

Universidad Tecnológica
Nacional.
Maestría en Ciencia y
Tecnología de los Alimentos.

**EVALUACIÓN DE LA
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE
DE HARINA DE FRUTILLA
(FRAGARIA ANANASSA)
PROVENIENTE DE LAS
VARIEDADES FESTIVAL Y
BENICIA**

Autor: Emiliano Bonaldi

Director: Mag. Fernando Stoppani

AGRADECIMIENTOS:

A mi madre Rosana Elisabet Martins y a mi padre Ricardo Luis Bonaldi, por darme la oportunidad de estudiar.

A Roque Masciarelli por inculcarme la pasión por la tecnología de los alimentos desde los primeros años en la facultad. También es el gran responsable de que haya decidido hacer la maestría.

A Fernando Piccoli, gracias a la producción de frutilla comenzó una gran amistad que nos une hoy en día. Sin su colaboración esta tesis no podría haberse realizado.

A Lucrecia Lopez Marenghini, mi compañera de maestría, por su desinteresada generosidad.

A Maria Cristian Ciappini, por brindarme todas las facilidades que estaban a su alcance para que realice las actividades de investigación en el CIDTA. También hago extensivo el agradecimiento a su equipo de trabajo.

A Fernando Stopanni, por apoyarme moral y técnicamente en el desarrollo de la tesis. Su influencia fue fundamental en todo momento.

ABREVIACIONES:

AF: alimentos funcionales

HA: hectárea

SSAyB: Subsecretaría de Alimentos y Bebidas

DNAyB: Dirección Nacional de Alimentos y Bebidas

EEUU: Estados Unidos

SGP: Sistema Generalizado de Preferencias

INDICE

1.	Introducción	Pag. 1
1.	Sección 1.1: Frutillas	Pag. 1
	1. Clasificación biológica	Pag. 1
	2. Morfología de la planta	Pag. 2
	3. Producción nacional de frutillas	Pag. 3
	4. Exportaciones argentinas de frutillas	Pag. 5
	5. Cadena de producción	Pag. 6
	6. Maduración del fruto	Pag. 7
	7. Consumo de frutilla a nivel nacional e internacional	Pag. 8
	8. Composición química de la frutilla fresca	Pag. 9
2.	Sección 1.2: Estrés oxidativo y actividad antioxidante de frutillas	Pag. 11
	1. Antioxidantes en la dieta	Pag. 11
3.	Sección 1.3: Compuestos fenólicos	Pag. 16
	1. Definición	Pag. 16
	2. Clasificación	Pag. 18
	3. Marco legal de los alimentos funcionales	Pag. 18
2.	Objetivos	Pag. 21
	1. Objetivo General	Pag. 21
	2. Objetivos específicos	Pag. 21
3.	Materiales y métodos	Pag. 22
	1. Materiales	Pag. 22
	2. Obtención del extracto a utilizar	Pag. 22
	3. Técnicas analíticas	Pag. 23
	1. Polifenoles totales (CPT)	Pag. 23
	2. Capacidad antioxidante (DPPH)	Pag. 26
	3. Humedad	Pag. 28
	4. Materia grasa	Pag. 28
	5. Proteínas	Pag. 28
	6. Cenizas	Pag. 30
	7. Hidratos de carbono	Pag. 30
	8. Fibra dietaria	Pag. 31
	4. Análisis estadístico	Pag. 33
4.	Resultados y discusión	Pag. 34
	1. Polifenoles totales (CPT)	Pag. 34
	2. Capacidad antioxidante (DPPH)	Pag. 36
	3. Humedad, materia grasa, proteínas, cenizas, fibra dietaria, HdC	Pag. 38
5.	Conclusiones	Pag. 39
6.	Bibliografía	Pag. 40

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Morfología de la planta de frutilla.....	2
Figura 2 - Morfología de la flor de frutilla (Fragaria x ananassa, Duch).....	3
Figura 3 - Mapa de producción nacional de frutillas por hectarea.....	4
Figura 4 - Esquema de cadena de producción de frutilla.....	7
Figura 5 - Clasificación en los diferentes estadios de madurez de frutilla.....	8
Figura 6 - Oxidación del ácido ascórbico.....	11
Figura 7 -Fitoquímicos de la familia de las sustancias fenólicas presentes en frutas y sus efectos beneficiosos para la salud.....	13
Figura 8 - Absorbancia del complejo compuestos fenólicos-reactivo de Folin Ciocalteau	23
Figura 9 - Curva de calibración para el ensayo Folin Ciocalteau.....	25
Figura 10 - Barrido para determinar la longitud de onda.....	26
Figura 11 – Curva de calibración para DPPH.....	27
Figura 12 - Mediana y dispersión de los valores de CPT de harina de frutilla para las variedades Benicia y Festival secadas a 60°C, 70°C y 80°C.....	35
Figura 13 – Mediana y dispersión de los valores de CPT de harina de frutilla secada a 80 °C....	35
Figura 14 - Mediana y dispersión de los valores de DPPH de harina de frutilla para las variedades Benicia y Festival secadas a: 60°C, 70°C y 80°C.....	37
Figura 15 - Correlación entre DPPH y CPT de harina de frutilla secada a 60°C, 70°C y 80°C.....	37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 – Clasificación de las frutillas.....	1
Tabla 2 - Exportaciones argentinas por año.....	6
Tabla 3 - Composición nutricional de las frutillas y recomendaciones nutricionales para hombres y mujeres.....	10
Tabla 4 - Equipo utilizado.....	22
Tabla 5 - Curva de calibración de Folin Ciocalteau.....	25
Tabla 6 – Resultados obtenidos al medir la absorbancia para el método Folin Ciocalteau.....	34
Tabla 7 – Resultados obtenidos al medir la absorbancia para el método DPPH.....	36
Tabla 8 – Valores medios de DPPH en harina de frutilla de variedad Benicia y Festival secada a 60°, 70° y 80°.....	36
Tabla 9 – Resultados de Humedad, Materia Grasa, Proteínas, Cenizas, Fibra dietaria e hidratos de carbono.....	38

1. INTRODUCCIÓN

SECCIÓN 1.1: FRUTILLAS

1.1.1. Clasificación biológica

Las frutillas pertenecen al género **Fragaria**, el cual se encuentra dentro de la familia Rosacea. Este nombre está relacionado con la fragancia que posee (*fraga*, en latín) y son cultivadas por su fruto comestible. El género *Fragaria* aparece en estado silvestre en América, Asia y Europa (Barrionuevo, M., 2011). En la Tabla 1 se observa la clasificación botánica.

El origen del género *Fragaria* no está bien definido. No obstante, este género agrupa unos 400 taxones descritos de los cuales 20 están reconocidos. En la actualidad, las variedades comerciales son híbridos de *F. chiloensis*, de origen chileno y *F. virginiana* del Este de Norteamérica (*fragaria x ananassa*). (Comunidad de expertos en nutrición, 2019)

Tabla 1 – Clasificación de las frutillas

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Rosales
Familia:	Rosaceae
Género:	fragaria

Fuente: Pombo M., 2009.

1.1.2. Morfología de la planta

La planta de frutilla es herbácea, perenne y tiene forma de roseta. El tallo, llamado corona, posee entrenudos muy cortos y nudos en donde se insertan las hojas y las yemas axilares. Las hojas son pinnadas, formadas por tres folíolos (trifoliada) y un largo pecíolo de 10 a 20 cm de longitud que termina en el nudo del tallo. En la axila de

las hojas se forman yemas que, dependiendo de las horas de luz y de la temperatura, darán origen a estolones o inflorescencias. Los estolones son tallos modificados rastreros que sirven para la propagación vegetativa de la planta. Los mismos están formados por dos entrenudos y una yema terminal que al desarrollarse forma una nueva planta. El sistema radicular se compone de raíces primarias y secundarias de aspecto fibroso que surgen de la corona próxima a la superficie del suelo (Figura 1) (Pombo, M., 2009).

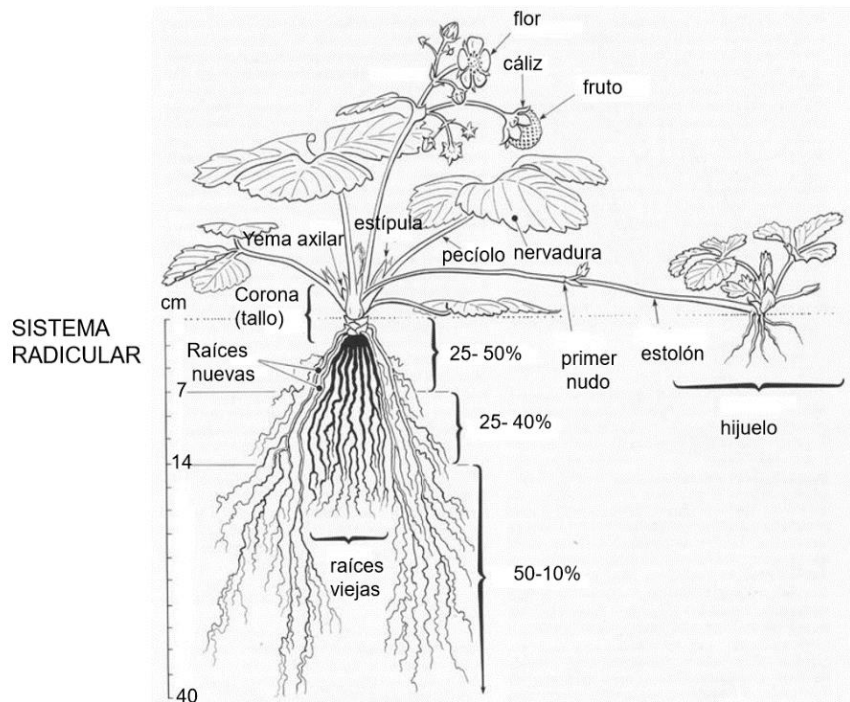


Figura 1 – Morfología de la planta de frutilla

Fuente: Pombo, M., 2009

Las flores se reúnen en racimos de color blanco con 9 a 12 flores por inflorescencia. Pueden existir plantas con flores femeninas o masculinas, pero por lo general son todas hermafroditas. Cada una de ellas consta de un cáliz, compuesto normalmente de 6 sépalos; una corola compuesta de 6 pétalos; numerosos estambres insertos en la base del receptáculo, y sobre él los pistilos dispuestos en espiral (Pombo, M., 2009) (Figura 2).

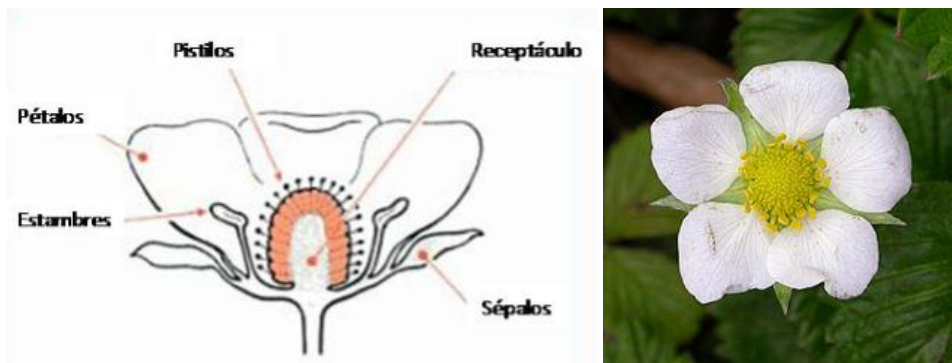


Figura 2 - Morfología de la flor de frutilla (*Fragaria x ananassa*, Duch).

