Efecto Térmico del Secado por Aspersión sobre los Metabolitos Antioxidantes de la Curuba Larga (*Passiflora mollissima baley*).

Karol Zapata⁽¹⁾, Benjamín A. Rojano⁽²⁾ y Farid B. Cortes⁽³⁾

(1) Laboratorio de Ciencia de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Facultad de Ciencias. Medellín – Colombia, (email: kzapata@unal.edu.co)

(2) Director del Laboratorio de Ciencia de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Facultad de Ciencias. Medellín, Colombia. Autor para correspondencia: (email: brojano@unal.edu.co)

(3) Escuela de Procesos y Energía, Facultad de Minas, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Medellín – Colombia, (email: fbcortes@unal.edu.co)

Recibido May. 14, 2014; Aceptado Jul. 22, 2014; Versión final recibida Sep. 23, 2014

Resumen

En este estudio se evaluó la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles del fruto de Curuba larga antes y después del secado por aspersión. El elevado contenido de agua hace de los alimentos hortofrutícolas productos perecederos y de poca vida en anaquel. Métodos de secado garantizan la estabilidad microbiológica de la fruta, aunque inducen pérdidas nutraceuticas en el producto final debido a las altas temperaturas utilizadas. Los resultados revelaron que existe un alto porcentaje de conservación de la capacidad antioxidante total determinada mediante las técnicas espectrofotométricas DPPH y ABTS y el ensayo de fluorescencia ORAC, obteniéndose valores de 77.3, 84.2 y 82.1 % respectivamente. Los resultados de este estudio sugieren que el secado por aspersión es una técnica adecuada para la deshidratación de la curuba larga (*Passiflora mollissima baley*) puede ser de utilidad en otras matrices alimenticias.

Palabras clave: secado por aspersión, estabilidad, metabolitos antioxidantes, nutraceuticos

Thermal effect of spray dried on the antioxidants of Banana Passion Fruit (*Passiflora mollissima baley*).

Abstract

In this study the antioxidant capacity and content of polyphenolic compounds in the fruit of Banana Passion Fruit (*Passiflora mollissima Baley*) before and after spray drying was evaluated. The high water content makes horticultural foods highly perishable and limited shelf life. Drying methods ensure microbiological stability of the fruit, although they may induce nutraceutical losses in the final product due to high temperatures used. The results revealed preservation of the antioxidant capacity determined by the spectrophotometric ABTS and DPPH techniques and by fluorescence ORAC assay, obtaining 77.3, 84.2 and 82.1 % respectively. The results suggest that the spray-drying is a suitable technique for dehydration of Banana Passion Fruit (*Passiflora mollissima baley*) and may be useful for other food matrices.

Keywords: spray-dried, stability, antioxidants, antioxidants metabolites, nutraceutical

INTRODUCCIÓN

Las frutas desempeñan un papel muy importante en el equilibrio de la dieta humana, especialmente porque su composición difiere de las de otros alimentos. Se caracterizan por aportar cantidades significativas de agua (entre 80 – 90 g agua / 100 g de Fruta fresca), fibra (0,5 – 2 g de fibra total / 100 g de fruta fresca), una gran variedad de vitaminas y minerales, principalmente vitamina C, un bajo contenido en grasa y son fuente casi exclusiva de antioxidantes que se han relacionado con diversos efectos beneficiosos para la salud (Petti y Scully, 2009).

Sin embargo su alto contenido de agua las hace susceptibles a la descomposición química y microbiológica, por ello se procesan adecuándolas para el consumo a largo plazo. Se han obtenido polvos a partir de las pulpas de frutas mediante el secado por aspersión (Spray-dried), estos productos son estables, fáciles de manipular, se reconstituyen rápidamente formando productos con propiedades similares a las de los jugos originales, se usan como complementos alimenticios y tienen larga vida de almacenamiento a temperaturas normales (Gabas et al., 2009).

No obstante existe una desventaja, se sabe que los compuestos fenólicos son sensibles a las condiciones ambientales adversas, incluyendo temperatura, luz, pH, humedad, y oxígeno (Tonon et al., 2010; Fang y Bhandari, 2011), por tanto están propensos a degradarse durante el procesamiento y adecuación de las frutas. La conversión del zumo líquido de frutas en un material sólido mediante metodologías de secado como liofilización y secado por aspersión ha venido en auge durante los últimos años, sin embargo aunque aumentan la estabilidad del producto y mejora la manipulación, puede conducir a pérdidas desde el punto de vista nutracéutico.

