

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIA, TECNOLOGÍA E INGENIERÍA DE
ALIMENTOS**



**“CINÉTICA DE DEGRADACIÓN DE LA ACTIVIDAD
ANTIOXIDANTE POR TRATAMIENTO TÉRMICO EN JUGOS DE
NARANJA Y MANDARINA FRENTE AL RADICAL DPPH”**

TESIS

Para optar el título de:

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

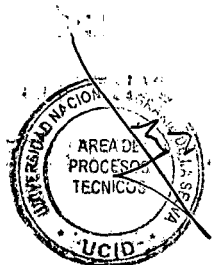
Presentado por:

NACIÓN ALBINO, JUDITH GIMENA

PROMOCIÓN 2011 - I

Tingo María - Perú

2013



**Q01
N12**

Nación Albino, Judith Gimena

Cinética de degradación de la actividad antioxidante por tratamiento térmico en jugos de naranja y mandarina frente al radical DPPH. Tingo María 2013

61 páginas; 12 cuadros; 23 figuras.; 54 ref.; 30 cm.

Tesis (Ingeniero en Industrias Alimentarias) Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María (Perú). Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias.

1. CINÉTICA 2. ANTIOXIDANTE 3. TÉRMICO
4. DEGRADACIÓN 5. REACCIÓN 6. TRATAMIENTO



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María
FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
Av. Universitaria s/n. Teléfono (062) 561385 – Fax (062) 561156
Apart. Postal 156 Tingo María E.mail; fia@unas.edu.pe

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos en acto público el 21 de junio de 2013, a horas 9:00 a.m. en la Sala de conferencias de Posgrado de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicada en la ciudad de Tingo María, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco, para calificar la tesis presentado por la Bach. **NACION ALBINO, JUDITH GIMENA**, titulada:

“CINETICA DE DEGRADACION DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR TRATAMIENTO TERMICO EN JUGOS DE NARANJA Y MANDARINA FRENTE AL RADICAL DPPH”

Después de haber escuchado la sustentación, las respuestas a las preguntas formuladas, lo declaran **APROBADO** con el calificativo de **BUENO**; en consecuencia la Bachiller, queda apta para recibir el título de **Ingeniero en Industrias Alimentarias** del Consejo Universitario, de conformidad con el Art. 22° de la Ley Universitaria 23733; los artículos 51° y 52° del Estatuto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 26 de junio de 2013

Ing. Gunter Daza Rengifo
Presidente

Ing. Lauriano Zavaleta de La Cruz
Miembro

Ing. Jaime Basilio Atencio
Miembro

Ing. Williams Roldán Carbajal
Asesor

DEDICATORIA

A Dios por darme la salud, la fortaleza y la fe, por estar siempre en los momentos más difíciles de mi vida, por ser ejemplo de amor y verdad.

A mis queridos padres Lorgio Nación Moya y Vilma Albino Mallqui, mi eterno agradecimiento por su ejemplo de trabajo, por su comprensión y abnegado esfuerzo, que hicieron posible que llegara a ser una profesional y una persona de bien.

A mis hermanas(os), por su apoyo y por darme ánimo, de que todo se puede en esta vida.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente a Dios que me dio la fuerza para seguir adelante, a mis padres, hermanos(as), por su amor, apoyo y paciencia, porque siempre estuvieron durante todo el transcurso de mi carrera y a lo largo de mi vida.

Al Ing. Williams V. Roldan Carbajal, asesor y al Ing. Davy W. Hidalgo Chávez co-asesor, por su valiosa colaboración en asesoramiento, que hizo posible la culminación del proyecto de tesis; por sus enseñanzas, amistad, consejos, por apoyarme en la realización del presente trabajo de investigación; por su disposición y colaboración con sus conocimientos; por su ayuda desinteresada durante el desarrollo de algunas de las técnicas empleadas en la ejecución de este trabajo.

Mi agradecimiento especial para el Dr. Ethel L. Mayes Echevarría por su apoyo incondicional, por darme fuerzas para seguir adelante y culminar mi carrera profesional.

A la Ing. Díaz Delgado Guadalupe, por su apoyo de manera desinteresada en la ejecución del trabajo.

A todos los docentes que aportaron con su conocimiento en mi formación profesional y humana a lo largo de la carrera a: J. Basilio, G. Daza, R. Natividad, L. Zavaleta, M. Follegatti, E. Ordoñez, A. Ortega, A. Carmona, E.

Cáceres, J. Castro, P. Peláez, W. Paredes, Y. Ramírez, M. Alcedo, R. Matos, C. Leandro, R. Dávila, entre otros.

A los compañeros de estudio y amigos: Maribel, Lilian, Aide, Sindi, Sharon, Edma, Elizabeth, Robert, Rolando, entre otros, por su amistad entregada, durante la ejecución de la tesis, y durante los años en la universidad.

Al resto de los integrantes de la Facultad de Ingeniería en Industria Alimentaria por contribuir en este proyecto y por hacer más amenos los días de trabajo.

A los señores: Carlos, Lucas, Juan, Aurelia, Yacha, Zoila, por su ayuda en esos pequeños, pero importantes detalles que facilitaron el trabajo en los diversos laboratorios.

ÍNDICE GENERAL

| | Página |
|---|--------|
| I. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| II. REVISIÓN DE LITERATURA..... | 3 |
| 2.1. Generalidades de cítricos..... | 3 |
| 2.1.1. Naranja (<i>Citrus sinensis</i> L.)..... | 3 |
| 2.1.1.1. Taxonomía y morfología..... | 3 |
| 2.1.2. Mandarina (<i>Citrus deliciosa</i>)..... | 4 |
| 2.1.2.1. Taxonomía y morfología..... | 4 |
| 2.2. Radicales libres..... | 5 |
| 2.2.1. Generalidades..... | 5 |
| 2.3. Antioxidantes..... | 8 |
| 2.3.1. Generalidades..... | 8 |
| 2.3.2. Vitamina C..... | 10 |
| 2.4. Actividad antioxidante..... | 12 |
| 2.4.1. Difenilpicrilhidrazil (DPPH)..... | 12 |
| 2.5. Cinética de deterioro de los alimentos..... | 14 |
| 2.5.1. Tratamiento Térmico..... | 16 |
| 2.5.2. Influencia de la temperatura sobre la velocidad de reacción..... | 17 |
| 2.5.3. Energía de activación (E_a)..... | 18 |
| III. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 19 |
| 3.1. Lugar de ejecución..... | 19 |
| 3.2. Materia en estudio..... | 19 |

| | |
|---|----|
| 3.3. Materiales..... | 19 |
| 3.3.1. Materiales de laboratorio..... | 19 |
| 3.3.2. Equipos de laboratorio..... | 20 |
| 3.3.3. Reactivos y soluciones..... | 20 |
| 3.4. Método de análisis..... | 21 |
| 3.4.1. Caracterización del zumo o jugo..... | 21 |
| 3.4.1.1. Rendimiento..... | 21 |
| 3.4.1.2. pH..... | 21 |
| 3.4.1.3. Sólidos solubles..... | 21 |
| 3.4.1.4. Acidez titulable..... | 21 |
| 3.4.1.5. Índice de madurez..... | 21 |
| 3.4.2. Análisis espectrofotométrico..... | 22 |
| 3.4.2.1. Cuantificación de azúcares reductores..... | 22 |
| 3.4.2.2. Cuantificación de ácido ascórbico..... | 22 |
| 3.4.2.3. Actividad antioxidante frente al radical DPPH..... | 22 |
| 3.5. Metodología experimental..... | 22 |
| 3.5.1. Obtención del jugo o zumo..... | 22 |
| 3.5.2. Evaluación del contenido de azúcares reductores..... | 24 |
| 3.5.2.1. Elaboración de la curva estándar..... | 24 |
| 3.5.2.2. Cuantificación de azúcares reductores en jugo..... | 25 |
| 3.5.3. Evaluación del contenido de Acido Ascórbico..... | 25 |
| 3.5.3.1. Elaboración de la curva estándar..... | 25 |
| 3.5.3.2. Determinación de la vitamina C en el jugo..... | 26 |

| | |
|---|----|
| 3.5.4. Evaluación de la actividad antioxidante en jugos de naranja y mandarina..... | 26 |
| 3.5.4.1. Preparación de la solución de DPPH..... | 26 |
| 3.5.4.2. Diluciones de jugos de naranja y mandarina..... | 26 |
| 3.5.5. Determinación de la cinética de degradación de la actividad antioxidante frente al radical DPPH..... | 28 |
| 3.5.5.1. Determinación de orden de reacción (n)..... | 28 |
| 3.5.5.2. Determinación de constante de velocidad de reacción..... | 28 |
| 3.5.5.3. Determinación de la energía de activación (Ea)..... | 28 |
| IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 29 |
| 4.1. Rendimiento del jugo de naranja y mandarina..... | 29 |
| 4.2. Caracterización de los jugos frescos de naranja y mandarina..... | 30 |
| 4.3. Cuantificación de la Vitamina C en los jugos frescos de naranja y mandarina y tratados térmicamente..... | 31 |
| 4.3.1. Cuantificación de la Vitamina C a 60 °C..... | 31 |
| 4.3.2. Cuantificación de la Vitamina C a 70 °C..... | 32 |
| 4.3.3. Cuantificación de la Vitamina C a 80 °C..... | 33 |
| 4.4. Cuantificación de azúcares reductores en los jugos de naranja y mandarina frescos y tratados térmicamente..... | 35 |
| 4.4.1. Cuantificación de azúcares reductores a 60 °C..... | 35 |
| 4.4.2. Cuantificación de azúcares reductores a 70 °C..... | 36 |
| 4.4.3. Cuantificación de azúcares reductores a 80 °C..... | 37 |
| 4.5. Actividad antioxidante en los jugos de naranja y mandarina frescos y tratados térmicamente..... | 39 |

| | |
|---|----|
| 4.5.1. Radical 1,1 diphenyl-2-picrilhidrazyl (DPPH) a 60 °C. | 39 |
| 4.5.2. Radical 1,1 diphenyl-2-picrilhidrazyl (DPPH) a 70 °C. | 41 |
| 4.5.3. Radical 1,1 diphenyl-2-picrilhidrazyl (DPPH) a 80 °C | 42 |
| 4.6. Cinética de degradación de actividad antioxidante en jugos frescos de naranja y mandarina en índice de actividad antioxidante (AAI). | 45 |
| 4.6.1. Orden de reacción (n)..... | 45 |
| 4.6.2. Constante de velocidad de reacción (k)..... | 48 |
| 4.6.3. Energía de activación (Ea) del jugo de naranja y mandarina | 49 |
| V. CONCLUSIONES..... | 51 |
| VI. RECOMENDACIONES..... | 52 |
| VII. ABSTRACT. | 53 |
| VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS. | 54 |
| IX. ANEXOS..... | 61 |