Fuente: Adaptado de Strand, 1994.

1.1.3. Producción nacional de frutillas

La Argentina produce 30.000 toneladas anuales en un área de 1000 ha.

- 40 % corresponde a la provincia de Santa Fe, principalmente en los distritos de Coronda, Desvío Arijón y Arocena del Departamento San Jerónimo
- 30 % a la provincia de Tucumán en donde las principales zonas de producción son Lules y Tafí del Valle.
- El resto a otras zonas productoras, como Corrientes (región de Bella Vista, con una producción estimada en 1.800 toneladas) y Buenos Aires, en las zonas de La Plata, Mar del Plata y San Pedro (Figura 3).

A nivel mundial, en el ranking de los mayores países productores Argentina figuró en el puesto 34 (sobre un total de 77 países) de acuerdo a datos COMTRADE del año 2014, mientras que en el año 2015 figuró como 15º exportador, sobre un total de 77 países, y en el puesto 70 como importador, sobre un total de 131 mencionados en dicha base de datos. La superficie implantada en cada año fluctúa entre 1.100 y 1.300 hectáreas (ha). La producción total en el año 2016 fue de aproximadamente 45.500 tn, con un rendimiento promedio de 35 tn/ha y con rendimientos máximo de 65 tn/ha. Los varietales más elegidos son “Cama rosa” seguido por “Chandler” y en menor medida “Sweet Charlie”. Su cosecha se concentra, para el consumo fresco, en los meses de julio a diciembre, mientras que para los frutos destinados a productos

congelado en los meses de noviembre y diciembre. De esta forma se logra exportar la producción en contra estación hacia el hemisferio norte donde se concentran los principales consumidores a nivel mundial (DNAyB, SSAyB, Ministerio de Agroindustria, 2017).

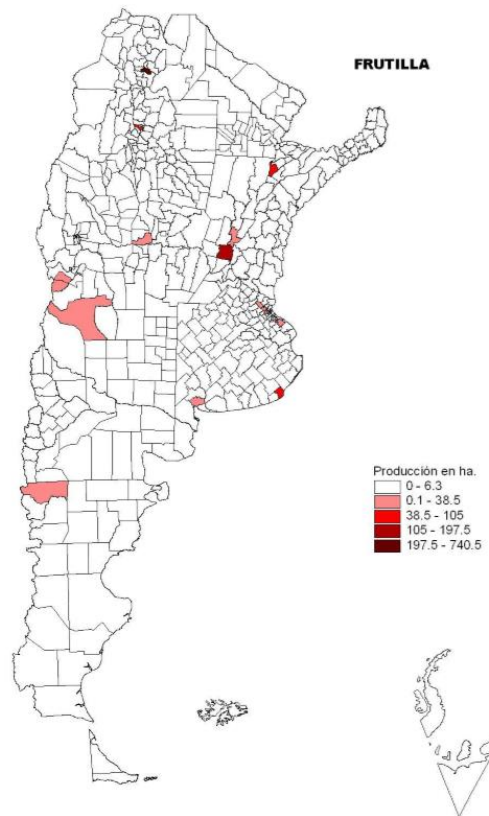


Figura 3 - Mapa de producción nacional de frutillas por ha.

Fuente: Comunidad de Expertos en Nutrición, 2019.

Benicia: Principales características

Es una planta de vigor medio a alto, pero menos frondosa que Camarosa, lo que permite plantaciones de mayor densidad de plantas por hectárea que con esta variedad. Presenta un patrón de producción similar al de Camarosa pero más precoz especialmente en plantaciones de otoño tempranas.

Más firme y un poco más alargada que Ventana y Camarosa aunque de forma muy similar a esta última.

El color ligeramente más oscuro que Ventana, tanto en el interior como en el exterior. En los ensayos de post-cosecha, esta variedad tenía mayor vida comercial que Ventana permitiendo su exportación sin problemas.

El sabor es bastante mejor que el de Ventana y Camarosa, sobre todo en las cosechas tempranas.

Variedad resistente a enfermedades, sin problemas de Antracnosis y resistente a *Phytophthora cactorum*. No muestra sensibilidad a Oídio ni a Araña roja.

Si se realiza un buen manejo fitosanitario de las enfermedades en el vivero es una variedad bastante resistente a éstas. (Lopez Aranda J. M. y col. 2015)

Festival: Principales características

Variedad de producción uniforme y muy precoz. Frutos de tamaño medio, firme. Resistente a daños por lluvia o alta humedad ambiente y moderadamente susceptible a la mayor parte de los patógenos.

Baja deformación de fruto en campo. Buen comportamiento postcosecha. Buena adaptación al sistema planta en maceta (plugs plants). Tendencia a producir cálices secos.

Baja dureza del fruto. Sobre todo cuando se planta tarde. (Lopez Aranda J. M. y col. 2015)

1.1.4. [Exportaciones Argentinas de frutillas](#)

Como se observa en la tabla 2, en el año 2016 las exportaciones medidas en volumen, se redujeron a un tercio del valor registrado en el año 2011, y similar comportamiento se registró también analizando el valor total exportado. Esta situación se debió, entre otros motivos, a elevados costos productivos. En cuanto a las exportaciones del año 2016, medidas en volumen, los principales destinos fueron Estados Unidos (EEUU) (55,5%) y Brasil (38,2%) mientras que otros países como Canadá y Uruguay tuvieron una participación mucho menor: 3,1 % y 2,2% respectivamente (DNAyB, SSAyB, Ministerio de Agroindustria, 2017).

Tabla 2 - Exportaciones argentinas por año

Año / Periodo	Volumen	Valor	Precio Prom de Expo
	(Toneladas)	(US\$ FOB)	(US\$ FOB/TN)
2011	9.255	18.004.826	1.945
2012	5.002	10.614.440	2.122
2013	4.248	7.976.360	1.878
2014	5.340	10.698.617	2.004
2015	3.799	7.403.555	1.949
2016	2.953	5.581.116	1.890

Fuente: SSAyB en base a INDEC, 2017.

La exportación argentina de frutilla congelada en 2017 fue un 1,4% superior, en volumen, respecto al año 2016, alcanzando un total de 2.995 tn. El valor total de los envíos fue de USD 5,2 millones. El precio promedio fue de 1.750 USD FOB/tn en 2017 y el principal destino fue Brasil. En 2012, la Argentina fue eliminada del Sistema Generalizado de Preferencias (SGP) de los EEUU. Sin embargo, a pesar de esto, las exportaciones a ese país continuaron siendo destacadas ya que es uno de los principales consumidores a nivel mundial. A partir de 2018, se reinstauró el SGP, programa por el cual se beneficiaron determinados productos, entre ellos la frutilla, que ingresaron sin pagar aranceles a EEUU, recuperando su competitividad en ese mercado (Manzoni, C. y Bernasconi, P, 2017).

1.1.5. Cadena de producción

La cadena de producción consta de cinco eslabones bien identificados cada uno de los cuales involucra actividades específicas y tipicidad del producto característico. Estos eslabones siguen un orden secuencial ordenado como se nota en la figura 4.



Figura 4 - Esquema de cadena de producción de frutilla.

1.1.6. Maduración del fruto

Desde el punto de vista botánico, la frutilla es un falso fruto, del tipo de los frutos agregados, denominado conocarpo, que se origina a partir de los tejidos del receptáculo floral (parte carnosa y comestible del fruto) en la superficie del cual se encuentran los verdaderos frutos o aquenios (Valla J., 1995).

Al comienzo del desarrollo los frutos son de color verde debido a la presencia de clorofilas; durante el transcurso de la maduración se produce la degradación de estos pigmentos, simultáneamente con una gran acumulación de antocianinas. En la frutilla existe una superposición entre el desarrollo y la maduración debido a que el crecimiento del fruto continúa aun cuando la degradación de clorofilas está muy avanzada y ya ha comenzado la síntesis de antocianinas. De esta manera, basándose en el tamaño y el color superficial, los frutos pueden ser clasificados en: verdes (pequeños o grandes), blancos y, de acuerdo al porcentaje de color rojo superficial, en

25, 50, 75 y 100% rojo. Una vez que toda la superficie se torna roja el fruto sigue acumulando antocianinas y alcanza un estadio de sobremadurez (Pombo, M., 2009) (Figura 5).



Figura 5 - Clasificación en los diferentes estadios de madurez de frutilla.

VP, verde pequeño; VG, verde grande; BL, blanco; 25 a 100%R, 25 a 100% de superficie roja, respectivamente; SM, sobremaduro.

Fuente: Pombo, M., 2009.

1.1.7. Consumo de frutilla a nivel nacional e internacional

El consumo local de frutillas frescas a diferencia de otras frutas es relativamente poco difundido. Si bien dispone de su distribución tanto en los principales supermercados como en los negocios minoristas, el hábito de consumo (septiembre a octubre en su mayoría) depende en gran medida del precio relativo de las distintas frutas disponibles en cada estación (DNAyB, SSAyB, Ministerio de Agroindustria, 2017). Solo el 0,1% de fruta que se consume en Argentina por año corresponde a la frutilla (Manzoni, C. y Bernasconi, P., 2016). Lejos está de la fruta número uno en consumo local que es la naranja. En el año 2017, el valor estimado de consumo de frutilla fue aproximadamente de 1 kg/habitante/año (DNAyB, SSAyB, Ministerio de Agroindustria, 2017).

En cuanto al consulto mundial, de acuerdo a datos del “Economic Research Council” (año 2012) el mayor consumo se registró en EEUU con 3,6 kg/habitante/año, seguido por los países Europeos con 1,6 kg/habitante/año. En países de Asia como Japón, Corea y China, el consumo actual es muy bajo, 2,6 gr/habitante/año, pero en función de los cambios de hábitos de consumo (tendencia hacia una dieta más

saludable) y al mayor poder adquisitivo, se espera un incremento importante en los próximos años.

1.1.8. Composición química de la frutilla fresca

Las frutillas son frutas con bajo contenido energético, cuyo principal componente, después del agua, lo constituyen los hidratos de carbono (con una cantidad moderada, alrededor del 7% de su peso) fundamentalmente fructosa, glucosa y xilitol.

Son también fuente de vitamina C, con un porcentaje incluso superior al que posee la naranja. Una ración media de frutillas que equivalen a 150 g contiene 86 mg de vitamina C; mientras que una naranja mediana, de 225 g, contiene 82 mg. Si bien, en cualquiera de los dos casos, las ingestas diarias recomendadas para esta vitamina (60 mg) están más que superadas.

Las frutillas contienen además diversos ácidos orgánicos, entre los que destacan el ácido cítrico, ácido málico, oxálico y también contienen pequeñas cantidades de ácido salicílico. El color de la frutilla es debido a pigmentos vegetales (flavonoides) conocidos como antocianinas. Las frutillas constituyen una de las frutas con mayor capacidad antioxidante, la cual no sólo se debe a su contenido en antocianinas, sino también a la presencia en su composición de cantidades importantes de polifenoles (ácido elágico) y de vitamina C, la cual contribuye a la protección de las células frente al daño oxidativo (Chord Barrufet S, 2013).

La composición nutricional de la frutilla fresca, cada 100 gramos, se encuentra expresada en la Tabla 3.

Sin embargo, la frutilla es un fruto muy perecedero, con alta tasa respiratoria y de corta vida postcosecha. Los daños mecánicos, heridas y golpes durante la cosecha, transporte y comercialización dejan el fruto susceptible al ataque de microorganismos, causando pérdidas nutritivas, cualitativas y económicas (Cantillano R. y col., 2012).