A través de los procesos de secado a los cuales son sometidos los jugos de frutas se generan diversos cambios fisicoquímicos. La actividad antioxidante y el poder nutracéutico son entonces propiedades importantes en la descripción de dichos cambios. De la curuba (*Passiflora mollissima*) se conoce que es una fruta tropical cultivada en América, se le atribuyen propiedades usadas en medicina tradicional, posee comprobada acción analgésica, ansiolítica, sedante y tranquilizante, entre otras (Bernal et al., 2005). Sin embargo su mayor importancia biológica es que pertenece a la familia de las pasifloras, las cuales han exhibido alto contenido de compuestos fenólicos y excelente capacidad antioxidante (Vasco et al., 2008).

Muchas Investigaciones han determinado la pérdida de la actividad antioxidante y el contenido fenólico de frutas luego de haber sido secadas por aspersión (Fang y Bhandari, 2011; Tonon et al., 2010; Quek et al., 2007; Georgetti et al., 2008; Jiménez-Aguilar et al., 2011), las materias vegetales utilizadas han sido diversas, sin embargo ningún autor ha reportado los efectos de este método sobre las propiedades antioxidantes de la Curuba, lo cual es de suma importancia considerando que esta especie se ubica en los primeros lugares desde el punto de vista antioxidante. El objetivo de este trabajo fue entonces, aplicar el secado por aspersión como técnica de conservación y adecuación de la Curuba y determinar su efecto sobre las propiedades antioxidantes de la curuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal: Los frutos de Curuba (*Passiflora mollissima* (Kunth) L.H. Bailey) se obtuvieron del mercado local (Medellín - Colombia), y fueron seleccionados de forma aleatoria asegurando madurez de cosecha y ningún daño fisiológico aparente. Posteriormente se almacenaron a 4°C hasta su análisis.

Obtención de la pulpa de Curuba: Los frutos de curuba fueron lavados y desinfectados con hipoclorito de sodio 100 ppm, luego pelados y despulpados a través de una despulpadora (Comek con motor Siemens 5 h.p. y capacidad de 1 Ton / h). La pulpa fresca se almacenó en bolsas de polietileno con sello hermético y se congeló a -20 ° C hasta su uso.

Microencapsulación de la pulpa: Para la encapsulación se usó maltodextrina 10 ED / 5% humedad CAS: 9050-36-6, suministrada por Protokímica Medellín. La microencapsulación se realizó siguiendo el método de Sáenz et al., (2009) con algunas modificaciones. 300 g de Maltodextrina (95 °Bx) fueron adicionados a 700 g de pulpa de Curuba (12,9 °Bx) con agitación constante, obteniéndose una mezcla de 38 °Bx finales. La preparación se homogenizó con Ultra-Turrax (Brand: IKA-WERK©) a 10000 rpm durante 20 min y se almacenó a 4°C hasta ser alimentada al secador por aspersión.

Es importante recordar que los productos que van a ser secados por aspersión deben microencapsularse previamente para 1) prevenir la interacción de estos con otros factores que causen su deterioro, 2) evitar problemas de pegajosidad o apelmazamiento (azúcares sometidos a altas temperaturas) y (Roos, 1995) y 3) aumentar el volumen del producto final (función excipiente).

Secado por aspersión de la pulpa: La mezcla pulpa - maltodextrina fue alimentada a un secador por aspersión con las siguientes condiciones de operación: velocidad de aspersión 22000 rpm, temperatura de entrada del aire seco 170 °C y temperatura de salida del aire 90 °C; las condiciones se seleccionaron previamente, considerando como variable respuesta la calidad y la porosidad del polvo, esta información fue previamente publicada por los autores (Zapata et al., 2012). La muestra fue recogida en un recipiente de polietileno cerrado y almacenado a temperatura ambiente en la oscuridad.

