

POTENCIACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE FRESA (*Fragaria ananassa* Duch.) POR INCORPORACIÓN DE VITAMINA E UTILIZANDO LA TÉCNICA DE IMPREGNACIÓN A VACÍO

ENHANCEMENT OF THE ANTIOXIDANT CAPACITY OF STRAWBERRIES (*Fragaria ananassa* Duch.) BY INCORPORATION OF VITAMIN E USING THE VACUUM IMPREGNATION TECHNIQUE

Ana María RESTREPO D.¹, Misael CORTÉS R.¹, Benjamín A. ROJANO ^{2*}

Recibido: Agosto 19 de 2008 Aceptado: Junio 06 de 2010

RESUMEN

El presente estudio evaluó la capacidad antioxidante y el contenido de vitamina E en fresas fortificadas con vitamina E sintética (dl- α -tocoferol acetato) por la técnica de impregnación al vacío. La vitamina fue cuantificada por HPLC y sus niveles registrados por cada 100 g fruta fresca. La capacidad antioxidante se determinó durante el almacenamiento, en muestras envasadas con y sin vacío, por los métodos DPPH[•], FRAP y Folin-Ciocalteu. El proceso de impregnación en la fresa permitió alcanzar niveles de $19,12 \pm 3,01$ mg de dl- α -tocoferol acetato/100 g de fruta fresca, sin que el tiempo de almacenamiento ni el tipo de envasado ocasionaran efectos significativos en ella. Estos resultados fueron coherentes con el incremento de la capacidad antioxidante expresados como valores DPPH[•], FRAP y Folin-Ciocalteu de 14,7%, 82,2% y 56,8%, respectivamente. Los resultados reflejaron la potenciación de la capacidad antioxidante de la fresa por el efecto de la incorporación de la vitamina E mediante el proceso de impregnación al vacío.

Palabras clave: alimentos funcionales, fresa, antioxidantes, ingeniería de matrices.

ABSTRACT

This study evaluated the antioxidant capacity and vitamin "E" content in strawberries fortified with synthetic vitamin E (dl- α -tocopherol acetate) by vacuum impregnation technique. The vitamin is quantified by HPLC and their levels are recorded per 100 g fresh fruit. The antioxidant capacity was determined during storage in samples packaged with and without vacuum, by the methods DPPH, FRAP and Folin-Ciocalteu. The impregnation process can achieve levels in strawberry of 19.12 ± 3.01 mg of vitamin E dl- α -tocopherol acetate/100 g in fresh fruit, with no significant effect over time of storage or the type of packaging. These results were consistent to increased antioxidant capacity as values DPPH, FRAP and Folin-Ciocalteu in the order of 14.7%, 82.2% and 56.8% respectively. In general, the results reflect a strengthening of the antioxidant capacity of strawberries, by the effect of vitamin E incorporated by the vacuum impregnation process.

Keywords: Functional foods, strawberry, antioxidants, matrix engineering.

1 Departamento de Ingeniería Agrícola y de Alimentos. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. A.A. 568. Medellín, Colombia.

2 Grupo de Productos Naturales y de los Alimentos. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. A.A. 3840. Medellín, Colombia.

* Autor a quien se debe dirigir la correspondencia: brojano@unal.edu.co

INTRODUCCIÓN

Los productos vegetales, como las frutas y las hortalizas, representan una alternativa importante como fuente potencial de antioxidantes porque contienen una variedad de compuestos químicos muy activos, en bajas concentraciones, principalmente polifenoles como los flavonoides y carotenoides (antocianinas, catequinas, catsantina, quercetrinas, luteínas, β -caroteno, α -caroteno, licopeno, entre otros (1-4). Los antioxidantes son sustancias que disminuyen las reacciones de oxidación causadas por el oxígeno atmosférico en diferentes biomoléculas. La oxidación provoca cambios en los atributos de calidad, disminuyendo la vida útil de numerosos productos de las industrias de los alimentos, los cosméticos y los polímeros.

El interés en las propiedades antioxidantes de las frutas es reciente. Algunos autores han evaluado la capacidad atrapadora de radicales libres y el contenido de fenoles de algunas frutas tropicales, como mora, mango de azúcar, guayaba, granadilla, fresa, maracuyá, uchuva, lulo, piña y mortiño, entre otros (1, 5, 6).