ÍNDICE DE CUADROS

| Cuadro | Página |
|--|---------------|
| 1. Carracterizacion de los jugos frescos de naranaja y Mandarina..... | 30 |
| 2. Cuantificación de vitamina C en los jugos frescos de naranaja y mandarina y tratados termicamente a 60 °C. | 32 |
| 3. Cuantificación de vitamina C en los jugos frescos de naranaja y mandarina y tratados termicamente a 70 °C | 33 |
| 4. Cuantificación de vitamina C en los jugos frescos de naranaja y mandarina y tratados termicamente a 80 °C. | 34 |
| 5. Cuantificación de azúcares reductores en los jugos frescos de naranaja y mandarina y tratada térmicamente a 60 °C..... | 36 |
| 6. Cuantificación de azúcares reductores en los jugos frescos de naranaja y mandarina y tratada térmicamente a 70 °C..... | 37 |
| 7. Cuantificación de azúcares reductores en los jugos frescos de naranaja y mandarina y tratada térmicamente a 80 °C..... | 38 |
| 8. Actividad antioxidante en IC ₅₀ (mg/mL) y AAI en los jugos frescos de naranaja y mandarina y tratados térmicamente a 60 °C..... | 40 |
| 9. Actividad antioxidante en IC ₅₀ (mg/mL) y AAI en los jugos frescos de naranaja y mandarina y tratados térmicamente a 70 °C..... | 41 |
| 10. Actividad antioxidante en IC ₅₀ (mg/mL) y AAI en los jugos frescos de naranaja y mandarina y tratados térmicamente a 80 °C..... | 43 |
| 11. Velocidad de reaccion (k) en indice de actividad antioxidante. | 49 |
| 12. Energia de activacion (Ea) en indice de actividad antioxidante. | 50 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura | Página |
|--|---------------|
| 1. Reacción del radical DPPH con un antioxidante..... | 12 |
| 2. Estructura de 1,1 – difenil – 2 - picrihidrazilo. | 13 |
| 3. Flujograma de obtención del zumo de naranja y mandarina..... | 24 |
| 4. Rendimiento del zumo de naranja y mandarina..... | 29 |
| 5. Degradación de vitamina C en los jugos frescos de naranja y mandarina y tratados térmicamente a 60 °C | 32 |
| 6. Degradación de vitamina C en los jugos frescos de naranja y mandarina y tratados térmicamente a 70 °C. | 33 |
| 7. Degradación de vitamina C en los jugos frescos de naranja y mandarina y tratados térmicamente a 80 °C | 34 |
| 8. Incremento de azúcares reductores en los jugos frescos de naranja y mandarina y tratada térmicamente a 60 °C. | 36 |
| 9. Incremento de azúcares reductores en los jugos frescos de naranja y mandarina y tratada térmicamente a 70 °C. | 37 |
| 10. Incremento de azúcares reductores en los jugos frescos de naranja y mandarina y tratada térmicamente a 80 °C. | 38 |
| 11. Actividad antioxidante en IC ₅₀ (mg/mL) y AAI en los jugos frescos de naranja y tratados térmicamente a 60 °C | 40 |
| 12. Actividad antioxidante en IC ₅₀ (mg/mL) y AAI en los jugos frescos de naranja mandarina y tratados térmicamente a 60 °C..... | 41 |

| | |
|---|----|
| 13. Actividad antioxidante en IC ₅₀ (mg/mL) y AAI en los jugos frescos de naranja y tratados térmicamente a 70 °C | 42 |
| 14. Actividad antioxidante en IC ₅₀ (mg/mL) y AAI en los jugos frescos de naranja mandarina y tratados térmicamente a 70 °C..... | 42 |
| 15. Actividad antioxidante en IC ₅₀ (mg/mL) y AAI en los jugos frescos de naranja y tratados térmicamente a 80 °C. | 43 |
| 16. Actividad antioxidante en IC ₅₀ (mg/mL) y AAI en los jugos frescos de naranja mandarina y tratados térmicamente a 80 °C..... | 44 |
| 17. Evaluacion del orden de reaccion para jugo de naranja n = 0 en indice de actividad antioxidante | 45 |
| 18. Evaluacion del orden de reaccion para jugo de naranja n = 0,5 en indice de actividad antioxidante | 46 |
| 19. Evaluacion del orden de reaccion para jugo de naranja n = 1 en indice de actividad antioxidante | 46 |
| 20. Evaluacion del orden de reaccion para jugo de manrarina en n = 0 en indice de actividad antioxidante | 47 |
| 21. Evaluacion del orden de reaccion para jugo de manrarina en n = 0,5 en indice de actividad antioxidante | 47 |
| 22. Evaluacion del orden de reaccion para jugo de manrarina en n = 1 en indice de actividad antioxidante | 48 |
| 23. Regresion lineal LnAAI versus 1/T en indicer de actividad antioxidante: ... | 49 |

RESUMEN

Los cítricos crecen en la amazonia peruana, cuya producción aún no es tecnificada y su consumo es bajo, el propósito de esta investigación fue ver la cinética de la degradación de la actividad antioxidante por tratamiento térmico en jugos de naranja y mandarina frente al radical DPPH (radical 1,1 difenil-2-picrilhidrozil). De los frutos maduros de naranja y mandarina se obtuvo el jugo fresco y jugos tratados térmicamente a 60 °C, 70 °C y 80 °C con tiempo de tratamiento térmico de 0, 3, 6, 9, 12 minutos. La actividad antioxidante fue determinado por espectrofometria usando el radical DPPH expresado en coeficiente de inhibición IC_{50} , al analizar el jugo fresco se obtuvo valores de $5,371 \pm 0,01$ mg/mL y $9,438 \pm 0,04$ mg/mL de naranja y mandarina respectivamente; mientras que al aplicar tratamiento térmico de 80 °C y 12 minutos se obtuvo valores de $5,966 \pm 0,03$ mg/mL y $12,122 \pm 0,04$ mg/mL; presentando una cinética de orden cero y las velocidades de reacción (k): $3,01 \cdot 10^{-5} \pm 0,00$; $4,96 \cdot 10^{-5} \pm 0,00$; $6,94 \cdot 10^{-5} \pm 0,00$ para la naranja y $2,12 \cdot 10^{-5} \pm 0,01$; $4,18 \cdot 10^{-5} \pm 0,00$; $7,52 \cdot 10^{-5} \pm 0,00$ para la mandarina; y una energía de activación $8,173 \pm 0,24$ kcal/mol y $14,806 \pm 0,41$ kcal/mol de naranja y mandarina respectivamente. En conclusión los resultados nos demuestran que los jugos estudiados pierden su capacidad antioxidante de manera considerable al aplicar un tratamiento térmico.

I INTRODUCCIÓN

La región amazónica cuenta con una variedad de frutas y vegetales con buena aceptación en su consumo, debido a que contienen propiedades benéficas para la salud; entre estos frutos se encuentran la naranja valencia (*Citrus sinensis* L) y la mandarina común (*citrus deliciosa*). Estos frutos presentan propiedades funcionales que ayudan a combatir y prevenir múltiples enfermedades tales como el cáncer, problemas cardiovasculares arteroesclerosis; ya que las principales fuentes de antioxidantes se encuentran en los frutos, entre los principales compuestos antioxidantes se encuentran las vitamina C, E, carotenos, y otros compuestos no nutritivos (CERVATO y RAUMA, 2000).

Las frutas de naranja (*Citrus sinensis* L) y la mandarina (*citrus deliciosa*), se encuentran en las zonas tropicales de la selva alta, no existiendo plantaciones tecnificadas, donde la mayor parte de la producción es para consumo directo, destinándose una mínima cantidad a la elaboración de productos con valor agregado.

La importancia de los antioxidantes en la salud humana, promueve la realización de investigaciones para conocer la actividad antioxidante de la vitamina antioxidantes presentes en los jugos de frutas frescas y tratados térmicamente.

El cuerpo humano genera radicales libres, los cuales son moléculas que contienen uno o más electrones no apareados, por lo que se consideran moléculas muy reactivas. Los radicales libres se forman por una serie de reacciones, las cuales pueden ser inducidas por estrés, contaminación, mala alimentación, tabaco, fármacos y drogas, entre otros (HALLIWELL, 1996).

Los antioxidantes neutralizan y previenen la oxidación de los radicales libres que se producen en la mayor parte de las células corporales como subproducto del metabolismo, creando un equilibrio para evitar que los mismos causen daño y destrucción celular (ELLIOT, 1999). Los antioxidantes naturales endógenos son aquellos que se producen en el organismo y llevan a cabo un sin fin de reacciones bioquímicas. También se pueden obtener antioxidantes exógenos en la dieta. El consumo constante de sustancias antioxidantes ha sido relacionado con la disminución del riesgo a sufrir enfermedades degenerativas (CERVATO y RAUMA, 2000). En base a este marco se planteó los siguientes objetivos:

- Determinar: rendimiento, pH, acidez total, sólidos solubles totales, índice de madurez de las especies estudiadas.
- Determinar el contenido de azúcares reductores.
- Determinar el contenido de ácido ascórbico.
- Determinar la cinética de degradación de actividad antioxidante por tratamiento térmico en jugos de naranja y mandarina frente al radical DPPH.

II REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Generalidades de cítricos

2.1.1 Naranja (*Citrus sinensis* L.)

El naranjo procede de las regiones surorientales de Asia, en concreto de la zona sureste de China y el archipiélago Malayo. Su cultivo se realiza en el Sur de China desde hace miles de años, desde donde se extendió por todo el Sudeste asiático. Posteriormente, se expandió tanto el naranjo dulce como el naranjo amargo por todo Oriente por la Ruta de la Seda. Las naranjas dulces fueron muy apreciadas por su sabor (a pesar de que aún eran muy amargas) y por sus propiedades curativas. En la segunda mitad del siglo XIX se descubrió en Bahía (Brasil) una naranja que era más dulce, jugosa y hermosa, sin pepitas y con un ombligo en el extremo opuesto al pedúnculo. Fue llevada a California, donde se convirtió años más tarde en la reina de las naranjas, la variedad conocida hoy como Navel Washington. La zona de producción en el Perú son La Libertad, Huánuco, Ucayali, Junín e Ica (DAVIES, 2010).