Tabla 3 - Composición nutricional de las frutillas y recomendaciones nutricionales para hombres y mujeres.

	Por 100 g de porción comestible	Por ración (150 g)	Recomendaciones día-hombres	Recomendaciones día-mujeres
Energía (Kcal)	40	57	3.000	2.300
Proteínas (g)	0,7	1,0	54	41
Lípidos totales (g)	0,5	0,7	100-117	77-89
AG saturados (g)	—	—	23-27	18-20
AG monoinsaturados (g)	—	—	67	51
AG poliinsaturados (g)	—	—	17	13
ω -3 (g)*	—	—	3,3-6,6	2,6-5,1
C18:2 Linoleico (ω -6) (g)	—	—	10	8
Colesterol (mg/1000 kcal)	0	0	<300	<230
Hidratos de carbono (g)	7	10,0	375-413	288-316
Fibra (g)	2,2	3,1	>35	>25
Agua (g)	89,6	128	2.500	2.000
Calcio (mg)	25	35,6	1.000	1.000
Hierro (mg)	0,8	1,1	10	18
Yodo (μg)	8	11,4	140	110
Magnesio (mg)	12	17,1	350	330
Zinc (mg)	0,1	0,1	15	15
Sodio (mg)	2	2,9	<2.000	<2.000
Potasio (mg)	190	271	3.500	3.500
Fósforo (mg)	26	37,1	700	700
Selenio (μg)	Tr	Tr	70	55
Tiamina (mg)	0,02	0,03	1,2	0,9
Riboflavina (mg)	0,04	0,06	1,8	1,4
Equivalentes niacina (mg)	0,6	0,9	20	15
Vitamina B₆ (mg)	0,06	0,09	1,8	1,6
Folatos (μg)	20	28,5	400	400
Vitamina B₁₂ (μg)	0	0	2	2
Vitamina C (mg)	60	85,5	60	60
Vitamina A: Eq. Retinol (μg)	1	1,4	1.000	800
Vitamina D (μg)	0	0	15	15
Vitamina E (mg)	0,2	0,3	12	12

Fuente: Moreiras O. y col., 2006.

Las condiciones óptimas de conservación de la frutilla son una temperatura de -0,5 °C a 5 °C. Si se almacenan bajo atmósfera controlada/modificada, éstas deben hallarse entre un 410 % de O₂ y un 0-20 % de CO₂. La vida útil de las frutillas almacenadas en aire es de hasta 5 días, en atmósfera controlada de hasta 10 días y en condiciones hipobáricas de hasta de 21 días (Moreiras O. y col., 2006).

SECCIÓN 1.2: ESTRÉS OXIDATIVO Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE FRUTILLAS

1.2.1. Antioxidantes en la dieta

Los antioxidantes en la dieta se los puede encontrar en forma de vitaminas, minerales y compuestos no nutritivos, como los polifenoles.

✓ Vitaminas

Las vitaminas se consideran micronutrientes porque son necesarios en cantidades pequeñas, pero son nutrientes esenciales, es decir, son imprescindibles para el normal funcionamiento del organismo y deben ser aportados por la dieta, ya que el organismo no puede sintetizarlas o bien lo hace en cantidades insuficientes. Las vitaminas actúan como coenzimas y cofactores e intervienen en numerosas reacciones metabólicas que se producen en el organismo; tienen principalmente una función reguladora y protectora. Las vitaminas que tienen función antioxidante son la vitamina C y la vitamina E (Kuklinski C., 2003). Se detalla la función de la Vitamina C por ser parte de la composición química de la frutilla.

La vitamina C se denomina ácido ascórbico. Su estructura carece del grupo carboxílico (COOH), pero a pesar de ello tiene marcadas propiedades ácidas, y de ahí proviene su denominación. Por oxidación se puede transformar reversiblemente en ácido deshidroascórbico, que todavía posee propiedades vitamínicas. A su vez, el ácido deshidroascórbico puede perder agua de forma irreversible y transformarse en ácido dicetogulónico, que carece de propiedades vitamínicas (Figura 6).



Figura 6 - Oxidación del ácido ascórbico.

Fuente: Kuklinski C., 2003

La vitamina C funciona fisiológicamente como un antioxidante soluble en agua, en virtud de su alto poder reductor. Es un cofactor para las enzimas involucradas en la biosíntesis de colágeno, carnitina, y neurotransmisores in vitro, y esto puede neutralizar una variedad de especies reactivas de oxígeno y especies reactivas de nitrógeno en ambientes acuosos (Krinsky N. y col, 2000). Las funciones biológicas del ácido ascórbico se basan en su capacidad de proporcionar equivalentes reductores. Debido a esto, la vitamina puede reducir las especies de oxígeno reactivas más fisiológicamente relevantes (Buettner L., 1993).

La vitamina C se conoce por ser un donante de electrones para ocho enzimas humanas. Tres participan en la hidroxilación del colágeno, dos en la biosíntesis de carnitina, y tres en la hormona y la biosíntesis de aminoácidos. Las tres enzimas que participan en la hormona y la biosíntesis de aminoácidos son la dopamina- β -hidroxilasa, necesaria para la biosíntesis de catecolaminas la norepinefrina y epinefrina; peptidil-glicina monooxigenasa, necesario para la amidación de hormonas peptídicas, y 4-hidroxi fenilpiruvato dioxigenasa, que participan en metabolismo de la tirosina (Levine M. y col., 1996). Además, es esencial para todos los seres humanos. El organismo humano no puede sintetizar el ácido ascórbico y debe ser aportado con la dieta en forma exógena. La dosis diaria recomendada de vitamina C es de 90 mg/día para los hombres adultos y 75 mg/día para las mujeres adultas. El requisito para los fumadores aumenta a 35 mg/día, ya que el fumar aumenta el estrés oxidativo y el movimiento metabólico de la vitamina C (Krinsky N. y col, 2000). La mayor fuente de vitamina C son las frutas y verduras aunque la cantidad que contienen depende de la variedad, las condiciones del suelo, el clima, madurez, las condiciones de almacenamiento y procesado. Las principales fuentes son los cítricos, kiwi, frutillas, grosellas, moras y las verduras (espinacas, perejil) y las papas (Talanen M., 1995). Alrededor de un 70-90% de las ingestas alimentarias habituales de ácido ascórbico (30-180 mg/día) se absorben, sin embargo, la absorción cae a alrededor de 50 % o menos con dosis crecientes por encima de 1 g/día (Kallner A. y col., 1979).

✓ Compuestos fenólicos

Una de las categorías más importantes de fitoquímicos son los compuestos fenólicos. Se agrupan según su estructura química en tres grupos: los ácidos fenólicos, los polifenoles y los flavonoides, siendo este último el más numeroso y diverso (Ochoa C. y Ayala A., 2004) (Figura 7). Su poder antioxidante depende del número de anillos fenólicos, del número y la posición de los grupos hidroxílicos y de los dobles enlaces presentes (Kong J. y col., 2003). Las distintas formas estructurales condicionan diferencias en la biodisponibilidad de estos compuestos, tanto en la absorción en el tracto gastrointestinal como en el metabolismo y en la distribución en tejidos y órganos (Castañeda Ovando A. y col., 2009).

Compuesto		Efecto metabólico	Impacto en la salud	Fruta
Flavonoides	Antocianinas Ej: Cianidina	Antioxidante	Previenen la carcinogenia Antiinflamatorio Cardioprotector Neuroprotector	Cerezas Uvas Frutos rojos
	Flavonoles Ej: Quercetina	Antioxidante Antimutagénico Disminuye agregación plaquetaria Disminuyen la oxidación de las LDL	Previenen la carcinogenia Antiinflamatorio Cardioprotector Neuroprotector Disminuyen el colesterol total y aumentan las HDL	Uvas Duraznos Manzanas Cerezas Granadas
	Flavanonas Ej: Naringenina	Protegen la peroxidación Afectan a la permeabilidad de los lípidos vascular	Protector cardiovascular - cerebrovascular	Cítricos
Estilbenoides	Flavonoles Ej: Catequinas	Antimutagénico Apoptosis Disminuye la oxidación de las LDL Disminuye la agregación plaquetaria	Previenen la carcinogenia	Uva Manzanas Peras Cerezas Granada
	Resveratrol	Antioxidante Actividad estrogénica Antimutagenico Disminuye la oxidación de las LDL Disminuye la agregación plaquetaria	Previenen la carcinogenia Antiinflamatorio Disminuye el riesgo de trombosis cardioprotector	Uva Grosella negra Arándano
Derivados del ácido benzóico	Acido gálico	Reduce la peroxidación lipídica	Previenen la carcinogenia Protector cardiovascular	Granada Fresa Frambuesa
	Acido elágico	Actividad estrogénica		

HDL: lipoproteínas de alta densidad; LDL: lipoproteínas de baja densidad.

Figura 7 - Fitoquímicos de la familia de las sustancias fenólicas en frutas y sus efectos beneficiosos para la salud.

FUENTE: Buso Casati, 2016.

Los productos naturales (metabolitos secundarios) son compuestos orgánicos producidos por las plantas que parecen no poseer una función directa sobre su crecimiento y desarrollo (Taiz L. y Zeiger E., 2010). Estos compuestos no tienen un rol reconocido sobre procesos como la fotosíntesis, la asimilación de agua y nutrientes y la respiración celular (Salisbury F. y Ross C., 1994). Sin embargo, juegan un papel importante en la defensa y la adaptación de las plantas a su ambiente y como fuentes de principios activos con uso farmacéutico y alimenticio (Croteau R. y col., 2000). De acuerdo al origen de sus rutas de biosíntesis, los productos naturales se dividen en terpenos o terpenoides, polifenoles y alcaloides. El interés principal sobre los segundos se debe a sus propiedades antioxidantes (AOX).

Manach C. y col. (2005) clasifican los polifenoles según el número de anillos aromáticos de sus estructuras químicas y las formas en que estos anillos se unen entre sí. Así, se dividen en no flavonoides (ácidos fenólicos) donde se encuentran los ácidos hidroxibenzoicos (ácido elágico) e hidroxicinámicos (ácido cafeico), flavonoides, estilbenos y lignanos.

Por otro lado, las antocianinas pertenecen a un gran y muy distribuido grupo de metabolitos secundarios que se conocen colectivamente como flavonoides. Las antocianinas son los componentes que otorgan a las plantas colores rojos, azules, morados, particularmente en partes como frutos, flores y hojas (Rein M., 2005). Estos pigmentos han sido consumidos por los humanos a lo largo de incontables generaciones sin causar aparentemente ningún efecto tóxico. El interés por las antocianinas se ha incrementado debido a su uso posible como colorantes naturales y por sus beneficios potenciales en la salud (Giusti M. y col., 1999). Además de su color, se ha reportado que las antocianinas tienen beneficios para la salud como potentes antioxidantes y pueden incrementar la agudeza visual. Se ha observado también que poseen actividad antineoplásica, vasotónica, vasoprotectora, antiinflamatoria y hepatoprotectora (Kong J. y col., 2003).