Las tendencias mundiales en alimentación en los últimos años indican un interés acentuado de los consumidores hacia aquellos alimentos que, además de su valor nutritivo, aporten beneficios a las funciones fisiológicas del organismo humano. Estos alimentos entran en la gama de los alimentos funcionales (AF) (7).

Los AF son alimentos naturales o elaborados que no sólo tienen características nutricionales, sino que además ejercen funciones específicas sobre la salud, actuando como agentes que previenen o reducen el riesgo de contraer enfermedades (8, 9). El sistema regulatorio japonés los reconoce "*alimentos de uso específico para la salud*" (foods for specific health use, FOSHU), e identifica once categorías de ingredientes con actividad fisiológica, entre ellos los antioxidantes (10). El incremento en el consumo de frutas y hortalizas en los últimos años está asociado con una baja incidencia de enfermedades degenerativas, cáncer, enfermedades del corazón, inflamación, artritis, disminución del sistema inmunológico, trastorno cerebral y cataratas (3).

Los tocoferoles son los principales compuestos que exhiben actividad de vitamina E, y los antioxidantes naturales más importantes permitidos para uso en alimentos, que atrapan los radicales libres. Éstos son especies muy inestables con un

electrón desapareado que puede reaccionar con cualquier otra molécula, como ácidos grasos de las membranas de las células, proteínas, vitaminas y ácidos nucleicos de los genes, etc. (11). La vitamina E es un compuesto fisiológicamente activo (CFA), muy escaso en la mayoría de las frutas, que puede incorporarse en matrices alimentarias con características porosas a partir de la ingeniería de matrices, utilizando la técnica de impregnación a vacío (IV) (12). La ingeniería de matrices permite la rápida transferencia de masa al interior de las estructuras, de disoluciones, dispersiones o emulsiones, dando lugar a nuevos alimentos con características organolépticas y propiedades funcionales y nutraceuticas mejores (13, 14).

La fresa es un fruto perteneciente a la familia *Rosaceae*. Se considera alimento nutraceutico, por ser una buena fuente de compuestos antioxidantes especialmente hidrosolubles, como antocianinas, ácidos fenólicos, vitamina C, entre otros, que tienen funciones específicas como protectores de la oxidación de muchos organelos (15, 16). Se ha encontrado, en ratas, que una buena suplementación con jugos de fresa reduce la propagación de tumores del esófago (17). El ácido eláxico y sus derivados, de alta concentración en la fresa, son preventores químicos que actúan estimulando la detoxificación de enzimas y previniendo la interacción de especies carcinogénicas con el ADN (18, 19).

El objetivo del presente estudio fue evaluar la incidencia de la incorporación de la vitamina E en la potenciación de la capacidad antioxidante de la fresa utilizando la ingeniería de matrices como metodología de obtención de alimentos funcionales a través de la técnica IV.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fresas

Se utilizaron fresas enteras de la variedad Camarrosa, cultivadas en el municipio de Santa Rosa de Osos, Antioquia, Colombia. Los frutos recolectados tenían grado de madurez 5, según la Norma Técnica Colombiana NTC 4103/97 (20), exhibían características homogéneas de color, tenían un peso aproximado de $12,0 \pm 2,0$ g, y fueron almacenados a 4°C.

Reactivos capacidad antioxidante

DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidracil), 2, 4, 6-tri(2-piridil) triazina (TPTZ), de Aldrich Chem. Co (Millw WI), reactivo de Folin Ciocalteau, metanol,

fosfato ácido de sodio de Merck (Darmstadt Germany), y agua grado HPLC.

Impregnación al vacío

El componente fortificante con actividad de vitamina E (dl- α -tocoferol acetato, pureza 96,9%) fue emulsificado en una fase acuosa de disolución isotónica de sacarosa con 20 °Brix, utilizando NaCl como estabilizante de las fuerzas electrostáticas de la emulsión (21) y dos tensoactivos no iónicos: Tween 80 (polioxietileno sorbitano monooleato, BHL=15) y Span 60 (monoesterato de sorbitano, BHL= 4,7). La emulsión se preparó en un homogenizador Ultra-Turrax Tipo 45 S5 (Janke & Kunkel IKA-Labortechnik, Germany) a 10.000 rpm, durante 20 minutos, utilizando un recipiente de vidrio con baño de enfriamiento. Su composición final fue: vitamina E: 0,78%, Tween 80: 0,17%, Span 60: 0,16%, NaCl: 0,05%, sacarosa: 14,00%, agua; 84,83%).