2.1.1.1 Taxonomía y morfología

Las naranjas pertenecen a la familia Rutáceas y pertenecen al género *Citrus*. Las especies de este género son arbustos o árboles de color verde, con hojas simples y coriáceas y pecíolos generalmente alados, flores blancas y fragantes, el cual se forman en brotes que se producen a través de

yemas localizadas en las axilas de las hojas. Son cultivos perennes, de crecimiento erecto ramificado que crece hasta 12 m. de alto y 25 cm. de diámetro dependiendo de la especie, produce de los 3 a 5 años dependiendo de su propagación (semilla poliembriónica o injerto) (DAVIES, 2010)

Familia: *Rutaceae*.

Género: *Citrus*.

Especie: *Citrus sinensis* L.

Hojas: Limbo grande, alas pequeñas y espinas no muy acusadas.

Flores: Ligeramente aromáticas, solas o agrupadas con o sin hojas.

Fruto: Hesperidio. Consta de: exocarpo (flavedo; presenta vesículas que contienen aceites esenciales), mesocarpo (albedo; pomposo y de color blanco) y endocarpo (pulpa; presenta tricomas con jugo).

2.1.2 Mandarina (*Citrus deliciosa*)

Al igual que el resto de cítricos, la mandarina proviene de las zonas tropicales de Asia. Su nombre alude al color de los trajes que utilizaban los mandarines, altos gobernantes de la antigua China, por tanto, se puede afirmar que es una fruta originaria de China e Indochina, cuyo cultivo se introdujo en Europa en el siglo XIX. En la actualidad, son países productores: Japón, Israel, Argelia y por su puesto España, donde en la Comunidad Valenciana se produce el 90% de la mandarina del país. (INIA, 2002).

2.1.2.1 Taxonomía y morfología

La mandarina (*Citrus deliciosa*) presenta la siguiente información taxonómica. La variedad común o criolla de maduración

intermedia. Se la cosecha tradicionalmente con el pedúnculo y las hojas, lo que ocasiona generalmente daños mecánicos que disminuyen su conservación (INIA, 2002).

Forma y tamaño: Frutos de tamaño mediano a chico.

Cáscara: Es rugosa, si bien adherida a los gajos, es fácil de pelar, y está provista de glándulas de aceite que se delata fácilmente por su fuerte y agradable aroma.

Color: Amarillo anaranjado.

Pulpa: De color anaranjado pálido, muy jugosa y, siendo de sabor característico.

Semillas: De 20 a 30.

2.2 Radicales libres

2.2.1 Generalidades

Los radicales son átomos, grupos de átomos o fragmentos de moléculas que contienen uno o más electrones desapareados o libres, en el orbital exterior, dándole una configuración espacial que genera gran estabilidad por lo que son muy reactivos ya que tiende a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica (YUREKLI *et al* 2006). Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose una reacción en cadena que destruye nuestras células (VENEREO, 2001).

Los radicales libres pueden originarse en el exterior del cuerpo aunque también se forman como consecuencia del metabolismo natural del

organismo humano (ELLIOT, 1999). Ellos pueden ganar o entregar electrones con mayor facilidad y velocidad que los sistemas de óxido-reducción normales de los tejidos biológicos (BOLAÑOS, 2003). Son moléculas inestables y altamente reactivas que contienen uno o más electrones desapareados en sus orbitales externos, lo que los hace altamente energéticos y reactivos (BOLAÑOS, 2003).

Los radicales libres pueden originarse en el exterior del cuerpo aunque también se forman como consecuencia del metabolismo natural del organismo humano (ELLIOT, 1999). Ellos pueden ganar o entregar electrones con mayor facilidad y velocidad que los sistemas de óxido-reducción normales de los tejidos biológicos.

Los radicales que son generados por el cuerpo pueden ser: Hidroxilo OH⁻; Superóxido O₂⁻; Óxido nitroso NO⁻

Otros radicales que han sido identificables incluyen: Átomo de hidrógeno H⁺; Triclorometilo CCl₃; Óxidos de nitrógeno NO⁻, NO₂⁻

Los radicales libres desestabilizan a otras moléculas hasta que se oxidan y regresan a su estado más estable, pueden iniciar reacciones en cadena que provocan daño a macromoléculas y células (ELLIOT, 1999). En el cuerpo humano la oxidación es un proceso metabólico que provee energía para el funcionamiento vital de las células. Este metabolismo normal conlleva a la desafortunada producción de radicales libres derivados del oxígeno, (BARAHONA, 2002).

El daño al ADN causado por los radicales libres podría provocar cáncer; el daño a las proteínas puede provocar cataratas, cáncer y otras

alteraciones menos definidas; la peroxidación lipídica de las membranas endoteliales puede determinar inflamación y aterosclerosis, Coguanor citado por BOLAÑOS, (2003)

Los radicales libres pueden provocar en las células un proceso de crecimiento maligno. Las propias células tumorales producen radicales libres, pero además se ven afectadas por ellos en su ADN. Una hipótesis que describe el mecanismo de acción de los radicales libres en el apareamiento del cáncer plantea que el inicio del cáncer puede ser causado por el daño que ocasionan los radicales libres (oxígeno singulete) al material genético de las células (ADN y ARN). Por eso, algunos antioxidantes como la vitamina C, β -carotenos y vitamina E protegen contra la formación de ciertos tipos de tumores, evitando la degradación oxidativa del material genético, Coguanor, mencionado por BOLAÑOS, (2003)

Los radicales libres (RL) son átomos o grupos de átomos que tienen uno o más electrones desapareados lo cual los hace altamente inestables y reactivos (BASAGA, 1989). Estos radicales recorren nuestro organismo intentando robar un electrón de las moléculas estables, con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica mediante reacciones de óxido-reducción (PRIOR, *et al.*, 2005).

Una vez que el RL ha conseguido robar el electrón que necesita para aparear su electrón libre, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un nuevo RL, por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye nuestras células. La vida biológica media del RL es de microsegundos; pero tiene la capacidad de

reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un gran daño a las moléculas y a las membranas celulares (DAGLIA, *et al*, 2000).

Ante la presencia de radicales libres, el organismo debe neutralizarlos y defenderse, para así evitar la lesión de los tejidos. El problema propiamente dicho, aparece cuando la concentración de estos radicales libres es muy elevada, ya que cuando los mismos se encuentran presentes en el organismo en cantidades adecuadas aportan algunos beneficios, como ser: la lucha contra bacterias y virus, regulación de la estructura y función de las proteínas, control del tono muscular (PRIOR *et al.*, 2005).

Las consecuencias del exceso de radicales libres en el organismo, afectan directamente nuestro estado de salud favoreciendo el envejecimiento prematuro y problemas en el sistema cardiovascular y nerviosos, entre otros (PRIOR *et al.*, 2005).

2.3 Antioxidantes

2.3.1 Generalidades

Un antioxidante es una sustancia que retrasa o inhibe las reacciones oxidativas. Los antioxidantes pueden actuar en diferentes etapas de una secuencia oxidativa; así también pueden actuar en sitios específicos o puede actuar en diferentes lugares (CERVATO, 2000).

El sistema de defensa antioxidante del cuerpo humano consiste en antioxidantes endógenos y exógenos. Los antioxidantes endógenos son: enzima superóxido dismutasa (SOD), enzima glutatión peroxidasa (GPx), catalasas, glutatión reductasa y glutatión S transferasa y los exógenos son:

vitaminas, provitaminas, flavonoides y minerales (RAUMA y MYKKÄNEM. 2000).

Los antioxidantes son sustancias capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres, liberando electrones en nuestra sangre que son aptados por los radicales libres, manteniendo su estabilidad (AVELLO, 2005).

Los antioxidantes neutralizan o bloquean la recepción en las moléculas del radical libre del oxígeno que pueden causar daño a la estructura y a la función de las membranas celulares, el DNA de las proteínas de la célula pueden ser dañados. Estos daños se han relacionado con el inicio de muchas enfermedades degenerativas tales como cáncer, arteroesclerosis, cataratas y degeneración muscular relativa a la edad así como al envejecimiento prematuro (RAMOS, 2007).

Los antioxidantes pueden participar por medio de diferentes mecanismos: deteniendo la reacción en cadena de oxidación de las grasas, eliminando el oxígeno atrapado o disuelto en el producto; eliminando las trazas de ciertos metales, como el cobre o el hierro, que facilitan la oxidación. Los que actúan por los dos primeros mecanismos son los antioxidantes propiamente dichos, mientras que los que actúan de la tercera forma se arrugan en la denominación legal de sinérgicos de antioxidantes (YAHUACA *et al.*, 2001).

En las últimas décadas las sustancias antioxidantes han adquirido una relevancia notoria ya que en muchos casos ha sido demostrado su participación en la prevención de enfermedades degenerativas tales como las cardiovasculares y neurológicas diferentes tipos de cáncer y otras disfunciones relacionadas con el estrés oxidativa (CANO *et al.*, 2004).

El mecanismo de defensa antioxidante del organismo ante las especies reactivas tiene dos orígenes: Uno endógena, las enzimas y otros exógenos, los compuestos antioxidantes, que el organismo deberá incorporar a través de la ingesta diaria. Los compuestos antioxidantes no enzimáticos son entre otros la vitamina E, la vitamina C, los carotenoides, diversos minerales y polifenoles (VERÓNICA, 2002).

Estos trabajan conjuntamente a nivel molecular para proteger las membranas celulares, lipoproteínas y ADN del daño causado por los efectos de los radicales libres. Los antioxidantes exógenos incluyen nutrientes y no-nutrientes que entran al cuerpo por medio de la dieta (VERÓNICA, 2002).

Los antioxidantes nutrientes se pueden dividir en tres grandes grupos:

- Vitaminas y provitaminas, por ejemplo: vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E (α -tocoferol) y β -caroteno.
- Vitaminas que son coenzimas de enzimas regeneradoras de antioxidantes, por ejemplo: vitamina B₁, B₂, B₆, B₁₂ y niacina. Minerales que son componentes estructurales de enzimas, por ejemplo: cobre, zinc y selenio.

Dentro de los principales antioxidantes no-nutritivos provenientes de la dieta se pueden mencionar polifenoles e índoles.

2.3.2 Vitamina C

Es un componente altamente polar, por tanto altamente soluble en agua, e hidrosoluble en solventes no polares. La vitamina C actúa como agente reductor en reacciones de oxido-reducción (son reacciones donde ocurre transferencia de electrones entre especies, permitiendo la oxidación de una especie y llevando la otra especie a ser reducida). Es considerada como el

agente reductor más reactivo que puede ocurrir en forma natural en tejidos vivos, también es considerada como nutriente esencial para el ser humano, ya que este no puede sintetizarlo por sí sólo, Fenema, (1996), mencionado por SOTO (2005).

Según Fenema, (1996), citado por SOTO (2005) la vitamina C corresponde al grupo de las vitaminas hidrosolubles. No se almacena en el cuerpo por un largo período de tiempo y se elimina en pequeñas cantidades a través de la orina. Por este motivo, es importante su ingesta diaria, ya que es más fácil que se agoten sus reservas que las de otras vitaminas.

