lado, Reyes et al. (2011) trabajando con muestras paralelepípedicas (8 x 12 x 40 mm y 8 x 12 x 40 mm) deshidratadas a -5°C obtuvieron un porcentaje de retención del 30%.

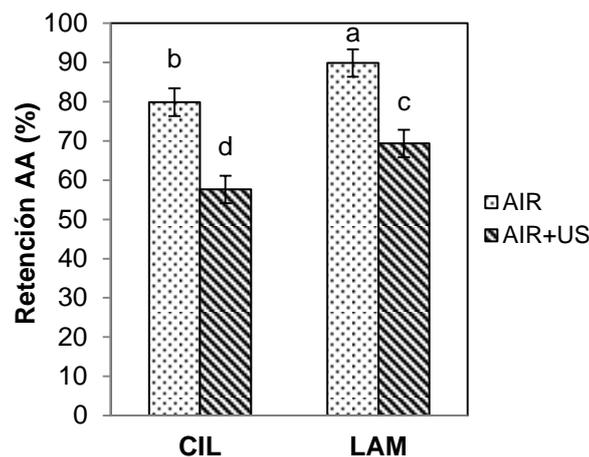


FIGURA 6. Retención de ácido ascórbico (AA) en muestras CIL y LAM de manzana después del secado con (AIR+US) o sin (AIR) la aplicación de ultrasonidos.

Letras diferentes muestran diferencias significativas de acuerdo al intervalo LSD ($p < 0.05$)

En cuanto a la aplicación de US, para una misma geometría, las experiencias AIR+US presentaron un menor porcentaje de retención de AA que las experiencias AIR. Esto probablemente se deba a una mayor transferencia de oxígeno a la superficie debida a los efectos de los US en los fenómenos de transporte. De la misma forma que en el secado sin US, las muestras LAM presentaron una mayor retención de AA que las muestras CIL.

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

En general, las condiciones de secado ensayadas disminuyeron la CA de las muestras CIL (Figura 7). En el caso de las experiencias AIR, la retención

de CA fue significativamente mayor para las muestras LAM (109.1%) que para las CIL (95%). El incremento de la CA en las muestras LAM pudo deberse a que, durante el proceso de secado, se pudieron generar nuevos compuestos con una elevada actividad antioxidante por reacción entre compuestos existentes (Vega-Gálvez et al., 2012). Además, como ya se indicó anteriormente, la reducción de CA en el caso de las muestras CIL puede estar relacionada con la mayor superficie de intercambio que ofrecieron en comparación con las muestras LAM. Otros autores también han observado una reducción de la CA durante la LPA de cubos de manzana. Así, Santacatalina et al. (2014) obtuvieron una reducción del 50% de la capacidad antioxidante para manzana deshidratada a -10°C, mientras que Stawczyk et al. (2007) encontraron una reducción del 7.8% para el caso de manzana pretratada con una solución 3% de ácido cítrico y deshidratada a -12°C.

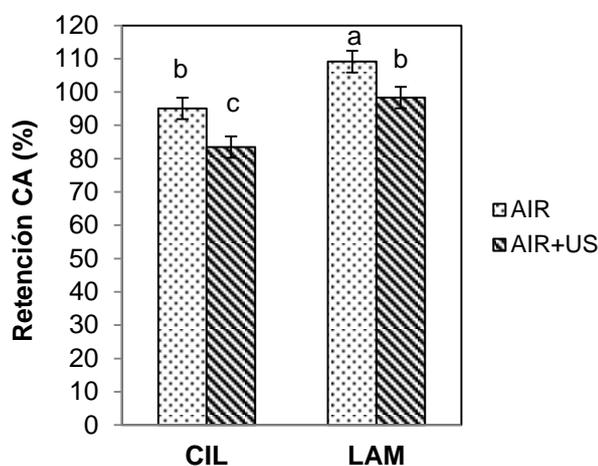


FIGURA 7. Retención de capacidad antioxidante (CA) en muestras CIL y LAM de manzana después del secado con (AIR+US) o sin (AIR) la aplicación de ultrasonidos.

Letras diferentes muestran diferencias significativas de acuerdo al intervalo LSD ($p < 0.05$)

En cuanto a la aplicación de US, para una misma geometría, las experiencias AIR+US presentaron un menor porcentaje de retención de CA que las experiencias AIR. Y al igual que en las experiencias AIR, las muestras LAM secadas en experiencias AIR+US presentaron una mayor retención de CA que las muestras CIL. Estos resultados, como ya se ha comentado antes, se podrían atribuir a ciertos daños que el estrés mecánico que inducen los US podría producir en la estructura celular. Otra posible explicación, se puede encontrar en una intensificación de la transferencia de oxígeno en la superficie debida a los efectos de los US en los fenómenos de transporte. Además, la congelación previa de las muestras también pudo influir en la disminución del potencial antioxidante debido a la degradación celular que conlleva (Ahmad-Qasem et al., 2013). En el estudio realizado por Santacatalina et al. (2014) se determinó que el secado con aplicación de US

disminuyó aproximadamente el 53% de la CA en comparación con la manzana fresca.