Determinaciones antioxidantes

Preparación de las muestras: El extracto para determinar capacidad antioxidante y contenido fenólico se obtuvo siguiendo el método propuesto por Kuskoski et al., 2005 con algunas modificaciones: Aproximadamente 1 g de muestra (pulpa y polvo) fue mezclado con 5 ml agua 3D (tridestilada) y homogenizados con un Ultra-Turrax Brand: IKA-WERK® durante 1 min a 10000 rpm, el extracto fue centrifugado a 4000 rpm por 20 min a 25 °C. El sobrenadante fue retirado y denominado solución de trabajo y se almacenó a -20 °C hasta su estudio.

Evaluación por el método del DPPH: Se empleó el método de Brand-Williams. et al., 1995 con algunas modificaciones, 10 µL de las soluciones de trabajo fueron adicionados a 990 µL de una solución metanólica de DPPH, y se evaluó la capacidad de las muestras para atrapar el radical DPPH, por medio de la disminución en la absorbancia leída, luego de 30 min de reacción a una longitud de onda de 517 nm, y se comparó este valor con la curva de referencia construida con Trolox como patrón primario; los resultados fueron expresados como valores TEAC (umol Trolox / 100 g muestra).

Evaluación por el método del radical catiónico ABTS+: Se empleó el método de Re et al., 1999 con algunas modificaciones, 10 µL de las soluciones de trabajo fueron adicionados a 990 µL de una solución de ABTS+, y se evaluó la capacidad de las muestras para atrapar el radical catiónico ABTS+. Por medio de la disminución en la absorbancia leída, luego de 30 min de reacción, a una longitud de onda de 732 nm. El valor de absorbancia se comparó con la curva de referencia construida con Trolox como patrón primario, y los resultados fueron expresados como valores TEAC (umol Trolox / 100 g muestra)

Ensayo ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity): Este método evalúa la capacidad de una muestra para atrapar radicales peróxidos (ROO°), responsables de la decoloración de una sonda fluorescente. Se empleó el método descrito por Prior et al., 2005 con algunas modificaciones. 30 µL de las soluciones de trabajo fueron adicionados a 21 µL de fluoresceína 1x10⁻² M preparada en Buffer fosfato de sodio (PBS) 75 mM, 2,899 µL de PBS (75 mM), y 50 µL de AAPH 0,6 M en PBS (75 mM), se controló la temperatura a 37°C y el pH 7,4. Las lecturas se realizaron a una λ longitud de onda de excitación 493 nm y slit de excitación 10, λ longitud de onda de emisión 515 nm y slit de emisión 15, con atenuador del 1%. El efecto protector del antioxidante es calculado usando las diferencias de áreas bajo la curva de decaimiento de la fluoresceína entre el blanco (reacción en ausencia de la muestra) y la muestra (reacción en presencia de la muestra), y se comparó contra la curva del patrón primario Trolox. Los resultados se expresaron como umol equivalentes de Trolox / 100 gramos de muestra de acuerdo a la siguiente ecuación (1):

$$ORAC = \frac{(AUC - AUC^0)}{(AUC_{Trolox} - AUC^0)} f[Trolox] \quad (1)$$

Donde AUC es el área bajo la curva de la muestra, AUC° área bajo la curva para el control, AUCTrolox área bajo la curva para el Trolox, f es el factor de dilución de los extractos.

Evaluación del poder reductor por el método de FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power): Este método evalúa el poder reductor de una muestra en base a su capacidad para reducir el hierro férrico (Fe+3) acomplejado con 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) a su forma ferrosa (Fe+2), que presenta un máximo de absorbancia a una longitud de onda entre 590-595 nm, según lo describe Benzie et al., 1996. 50 µL de las soluciones de trabajo, fueron adicionados a 900 µL de una solución de FRAP (Buffer ácido acético-acetato de sodio (pH 3,4), TPTZ, FeCl₃, en relación 10:1:1), luego de 30 min de reacción se determinó la absorbancia a una longitud de onda de 593 nm, este valor se comparó con la curva de referencia construida con ácido ascórbico como patrón primario, y los resultados fueron expresados como AEAC (Ascorbic Acid Equivalent Antioxidant Capacity: mg de ácido ascórbico/100 g muestra).