Estudios realizados en el 2001, demuestran que la vitamina C puede reducir el daño oxidativo *in vivo* al consumirse de 60 a 75 mg en mujeres y 90 mg en hombres adultos, (Johnstin 2001, mencionado por BOLAÑOS, 2003). La vitamina C está presente en las frutas, verduras y patatas en forma de ácido L-ascórbico y ácido dehidroascórbico. El ascorbato es, probablemente, el antioxidante hidrosoluble más efectivo presente en el plasma. Es capaz de atrapar y reducir nitritos, inhibiendo por tanto la formación en el estómago de compuestos carcinogénico N-nitroso. Los estudios *in vitro* sugieren que ejerce un papel protector contra el daño oxidativo de los constituyentes celulares y las lipoproteínas circulantes. Las pruebas epidemiológicas son consistentes con un efecto protector de la vitamina C contra el cáncer de estómago, faringe y esófago, (Jonson *et al.*, 2001, citado por ZAPATA *et al.*, 2007).

Además, se ha demostrado que el ácido ascórbico es un aceptor de radicales muy efectivo frente a superóxido, peróxido de hidrógeno,

hipoclorito, radical hidroxilo, radical peroxilo y oxígeno singulete, (Yanishlieva-Maslarova, 2001, mencionado por ZAPATA *et al.*, 2007).

2.4 Actividad antioxidante

2.4.1 Difenilpicrilhidrazil (DPPH)

La capacidad para secuestrar los radicales DPPH está en función al contenido del principio activo presente en cada una de las muestras en estudio.

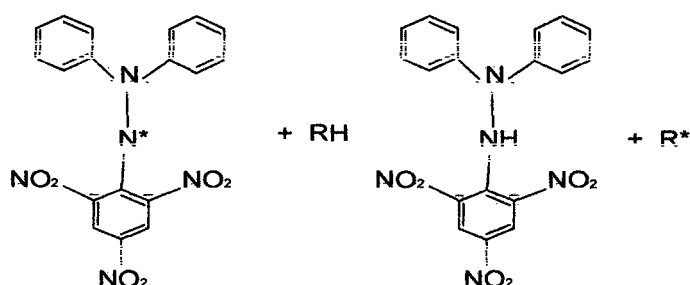


Figura 1. Reacción del radical DPPH con un antioxidante

El principio del método de DPPH consiste en la sustracción de un átomo de hidrogeno proveniente de un donador (compuesto fenólicos) para generar el compuesto difenilpicrilhidrazina y una especie radical (GARCÍA *et al.*, 2001). La reducción de la concentración del DPPH está indicada como el decremento de la absorbancia en el tiempo, Brand Williams *et al.* (1995), citado por SANDOVAL *et al.*, (2001).

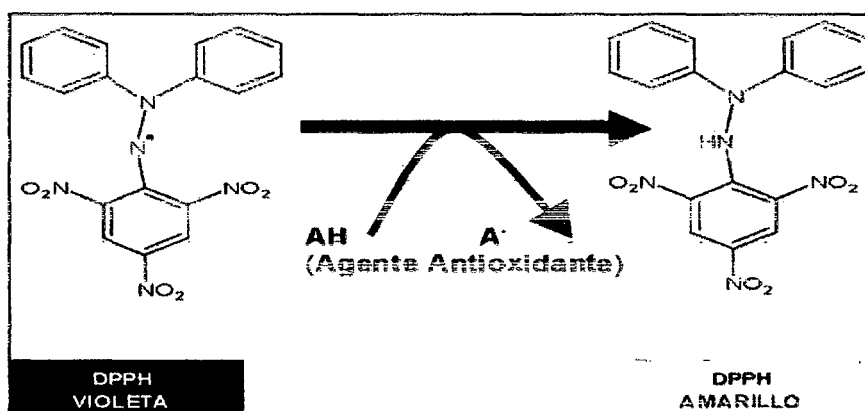
El DPPH (1,1 difenil -2- picrhydrazyl) es un radical sintético estable soluble en metanol que puede aceptar un electrón o radical hidrógeno para convertirse en una molécula diamagnética estable (GIL, 2000). Debido a que el DPPH reacciona con agentes reductores adecuados, este electrón se aparea y la solución pierde color estequiométricamente con el número de electrones que se toman de la siguiente forma:



La reacción se lleva a cabo en medio orgánico (metanol, etanol, benceno o dioxano) o en medio acuoso-orgánico (50% de etanol) (BRAND, 1995). Esta actividad ha sido utilizada para evaluar la actividad antioxidante de plantas, extractos microbianos y alimentos (DA PORTO *et al.*, 2000).

El DPPH es un radical libre estable, disuelto que tiene una coloración azul-violeta. En presencia de un antioxidante el DPPH es convertido a 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo con un color amarillo, Cervato *et al.*, (2001), mencionado por BOLAÑOS, (2003).

Los resultados de este método son expresados en IC_{50} , el cual se define como la concentración necesaria de muestra para reducir el 50% de la cantidad inicial de DPPH y se expresa como la relación molar de cada componente por radical. Los niveles bajos de IC_{50} indican alta eficacia en la donación de hidrógeno, Silva *et al.*, (2000), mencionado por BOLAÑOS, (2003).



Fuente: Molyneux, (2004), citado por CASTAÑEDA *et al.*, (2008)

Figura 2. Estructura de 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo

Désde el punto de vista metodológico, el DPPH es un método fácil y exacto para la medición de actividad antioxidante en frutas y verduras por lo que es recomendado para medir la actividad antioxidante en este tipo de muestras, Silva, *et al.*, (2000), mencionado por BOLAÑOS, (2003). Este método presenta también la ventaja de ser una prueba no enzimática y es utilizado para proveer información básica en la reactividad de compuestos para el secuestro de radicales.

2.5 Cinética de deterioro de los alimentos

La calidad de los alimentos se define como el conjunto de propiedades que influyen en su aceptación por el consumidor. Los alimentos son sistemas fisicoquímicos y biológicamente activos, por lo tanto la calidad de los alimentos es un estado dinámico que se mueve continuamente hacia niveles más bajos (CASP, 2003).

La cinética química es el campo de la química que se ocupa de la rapidez o velocidad con la que ocurren las reacciones químicas, es decir, la degradación de reactivos para convertirse en productos. Los cambios que llegan a ocurrir en los alimentos son el resultado de las numerosas y complejas reacciones químicas y bioquímicas acompañadas de diversos efectos físicos. (ALVARADO, 1996).

La medida de la velocidad de reacción implica la medida de la concentración de uno de los reactivos o productos a lo largo del tiempo, para medir la velocidad de una reacción necesitamos medir, bien la cantidad de reactivo que se degrada por unidad de tiempo, o bien la cantidad de producto que aparece por unidad de tiempo. La velocidad de reacción depende de los

reactantes y en algunos casos especiales de los productos es de esperar entonces que, al avanzar la reacción y modificarse las concentraciones, varíe la velocidad.

La pérdida de la calidad alimenticia para la mayoría de los alimentos puede ser representada por una ecuación matemática de la siguiente, (LABUZA, 1995).

$$\pm \frac{dA}{dt} = KA^n \quad (1)$$

Dónde:

- A = Porcentaje de inhibición del radical DPPH
- t = Tiempo.
- K = Constante que depende de la temperatura y la actividad de agua.
- n = Factor de potencia llamado orden de la reacción, en el cual define si la velocidad es dependiente de la cantidad presente de A.
- $\frac{dA}{dt}$ = Velocidad de cambio de A con respecto al tiempo.

El signo negativo es utilizado si el deterioro es una pérdida o destrucción de un atributo o calidad deseable A y un signo positivo señala si es por la producción de un producto final indeseable. Así para obtener la velocidad de deterioro, se debe transformar los datos en un gráfico cinético.

La mayor parte de los datos de la vida útil para el cambio de una característica de calidad basados en una reacción química o crecimiento bacteriano, sigue un modelo de orden cero (n=0) o primer orden (n=1). Si los datos son de orden cero, se obtiene una gráfica lineal usando coordenadas

lineales; mientras que si los datos son de primer orden, en coordenadas semilogarítmicas ($\log A$) para obtener una representación lineal. En el caso de que los datos sean de segundo orden la representación gráfica de $1/A$ frente al tiempo produce una relación lineal.

Una vez que el orden aparente de reacción de calidad se ha determinado, más allá del análisis estadístico del parámetro K , la constante de velocidad para conseguir una estimación del error en la determinación de K y la vida anaquel. Tanto en los procesos de pardeamiento y/o otro tipo de reacciones la cinética de deterioro o de formación de nuevos productos, es decir la velocidad a la que transcurre dicho fenómeno.

2.5.1 Tratamiento térmico

El tratamiento térmico es un método de conservación, el cual tiene como objetivo producir alimentos seguros, de alta calidad, bajo costo, alargar la vida en anaquel del alimento y mantener las características sensoriales deseables (CASP y REQUENA, 2003). El tratamiento térmico depende del pH del producto porque determina el tipo de microorganismo que puede causar deterioro en los alimentos (ALVAREZ *et al*, 2004).

El tratamiento térmico empleado para jugos de frutas y néctares es la pasteurización por el pH del producto y por la sensibilidad de sus propiedades organolépticas. Por pasteurización se entiende como la aplicación de un proceso térmico a un alimento con él se logra conseguir la estabilidad y comestibilidad del producto inactivando microorganismos termolábiles como células vegetativas de bacterias, esporas de mohos y enzimas deteriorativas (MULLER, *et al*; 1981). Como temperatura utilizada en la pasteurización es

relativamente baja (< 100 °C) los alimentos conservados experimentan menor deterioro térmico que los conservados por esterilización. En los alimentos pasteurizados la concentración de oxígeno dentro del producto además de determinar la extensión de la deterioración oxidativa controla el crecimiento de ciertos microorganismos (mohos). Por estas razones la pasteurización debe ser tal que asegure; un control microbiológico adecuado; la destrucción de enzimas indeseables y una baja presión de oxígeno en los alimentos (BRENNAN *et al*, 1980).

La optimización de la retención de calidad en alimentos procesados térmicamente se basa en las diferencias de dependencia de la temperatura y la inactivación de materiales biológicos no deseados (enzimas y/o microorganismos) y los cambios en la calidad sensorial y nutricional. Es importante conocer las interrelaciones tiempo-temperatura para los cambios en las características sensoriales durante el tratamiento (KIMBALL, 1999).