Los ensayos de IV se llevaron a cabo en un sistema conformado por una cámara de vidrio acoplada por medio de mangueras sanitarias a un eyector, el cual proporcionó un vacío de 8,4" Hg (presión barométrica local = 25,4" Hg), y fue monitoreado durante 15 minutos en dos etapas: en la primera, las fresas fueron sumergidas en la emulsión y sometidas a vacío durante 10 minutos en la cámara de impregnación; en la segunda etapa, se restableció la presión atmosférica durante 5 minutos. Las fresas impregnadas fueron empacadas con vacío (CV) y sin vacío (SV) y almacenadas a 4°C durante 9 días.

Extracción y cuantificación de vitamina E

Las frutas frescas e impregnadas fueron sometidas a un procedimiento de extracción y cuantificación de la vitamina E, según el método de Kmostak y Kurtz, 1993 (22), modificado por Cortés, 2004 (23). La cuantificación de la vitamina E se determinó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en un equipo Agilent 1100. Las condiciones de operación fueron: columna Synergi 4 μ m Hydro-RP 80 (código 00G-4375-E0), dimensiones 250 x 4,6mm ID; fase móvil (acetonitrilo:metanol, 75:25), velocidad de flujo 2 mL/min, método: isocrático, temperatura: ambiente (25°C), detector: UV visible a 280 nm. La curva de calibración se determinó a partir del estándar de referencia dl- α -tocoferol acetato 99,9% (Supelco).

Preparación de los extractos de fruta

Para cada ensayo sobre la capacidad antioxidante, las muestras se prepararon con la parte comestible

de la fruta a diferentes concentraciones. La fresa se extrajo con una solución acuosa de Tween 80 (1% p/p), NaCl (0,05% p/p). Las muestras fueron homogenizadas, filtradas y centrifugadas a 3.500 rpm durante 20 minutos.

Contenido de fenoles totales

La determinación de fenoles se efectuó por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu modificado por Palomino *et al.*, 2009 (24). Se construyó una curva patrón usando como estándar ácido gálico. Se diluyó el extracto a una concentración en la cual el contenido de fenoles se ajustó al intervalo de la curva patrón. A 50 μ L de extracto se adicionaron 800 μ L de agua y 100 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu y se incubó por 6 minutos, luego se agregaron 50 μ L de solución de Na₂CO₃ (20% m/v) y se dejó reaccionar durante 60 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se realizó la lectura a 765 nm, y los resultados fueron expresados como mg de ácido gálico/100 g de extracto.

Actividad atrapadora del radical libre DPPH•

El DPPH• es un radical estable de color violeta, cuya absorbancia disminuye al ser reducido por un antioxidante (AH):



La capacidad antioxidante de los extractos de fresa se cuantificó midiendo el grado de decoloración de una disolución metanólica de DPPH• (20 mg/L), a una longitud de onda de 515-517 nm (25). El ensayo se llevó a cabo utilizando 100 μ L de extracto y 900 μ L de la solución de DPPH•. Cada tratamiento se evaluó por triplicado, y como referencia del reactivo se usó la misma cantidad de DPPH• y 100 μ L del solvente de la muestra. Después de 30 minutos de reacción a temperatura ambiente y en la oscuridad, se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 517 nm. La curva de referencia se construyó usando trolox como patrón primario. Los resultados se expresan como equivalentes trolox (TEAC).

Ensayo FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power)

Este ensayo se llevó a cabo en un buffer ácido acético-acetato de sodio (pH 3,4) que contiene TPTZ y FeCl₃ (26). Se utilizaron 900 μ L de ésta solución, 50 μ L de muestra y 50 μ L de agua destilada. Después de 30 minutos de reacción se determinó la absorbancia a una longitud de onda de 593 nm. Para cada muestra se tuvo en cuenta la

lectura de la absorbancia del blanco sin cromóforo, de la misma manera que en las pruebas anteriores. La curva de referencia se construyó usando ácido ascórbico como patrón primario. Las actividades de las muestras en estudio se expresaron como valor FRAP (mg de ácido ascórbico/100 g de muestra) o capacidad antioxidante expresada como equivalentes de ácido ascórbico (AEAC).

Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados a través de una ANOVA, utilizando el método LSD (mínimas diferencias significativas) como método de comparaciones múltiples, con un nivel de confianza del 95% ($\alpha=0,05$). El análisis de varianza realizado con el paquete estadístico STATGRAPHICS PLUS versión 5.1. Las muestras evaluadas se denominarán así: fresas frescas (F-F), fresas recién impregnadas (FIV-0), fresas impregnadas envasadas al vacío y almacenadas 9 días (FIV-CV), fresas impregnadas envasadas sin vacío y almacenadas 9 días (FIV-SV).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de la vitamina E

La determinación analítica por HPLC de los componentes con actividad de vitamina E identificó los tiempos de retención en 11,27 y 12,94 minutos, para RRR- α -tocoferol (vitamina E natural) y dl- α -tocoferol acetato (vitamina E sintética) respectivamente. El resultado obtenido para la F-F como RRR- α -tocoferol fue: 0,27 mg/100 g de F-F.

La figura 1 presenta los valores medios con intervalos LSD (95%) de la concentración de vitamina E ($C_{vit.E}$) para los diferentes tratamientos expresados, como mg dl- α -tocoferol acetato/100 g de F-F. El ANOVA no presentó diferencias significativas por efecto del factor envasado (CV y SV), ni por el tiempo de almacenamiento, gracias a la estabilidad de la vitamina E sintética y a la protección que ofrece esta matriz al servir como medio de encapsulamiento de la vitamina E ante los factores externos de degradación (oxidación, luz, temperatura, entre otras) (19). Por esa razón, para analizar la influencia del proceso de impregnación se calculó un promedio de los valores de $C_{vit.E}$ obtenidos para las FIV-0, FIV-CV y FIV-SV, y se obtuvo una concentración de $19,12 \pm 3,01$ mg de vitamina E sintética/100 g F-F.

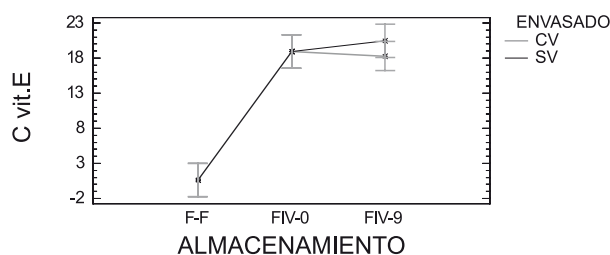


Figura 1. Concentración de vitamina E sintética/100 g F-F, para los diferentes tratamientos. F-F: fresa fresca, FIV-0: fresa recién impregnada, FIV-9 fresa impregnada a tiempo 9 días.

Los resultados reflejan la efectividad de la metodología de la ingeniería de matrices al aplicar la técnica de impregnación al vacío para la obtención de alimentos funcionales fortificados con vitamina E. Esta metodología ha sido aplicada en otras matrices alimentarias, como mangos y manzanas, obteniendo también resultados satisfactorios (14, 23).

Evaluación de la capacidad antioxidante de fresa

La figura 2 representa los valores medios con intervalos LSD (95%) para la evolución de la capacidad antioxidante de fresa en función de la impregnación y del almacenamiento durante 9 días con y sin vacío. La actividad antioxidante se expresó como la capacidad para atrapar el radical libre DPPH• (valores TEAC, μ mol trolox/100 g muestra), la capacidad para reducir el ión Fe^{3+} por el método FRAP (valores AEAC, mg ácido ascórbico/100 g muestra), y el contenido de fenoles totales (mg ácido gálico/100 g muestra).

La eficiencia de la IV con vitamina E para la fresa se puede apreciar en el significativo aumento de cada uno de los valores de la actividad antioxidante, determinada por las diferentes metodologías para las F-F y FIV-0. Dicho incremento se debe a la presencia de vitamina E, que inmediatamente expresa su capacidad reductora y atrapadora de radicales libres. La capacidad antioxidante en las FIV-0 respecto a las F-F aumenta en un 14,7% en valores TEAC por el método DPPH•; los valores AEAC por el método FRAP aumentan en un 82%, mientras que los fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu incrementan en un 56,8%.