Debido al creciente interés en los compuestos antioxidantes presentes en los alimentos, a los que se les atribuye la capacidad de inhibir los procesos de oxidación generados por los radicales libres en el organismo, se han dirigido varias investigaciones con el fin de dilucidar un rol preventivo de las frutas sobre ciertas enfermedades como las cardiovasculares y el cáncer (Reiss R. y col., 2012 y Wang S. y

col., 2011). Se acepta ampliamente que los fenólicos exhiben propiedades antioxidativas potentes, aunque sus atributos biológicos van más allá de esto (Seeram N. y col., 2001). De hecho, también exhiben propiedades antiinflamatorias, son capaces de inducir una detoxificación de enzimas carcinogénicas (fase-II) y modular rutas metabólicas de señalamiento subcelular en la proliferación del cáncer celular, la apoptosis (muerte celular programada) y la angiogénesis por tumores (Seeram N. y col., 2001).

El interés en incrementar la disponibilidad de polifenoles y aumentar su incorporación en las dietas ha dado lugar estrategias de promoción del consumo, de mejora genético de especies ya conocidas y de identificación de nuevos “superfrutos”. Dentro del primer grupo, se observan campañas de información y concientización. La segunda estrategia se basa en la incorporación de características vinculadas con el valor nutricional en algunos programas de mejoramiento que históricamente focalizaron más en aspectos relacionados con el rendimiento y la resistencia a adversidades de los cultivos. También se ha intentado incrementar la acumulación o estabilidad de polifenoles empleando estrategias de ingeniería genética.

Si bien cada una de estas propuestas anteriores podría eventualmente realizar una contribución, pareciera que el camino orientado a mejorar las cadenas de distribución y las condiciones de manejo poscosecha ha sido, sino olvidado, al menos poco explotado. La FAO ha estimado que a nivel mundial las pérdidas en la etapa distribución-consumo de frutas y hortalizas equivalen a 30-40% del volumen de producción. La situación en nuestro país en este aspecto no parece diferir marcadamente del panorama mundial que pone en evidencia una enorme inversión anual en recursos (agua, suelo, trabajo, semillas, fertilizantes y tiempo) para obtener alimentos que son finalmente descartados. En ese contexto, mejorar el manejo de las frutas y hortalizas en la poscosecha pareciera ser una estrategia improrrogable para reducir los riesgos microbiológicos, minimizar pérdidas de calidad organoléptica y nutricional y de esta forma podría reducirse la gran cantidad de polifenoles que luego de cada ciclo productivo son desechados como desperdicios. (Vicente A.R. y col. 2010).

SECCIÓN 1.3: ALIMENTOS FUNCIONALES

1.3.1 Definición

En la actualidad, el concepto de nutrición ha evolucionado notablemente gracias a la investigación constante y al crecimiento de la información disponible (Olagnero y col., 2007). El concepto de alimento funcional (AF) surge en el seno de la Nutrición Óptima, encaminada a modificar aspectos genéticos y fisiológicos y a la prevención y tratamiento de enfermedades, más allá de la mera cobertura de las necesidades de nutrientes (Silveira Rodríguez y col., 2003). La preocupación de la sociedad por el binomio alimentación-salud ha dado lugar a que las empresas agroalimentarias potencien el desarrollo de nuevos alimentos, fomentando que la industria desarrolle constantemente nuevos productos con características que exceden lo esencialmente nutritivo y se enfoquen en el ámbito de la salud humana (Busso Casati C., 2016).

Los AF son alimentos en los que algunos de sus componentes afectan funciones del organismo de manera específica y positiva promoviendo un efecto fisiológico o psicológico más allá de su valor nutritivo tradicional. Sin embargo, en la actualidad no existe una definición universalmente aceptada por la comunidad científica (Silveira Rodríguez y col., 2003).

El concepto de AF surgió en Japón hace aproximadamente 20 años. Actualmente se engloban bajo el nombre de FOSHU (Alimentos para Uso Dietético Especial) y el gobierno japonés construye alegaciones sanitarias tendientes a mejorar con su consumo la salud de la población (Ford, A., y Dahl, W., 2012). El aumento de la esperanza de vida y su consecuente impacto a nivel de gastos en salud pública hace que el gobierno japonés financie programas de investigación sobre alimentos para lograr mejoras en calidad de vida. A partir de allí, el concepto de AF comenzó a evolucionar y fue ampliado tanto en Europa como en EEUU (Olagnero, 2007). En EEUU, los AF aparecieron una década después con la peculiaridad de que, para ser considerado bajo este rótulo, el alimento debe estar siempre «modificado» de alguna forma. Sin embargo, bajo la perspectiva de la Unión Europea, pueden tratarse tanto de alimentos naturales como procesados industrialmente (Silveira Rodríguez y col., 2003;

Roberfroid, 2000). En la definición de consenso de Madrid (1998) se subrayaron los siguientes aspectos: un AF es el que contiene al menos un elemento, nutriente o no nutriente, positivo para una o varias funciones del organismo, más allá del aspecto nutricional convencional, encaminado a incrementar el bienestar o disminuir el riesgo de enfermar (Ashwell, 2005). Un AF puede serlo para toda la población o sólo para un grupo específico. Abarcan macronutrientes con efectos fisiológicos concretos (almidón, ácidos grasos omega 3, etc.) y micronutrientes esenciales con ingestas «funcionales» necesariamente superiores a las recomendaciones dietéticas diarias. Pueden ser esenciales o no esenciales, naturales o modificados. Según la concepción europea, el AF debe seguir siendo en todo momento un alimento; es decir, es necesario que ejerza su efecto beneficioso consumido como tal, dentro de una dieta convencional y en la cantidad en que habitualmente es ingerido. Esta perspectiva no incluye por tanto a los denominados nutracéuticos, más allá de la frontera con el medicamento (Silveira Rodríguez, 2003). A menudo se usa el término nutracéutico como sinónimo de AF, pero un producto nutracéutico se define como una sustancia de origen natural, que puede aislarse de un alimento y que tiene un efecto determinado y positivo sobre la salud humana. Los productos nutracéuticos se presentan generalmente en cápsulas y como polvos (INTI, 2005).

Cabe la pena aclarar que para que un alimento sea considerado funcional, los efectos que el mismo produce deben estar basados en marcadores relevantes y satisfacer las exigencias de la comunidad científica. De esta forma, la transformación de un alimento en «funcional» puede realizarse eliminando algún componente nocivo (alérgeno, grasa saturada), fortificándolo con sustancias beneficiosas (cereales con minerales y vitaminas, pan con fibra, leche con calcio), adicionándole un elemento no presente de forma habitual en el mismo (aceite con antioxidantes), sustituyendo un compuesto perjudicial por otro deseable (grasas por inulina, leche desnatada con ácidos grasos omega u optimizando su biodisponibilidad/estabilidad (Coronado y col., 2015).

1.3.2. Clasificación

Los AF se pueden dividir en dos amplias categorías. La primera consiste en AF que naturalmente contienen un ingrediente que ofrece beneficios adicionales al consumidor. La otra categoría de AF consiste en alimentos procesados en el que el ingrediente se añade al alimento para darle beneficios adicionales. Según estas definiciones, los alimentos enteros no modificados como las frutas y vegetales representan el ejemplo más simple de un AF. Por ejemplo el brócoli, la zanahoria o el tomate se consideran AF porque son ricos en componentes fisiológicamente activos como el sulforafano, betacaroteno y el licopeno respectivamente. Los alimentos modificados que incluyan a aquellos que han sido fortificados con nutrientes o mejorados con fitoquímicos, también caen dentro de la esfera de los AF (INTI, 2005).

1.3.3. Marco legal de los Alimentos Funcionales

La lista de AF presentes hoy en los supermercados es inmensa abarcando tanto a los alimentos no modificados como a los procesados industrialmente. Sin embargo, no existe aún legislación específica sobre AF a nivel global. Muchos expertos coinciden en que la legislación actual puede ser aplicable a dichos alimentos pues se basa en seguridad de consumo y no permitir el engaño al consumidor, prohibiendo las alegaciones o declaraciones “de propiedades medicinales” que directa o implícitamente indican que el producto puede tratar, prevenir o curar una enfermedad. En el ámbito de Codex Alimentarius no se ha definido a los AF como categoría pero se encuentran en vigencia desde 2004 lineamientos aplicables a las alegaciones de salud. Las normativas vigentes que se aplican a todos los alimentos, profundizan sobre la comunicación de propiedades distinguiendo declaraciones nutricionales y declaraciones higiénicas o health claims. Las declaraciones nutricionales se refieren a la enumeración normalizada del contenido de nutrientes o al contenido comparativo o relativo de los mismos. Las declaraciones higiénicas se refieren a representaciones que establecen, sugieren o implican la relación existente entre un alimento o componente del alimento y la salud. La normativa indica que estas alegaciones deben poseer un cuerpo de evidencia científica suficiente, proveer

información veraz que permita al consumidor elecciones saludables y necesitan acompañarse de educación. En esta categoría se incluyen:

- *Declaraciones de Función:* describen el efecto que produce un nutriente sobre el crecimiento, desarrollo y funciones normales del organismo. Otras Declaraciones de Función: referidas específicamente a beneficios en el consumo de un alimento o constituyente en funciones normales o actividades biológicas del organismo. Indican una contribución para la mejora de la salud o de una función específica.
- *Declaraciones de Reducción del Riesgo de Enfermedad:* relacionan el consumo de un alimento o constituyente, en el contexto de la alimentación global, con la reducción de riesgo de enfermedad o condición relacionada con la salud. Hablar de reducción de riesgo indica modificar el o los principales factores de riesgo para una enfermedad, incorporando el concepto de multicausalidad y complejidad, por lo tanto la modificación de un factor de riesgo puede o no brindar efectos beneficiosos (Codex Alimentarius, 2015).

Además, especifica que quedan prohibidas todas aquellas alegaciones de propiedades medicinales que implican que el consumo de un alimento posee las propiedades de tratar, prevenir, aliviar o curar enfermedades, trastornos o estado fisiológicos en particular (Codex Alimentarius, 2015).

En Argentina, y a pesar de la creciente oferta en el mercado, existe un vacío legal en la materia ya que los AF no están contemplados en el CAA y los criterios para autorizar las alegaciones, al momento de la inscripción, no son uniformes. El CAA, en su artículo 235 (Capítulo V) y en coincidencia con Codex Alimentarius, prohíbe las alegaciones medicinales. La comunicación al consumidor se regula a través de las normas generales y específicas para publicidad sobre productos de venta libre. De la misma puede extraerse lo siguiente:

- Quedan permitidos los *claims* sobre información nutricional complementaria y/o valor energético y/o proceso de elaboración del producto, siempre y cuando hayan sido autorizados.
- Se prohíbe incluir textos que hagan referencia a condiciones patológicas o enfermedades, que atribuyan al producto acciones y/o propiedades medicinales o que aconsejen su consumo para mejorar la salud o prevenir enfermedades.

- Permite la comunicación de las propiedades de los alimentos a través de frases como “...ayuda y/o contribuye a prevenir y/o proteger.”
- La información científica citada o a la que se haga referencia deberá estar disponible para ser presentada ante ANMAT, para poder llevar a cabo el proceso de fiscalización previsto (CAA, 2017).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL:

- ✓ Determinar la temperatura óptima de secado para la obtención de harina de frutilla y determinar la capacidad antioxidante, con el fin de utilizarla en la industria alimentaria como suplemento dietario ya que aporta antioxidantes exógenos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- ✓ Evaluar los efectos de las distintas temperaturas de secado de frutilla en las variedades Festival y Benicia, respecto a la degradación de los antioxidantes presentes.
- ✓ Evaluar la capacidad antioxidante de harina de frutilla de las variedades Festival y Benicia.
- ✓ Determinar los tiempos óptimos de extracción, los que se evaluarán a partir de determinaciones de sólidos solubles para cada caso.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

Se contó con el laboratorio perteneciente al Centro de Investigación y Desarrollo de Tecnología de los Alimentos (CIDTA) de la Universidad Tecnológica Nacional en su sede de la Facultad Regional Rosario.