Por lo tanto, es necesario estudiar con mayor profundidad la influencia de la aplicación de US sobre los compuestos bioactivos así como en las rutas metabólicas que los producen y/o degradan.

CONCLUSIONES

La aplicación de US en manzana fresca redujo significativamente el contenido de FT. Dicha reducción fue mayor cuanto mayor fue el tiempo de aplicación. Sin embargo, al cabo de 3 días de almacenamiento refrigerado, las muestras tratadas con ultrasonidos presentaron una menor pérdida de FT. Esto podría deberse a la respuesta del tejido frente al estrés abiótico que ha sido sometido.

La superficie de transferencia de la muestra influyó significativamente en el tiempo de secado por LPA y en el potencial antioxidante de las muestras deshidratadas. Así, tanto el tiempo de secado como la retención de AA y CA fueron menores en muestras que presentaron una mayor relación superficie/masa.

La aplicación de US redujo en un 88% el tiempo de LPA para las geometrías consideradas pero también el potencial antioxidante. Esto último puede estar relacionado con la ruptura de células debido al estrés acústico o a la mejora de la transferencia de oxígeno.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la ayuda económica del Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO), los fondos FEDER (DPI2012-37466-CO3-03) y a la Generalitat Valenciana (PROMETEOII/2014/005).

Carlota Moreno agradece a la Universidad Tecnológica Equinoccial, Quito-Ecuador, por el apoyo económico 045-R-UTE-2014.

REFERENCIAS

- Ahmad-Qasem, M. H.; Barrajón-Catalán, E.; Micol, V.; Mulet, A.; García-Pérez, J. V. 2013. Influence of freezing and dehydration of olive leaves (var. Serrana) on extract composition and antioxidant potential. *Food Research International*, **50(1)**:189-196.
- AOAC. 1997. *Official methods of analysis*. Arlington, Virginia, USA. Association of Official Analytical Chemist.
- Awad, T. S.; Moharram, H. A.; Shaltout, O. E.; Asker, D.; Youssef, M. M. 2012. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Research International*, **48(2)**:410-427.
- Bantle, M.; Eikevik, T. M. 2011. Parametric study of high-intensity ultrasound in the atmospheric freeze drying of peas. *Drying Technology*, **29(10)**:1230-1239.
- Boeh-Ocansey, O. 1985. Some factors influencing the freeze drying of carrot discs in vacuo and at atmospheric pressure. *Journal of Food Engineering*, **4(3)**:229-243.