Determinación de fenoles totales – FOLIN: La determinación de fenoles se realizó por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton y Rossi, 1965 con algunas modificaciones. 50 µL de las soluciones de trabajo fueron adicionados a 125 µL del reactivo de Folin, y 400 µL de carbonato de Sodio 7,1% (p/v), ajustando con agua destilada hasta 1000 µL, se realizó la lectura espectrofotométrica a 760 nm y se comparó con la curva patrón usando como estándar ácido gálico (fenol). Los resultados fueron expresados como mg de ácido gálico equivalentes / 100g de muestra.

Determinación de azúcares reductores

Método colorimétrico DNS: Este método se fundamenta en la reacción de los de azúcares reductores con el ácido 3,5-dinitrosalicílico (color amarillo) para formar el ácido-3-amino-5-nitrosalicílico (color rojo) bajo condiciones alcalinas como lo describe Najmus y Whitney, 2011. Para el ensayo 500 μ L de una solución al 1% de ácido 3,5-dinitrosalicílico en NaOH fueron adicionados a 500 μ L de la solución a evaluar. La mezcla se llevó a 90°C durante 5 min, se realizó la lectura espectrofotométrica a 540 nm y se comparó con la curva patrón usando como estándar maltosa. Los resultados fueron expresados como mg de maltosa equivalente / 100 g de muestra.

Determinación de glucosa y fructosa por HPLC: El contenido de glucosa y fructosa para las muestra, se determinó mediante análisis por HPLC, según el protocolo modificado de Eyéghé-Bickong et al., 2012. Las muestras preparadas previamente en agua, fueron filtradas (tamaño de poro 0,45 μ m) y diluidas en agua supra-pura, antes de la inyección al cromatógrafo. Se utilizó un cromatógrafo líquido (Shimadzu, LC-20AD), equipado con un auto inyector SIL-20A /HT, un módulo de comunicación CBM-20A y un detector de índice de refracción (RID-10A). La cuantificación de los azúcares se llevó a cabo en una columna BIORAD AMINEX ® HPX-87H cuyas dimensiones son 300 mm de longitud y 7,8 mm de diámetro. Como fase móvil se utilizó ácido sulfúrico 5 mM. La razón de flujo de la fase móvil fue 0,6 mL/min, 60°C y condiciones isocráticas. La identificación y cuantificación de los compuestos se hizo con curvas de calibración para cada uno de los azúcares reductores.

Análisis estadísticos: Todos los experimentos se realizaron por cuatuplicado. Las regresiones fueron calculadas con un nivel de significancia del 95% ($p < 0.05$), usando el programa Statgraphics Plus versión 5.0 (StatisticalGraphics Corp., Rockville, MD).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del secado por aspersión sobre la capacidad antioxidante de la Curuba.

En la Fig.1 se muestran los resultados para la capacidad antioxidante de la Curuba antes (pulpa) y después del secado (polvo). En la figura, los valores para DPPH, ABTS y ORAC son expresados como Micromoles de Trolox equivalente / 100 g masa seca y corresponden a la media del análisis para cada muestra por cuatuplicado ($n=4$). Luego del secado por aspersión la actividad antioxidante determinada con las técnicas DPPH, ABTS Y ORAC se redujo en un 22,7, 15,8 y 17,9 %, respectivamente.

Fig. 1 Capacidad Antioxidante DPPH, ABTS y ORAC antes y después del secado por aspersión.

Debido a que en el secado por aspersión interviene de forma directa el calor, la degradación térmica es el fenómeno deletéreo más importante, la pérdida de la actividad antioxidante puede deberse a la degradación térmica de los fenoles y otros metabolitos antioxidantes, que son compuestos termolábiles (Ungar et al., 2003). En la degradación térmica los compuestos químicos sufren cambios significativos en su estructura (pérdida de uno o más átomos de la estructura fundamental) debido a la acción de altas temperatura, resultando en una pérdida de las propiedades del compuesto.

En el secado por aspersión se alcanzan temperaturas de entrada del aire superiores a 80°C, esto conlleva al rompimiento de los grupos químicos funcionales por hidrólisis, tanto en la cadena principal como en los sustituyentes laterales de los compuestos antioxidantes. En un estudio hecho por Santos y colaboradores

(Santos et al., 2012), se evaluó la resistencia térmica de antioxidantes sintéticos y naturales mediante termogravimetría, la conclusión fue que los antioxidantes sintéticos exhibían una mayor resistencia térmica en el siguiente orden: TBHQ> BHA> BHT comenzando su descomposición a 110°C, mientras que los antioxidantes naturales comenzaron su degradación a 68°C, mostrando estabilidad en el siguiente orden α -tocoferol> Ácido Cafeico > Ácido Ferúlico> Ácido gálico.