Además, se pudo contar con el material de vidrio, servicios de energía, agua y gas para la realización de los ensayos.

También se contó con el equipamiento del CIDTA que se detalla en la Tabla 1.

Tabla 4 - Equipo utilizado

EQUIPO	SITUACIÓN
<i>Peachímetro Hanna 211</i>	<i>Disponible</i>
<i>Mufla ORL</i>	<i>Disponible</i>
<i>Balanza Boeco</i>	<i>Disponible</i>
<i>Centrífuga Cavour VT 3216</i>	<i>Disponible</i>
<i>Espectrofotómetro Jasco Modelo 7800. Origen Japón</i>	<i>Disponible</i>
<i>Estufa Neo Line con circulación de aire</i>	<i>Disponible</i>
<i>Freezer vertical Whirlpool para conservación de muestras</i>	<i>Disponible</i>

3.2 Obtención del extracto a analizar

Se utilizaron frutillas de las variedades Festival y Benicia, obtenidas en campos de cultivo de los alrededores de Coronda, Santa Fe. Las muestras fueron despalladas, lavadas con agua potable y fileteada, mediante cuatro cortes longitudinales. Las rodajas se secaron hasta peso constante en estufa de tiro forzado a 60 °C, 70 °C y 80 °C. Una vez secas, se molieron en un molinillo de cuchillas IKA (Alemania) hasta que todo el material seco pasara por un tamiz malla 40. Se obtuvieron por duplicado extractos etanólicos de las harinas, agitando durante 4 horas 5 g de harina en 25 mL de etanol, de acuerdo a lo determinado en ensayos preliminares. Los sólidos se separaron mediante filtración y el filtrado se reservó en frasco caramelo a -18 °C, hasta su utilización.

3.3 Técnicas Analíticas

3.3.1 Polifenoles totales (CPT)

La determinación de la concentración polifenoles se realizó por colorimetría, mediante una modificación del método de Folin Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965). Este método consiste en una reducción en una solución alcalina, resultando la formación de un complejo de coloración azul de molibdeno-tungsteno. La técnica ha sido utilizada en diferentes especies incluidas los frutos rojos (Moyer y col., 2002; Kalt y col, 1999; Prior y col, 1998; Sapers y col, 1984). Este método mide la intensidad del color producido cuando el reactivo reacciona con los compuestos fenólicos y se fundamenta en el carácter reductor del reactivo.

✓ Puesta a punto de la técnica (verificación de la longitud de onda)

Considerando que los antecedentes metodológicos para la determinación de fenoles totales mediante la técnica de Folin Ciocalteu, y que la longitud de onda del método original era de 765 nm (Folin and Ciocalteu, 1927), se consideró necesario establecer la longitud de onda de máxima absorbancia, para estas determinaciones, por lo que se realizó una corrida en el espectrofotómetro. En la Figura 8, se observa que la mayor absorbancia se produjo a una longitud de onda de 757 nm, la cual fue seleccionada para el ensayo.

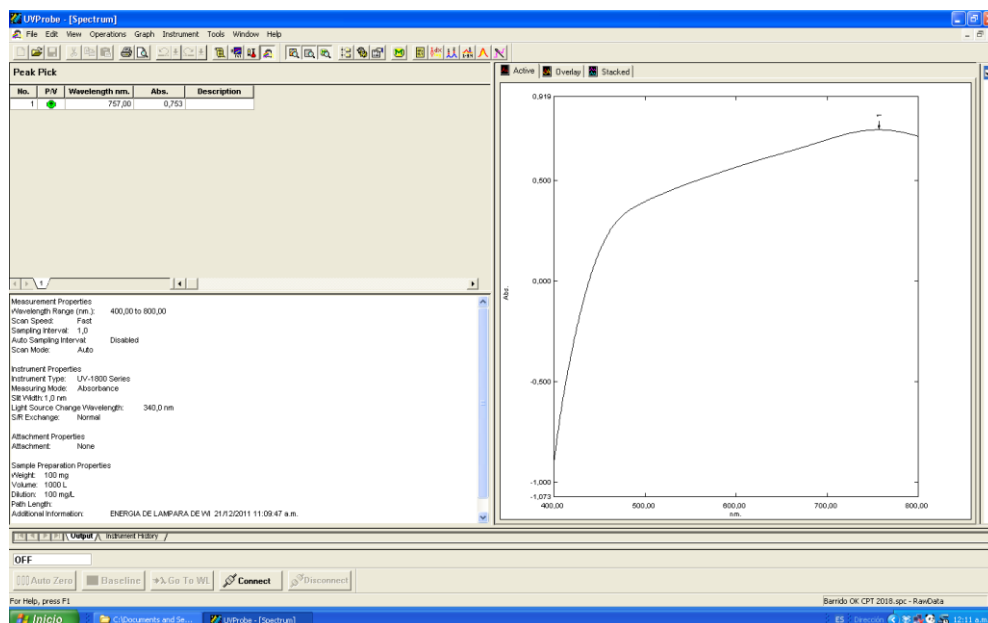


Figura 8 - Absorbancia del complejo compuestos fenólicos-reactivo de Folin Ciocalteu en el rango de 400 a 800 nm.

✓ Reactivos

➤ *Licor de Folin-Ciocalteu*

Wolframato de sodio 50 g; Molibdato de sodio 12.5 g; Ácido fosfórico 25 ml; Ácido clorhídrico 50 ml. Se mezclaron los reactivos mencionados y se calentó a reflujo dentro de un balón durante 10 horas. Luego se dejó enfriar y se lavó el condensador con agua destilada. Se añadieron 75 gramos de sulfato de litio hidratado y se mezclaron en un vaso de precipitado. Se llevó a ebullición sin el condensador y se agregaron gotas de bromo hasta que viró de color verde a amarillo brillante. Se completó a un volumen de 500 ml.

➤ *Solución de referencia Ácido gálico (0.5 mg/ml)*

Se disolvieron 0.05 gramos de ácido gálico p.a. en agua destilada y se llevó a 100 ml en un matraz aforado. Se mantuvo la solución refrigerada a 4 °C y se utilizó después de 48 horas de haberla preparado.

✓ Curva de calibración

Se tomaron alícuotas de la solución patrón de ácido gálico y se colocaron en un matraz de 25 ml, completando a volumen con etanol al 10%. Las soluciones obtenidas fueron: 0, 20, 100, 200, 300, 400, 500 mg/L de ácido gálico.

Se tomó 1 ml de cada una de estas soluciones y se colocaron en otro matraz de 25 ml, se les agregó 10 ml de agua destilada, 1 ml de licor de Folin-Ciocalteu, agitando suavemente y se dejó reposar durante dos minutos. Posteriormente se agregaron 2 ml de solución de carbonato de sodio al 10% y se completó a volumen con agua (sin agitar). Se dejó reposar 2 horas a temperatura ambiente. Luego se leyó la absorbancia en un Espectrofotómetro a 757 nm, que correspondió a la máxima absorbancia (ver puesta a punto de la técnica espectrofotométrica).

A continuación se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 5 - Curva de calibración de Folin Ciocalteu

Concentración ppm (ácido gálico)	Absorbancia (757 nm)
0	0.001
20	0.086
40	0.160
100	0.408
200	0.757
400	1.476
500	1.740

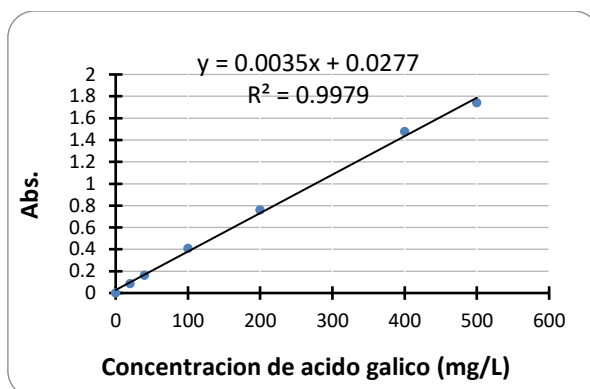


Figura 9 - Curva de calibración para el ensayo Folin Ciocalteu.

✓ Muestra

Se tomaron 40 μ l del extracto a los cuales se les añadieron 2 mL de una dilución al décimo del reactivo de Folin-Ciocalteu y 1 mL de carbonato de sodio anhidro (Na_2CO_3) 7,5 % p/v, se agitó y se colocó en baño a 40°C durante 10 min. Transcurrido el tiempo, se procedió a leer en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 757 nm, tomando como blanco de agua destilada. Los resultados se expresaron como mg de ácido gálico equivalente (AGE) cada 100 g de harina, empleado como referencia en la curva de calibración. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

3.3.2 Capacidad antioxidante (DPPH)

Se basa en la capacidad que tiene el radical libre estable DPPH (1,1-Difenil picril hidracil) de reaccionar con los H⁺ cedidos por los compuestos en estudio. Una solución etanólica de DPPH presenta una intensa coloración violeta, que pierde intensidad en la medida en que se produce la reacción, transformándose en un compuesto de color amarillo.

La capacidad antioxidante se determinó espectrofotométricamente mediante la captura del radical libre 2,2 difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) (Brand-Williams y col., 1995), expresando los resultados como mg de Trolox cada 100 g de harina.

✓ Puesta a punto de la técnica (verificación de la longitud de onda)

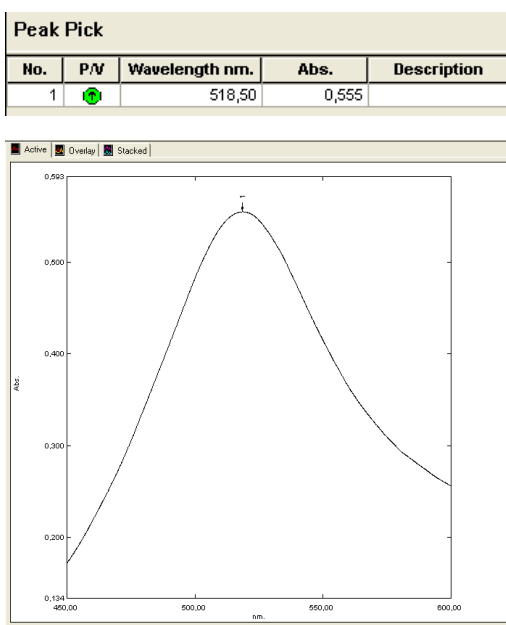


Figura 10 - Barrido para determinar la longitud de onda.

✓ Reactivos

- **Solución etanólica de 1,1-difenil picril hidracil (DPPH; PM=394.32gr/mol) 0.1mM**
Se pesó 0.0009858g y se diluyó en etanol 96% hasta 25ml en matraz aforado. La solución se preparó en el momento.
- **Solución patrón de ácido gálico 0,5 mg/ml.**
Se disolvieron 0,05g de ácido gálico p.a. en agua destilada y se llevaron a 100ml en matraz aforado. Se mantuvo la solución refrigerada a 4°C
- **Etanol 10%**

✓ Curva de calibración

Se tomaron 1; 2; 10; 15; 20 y 25 ml de la solución patrón de ácido gálico y se colocaron en matraces aforados de 25ml. Se completó a volumen con etanol al 10%. Las soluciones obtenidas fueron 20, 100, 200, 300, 400, 500 mg/l de ácido gálico.