2.5.2 Influencia de la temperatura sobre la velocidad de reacción

La influencia de la temperatura sobre la velocidad de reacción ha sido determinada empíricamente, por medios termodinámicos, mecánico-estadísticos, entre otros.

$$k = Ae^{(-E_a/RT)} \quad (2)$$

Donde:

A = Factor exponencial, R = Constante de gases

T = Temperatura en °K, E_a = Energía de activación

La ecuación de Arrhenius nos dice que un gráfico de Ln K vs el recíproco de la temperatura absoluta nos da una línea recta, la pendiente de la

cual es la energía de activación (E_a), dividida por la constante de los gases R . Así, una reacción y midiendo K a dos o tres temperaturas altas se puede entonces extrapolar una línea recta para una temperatura baja deseada (LABUZA y RIBOH, 1982). Esto reduce considerablemente el tiempo experimental especialmente si la E_a es alta.

2.5.3 Energía de activación (E_a)

La velocidad de casi todas las reacciones bioquímicas aumenta con la temperatura. Muchas reacciones de importancia agroindustrial se llevan a cabo a temperaturas superiores a la ambiental, ya que en esas condiciones, la velocidad de reacción permite que su explotación sea viable desde el punto de vista económico. Por el contrario, una forma de preservar los alimentos consiste en almacenarlos a bajas temperaturas, para que de esa forma la velocidad de descomposición bacteriana disminuya (LABUZA, 2000; ALVARADO, 1996). Para que exista una reacción química es necesario que las moléculas de los reactivos colisionen entre sí. Para que la colisión sea efectiva es necesario que las moléculas choquen con la orientación adecuada y con la energía suficiente. A la energía necesaria para que los reactivos formen el complejo activo se le llama energía de activación, E_a representa la barrera de energía que han de salvar las moléculas para que tenga lugar la reacción (TOLEDO, 2007).

III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en el Centro de Investigación para el Desarrollo Biotecnológico de la Amazonia (CIDBAM), de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), ubicada en Tingo María, a 660 msnm, a 09°17'08'' de Latitud Sur, a 75°59'52'' de longitud Oeste en el Distrito de Rupa Rupa, Provincia de Leoncio Prado, Departamento de Huánuco; con una temperatura promedio de 25 °C y humedad relativa promedio 80 %.

3.2 Materia prima

Se utilizó naranja de la variedad valencia y mandarina de la variedad común o criolla recolectados en el centro poblado de Castillo Grande, Provincia de Leoncio Prado, Departamento de Huánuco.

3.3 Materiales

3.3.1 Materiales de laboratorio

- Cubetas de Poliestireno (1x1x4.5 cm)
- Fiolas (10, 25, 50, 100 mL)
- Vasos de precipitación (50, 100 y 500 mL)
- Tubos de plásticos de poliestireno (15, 50 mL)
- Pipetas (10 – 200 µL y 200- 1000 µL)
- Microcubetas

- Tips (10 a 50 y 1000 a 1000 µL)
- Papel filtro pasada rápida
- Probetas.
- Gradillas.

3.3.2 Equipos de laboratorio

- Espectrofotómetro (UV – Genesis 6)
- Balanza analítica plus, marca OHUUS CoSuiza,
- Potenciometro (InolabCoAlemania)
- Baño María
- Refractometro
- Phmetro
- Refrigeradora
- Bortex marca Genie 2 Scientific Industries

3.3.3 Reactivos y soluciones

- Radical DPPH (1,1 difenil-2-picrilhidrozil)
- Alcohol al 96 %
- Agua destilada
- Hidróxido de sodio 0.1 N
- Ácido oxálico al 0,4 %
- Ácido ascórbico
- Metanol al 99.8 %
- 2,6 diclorofenolindofenol
- Fenol al 80 %
- Solución de fenoltaleina al 1 %

- Glucosa anhidra
- Acido sulfúrico concentrado
- Buffer fosfato de pH 4 y 7

3.4 Método de análisis

3.4.1 Caracterización del zumo o jugo

3.4.1.1 Rendimiento

Según HOURS et al, (2005) expresando en gramos de jugo/100g de fruto.

3.4.1.2 pH

Según A.O.A.C, (1997) por potenciometría.

3.4.1.3 Sólidos solubles

Según A.O.A.C. (2000), se determinó por refractometría expresándose los resultados en °Brix.

3.4.1.4 Acidez titulable

Según AOAC (2000), se realizó mediciones de acidez por titulación directa con NaOH, expresando los valores de acidez como g de ácido cítrico/100g jugo.

3.4.1.5 Índice de madurez

Se determinó prosiguiendo el método citado por WILLS et al., (1976).

$$\text{Índice de madurez} = \frac{\text{Sólidos solubles totales (°Brix)}}{\text{Acidez}} \quad (3)$$

Los análisis estadísticos de caracterización se realizó en el programa Statgraphics Centurion XV.

3.4.2 Análisis espectrofotométrico

3.4.2.1 Cuantificación de azúcares reductores

Se aplicó el método espectrofotométrico propuesto por Dubois *et al* mencionado por RAMÍREZ (2008).

Los análisis estadísticos para el contenido de azúcares reductores se realizó en el programa Statgraphics Centurion XV.

3.4.2.2 Cuantificación de ácido ascórbico

Se realizó mediante el método espectrofotométrico reportado por Hung y Yen mencionado por VILLANUEVA *et al.*, (2002).

Los análisis estadísticos para el contenido de vitamina C se realizó en el programa Statgraphics Centurion XV.

3.4.2.3 Actividad antioxidante frente al radical DPPH

Se aplicó el método del radical 1,1 difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) descrito por Brand-Williams modificado por SANDOVAL *et al.*, (2001).

El análisis estadístico para la actividad antioxidante se realizó en el programa Statgraphics Centurion XV.

3.5 Metodología experimental

3.5.1 Obtención del jugo o zumo

Materia prima. La materia prima se recolectó en el centro poblado de Castillo Grande, Provincia de Leoncio Prado, Departamento de Huánuco

Selección/clasificación: Se seleccionaron las frutas teniendo en cuenta la variedad, clasificándolo tomando en cuenta su estado de madurez,

las que se encuentran aptos para el proceso, desechar las sobremaduras, verdes y las que no son de las variedades en estudio.

Lavado: Se lavó con agua hasta desechar todas las impurezas de la superficie.

Pesado: Se realizó con la finalidad de calcular el rendimiento.

Pelado: La fruta se peló para facilitar la extracción del zumo y se realizó manualmente con un cuchillo de acero inoxidable.

Estrujado. La obtención del zumo se hizo manualmente.

Zumo. Después de la etapa de obtención del zumo se realizó las siguientes evaluaciones: Rendimiento, pH, Acidez, Índice de madurez, Sólidos solubles totales (°Bx) del jugo fresco de las especies en estudio.

Almacenamiento. El jugo fresco de naranja (JFN) y el jugo fresco de mandarina (JFM) fueron almacenados a una temperatura de 4 °C en un contenedor oscuro hasta su evaluación final.

Tratamiento Térmico. Se adicionó aproximadamente 30 mL en un tubo de ensayo para luego hacer el tratamiento térmico, para posteriormente evaluar la actividad antioxidante de los jugos tratados térmicamente.

La obtención del jugo y posterior tratamiento térmico fue realizada siguiendo el flujograma descrito en la Figura 3.

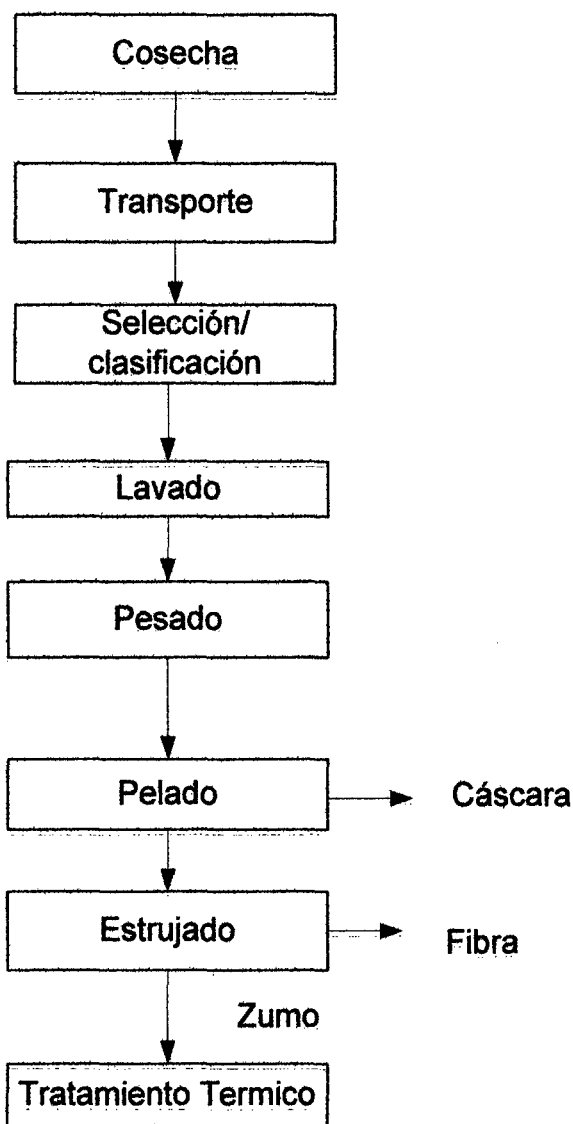


Figura 3. Flujograma de obtención del zumo de naranja y mandarina.

3.5.2 Evaluación del contenido de azúcares reductores

3.5.2.1 Elaboración de la curva estándar

Se preparó soluciones stock 1 (SS1) de 2,00mg Glu/mL de concentración, luego de SS1 se preparó la solución stock 2 (SS2) de 0,060 mg Glu/mL de concentración, posteriormente se hizo diluciones con concentraciones finales de 1,70; 4,26; 6,81; 8,51; 10,21 y 12,77 μg de Glu/mL, se agitó y se dejó reposar por treinta minutos para completar la reacción,

transcurrido este tiempo, se transfirió 1 mL aproximadamente a una cubetas de poliestireno y se realizó la lectura de la absorbancia a 490 nm, luego con estos resultados se hizo una regresión lineal (μg de Glu/mL) Vs absorbancia, obteniendo una ecuación lineal.

3.5.2.2 Cuantificación de azúcares reductores en jugo.

Se vertió aproximadamente 20 mL de jugo en tubo de ensayo debidamente rotulado, luego se hizo el tratamiento térmico en baño maría a 60 °C, 70 °C y 80 °C, con tiempos de tratamiento térmico de 0, 3, 6, 9 y 12 minutos; luego para evaluar el contenido de azúcares se siguió la metodología utilizada para levantar la curva patrón. En cuanto a las muestras se realizaron las diluciones necesarias con el objetivo de que la absorbancia se ubique en el rango de la curva estándar. Las absorbancias registradas de los jugos frescos y tratados térmicamente se reemplazaron en la ecuación de la curva estándar, obteniendo la cantidad de azúcares reductores en g Glu/100 g jugo.