La curuba posee un alto contenido de flavonoides y taninos que son sus principales metabolitos secundarios antioxidantes (Rojano *et al.*, 2012) y que se caracterizan por contener enlaces carbono-carbono, carbono-hidrógeno y carbono -oxígeno, los cuales necesitan 347, 415 y 352 Kcal/mol, respectivamente, como energía necesaria para la escisión; que son mucho menores a las reportadas para otros enlaces. Además, en los compuestos polifenólicos los principales cambios químicos pueden deberse al rompimiento del enlace carbono - oxígeno que provoca la pérdida de grupos Hidroxilos (OH) responsables de sus propiedades antioxidantes (Duthie et al., 2003). La mayoría de estudios reportan alteraciones de las propiedades fisicoquímicas y pérdidas en el contenido antioxidante de materias primas vegetales que se someten a procedimiento térmicos.

Investigaciones recientes determinaron que la pérdida de la actividad antioxidante, el contenido de fenoles y antocianinas totales era del 4, 6 y 6%, respectivamente en jugos de "Bayberry" secados por aspersión (Fang y Bhandari, 2011) cuando la temperatura de entrada del aire al secador era de 80°C. Otro estudio se concluyó que el contenido de antocianinas y la actividad antioxidante del jugo de acai disminuía en un 12,9 y 5,2% tras el secado por aspersión, cuando la temperatura de entrada del aire al secador era de 140°C (Tonon et al., 2010). Otras investigaciones revelaron que la pérdida de b-caroteno y licopeno en sandías secadas por aspersión era del 24,06 y 27,08% respectivamente cuando la temperatura de entrada era de 145°C (Quek et al., 2007). Otros estudios encontraron que el extracto metanólico de soya perdía el 65,5% de fenoles totales y el 45,45% de la actividad antioxidante, luego de ser secado por aspersión con una temperatura de entrada del aire al secador era de 150°C (Georgetti et al., 2008), así mismo se determinó que al secar por aspersión el extracto etanólico de arándanos, existía una pérdida de fenoles, antocianinas totales y actividad antioxidante de 26, 24 y 17%, respectivamente, cuando la temperatura de entrada del aire al secador era de 160°C (Jiménez-Aguilar et al., 2011). De manera general concluyen que existe una relación directa entre la temperatura del aire de entrada y el porcentaje de pérdida de las propiedades fisicoquímicas del material, ya que durante el secado por aspersión los productos están expuestos directamente al aire de entrada.

Efecto del secado por aspersión sobre la capacidad reductora y el contenido fenólico de la Curuba.

Los valores FRAP y el contenido de Fenoles totales (Fig. 2) incrementaron de 10670,7 a 11568,8 mg de ácido ascórbico / 100 g muestra y 5012,8 a 6945,3 mg de ácido gálico / 100 g muestra, respectivamente, es decir, el poder reductor determinado con la técnica FRAP y el contenido de fenoles totales aumentaron en un 8,4 Y 38,5 %, respectivamente. En la figura los valores para FENOLES son expresados como miligramos de ácido gálico / 100 g masa seca. Los valores para FRAP son expresados como miligramos de ácido ascórbico / 100 g masa seca. Los valores corresponden a la media del análisis para cada muestra por cuatriplicado (n=4).

Fig. 2 Capacidad reductora y contenido fenólico antes y después del secado por aspersión de la Curuba.

En el secado es de esperarse la aparición de azúcares simples ya que los componentes de la muestra están sometidos a temperaturas altas, esto genera la escisión homolítica de enlaces y la consecuente conversión

de los polisacáridos a sus respectivas unidades monoméricas. Adicionalmente la mayoría de flavonoides y compuestos fenólicos se encuentran en las frutas de forma glicosidada (García-Alonso, 2005), pero estos azúcares se liberan fácilmente como consecuencia del procesamiento y aumentan su concentración en el producto final.