Se puede observar que todas las formas de medir la capacidad antioxidante son afectadas de forma diferente por la presencia de la vitamina E; sin embargo, los valores AEAC por la técnica FRAP son más sensibles, y se puede sugerir esta técnica como

método de trabajo para monitorear los efectos de la IV de frutas en futuras investigaciones. La variación de los valores en las matrices de trabajo se debe al efecto del aumento de vitamina E al impregnar.

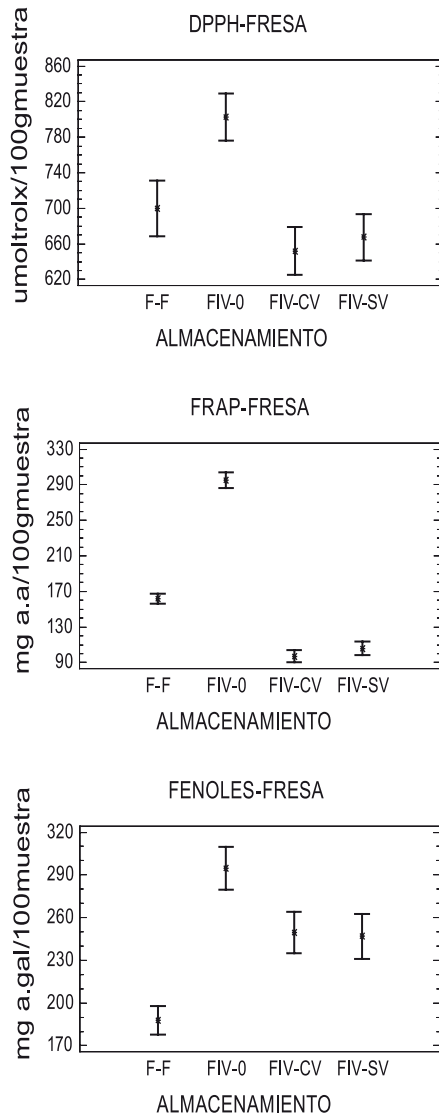


Figura 2. Evolución de la capacidad antioxidante con DPPH, FRAP y contenido de fenoles totales. F-F: fresas frescas, FIV-0: fresas recién impregnada, FIV-CV: fresas impregnadas envasadas con vacío y almacenadas 9 días, FIV-SV: fresas impregnadas envasadas sin vacío y almacenadas 9 días, a.a: ácido ascórbico, a. gal: ácido gálico.

Por otro lado, se observa que el factor tiempo de almacenamiento afecta significativamente la capacidad antioxidante de las fresas, encontrándose una disminución en el contenido de fenoles totales y en los valores TEAC por DPPH• y AEAC por FRAP. Este fenómeno se asocia principalmente con la degradación de compuestos propios del fruto, tales

como: el ácido ascórbico y elálgico; antocianinas tipo p-cumaroil-glucosa, dihidroflavonol, quercetin-3-glucuronido, kampfèrol y kampfèrol-3-glucuronido (27, 28), y a la oxidación de los fenoles mayoritarios a bajas presiones de oxígeno.

Este resultado se puede concebir de manera independiente cuando la impregnación se realiza con vitamina E sintética, la cual es muy estable a las condiciones experimentales del estudio. La actividad antioxidante puede igualmente estar afectada por la permeabilidad al O₂ del empaque utilizado. Incluso bajo presiones reducidas de oxígeno, las enzimas polifenoloxidasas (PPO) tienen una alta actividad en fresa y pueden consumir compuestos fenólicos, como ácido elálgico, y de antocianinas tipo p-cumaroil-glucosa, dihidroflavonol, quercetin-3-glucuronido, kampfèrol y kampfèrol-3-glucuronido, entre otros, generando productos del pardeamiento enzimático que tienen muy poca actividad antioxidante (27-29).

La mayor disminución de la actividad antioxidante se encuentra en los valores AEAC por la técnica FRAP; un método específico para medir la capacidad reductora, que en este caso refleja los mayores cambios en el proceso de conservación, porque puede medir no sólo la degradación del ascórbico sino también la oxidación de los compuestos fenólicos y polifenólicos presentes en las fresas.