3.5.3 Evaluación del contenido de ácido ascórbico

3.5.3.1 Elaboración de la curva estándar

Se preparó una solución madre de 1,00 mg a.a./mL de concentración; a partir de esta solución madre se preparó concentraciones de 0,01; 0,02; 0,03; 0,04 y 0,05 mg de ácido ascórbico por 10 ml; luego se leyó la absorbancia a 520 nm; una vez obtenido las absorbancias de las cinco soluciones se restó L_1-L_2 ; luego se hizo una regresión lineal con la concentración (mg Vit C/ml) Vs L_1-L_2 con la finalidad de obtener una ecuación.

3.5.3.2 Determinación de la vitamina C en el jugo

Se adicionó aproximadamente 20 mL de jugo en tubo de ensayo debidamente etiquetado, luego se hizo el tratamiento térmico en baño maría a 60 °C, 70 °C y 80 °C, con tiempos de tratamiento térmico de 0, 3, 6, 9 y 12 minutos; luego para evaluar el contenido de vitamina C, se siguió la metodología utilizada para levantar la curva patrón. En cuanto a las muestras se realizaron las diluciones necesarias con el objetivo de que la absorbancia se ubique en el rango de la curva estándar. Las absorbancias registradas de los jugos frescos y tratados térmicamente se reemplazaron en la ecuación de la curva estándar, obteniendo la cantidad de vitamina C en mg/100mL jugo.

3.5.4 Actividad antioxidante en jugos de naranja y mandarina.

3.5.4.1 Preparación de la solución de DPPH.

Esta prueba se fundamenta en la reducción del radical DPPH mediante un donador de hidrogeno que procedería de los tipos de jugos evaluados. Se hizo reaccionar 975 μ L del radical DPPH con 25 μ L de la muestra analizada en el espectrofotómetro a una absorbancia máxima de 517 nm, el cambio de coloración de violeta a amarillo es un indicativo de la completa reducción del radical DPPH (Brand-Williams modificado por SANDOVAL et al., 2001). Los resultados IC50 (mg/mL) y IAA.

3.5.4.2 Diluciones de jugos de naranja y mandarina.

Se vertió 10mL aproximadamente de jugo en los tubos de ensayo debidamente etiquetado, para hacer el tratamiento térmico en baño maría a 60 °C, 70 °C y 80 °C, con tiempos de tratamiento térmico de 0, 3, 6, 9 y 12 minutos; luego para evaluar la actividad antioxidante, se hizo diluciones con

concentraciones de 13,074; 6,537; 3,268; 0,784 mg jugo/mL para cada dilución del jugo de naranja 21,570; 10,785; 5,393; 1,348 mg jugo/mL para la mandarina; a partir de estas concentraciones se tomó 25 μ L y se hizo reaccionar 975 μ L de DPPH a 100 μ M, la lectura se realizó a 517 nm con un punto final de 5 minutos para la naranja y 20 minutos de punto final para la mandarina; cada uno con cinco repeticiones. Para calcular la capacidad de secuestro de radicales DPPH se evaluó en la siguiente expresión:

$$\%Inhib_{DPPH} = \left[\frac{(Abs_{Control} - Abs_{Muestra})}{Abs_{Control}} \right] \times 100 \quad (4)$$

Donde:

Abs Control = Absorbancia del control (radical DPPH)

Abs Muestra = Absorbancia de la muestra a 5 min para naranja y 20 minutos para mandarina como punto final.

$$IC_{50} = \frac{[(\%Inh / 2) - b]}{a} \quad (5)$$

b = Constante de la regresión entre %Inh y tiempo

a = pendiente de la regresión entre %Inh y tiempo

$$AAI = \frac{CF_{DPPH} (\mu g / mL)}{IC_{50} (\mu g / mL)} \quad (6)$$

Donde:

AAI = Índice de actividad antioxidante

CF_{DPPH} = Concentración final del DPPH (μ g/mL)

3.5.5 Determinación de la cinética de degradación de la actividad antioxidante frente al radical DPPH

3.5.5.1 Determinación de orden de reacción (n)

Se empleó el método de integración el cual consistió en evaluar los valores de n (0,0; 0,5; 1,0) en la ecuación: $\frac{dA}{dq} = KA^n$, con los valores experimentales se hizo una regresión de la cual se escogió el modelo que mejor se ajusta en base al coeficiente de correlación, es decir el modelo que el R^2 sea más próximo a 1, (LABUZA, 1995).

3.5.5.2 Determinación de la constante de velocidad de reacción (k)

Una vez determinada el orden de reacción, se determinó el valor de la constante de velocidad de reacción (k) que es igual al valor de pendiente de dicha regresión, (LABUZA, 1995).

3.5.5.3 Determinación de la energía de activación (Ea)

Una vez determinada la velocidad de reacción (k) se procedió a reemplazar en la ecuación de Arrhenius que nos describe la relación de la constante de velocidad de reacción con la temperatura.

$$k = Ae^{(-E_a/RT)} \quad (7)$$

En seguida se procedió a graficar el $\ln k$ versus la inversa de la temperatura absoluta; obteniendo la ecuación con una línea recta con pendiente E_a/R , donde el término E_a es evaluado para conocer el valor de la energía de activación, (LABUZA, 1995).

IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Rendimiento del jugo de naranja y mandarina

En la Figura 4 se detalla el rendimiento del zumo de las especies en estudio.

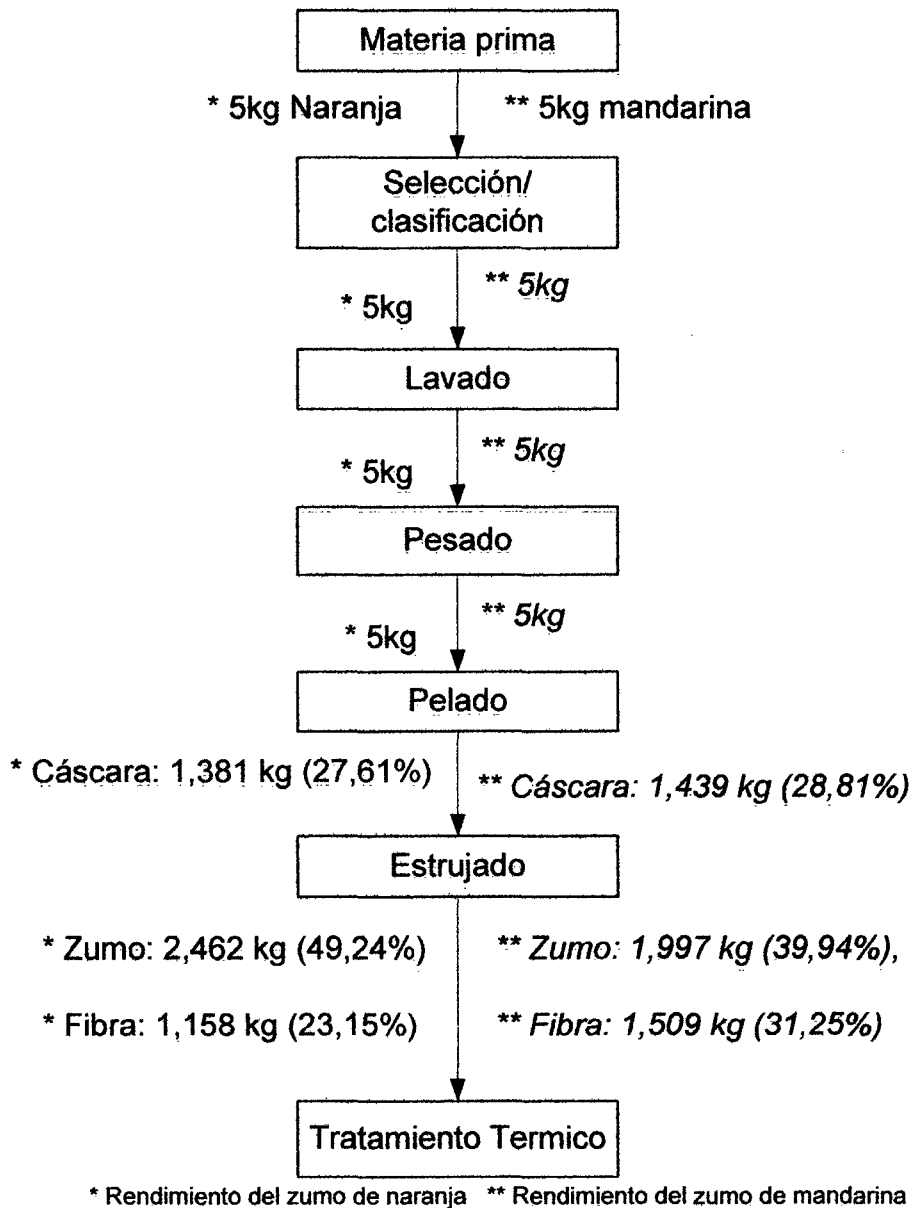


Figura 4. Rendimiento del zumo de naranja y mandarina.

Según la diferencia de medias existe diferencia altamente significativa ($p < 0,05$), en cuanto al rendimiento.

En la Figura 4 se presenta el rendimiento para JFN de $49,24 \pm 0,21$ g de jugo/100g fruto y este valor es similar a lo reportado por HOURS *et al.*, (2005), quien reportó 50,76 g de jugo/100g fruto; mientras que el JFM tuvo un rendimiento de $39,94 \pm 0,49$ g de jugo/100g fruto, siendo este valor similar a lo mencionado por GUILLEN (2006), quien indicó 41,66 g de jugo/100g fruto.

4.2 Caracterización de los jugos frescos de naranja y mandarina.

En el Cuadro 1 se presenta los valores de la caracterización del JFN y JFM.

Cuadro 1. Caracterización de los jugos frescos de naranja y mandarina.

| Características | Jugo de naranja | Jugo de mandarina |
|--|---------------------|--------------------|
| Acidez iónica (pH) | $3,51 \pm 0,02^a$ | $3,61 \pm 0,02^b$ |
| Sólidos solubles totales (°Brix)* | $10,11 \pm 0,05^a$ | $10,36 \pm 0,03^b$ |
| Acidez titulable (g de a.c./100g jugo) | $1,49 \pm 0,02^a$ | $1,47 \pm 0,01^a$ |
| Índice de madurez (°Brix/Acidez)** | $12,96 \pm 0,05^a$ | $13,06 \pm 0,14^b$ |
| Densidad (g/cc) | $1,045 \pm 0,001^a$ | $1,079 \pm 0,01^b$ |

Los valores representan el promedio \pm SEM con $n = 3$, superíndices diferentes en una fila indican que existe diferencia estadística significativa ($p < 0,05$). * °Brix corregido por temperatura; a.a: ácido ascórbico; a.c: ácido cítrico; Glu: Glucosa; ** Relación determinada al corregir °Brix.