Es bien sabido que tanto el ensayo FRAP como el método Follin-Ciocalteu para cuantificar fenoles totales, son capaces de detectar cualquier sustancia reductora, presentando interferencias con azúcares reductores libres, ácidos orgánicos como el cítrico, entre otros (Prior et al., 2005; Fernández-Pacho et al., 2006; Ghiselli et al., 2000).

Como conclusión estos métodos pueden estar respondiendo positivamente a azúcares reductores, que no están implicados en la actividad antioxidante, es decir no existe una correlación positiva entre la actividad antioxidante y la capacidad reductora para la curuba tras el secado. Para respaldar esta información, en la Tabla 1 se presenta el contenido de azúcares reductores totales antes y después del secado por aspersión, determinado mediante la técnica colorimétrica con DNS (3,5 Ácido dinitrosalicílico). Se observó que luego del secado por aspersión existe un incremento del 36,37 % en el contenido de azúcares reductores totales del producto. En la Tabla 1 los valores son expresados como la media $\pm$ SD del análisis para cada muestra por cuatuplicado ($n=4$). Las medias con letras diferentes dentro de cada fila indica que existen diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$).

Tabla 1: Contenido de azúcares reductores totales antes y después del secado por aspersión

	Cantidad de azúcares reductores libres (mg de maltosa Equivalente / 100 g masa seca)
Pulpa de Curuba	5066,8 $\pm$ 252,0 ^a
Polvo de Curuba	6859,0 $\pm$ 607,6 ^b

Para verificar la información anterior, se determinó el contenido de glucosa y fructosa de la Curuba mediante HPLC, antes y después del secado por aspersión, los resultados se muestran en la Tabla 2. El incremento de glucosa y fructosa en la muestra fue de 27,46 y 20,61 %, respectivamente.

Tabla 2: Contenido de glucosa y fructosa determinado mediante HPLC antes y después del secado por aspersión

	Cantidad de azúcares reductores libres (mg / 100 g masa seca)
Glucosa	Pulpa de Curuba 18645,45
	Polvo de Curuba 23765,49
Fructosa	Pulpa de Curuba 23532,01
	Polvo de Curuba 28852,19

CONCLUSIONES

El secado por aspersión fue una técnica adecuada para la deshidratación de la curuba pues aumentó la estabilidad química y microbiológica, mejoró la manipulación y conservó en gran medida los metabolitos nutraceuticos del fruto. Los resultados revelaron que el porcentaje de preservación de la capacidad antioxidante de la curuba luego del secado por aspersión fue superior al 70%, este valor fue verificado mediante la aplicación de diferentes metodologías de determinación de actividad antioxidante total antes y después del secado. Paralelamente se utilizaron técnicas espectrofotométricas (FRAP y FOLIN) para cuantificar el contenido fenólico antes y después del secado por aspersión y de esta manera correlacionar esos cambios con los experimentados por la actividad antioxidante, sin embargo esa conjetura no se pudo comprobar debido a que estos métodos responden positivamente a la presencia de azúcares reductores libres que aumentaron luego del secado y que nada tienen que ver con las bondades antioxidantes de las materias primas. Se recomienda que las conclusiones halladas en este trabajo no se extrapolen a materias vegetales diferentes, debido a que la susceptibilidad térmica es función del tipo de metabolitos que predominen en cada materia vegetal.