El pH de la fresa, correspondiente a 3,25, resulta conveniente en la determinación de la capacidad antioxidante por cualquiera de los métodos; para el ensayo FRAP, que se realiza a pH= 3,6, podría incrementar el potencial redox del medio manteniendo la solubilidad del hierro (Fe⁺³), que reacciona con el agente reductor (30); además, a estos valores de pH, puede haber mayor expresión de los compuestos polifenólicos que pueden ser hidrolizados bajo esas condiciones (31). Para el método DPPH, cuyo mecanismo funciona por transferencia de hidrogeno, las condiciones de pH bajas favorecen la protonación del grupo fenólico.

CONCLUSIONES

El proceso de IV se presenta como una metodología efectiva de fortificación de fresas con vitamina E, alcanzando niveles de 19,12 ± 3,01 mg de dl- α-tocoferol acetato /100 g de F-F, sin sufrir en su estabilidad por efecto de los factores tiempo y tipo de envasado. La capacidad antioxidante en las fresas está afectada por el proceso IV de vitamina E, que incrementan un 14,7% los valores TEAC por el

método DPPH[•]; un 82% los valores AEAC por el método FRAP; y un 56,8% los fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu. La disminución de la capacidad antioxidante de las fresas impregnadas durante el almacenamiento se asocia principalmente con la poca efectividad del empaque utilizado, porque la permeabilidad al oxígeno y la presencia de polifenolasas provoca reacciones de pardeamiento enzimático, lo cual contribuye a la degradación de compuestos propios del fruto, como el ácido ascórbico, el ácido elálgico, y de antocianinas tipo p-cumaroil-glucosa, dihidroflavonol, quercetin-3-glucoronido, kampfèrol y kampfèrol-3-glucoronido, compuestos que individualmente constituyen buenos agentes reductores y atrapadores de radicales libres. Aunque las técnicas DPPH, FRAP y fenoles totales no miden directamente la participación de los compuestos fenólicos en las reacciones de pardeamiento enzimático inducido por polifenolasas, sí evalúan la oxidación de las fresas, y pueden ser buenos indicadores del estado redox de las muestras, especialmente la técnica FRAP la más sensible, muy posiblemente debido al pH del medio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Atala E, Vásquez L, Speisky H, Lissi E, López-Alarcón C. Ascorbic acid contribution to ORAC values in berry extracts: An evaluation by the ORAC-pyrogallol red methodology. *Food Chem.* 2009 Mar 1; 113 (1): 331-335.
- Wolfe KL, Kang X, He X, Dong M, Zhang Q, Liu RH. Cellular Antioxidant Activity of Common Fruits. *J Agric Food Chem.* 2008 Sep 24; 56 (18): 8418-8426.
- Feskanich D, Ziegler R, Michaud G, Giovannucci D, Speizer F, Willett W, Colditz G. Prospective study of fruit and vegetable consumption and risk of lung cancer among men and women. *J Natl Cancer I.* 2000 Nov 15; 92 (22): 1812-1823.
- Haegele A, Gillette C, O'Neill C, Wolfe P, Heimendinger J, Sedlacek S, Thompson H. Plasma xanthophyll carotenoids correlate inversely with indices of oxidative DNA damage and lipid peroxidation. *Cancer Epidem Biomar.* 2000 Apr; 9 (1): 421-425.
- Gaviria CA, Ochoa CI, Sánchez N, Medina C, Lobo M, Tamayo A, Mosquera A, Galeano P, Rojano B. Propiedades antioxidantes de los frutos de agraz o mortiño (*Vaccinium meridionale* Swartz). En: Ligarreto G, editor. *Perspectivas del cultivo de agraz o mortiño en la zona altoandina de Colombia.* Colombia: Universidad Nacional de Colombia; 2009. Pp. 95-112.
- Lim YY, Lim TT, Tee JJ. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chem.* 2007; 103 (3): 1003-1008.
- Cortés M, Chiralt A. Alimentos Funcionales: Una historia con mucho presente y futuro. *Vitae.* 2004; 12 (1): 5-14.
- Lattanzio V, Kroonb P, Linsalatac V, Cardinalic A. Globe artichoke: A functional food and source of nutraceutical ingredients. *J Funct Foods.* 2009 Apr; 1 (2):131-144.