Según la diferencia de medias existe diferencia altamente significativa ($p < 0,05$), en cuanto a la caracterización de las dos especies, excepto para la acidez titulable que no existe diferencia.

En cuanto a la caracterización del jugo fresco de naranja presentamos: pH, Sólidos solubles; acidez titulable; índice de madurez y densidad 3,51; 10,11 °Brix; 1,49 g a.c./100g jugo; 12,96; y 1,45 g/cc; respectivamente, que son diferentes a lo reportados por HOURS *et al.*, (2005), ABIT *et al* (1999); AVALO *et al* (2009); ALVAREZ *et al.*, (2004); AVALO *et al.*, (2009) quienes mencionaron: 3,40; 9,75 °Brix; 1,47 g a.c./100g jugo; 15,15 y 1,051 g/cc respectivamente.

En cuanto a la caracterización del jugo fresco de mandarina presentamos: pH, Sólidos solubles; acidez titulable; índice de madurez y densidad 3,61; 10,36 °Brix; 1,47 g a.c./100 g jugo; 13,06 y 1,079 g/cc respectivamente, que son diferentes a lo reportados por CASTILLA (2005); CASTILLA (2005); GUILLEN (2006); GUILLEN (2006); GUILLEN (2006) quienes indican 4,0; 9,36 °Brix; 1 g a.c./100 g jugo; 13,06 y 1,095 g/cc respectivamente

El contenido de sólidos solubles es un parámetro que se emplea para identificar el estado de madurez de las frutas, y en la industria de jugos este es un indicativo importante del rendimiento del proceso (CUNHA *et al.*, 2001).

4.3 Cuantificación de la vitamina C en los jugos frescos de naranja y mandarina y tratados térmicamente

4.3.1 Cuantificación de la vitamina C a 60 °C

En el Cuadro 2, Figura 5, se detalla la cuantificación de la vitamina C en los JFN y JFM y tratados térmicamente 60 °C.

Cuadro 2. Cuantificación de la vitamina C en los jugos frescos de naranja y mandarina y tratados tratamiento a 60 °C.

| Tiempo (min) | Vitamina C de jugo de naranja | Vitamina C de jugo de mandarina |
|-----------------|----------------------------------|------------------------------------|
| | (mg a.a./100mL jugo) | (mg a.a./100mL jugo) |
| 0 | 47,25 ± 0,15 ^a | 29,46 ± 0,01 ^b |
| 3 | 45,19 ± 0,09 ^a | 28,72 ± 0,05 ^b |
| 6 | 43,86 ± 0,15 ^a | 27,71 ± 0,10 ^b |
| 9 | 42,73 ± 0,24 ^a | 26,64 ± 0,10 ^b |
| 12 | 41,65 ± 0,24 ^a | 25,70 ± 0,15 ^b |

Los valores representan el promedio ± SE con n=3, superíndices diferentes en la misma fila indican que existe diferencia estadística significativa.

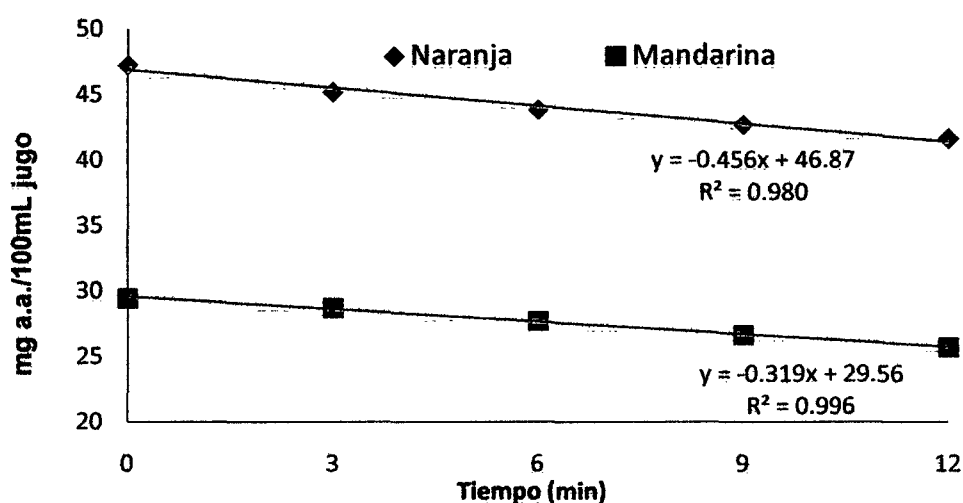


Figura 5. Degradación de la Vitamina C en jugos frescos de naranja y mandarina y tratados térmicamente a 60 °C

4.3.2 Cuantificación de la vitamina C a 70 °C

En el Cuadro 3 y en la Figura 6, se muestra la cuantificación de la vitamina C en los JFN y JFM y tratados térmicamente a 70 °C.

Cuadro 3. Cuantificación de la vitamina C en los jugos frescos de naranja y mandarina y tratados tratamiento a 70 °C.

| Tiempo (min) | Vitamina C de jugo de naranja (mg a.a./100mL jugo) | Vitamina C de jugo de mandarina (mg a.a./100mL jugo) |
|--------------|--|--|
| 0 | 47,25 ± 0,15 ^a | 29,46 ± 0,01 ^b |
| 3 | 44,63 ± 0,15 ^a | 28,10 ± 0,10 ^b |
| 6 | 42,78 ± 0,15 ^a | 27,06 ± 0,15 ^b |
| 9 | 40,93 ± 0,15 ^a | 26,35 ± 0,10 ^b |
| 12 | 39,54 ± 0,15 ^a | 25,48 ± 0,10 ^b |

Los valores representan el promedio ± SEM con n=3, superíndices diferentes en una fila indican que existe diferencia estadística significativa ($p < 0,05$).

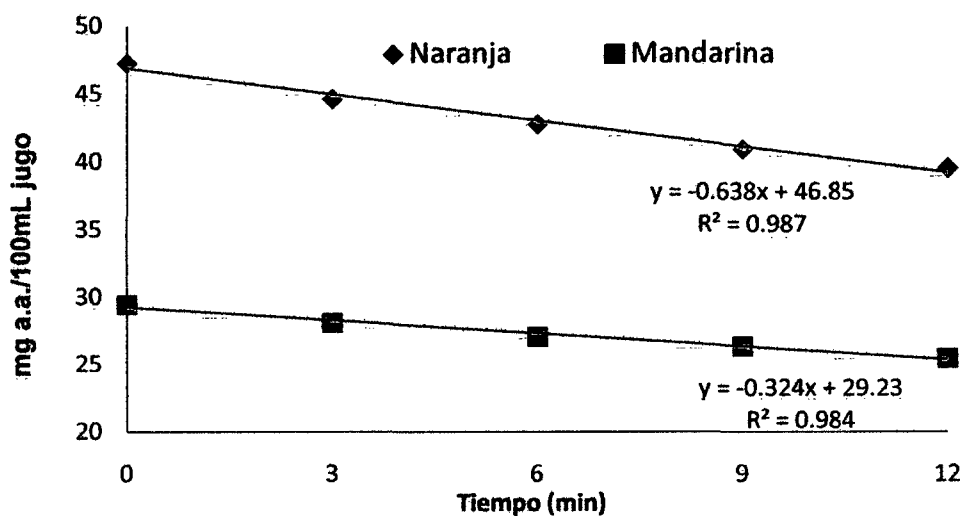


Figura 6. Degradación de la Vitamina C en jugos frescos de naranja y mandarina y tratados térmicamente a 70 °C.

4.3.3 Cuantificación de la vitamina C a 80 °C

En el Cuadro 4 y en la Figura 7, se aprecia la cuantificación de la vitamina C en los JFN y JFM y tratado térmicamente a 80 °C.

Cuadro 4. Cuantificación de vitamina C en los jugos frescos de naranja y mandarina y tratados tratamiento a 80 °C.

| Tiempo (min) | Vitamina C de jugo de naranja | Vitamina C de jugo de mandarina |
|-----------------|----------------------------------|------------------------------------|
| | (mg a.a./100mL jugo) | (mg a.a./100mL jugo) |
| 0 | 47,25 ± 0,15 ^a | 29,46 ± 0,01 ^b |
| 3 | 44,01 ± 0,15 ^a | 27,13 ± 0,10 ^b |
| 6 | 42,21 ± 0,09 ^a | 26,16 ± 0,10 ^b |
| 9 | 40,77 ± 0,15 ^a | 25,28 ± 0,10 ^b |
| 12 | 38,97 ± 0,09 ^a | 24,50 ± 0,10 ^b |

Los valores representan el promedio ± SEM con n=3, superíndices diferentes en una fila indican que existe diferencia estadística significativa ($p < 0,05$).

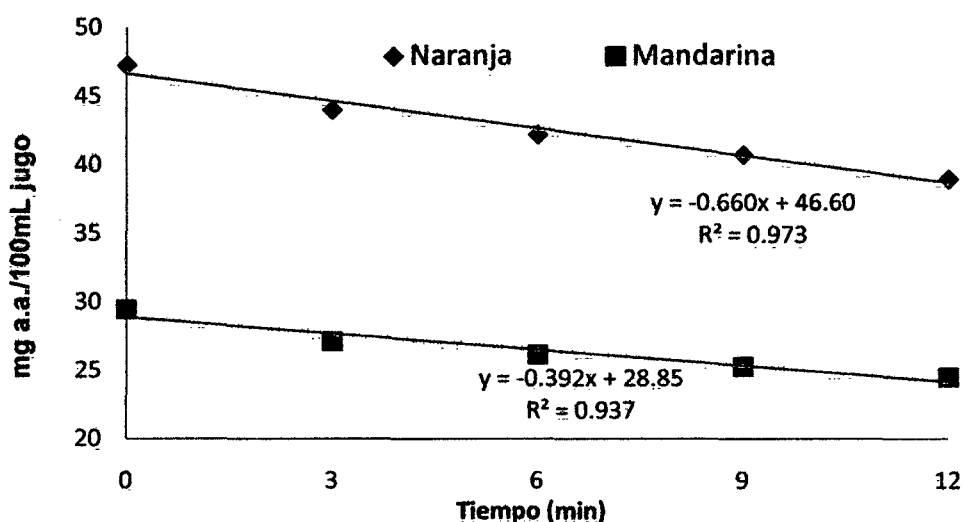


Figura 7. Degradación de la Vitamina C en jugos frescos de naranja y mandarina y tratados térmicamente a 80 °C

Según la prueba de t para la comparación de medias existe diferencia altamente significativa ($p < 0,05$) en el contenidos de vitamina C entre naranja y mandarina a 60 °C, 70 °C y 80 °C y 0, 3, 6, 9, y 12 minutos.