Se tomaron 1 ml de cada una de estas soluciones y se colocaron en un matraz de 25ml, se le agregaron 10 ml de agua destilada y 5 ml de solución DPPH. Se taparon y se homogeneizaron invirtiendo los tubos dos veces. Se dejaron reposar durante 50 minutos. Se leyeron las absorbancias a 518,5 nm, en cubetas plásticas, y se trazó la siguiente curva de calibración.

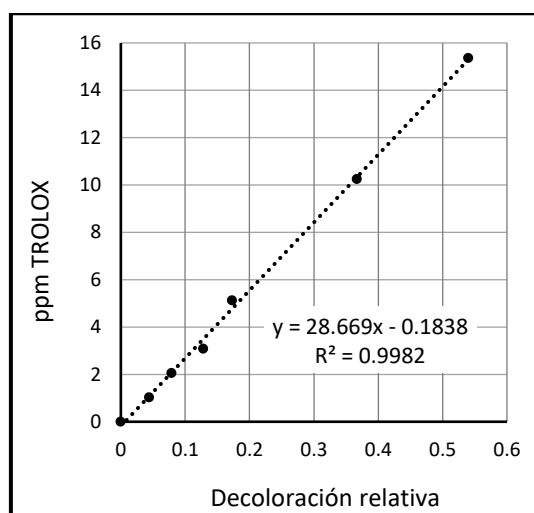


Figura 11 – Curva de calibración para DPPH.

✓ Muestras

Se transfirieron con pipeta aforada 5 ml de cada solución de muestra a distintos tubos de ensayo. Luego se agregó 5 ml de solución de DPPH, se taparon y se homogenizaron invirtiendo los tubos dos veces. Se dejaron las muestras al abrigo de la luz durante 50 minutos.

El blanco se preparó reemplazando la muestra por etanol y se le agregó 5ml de solución DPPH. Transcurrida la incubación se procedió a medir las absorbancias a la longitud de onda especificada. Finalmente se utilizaron los datos obtenidos de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Decoloración relativa (DR)} = \frac{(abs)_0 - (abs)}{(abs)_0}$$

3.3.3 Humedad

Se utilizó el método indirecto gravimétrico IRAM 15850. Se pesaron exactamente 11 g de muestra homogénea, se colocaron en estufa (Estufa Neo Line con circulación de aire) a 130 °C durante 60 minutos. Luego la muestra se enfrió en desecador hasta temperatura ambiente y se pesó. El procedimiento se repitió hasta obtener un peso constante. El análisis se llevó a cabo por triplicado.

La humedad de la muestra se expresó en porcentaje y se calculó con la siguiente fórmula:

$$H = \frac{m - (m_1 - m_0)}{m} \times 100$$

3.3.4 Materia Grasa

Se realizó empleando el método de extracción intermitente Soxhlet (AOAC 920.39). Esta extracción consiste en el lavado sucesivo de la muestra con una mezcla de éter etílico y de petróleo. La muestra molida, seca y pesada se colocó en un cartucho poroso (hecho con papel de filtro) y se introdujo en el equipo Soxhlet. El equipo consta de un balón desde donde se evapora el solvente, que llega al refrigerante por una acodadura lateral, y un tubo extractor donde se localiza la muestra y se acumula el solvente condensado, unido a un sifón que permite la recirculación del mismo. De esta manera se arrastra la materia grasa de la galletita que es determinada gravimétricamente luego de la evaporación del solvente. La fórmula que se utilizó para calcular el contenido de grasa en 100 g de muestra fue:

$$G = \frac{m_1 - m_0}{m} \times 100$$

G = contenido de materia grasa (g/100 g de muestra); m = peso de la muestra original (g); m₀ = peso del cristalizador (g); m₁ = peso del cristalizador y la materia grasa (g).

3.3.5 Proteínas

El contenido de proteínas totales se determinó siguiendo el método 2001.11 de la AOAC (AOAC, 2001). La norma se basa en el método de Kjeldahl que determina

la materia nitrogenada total presente en una sustancia química. El método consiste en realizar una digestión en la cual el nitrógeno total es convertido en sulfato de amonio ((NH₄)₂SO₄) mediante una oxidación húmeda con ácido sulfúrico (H₂SO₄) y utilizando una mezcla catalítica. En la segunda etapa se realiza una destilación alcalinizando con hidróxido de sodio (NaOH), generándose amoníaco. El amoníaco es desplazado por el vapor de agua y luego es captado en una solución de ácido bórico (H₃BO₃). Finalmente se realiza la titulación del H₂BO₃- generado con ácido clorhídrico (HCl) valorado. Para realizar la determinación se utilizó un equipo semi automático (VELP Scientifica, Italia). Se pesaron de manera exacta 0.65 g de muestra y se colocaron en tubos digestores con 10 mL de H₂SO₄ concentrado y 1.5 g de mezcla catalítica compuesta por CuSO₄.H₂O y K₂SO₄. Cada tubo se llevó al sistema digestor acoplado con un sistema para tratamiento de vapores tóxicos. En esta etapa se produce la destrucción oxidativa de la materia orgánica de la muestra y la reducción del nitrógeno orgánico a (NH₄)₂SO₄. Una vez finalizada la digestión se realizó la neutralización con NaOH y la destilación del NH₃ mediante la unidad de destilación por vapor VELP Scientifica UDK129 (Usmate, Italia). El NH₃ liberado fue capturado en un erlenmeyer conteniendo 25 mL de una solución de H₃BO₃ al 4% p/p y 4 gotas del indicador de Tashiro. Por último, se llevó a cabo la titulación utilizando HCl 0.1 M. El ensayo se realizó por triplicado. A partir del volumen gastado se calculó el contenido de nitrógeno en 100 g de muestra aplicando la siguiente fórmula:

$$N = \frac{V \cdot cc}{1000} \cdot 14 \cdot \frac{100}{P}$$

N = contenido de nitrógeno (g/100 g de muestra); V = volumen de HCl (mL);
cc = molaridad de la solución de HCl (M); 14 = peso molecular del nitrógeno (g);
P = peso de la muestra (g).

El contenido de proteínas se obtiene multiplicando N por un factor de conversión. El contenido porcentual promedio de nitrógeno en las proteínas de diversos alimentos es de 16%. El factor para convertir el valor de N en contenido de proteínas sería entonces 100/16 = 6.25. Este factor general de conversión varía, ya que las proteínas de origen animal contienen generalmente menos nitrógeno que

las de origen vegetal. El factor de conversión empleado fue: 6.25. De esta manera, el cálculo del contenido de proteínas totales en 100 g de muestra se obtiene aplicando la siguiente fórmula:

$$P = N \times f$$

P = contenido de proteínas (g/100 g de muestra); N = contenido de nitrógeno (g/100 g de muestra); f = 6.25

3.3.6 Cenizas

La determinación del contenido de cenizas se realizó a través de una incineración a alta temperatura en una mufla eléctrica (IV, O.R.L., Argentina). De este modo, la humedad es eliminada por las altas temperaturas y toda la materia orgánica es quemada dejando como remanente las cenizas compuestas por minerales inorgánicos no combustibles. Se calcinaron 5 g de muestra molida y pesada exactamente. La calcinación se realizó a una temperatura de 550°C hasta obtener cenizas blancas que se dejaron enfriar y se llevaron a desecador para luego pesar. Se empleó el método establecido por la norma AOAC 923.03. El análisis se llevó a cabo por triplicado.

$$C = \frac{m_1 - m_0}{m} \times 100$$

C = contenido de cenizas (g/100 g de muestra); m = peso de la muestra (g); m₀ = peso del crisol vacío (g); m₁ = peso del crisol con las cenizas (g).

3.3.7 Hidratos de Carbono

El contenido de Hidratos de carbono se calculó restando a 100, todos los demás componentes, como se explica en la siguiente ecuación:

$$CH = 100 - (H + P + G + C)$$

CH = Contenido de hidratos de carbono (% p/p); H = Humedad (% p/p); P = Contenido de proteínas (% p/p); G = Contenido de materia grasa (% p/p); C = Cenizas (% p/p).

3.3.8 Fibra Dietaria

Para la determinación de la fibra dietaria total se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

1. Se pesó por duplicado muestras de 1 gramo de harina con precisión de 0.1 mg en vasos de precipitado de 400 ml de altura. El peso de las muestras no debe diferir en más de 20 mg con respecto a la otra. Se adicionó 50 ml de solución buffer de fosfato (pH 6.0) a cada vaso de precipitado y se constató el pH con medidor de pH. Se ajustó si el pH no era igual a 6.0 +/- 0.1.
2. Se adiciono 50 µl de solución de α – amilasa estable al calor.
3. Se cubrieron los vasos de precipitado con papel de aluminio y se los ubico en agua hirviendo. Los vasos fueron incubados a 98 - 100 °C y se los sacudió suavemente en intervalos de 5 minutos. Se utilizó el termómetro para constatar que los 98 – 100 °C fueron alcanzados durante el tiempo requerido.
4. Se enfriaron las soluciones a temperatura ambiente.
5. Se ajustó el pH a 7.5 +/- 0.1 añadiendo 10 ml de solución de hidróxido de sodio 0.275 N. se chequeo con cinta medidora de pH.
6. Se agrego 100 µl de solución de proteasa.
7. Se cubrieron los vasos de precipitado con papel aluminio y se incubaron a 60 °C con agitación continua durante 30 minutos.
8. Se enfriaron y se agregaron 10 ml de solución de ácido clorhídrico 0.325 N para ajustar el pH a (4.5 +/- 0.2). Se chequeó con medidor de pH.
9. Se agregaron 200 µl de amiloglucosidasa, se tapó con papel de aluminio y se incubó por 30 minutos a 60 °C con agitación continua.
Para determinar el contenido de fibra dietaria insoluble
10. Se filtró la mezcla de enzimas del paso 9 a través de un crisol en un matraz de filtración.
11. Se lavo el residuo dos veces con 10 ml de agua destilada precalentada a 70 °C. Se uso agua para enjuagar el vaso de precipitado antes de lavar los residuos en el crisol. Se guardó el filtrado y los lavados por agua para la

determinación de fibra soluble. Se transfirió la solución a un vaso de precipitado de 600 ml pre-tratado (para determinar fibra soluble se continuo con el paso 16 del procedimiento para determinar el contenido de fibra dietaria soluble).

12. Se lavó el residuo dos veces con 10 ml de 78% alcohol etílico / 95 % alcohol etílico – acetona.
13. Se secó el crisol que contenía el residuo en un horno a 103 ° C durante la noche.
14. Se enfrió el crisol en el desecador por aproximadamente una hora. Se peso el crisol que contenía el residuo de fibra dietaria aproximadamente a 0.1 mg, es decir, el peso del crisol seco.
15. Determinación de cenizas y proteínas: un residuo de cada tipo de fibra se analiza para la determinación de proteínas y el segundo residuo del duplicado se analiza para la ceniza.
Para determinar el contenido de fibra dietaria soluble:
Se continúo con los pasos 1-11 del método de fibra dietaria insoluble.
16. Se pesó la solución combinada de filtrado y lavado con agua en un vaso de precipitado previamente tarado del Paso 11 del procedimiento para determinar fibra insoluble.
17. Para la precipitación de la fibra insoluble: se añadieron cuatro volúmenes 95% de alcohol etílico precalentados a 60 ° C. se utilizó una porción de alcohol etílico para enjuagar y el matraz de filtración del procedimiento de fibra insoluble (Paso 11). Se permitió que el precipitado se forme a temperatura ambiente durante 60 minutos.
18. Configuración de la filtración: se taró el crisol y prefiltro a 0.1 mg. Se filtró la digestión de enzimas del paso 17 a través del crisol.
19. Se lavó utilizando vacío. Se lavó el residuo sucesivamente con dos porciones de 15 ml de 78% alcohol etílico / 95% alcohol etílico – acetona.
20. Se secó el crisol que contenía el residuo en horno a 103 ° C durante la noche.
21. Se procedió con los Pasos 14 y 15 del método de fibra insoluble.