- Cárcel, J. A.; García-Pérez, J. V.; Benedito, J.; Mulet, A. 2012. Food process innovation through new technologies: Use of ultrasound. *Journal of Food Engineering*, **110(2)**:200-207.
- Cárcel, J. A.; García-Pérez, J. V.; Riera, E.; Mulet, A. 2011. Improvement of convective drying of carrot by applying power ultrasound-influence of mass load density. *Drying Technology*, **29(2)**:174-182.
- Cisneros-Zevallos, L. 2003. The use of controlled postharvest abiotic stresses as a tool for enhancing the nutraceutical content and adding-value of fresh fruits and vegetables. *Journal of Food Science*, **68(5)**:1560-1564.
- Claussen, I. C.; Ustad, T. S.; Strømmen, I.; Walde, P. M. 2007. Atmospheric freeze drying - A review. *Drying Technology*, **25(6)**:947-957.
- Duan, X.; Ding, L.; Ren, G. Y.; Liu, L. L.; Kong, Q. Z. 2013. The drying strategy of atmospheric freeze drying apple cubes based on glass transition. *Food and Bioprocess Processing*, **91(4)**:534-538.
- Gallego-Juárez, J. A. High-power ultrasonic processing: Recent developments and prospective advances. International Congress on Ultrasonics, ICU 2009, 2010 Santiago. 35-47.
- Gamboa-Santos, J.; Montilla, A.; Soria, A. C.; Cárcel, J. A.; García-Pérez, J. V.; Villamiel, M. 2014. Impact of power ultrasound on chemical and physicochemical quality indicators of strawberries dried by convection. *Food Chemistry*, **161**:40-46.
- García-Pérez, J. V.; Cárcel, J. A.; Riera, E.; Rosselló, C.; Mulet, A. 2012. Intensification of Low-Temperature Drying by Using Ultrasound. *Drying Technology*, **30(11-12)**:1199-1208.
- Heras-Ramírez, M. E.; Quintero-Ramos, A.; Camacho-Dávila, A. A.; Barnard, J.; Talamás-Abbud, R.; Torres-Muñoz, J. V.; Salas-Muñoz, E. 2012. Effect of Blanching and Drying Temperature on Polyphenolic Compound Stability and Antioxidant Capacity of Apple Pomace. *Food and Bioprocess Technology*, **5(6)**:2201-2210.
- Hodges, D. M.; Toivonen, P. M. A. 2008. Quality of fresh-cut fruits and vegetables as affected by exposure to abiotic stress. *Postharvest Biology and Technology*, **48(2)**:155-162.
- Islam, M. N.; Zhang, M.; Adhikari, B. 2014. The Inactivation of Enzymes by Ultrasound-A Review of Potential Mechanisms. *Food Reviews International*, **30(1)**:1-21.
- Jagota, S. K.; Dani, H. M. 1982. A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folin phenol reagent. *Analytical Biochemistry*, **127(1)**:178-182.
- Ozuna, C.; Álvarez-Arenas, T. G.; Riera, E.; Cárcel, J. A.; García-Pérez, J. V. 2014a. Influence of material structure on air-borne ultrasonic application in drying. *Ultrasonics Sonochemistry*, **21(3)**:1235-1243.
- Ozuna, C.; Cárcel, J. A.; Walde, P. M.; García-Pérez, J. V. 2014b. Low-temperature drying of salted cod (*Gadus morhua*) assisted by high power ultrasound: Kinetics and physical properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **23(0)**:146-155.
- Pirovani, M. E.; Piagentini, A. M.; Van de Velde, F. 2015. Bioactive compounds in fresh-cut fruits: Occurrence and impact of processing and cold storage. *Biotechnology of Bioactive Compounds: Sources and Applications*. Wiley Blackwell.
- 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 Agricultural and Food Chemistry*, **48(8)**:3396-3402.
- Reyes, A.; Mahn, A.; Huenulaf, P. 2011. Drying of apple slices in atmospheric and vacuum freeze dryer. *Drying Technology*, **29(9)**:1076-1089.
- Santacatalina, J. V.; Ahmad-Qasem, M. H.; Barrajon-Catalán, E.; Micol, V.; García-Pérez, J. V.; Cárcel, J. A. 2015a. Use of Novel Drying Technologies to Improve the Retention of Infused Olive Leaf Polyphenols. *Drying Technology*, **33(9)**:1051-1060.
- Santacatalina, J. V.; Cárcel, J. A.; Simal, S.; García-Pérez, J. V.; Mulet, A. Atmospheric freeze drying assisted by power ultrasound. International Symposium on Ultrasound in the Control of Industrial Processes, UCIP 2012, 2012 Madrid.
- Santacatalina, J. V.; Fissore, D.; Cárcel, J. A.; Mulet, A.; García-Pérez, J. V. 2015b. Model-based investigation into atmospheric freeze drying assisted by power ultrasound. *Journal of Food Engineering*, **151**:7-15.

- Santacatalina, J. V.; Rodríguez, O.; Simal, S.; Cárcel, J. A.; Mulet, A.; García-Pérez, J. V. 2014. Ultrasonically enhanced low-temperature drying of apple: Influence on drying kinetics and antioxidant potential. *Journal of Food Engineering*, **138**:35-44.
- Singleton, V. L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventós, R. M. 1998. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*.
- Stawczyk, J.; Li, S.; Witrowa-Rajchert, D.; Fabisiak, A. 2007. Kinetics of atmospheric freeze-drying of apple. *Transport in Porous Media*, **66(1-2)**:159-172.
- Vega-Gálvez, A.; Ah-Hen, K.; Chacana, M.; Vergara, J.; Martínez-Monzó, J.; García-Segovia, P.; Lemus-Mondaca, R.; Di Scala, K. 2012. Effect of temperature and air velocity on drying kinetics, antioxidant capacity, total phenolic content, colour, texture and microstructure of apple (var. Granny Smith) slices. *Food Chemistry*, **132(1)**:51-59.
- Vrhovsek, U.; Rigo, A.; Tonon, D.; Mattivi, F. 2004. Quantitation of polyphenols in different apple varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52(21)**:6532-6538.
- Wiktor, A.; Sledz, M.; Nowacka, M.; Rybak, K.; Witrowa-Rajchert, D. 2015. The influence of immersion and contact ultrasound treatment on selected properties of the apple tissue. *Applied Acoustics*.