- Griffiths JC, Abernethy DR, Schuber S, Williams RL. Functional food ingredient quality: Opportunities to improve public health by compendial standardization. *J Funct Foods.* 2009 Jan; 1 (1): 128-131.
- Mazza G. Alimentos funcionales: Aspectos bioquímicos y de procesado. Zaragoza, España: Acribia; 1998. Pp. 401 - 439.
- Curtay JP, Lyon J. La Enciclopedia Práctica de las Vitaminas, las Sales Minerales y los Oligoelementos. España: Salvad editores S.A.; 2000. Pp. 127-136
- Fito P. Modelling of vacuum osmotic dehydration of foods. *J Food Eng.* 1994; 22 (1-4): 313-328.
- Fito P, Pastor R. Non-diffusional mechanisms occurring during vacuum osmotic dehydration. *J Food Eng.* 1994; 21 (4): 513-519.
- Cortés M, Guardiola L, Pacheco R. Aplicación de la ingeniería de matrices en la fortificación de mango (var. Tommy atkins) con calcio. *Dyna.* 2007 Nov; 74 (153): 19-26.
- Olsson ME, Gustavsson KE, Andersson S, Nilsson A, Duan RD. Inhibition of cancer cell proliferation in vitro by fruit and berry extracts and correlations with antioxidant levels. *J Agric Food Chem.* 2004 Dec 1; 52 (24): 7264-7271.
- Russell W, Labat A, Scobbie L, Duncan G, Duthie G. Phenolic acid content of fruits commonly consumed and locally produced in Scotland. *Food Chem.* 2009 Jul 1; 115 (1): 100-104.
- Xue H, Aziz RM, Sun N, Cassady JM, Kamendulis LM, Xu Y, Stoner GD, Klaunig JD. Inhibition of cellular transformation by berry extracts. *Carcinogenesis.* 2001; 22 (2): 351-356.
- Teel R, Dixit R, Stoner GD. The effect of ellagic acid on the uptake, persistence, metabolism and DNA-binding of benzo [a] pyrene in cultured explants of strain A/J mouse lung. *Carcinogenesis.* 1985; 6 (3): 391-395.
- Hannum SM. Potential impact of strawberries on human health: a review of the science. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2004; 44 (1): 1-17.
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Norma Técnica Colombiana. NTC 4103. Frutas frescas. Fresa variedad Chandler. Especificaciones. Bogotá: ICONTEC, 1997. p. 1-14.
- Dickinson E. An Introduction to Food Colloids. In: *Dispersions.* Oxford science publications; 1992: p. 175-199.
- Kmostak S, Kurtz D. Rapid Determination of Supplemental Vitamin E acetate in Feed Premixes by Capillary Gas Chromatography. *J AOAC International.* 1993; 76 (4): 735-741.
- Cortés M. Desarrollo de productos de manzana deshidratados enriquecidos con vitamina E. [Tesis Doctoral]. [Valencia]: Universidad Politécnica de Valencia España; 2004. 254 p.
- Palomino L, García CM, Gil J, Rojano B, Durango D. Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquia (Colombia). *Vitae.* 2009 Sep-Dec; 16 (3): 388-395.
- Brand-Williams W, Cuvelier M, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci Technol.* 1995; 28 (1): 25-30.
- Rojano B, Saez J, Schinella G, Quijano J, Vélez E, Gil A, et al. Experimental and theoretical determination of the antioxidant properties of isoespintanol (2-Isopropyl-3,6-dimethoxy-5-methylphenol). *J Mol Struct.* 2008 Apr 17; 877 (1-3): 1-6.
- Patras A, Brunton NP, Tiwari BK, Butler F. Stability and Degradation Kinetics of Bioactive Compounds and Colour in Strawberry Jam during Storage. *Food Bioprocess Technol.* 2009 Jul 21; DOI 10.1007/s11947-009-0226-7.
- Oszmijański J, Wojdyło A. Comparative study of phenolic content and antioxidant activity of strawberry puree, clear, and cloudy juices. *Eur Food Res Technol.* 2009 Feb; 228 (4): 623-631.
- López AP, Gochicoa MTN, Franco AR. Activities of antioxidant enzymes during strawberry fruit development and ripening. *Biol Plantarum.* 2010 Jun; 54 (2): 349-352.
- Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplements. *J Agric Food Chem.* 2005 May 18; 53 (10): 4290-4302.
- Lin Y, Du Y, Zou Ch. Effects of pH on antioxidant and antimicrobial properties of tea saponins. *Eur Food Res Technol.* 2009 Apr; 228 (6):1023-1028.