REFERENCIAS

- Benzie, I.F.F. y J.J. Strain, *The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay*, Analytical Biochemistry: 239, 70-76 (1996).
- Bernal, J. y otros seis autores, *Tecnología para el cultivo de la Curuba*, Manual Técnico 6-CORPOICA Centro de Investigación de La Selva. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (1995).
- Brand-Williams, W., M.E. Cuvelier y C. Berset, *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity*, Lebensmittel Wissenschaft und Technologie: 28(1), 25-30 (1995).
- Duthie, G., P.T. Gardner y J.A.M. Kyle, *Plant polyphenols: are they the new magic bullet?*, Proceedings of the Nutrition Society: 62 (3), 599-603 (2003).
- Eyégghé-Bickong, H. A., Y E.O. Alexandersson, L.M. Gouws, P.R. Young y M.A. Vivier, *Optimisation of an HPLC method for the simultaneous quantification of the major sugars and organic acids in grapevine berries*. Journal of Chromatography B: 885– 886(15), 43 – 49 (2012).
- Fang, Z. y B. Bhandari, *Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols*, Food Chemistry: 129(3), 1139–1147 (2011).
- Fernández-Pachón, M.S., D. Villaño, A.M. Troncoso y M.C. García-Parrilla, *Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante in vitro del vino y valoración de sus efectos in vivo*, Archivos Latinoamericanos de Nutrición: 5(2), 110-122 (2006).
- Gabas, A. L., J. Telis-Romero, G. Giraldo y V. Nicoletti, *Propiedades termodinámicas de sorción de agua de la pulpa de lulo en polvo con encapsulantes*, Ciência e Tecnologia de Alimentos: 29(4), 911-918 (2009).
- García-Alonso, F.J. *Evaluación in vitro e in vivo de la funcionalidad de un producto rico en antioxidantes*. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Murcia, España (2005).
- Georgetti, S. R., R. Casagrande, C.R. Fernandes-Souza, W.P. Oliveira y M.J. Fonseca-Vieira, *Spray drying of the soybean extract: Effects on chemical properties and antioxidant activity*, LWT- Food Science and Technology: 41, 1521–1527 (2008).
- Ghiselli, A., M. Serafini, F. Natella y C. Scaccini, *Total antioxidant capacity is a tool to asses redox status: critical view and experimental data*, Free Radical Biology & Medicine: 29(11), 1106-1114 (2000).
- Jiménez-Aguilar, D. M. y otros cinco autores, *Color and chemical stability of spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material*, Journal of Food Composition and Analysis: 24(6), 889–894 (2011).
- Kuskoski, M., A. Asuero y A. Troncoso, *Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos*, Ciência e Tecnologia de Alimentos: 25(4), 726–732 (2005).
- Najmus, A. A. y P.J. Whitney, *Differential behaviour of the dinitrosalicylic acid (DNS) reagent towards mono- and di-saccharide sugars*. Biomass and bioenergy, 35(11): 4748 – 4750 (2011).
- Petti, S. y C. Scully, *Polyphenols, oral health and disease: A review*. Journal of Dentistry: 37(6), 413–423 (2009).
- Prior, R. L., X. Wu y K. Schaich, *Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements*, Journal of Agricultural and Food Chemistry: 53(10), 4290-4302 (2005).
- Quek, S. Y., N.K. Chok y P. Swedlund, *The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders*, Chemical Engineering and Processing: 46 (5), 386–392 (2007).
- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang y C. Rice-Evans, *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay*: Free Radical Biology & Medicine, 26(9-10), 1231–1237 (1999).
- Rojano, B., K. Zapata y F. Cortes, *Capacidad atrapadora de radicales libres de Passiflora mollissima (Kunth) L. H. Bailey (curuba)*, Rev Cubana Plant Med, 17(4), 408-419 (2012).

Roos, Y.H., *Phase Transitions in Food*. Academic Press, San Diego, CA. (1995)

Saénz, C., Tapia, S., Chávez, J., Robert, P. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chemistry*: 114(2), 616–622 (2009).

Santos, N. A. y otros ocho autores, *Commercial antioxidants and thermal stability evaluations*: *Fuel*, 97: 638–643 (2012).

Singleton, V. L. y J.A. Rossi, *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents*, *American Journal of Enology and Viticulture*: 16(3), 144–158 (1965).

Tonon, R. V., C. Brabet y M.D. Hubinger, *Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents*, *Food Research International*: 43(3): 907–914 (2010).

Ungar, Y., O.F. Osundahunsi y E. Shimoni, *Thermal stability of genistein and daidzein and its effect on their antioxidant activity*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: 51(15), 4394–4399 (2003).

Vasco, C., J. Ruales y A. Kamal-Eldin, *Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador*, *Food Chemistry*: 111(4), 816–823 (2008).

Zapata, A., B. Rojano y F. Cortes, *Effect of Relative Humidity on the Antioxidant Activity of Spray-Dried Banana Passion Fruit (*Passiflora Mollissima* Baley)–Coated Pulp: Measurement of the Thermodynamic Properties of Sorption*, *Chemical Engineering Communications*, DOI: 10.1080/00986445.2013.840829 (2014).