3.4 Análisis Estadístico

Se aplicó análisis de varianza para evaluar diferencias entre las actividades antioxidantes, seguidas de las pruebas de Tukey y de Fisher para determinar diferencias significativas, mediante el uso del software MiniTab (v17). Las correlaciones se calcularon acorde al coeficiente de correlación de Pearson.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 – Polifenoles Totales (CPT)

Se midió la absorbancia de la solución de cada muestra de extracto y se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 6 – Resultados obtenidos al medir la absorbancia para el método Folin Ciocalteu

variedad	Secado (°C)	Fenoles Totales mg AG/ 100g harina	variedad	Secado (°C)	Fenoles Totales mg AG/100g harina
Benicia	60	1714	Festival	60	1821
Benicia	60	1719	Festival	60	1892
Benicia	60	1916	Festival	60	1940
Benicia	60	1927	Festival	60	1943
Benicia	60	1941	Festival	60	1984
Benicia	60	1953	Festival	60	1993
Benicia	70	1582	Festival	70	1646
Benicia	70	1645	Festival	70	1762
Benicia	70	1715	Festival	70	1771
Benicia	70	1719	Festival	70	1776
Benicia	70	1747	Festival	70	1707
Benicia	70	1797	Festival	70	1811
Benicia	80	1368	Festival	80	1462
Benicia	80	1396	Festival	80	1471
Benicia	80	1397	Festival	80	1483
Benicia	80	1402	Festival	80	1492
Benicia	80	1421	Festival	80	1500
Benicia	80	1432	Festival	80	1514

En la Figura 12 se muestran los diagramas de caja y bigotes para compuestos polifenólicos totales (CPT) para las dos variedades de harina de frutilla y los tres tratamientos térmicos realizados. Se observa que para ambas variedades el valor de CPT disminuye a medida que aumenta la temperatura del tratamiento térmico utilizado.

Al comparar el CPT para una misma variedad, ya sea Festival o Benicia, se encontraron diferencias significativas para las tres temperaturas de secado ($p = 0,05$), indicando la influencia de la temperatura en la modificación de los compuestos fenólicos.

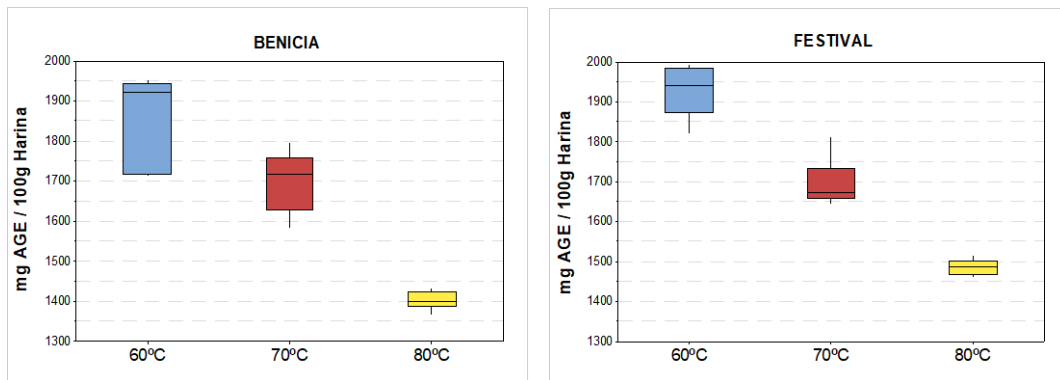


Figura 12 - Mediana y dispersión de los valores de CPT de harina de frutilla para las variedades Benicia y Festival secadas a 60°C, 70°C y 80°C.

Si se comparan los CPT entre una variedad y otra, no se encontraron diferencias significativas para temperaturas de secado de 60 °C y 70 °C (ANOVA, $p > 0,05$). En cambio, se encontraron diferencias significativas para temperaturas de secado de 80 °C ($p = 0,05$). Como se observa en la Figura 13, el contenido de CPT fue superior en la variedad Festival, cuando se secó a esta temperatura.

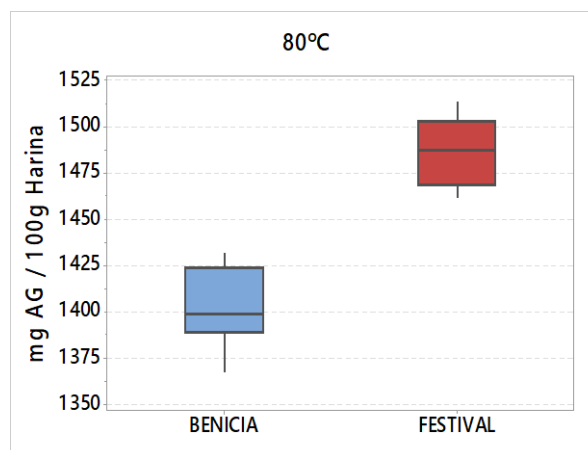


Figura 13 – Mediana y dispersión de los valores de CPT de harina de frutilla secada a 80 °C.

Los antecedentes publicados acerca del contenido de CPT se refieren a fruta fresca. Hernanz (2007) reportó valores comprendidos entre 455,03 y 1138,62 mg AGE/100 g fruta fresca, para cinco variedades frescas de frutillas; Wang (2000), por su parte, encontró un contenido de 103 mg AGE/100 g de frutilla fresca y Rekika y col. (2005) informó entre 629,9 y 937,1 μg AGE/g de fruta fresca, para nueve variedades de frutillas. Para harinas de otros vegetales, Santamaría-Gómez y col. (2018) encontraron valores inferiores a los detectados en este estudio en harina de papa roja (75 a 111 mg AGE/100g harina).

4.2 Capacidad antioxidante (DPPH)

Los resultados que se obtuvieron son los siguientes:

Tabla 7 – Resultados obtenidos al medir la absorbancia para el método DPPH.

variedad	Secado (°C)	DPPH mg Trolox/ 100g harina	variedad	Secado (°C)	DPPH mg Trolox/100g harina
Benicia	60	585	Festival	60	533
Benicia	60	612	Festival	60	613
Benicia	60	730	Festival	60	725
Benicia	60	778	Festival	60	762
Benicia	60	805	Festival	60	771
Benicia	60	823	Festival	60	823
Benicia	70	424	Festival	70	420
Benicia	70	451	Festival	70	459
Benicia	70	541	Festival	70	523
Benicia	70	537	Festival	70	587
Benicia	70	603	Festival	70	624
Benicia	70	646	Festival	70	650
Benicia	80	354	Festival	80	377
Benicia	80	372	Festival	80	415
Benicia	80	452	Festival	80	497
Benicia	80	487	Festival	80	534
Benicia	80	524	Festival	80	593
Benicia	80	570	Festival	80	612

Los valores medios reportados de DPPH se indican en la Tabla 8. No se encontraron antecedentes publicados sobre DPPH en harina de frutilla o en fruta fresca.

Tabla 8 – Valores medios de DPPH en harina de frutilla de variedad Benicia y Festival secada a 60°, 70° y 80°.

	Benicia mg TROLOX eq./100 g de harina	Festival mg TROLOX eq./100 g de harina
60 °C	722 ± 101	705 ± 110
70 °C	534 ± 85	544 ± 92
80 °C	460 ± 85	505 ± 94

En la Figura 14 se muestran los diagramas de caja y bigotes para DPPH para las dos variedades de harina de frutilla y los tres tratamientos térmicos realizados. Al igual que para CPT, a medida que aumenta la temperatura del tratamiento térmico, los valores de DPPH disminuyen.

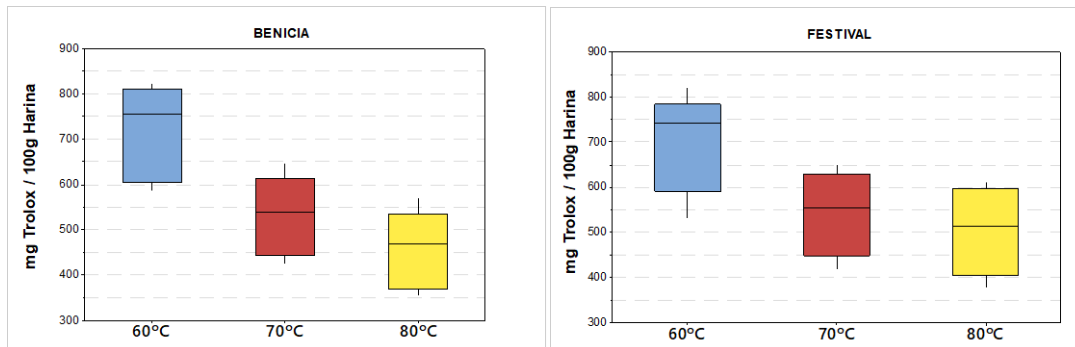


Figura 14 - Mediana y dispersión de los valores de DPPH de harina de frutilla para las variedades Benicia y Festival secadas a: 60°C, 70°C y 80°C.

El análisis estadístico (ANOVA) de los resultados, no permitió encontrar diferencias significativas ($p > 0,05$) para las tres temperaturas de secado, si se compara una variedad con otra. En cambio, se encontraron diferencias significativas en el valor de DPPH, cuando se comparó una misma variedad secada a 60 °C, respecto a las otras temperaturas de trabajo. Esto indicaría que la temperatura puede afectar el contenido de DPPH, independientemente de la variedad de frutilla.

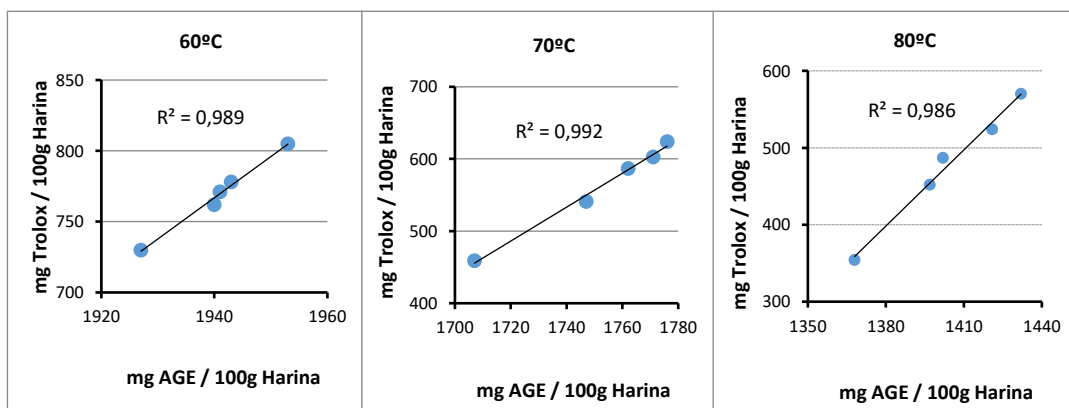


Figura 15 - Correlación entre DPPH y CPT de harina de frutilla secada a 60°C, 70°C y 80°C.

En la Figura 15 se muestra la correlación entre la actividad antioxidante evaluada como DPPH y CPT. Se aprecia que si bien las dos determinaciones analíticas cuantifican especies químicas distintas, hay un estrecha relación entre ambos parámetros (coeficiente de determinación superior a $R^2=0,98$ en las tres

temperaturas), indicando que los compuestos fenólicos serían los responsables de la actividad antioxidante de estas harinas. Sería factible seleccionar uno solo de estos dos parámetros para controlar la evolución de la capacidad antioxidante durante el secado.

4.3 Humedad, Materia Grasa, Proteínas, Cenizas, Fibra Dietaria, HdC.

Los resultados que se obtuvieron luego de la determinación de estos seis parámetros para ambas variedades son los siguientes:

Tabla 9 – Resultados de Humedad, Materia Grasa, Proteínas, Cenizas, Fibra dietaria e hidratos de carbono.

Secado (°C)	Humedad Harina (g/100g)	Materia Grasa (g/100g harina)	Proteínas totales (g/100g Harina)	%Cenizas	Fibra Dietaria	Hidratos de carbono
60	21,84	3,2	5,1	4,86	0,89	64,11
70	17,89	3,1	5,1	4,82	0,86	68,23
80	16,48	3,0	5,0	4,75	0,87	69,90

Se observa que la humedad disminuye al aumentar la temperatura de secado. Los otros valores no presentan diferencias significativas según la variación de temperatura de secado, observándose una mayor proporción de hidratos de carbono en la harina secada a temperatura más alta.

5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos confirman la capacidad antioxidante de las frutillas, que se expresa también en las harinas obtenidas por deshidratación del fruto fresco. Temperaturas superiores a 70 °C disminuyen el CPT y la capacidad antioxidante, por lo que resultaría apropiado no superar esta temperatura para el tratamiento de secado y optimizar las condiciones de deshidratación de los frutos frescos.

Confirmada la capacidad antioxidante de la harina de frutillas, será conveniente ensayar diferentes usos de estas harinas como ingredientes alimentarios.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez, P. S., Mistretta, M. G., Chemes, E. D. (2010). Evaluación del contenido de polifenoles y de actividad antioxidante en frutillas y arándanos
- Ashwell M. (2005). Conceptos sobre Alimentos Funcionales. ILSI Europe Concise Monograph Series, ILSI Press.
- Barrionuevo Barrionuevo, M. E. (2011). Elaboración y Evaluación Nutricional de Galletas con Cebada y Frutilla Deshidratada (Bachelor's thesis).
- Busso Casati C. (2016). Estabilidad de polifenoles y caracterización físicoquímica y sensorial en pulpas de frutos rojos en relación a los procesos tecnológicos para la obtención de alimentos e ingredientes alimenticios. Facultad De Ciencias Agrarias Pontificia Universidad Católica Argentina. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Disponible en:
http://repositorioubasibbi.uba.ar/gsd/collect/posgrauba/index/assoc/HWA_1425.dir/1425.PDF
- Bulter, L.G (1993). Protein-polyphenol interactions: nutritional aspects. Proceedings of the 16th International Conference of Grape Polyphenols, Vol 16, II, 11.
- CAA (2017). Código Alimentario Argentino. Capitulo IX: Alimentos farináceos, cereales, harinas y derivados.
- CAA (2017). Código Alimentario Argentino. Capitulo V: Normas para la rotulación y publicidad de alimentos.
- Cantillano, R. F. F., Avila, J. M. M. D., Peralba, M. D. C. R., Pizzolato, T. M., & Toralles, R. P. (2012). Actividad antioxidante, compuestos fenólicos y ácido ascórbico de frutillas en dos sistemas de producción. Horticultura brasileira. Botucatu, SP. Vol. 30, n. 4 (Oct./Dec. 2012).
- Castañeda Ovando, A, Pacheco Hernández, M.L, Páez Hernández, M.E, Rodríguez, J.A. y Galán-Vidal, C.A. (2009). Chemical Studies of Anthocyanins: A Review. Food Chemistry 113 (4), 859-871. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.09.001.
- Chordi Barrufet, S. (2013) Contenido fenólico y capacidad antioxidante de fresa mínimamente procesada sometida a tratamientos de conservación por pulsos de luz de alta intensidad.
- Croteau, R.,Kutchan,T.M, y Lewis, N.G.(2000).Natural products En B.B.Buchanan, W.Gruissem y R.L. Jones (eds.), Biochemistry and Molecular Biology of Plants (pp.1250-1319).Oxford, Reino Unido: Wiley.
- Comunidad de expertos en nutrición 2019. Disponible en:

- Coronado, M. H.; Vega, S.; Gutiérrez, L. R.; Vázquez, T.F. y Radilla, C. V. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de Nutrición* vol. 42
- <http://agro.unc.edu.ar/~paginafacu/Catedras/oleo/apuntes/frutilla/Morfologia%20frutilla.pdf>
- Ford, A., y Dahl, W. (2012). Alimentos funcionales. *Food Science and Human Nutrition*, 12(17), 1-2.
- Giusti, M.M., Rodríguez-Saona, L. y Wrolstad, R.E. (1999). Molar Absorptivity and Color Characteristics of Acylated and non Acylated Pelargonidin-based Anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Hernanz, D., Recamales, A., Melendez -Martinez, A., Gonzalez-Miret, ML., Heredia, FJ. (2007) Assessment of the differences in the phenolic composition of five strawberry cultivars (*Fragaria × ananassa*) grown in two different soilless systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55:1846-52.
- INTI. 2005. Instituto Nacional de Tecnología Industrial. Rotulado Nutricional aptos para consumidores. Disponible en:
- <http://www.inti.gob.ar/sabercomo/sc26/inti5.php>
- Kallner, A., Hartmann, D., Horning, D (1979). Steady-state turnover and body pool of ascorbic acid in man. *Am J Clin Nutr* 32, 530-539.
- Kong, J.-M., Chia, L.-S., Goh, N.-K., Chia, T.-F. y Brouillard, R. (2003). Analysis and Biological Activities of Anthocyanins. *Phytochemistry*, 64 (5), 923-933. doi: 10.1016/S0031-9422(03)00438-2.
- Krinsky, N. I., Beecher, G. R., Burk, R. F., Chan, A. C. et al. (2000). Dietary Reference Intakes (DRIs) for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids. Washington, D. C: National Academy Press.
- Kuklinski, C (2003). *Nutrición y bromatología*. Barcelona: Omega. ISBN 84282-1330.
- Levine, M., Rumsey, S., Wang, Y., Park, J., Kwon, O., Xu, W., Amano, N (1996). Vitamin C. Present Knowledge in Nutrition, 7th edition. Washigton, DC: ILSI Press, 146-159.
- Lopez Aranda J. M., Soria C., Miranda L., Dominguez P., Medina Minguez J. J. (2015). Las nuevas variedades de fresa de la universidad de Florida
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A. y Rémésy, C. (2005). Bioavailability and Bioefficacy of Polyphenols in Humans. I. Review of 97 Bioavailability Studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*.
- Manzoni, C. y Bernasconi, P. (23/04/2016). Frutilla, una delicia que busca crecer. *La Nación, Economía*.

Ministerio de agroindustria, secretaria de valor agregado. (2017). Cadenas de frutillas. Recuperado de:

http://www.alimentosargentinos.gob.ar/HomeAlimentos/Cadenas%20de%20Valor%20de%20Alimentos%20y%20Bebidas/informes/Ficha_cadena_FRUTILLAS%20_Mayo%20_2017.pdf

Moreiras, O., Carbajal, A., Cabrera, L., Cuadrado, C. (2006). Tablas de composición de alimentos. 10a ed. Madrid: Pirámide. ISBN 84-368-20509.

Ochoa, C.I. y Ayala, A.A. (2004) Los flavonoides: apuntes generales y su aplicación en la industria de alimentos.

Olagnero, G., Abad, A., Bendersky, S., Genevois, C., Granzella, L., Montonati, M., (2007). Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos. Functional foods: Fiber, Prebiotics, Probiotics and Symbiotics. Diaeta. 25. 20.

Pombo, M., (2009). Irradiación de frutillas con UV-C: efecto sobre la síntesis de proteínas, degradación de la pared celular y mecanismos de defensa (tesis doctoral). Universidad Nacional de General San Martín, Buenos Aires, Argentina. Recuperado de:

https://www.researchgate.net/profile/Pedro_Civello/publication/242671085_Irradiacion_de_frutillas_con_UVC_efecto_sobre_la_sintesis_de_proteinas_degradacion_de_la_pared_celular_y_mecanismos_de_defensa/links/552d2b350cf2e089a3ad3ede/Irradiacion-de-frutillas-con-UV-C-efecto-sobre-la-sintesis-de-proteinas-degradacion-de-la-pared-celular-y-mecanismos-de-defensa.pdf

Rein, M. (2005). Copigmentation Reactions and Color Stability of Berry Anthocyanins (tesis doctoral). University of Helsinki, Helsinki, Finlandia.

Reiss, R., Johnston, J., Tucker, K., De Sesso, J.M.y Keen, C.L.(2012).Estimation of Cancer Risks and Benefits Associated with a Potential Increased Consumption of Fruits and Vegetables. Foodand Chemical Toxicology.

Rekika, D., Khanizadeh, S., Deschenes, M., Levasseur, A., Charles, M.T. (2005). Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Selected Strawberry Genotypes. HortScience 40 (6): 1777-81.

Roberfroid, M. B. (2000). Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. The American journal of clinical nutrition, 71(6), 1660S-1664S.

Salisbury, F.C. y Ross, C. (1994). Fisiología vegetal (trad. V. González Velázquez). México D.F., México: Grupo Editorial Iberoamericana S.A.

Santamaría-Gómez, J.M, Piloni-Martini ,J., Quintero-Lira, A., Bernardino-Nicator, A., Guemes-Vera, N. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante antes y después del

proceso de extrusión. Disponible en:
<http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume3/4/8/67.pdf> (09/05/2019).

Seeram, N.P., Momin, R.A., Bourquin, L.D. y Nair, M.G. (2001). Cyclooxygenase Inhibitory and Antioxidant Cyanidin Glycosides from Cherries and Berries.

Silveira Rodríguez M B., Monereo Megías S., Molina Baena. Functional Foods and Optimum Nutrition: A Way or Away? Rev. Esp. Salud Pública [Revista en Internet]. 2003 [citado 2016 Mar 04]; 77(3): 317-331.

Taiz, L y Zeiger, E. (2010). Plant Physiology (5th ed.). Sunderland, MA: Sinauer Associates.

Talanen, M (1995). Vitaminas y minerales en la salud y en la nutrición. Ed. Acribia, Zaragoza.

Valla, J. J. (1995). Botánica. Morfología de las plantas superiores, 1.

Vicente A.R., Concellón A., Viña S.Z., Lemoine M.L., Rodoni L., Zaro M.J., Hasperue J., Massolo J.F., Ortiz C.M., González Forte L., Quinteros N., Valerga L., Darré M., Ortiz Araque L.C., Pintos F., (2010). Alteraciones de los polifenoles en la etapa de poscosecha.

Wang, S.Y., Lin, H. (2000). Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. Journal of Agricultural and Food Chemistry em. (48):140-6.

Wang, S., Melnyk, J.P., Tsao, R. y Marccone M.F. (2011). How Natural Dietary Antioxidants in Fruits, Vegetables and Legumes Promote Vascular Health. Food Research International, 44 (1), 14-22.