En los Cuadros 2, 3 y 4 y Figuras 5, 6, 7 se presenta la degradación del contenido de vitamina C, en jugos de naranja y mandarina donde el JFN presentó un contenido de vitamina C 47,25 mg de a.a./100mL jugo, siendo similar a lo mencionado por AVALO *et al.*, (2009), quien reportó 50,05 mg de a.a./100mL jugo; en tanto que el JFM presentó un contenido en vitamina C 29,46 mg de a.a./100mL, encontrándose diferencia con lo mencionado por GUILLEN (2006), quien indicó 43,96 mg de a.a./100mL; ROQUE *et al* (2005), reportan el contenido de vitamina C de varias variedades de naranja: Navelina, New Hall, Salustiana, W. Navel con respecto a la naranja de variedad Valencia un contenido de vitamina C de 53,49 mg/100 mL jugo; mientras que AVALO *et al* (2009), menciona un contenido de vitamina C en naranja de variedad valencia de 50,05 mg/a.a./100 mL jugo. La disminución de vitamina C, al aplicar un tratamiento térmico, se produce como consecuencia de su oxidación en medio ácido originando como productos finales furfurales y CO, (BRAVERMAN 1967; CHEFTEL y CHEFTEL 1980; GRAUMLICH *et al.*, 1987).

4.4 Cuantificación de azúcares reductores en los jugos frescos de naranja y mandarina y tratados térmicamente

4.4.1 Cuantificación de azúcares reductores a 60 °C

En el Cuadro 5 y en la Figura 8, se observa el contenido de azúcares reductores para los jugos de ambas frutas tanto frescas como tratado térmicamente a 60 °C.

Cuadro 5. Cuantificación de azúcares reductores en los jugos frescos de naranja y mandarina y tratada térmicamente a 60 °C.

| Tiempo (min) | Azúcares reductores de naranja | Azúcares Reductores de mandarina |
|-----------------|-----------------------------------|-------------------------------------|
| | (g Glu/100 g jugo) | (g de Glu/100 g jugo) |
| 0 | 5,08 ± 0,05 ^a | 2,52 ± 0,04 ^b |
| 3 | 5,13 ± 0,01 ^a | 2,72 ± 0,03 ^b |
| 6 | 5,52 ± 0,01 ^a | 3,16 ± 0,05 ^b |
| 9 | 5,54 ± 0,04 ^a | 3,53 ± 0,06 ^b |
| 12 | 5,81 ± 0,01 ^a | 3,93 ± 0,02 ^b |

Los valores representan el promedio ± SEM con n=3, superíndices diferentes en una fila indican que existe diferencia estadística significativa ($p < 0,05$).

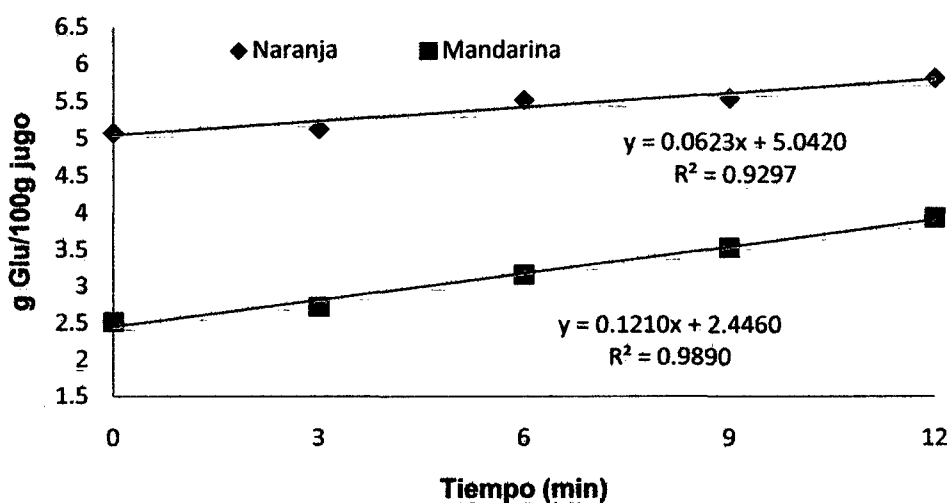


Figura 8. Incremento de azúcares reductores en jugos frescos de naranja y mandarina y tratado térmicamente a 60 °C.

4.4.2 Cuantificación de azúcares reductores a 70 °C

En el Cuadro 6 y en la Figura 9, se presenta el incremento de azúcares reductores en JFN y JFM y tratado térmicamente a 70 °C.

Cuadro 6. Cuantificación de azúcares reductores en los jugos frescos de naranja y mandarina y tratada térmicamente a 70 °C.

| Tiempo (min) | Azúcares reductores de | Azúcares reductores de |
|-----------------|----------------------------------|------------------------------------|
| | naranja (g de Glu/100 g jugo) | mandarina (g de Glu/100 g jugo) |
| 0 | 5,08 ± 0,05 ^a | 2,52 ± 0,04 ^b |
| 3 | 5,28 ± 0,01 ^a | 2,81 ± 0,04 ^b |
| 6 | 5,60 ± 0,02 ^a | 3,38 ± 0,03 ^b |
| 9 | 5,95 ± 0,02 ^a | 3,99 ± 0,05 ^b |
| 12 | 6,27 ± 0,01 ^a | 4,43 ± 0,03 ^b |

Los valores representan el promedio ± SEM con n=3, superíndices diferentes en una fila indican que existe diferencia estadística significativa ($p < 0,05$).

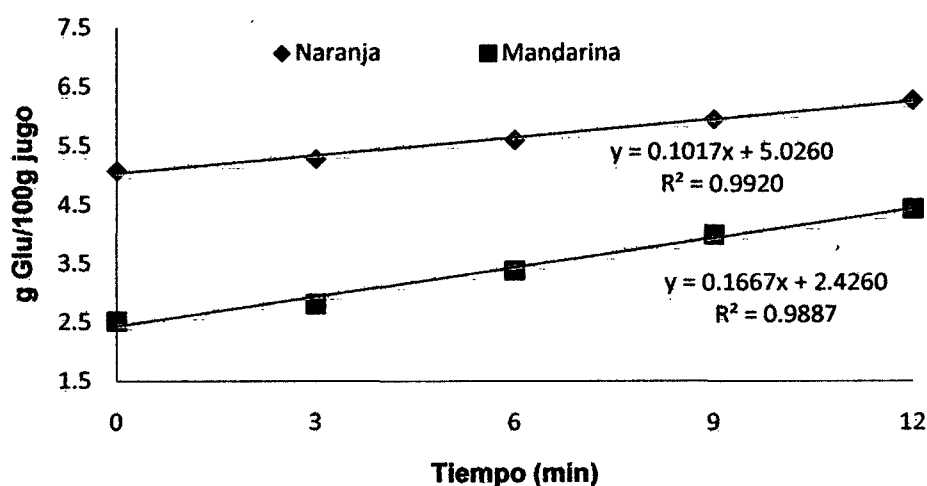


Figura 9. Incremento de azúcares reductores en jugos frescos de naranja y mandarina y tratado térmicamente a 70 °C.

4.4.3 Cuantificación de azúcares reductores a 80 °C

En el Cuadro 7 y en la Figura 10, se presenta la cuantificación de azúcares reductores en JFN, JFM y tratado térmicamente a 80 °C.

Cuadro 7. Cuantificación de azúcares reductores en los jugos frescos de naranja y mandarina y tratada térmicamente a 80 °C.

| Tiempo (min) | Azúcares Reductores de naranja | Azúcares reductores de mandarina |
|-----------------|-----------------------------------|-------------------------------------|
| | (g de Glu/100 g jugo) | (g de Glu/100 g jugo) |
| 0 | 5,08 ± 0,05 ^a | 2,52 ± 0,04 ^b |
| 3 | 5,46 ± 0,01 ^a | 3,06 ± 0,03 ^b |
| 6 | 5,99 ± 0,01 ^a | 3,84 ± 0,04 ^b |
| 9 | 6,42 ± 0,04 ^a | 4,42 ± 0,03 ^b |
| 12 | 6,88 ± 0,03 ^a | 4,92 ± 0,03 ^b |

Los valores representan el promedio ± SEM con n=3, superíndices diferentes en una fila indican que existe diferencia estadística significativa ($p < 0,05$).

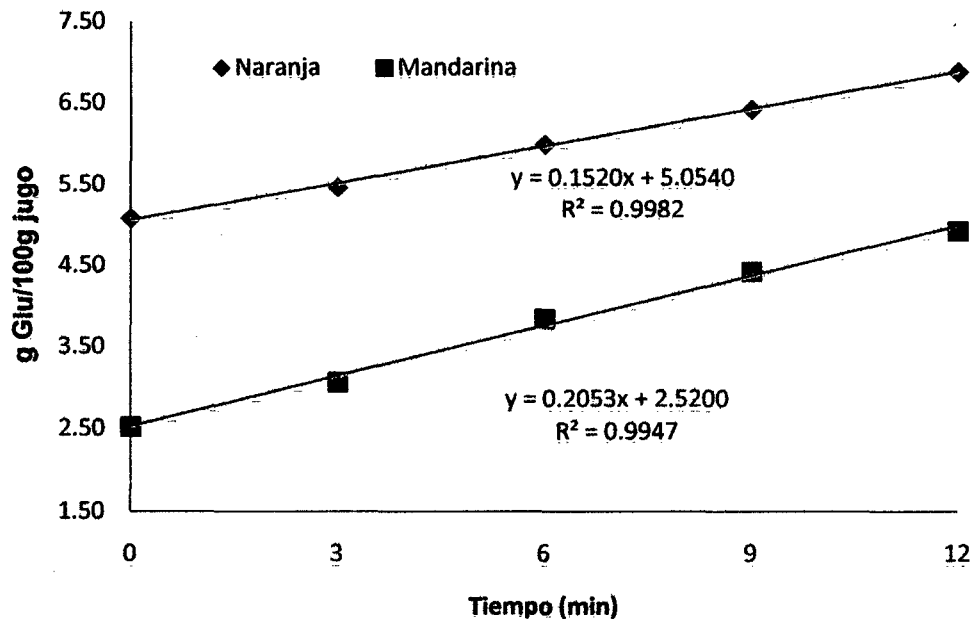


Figura 10. Incremento de azúcares reductores en jugos frescos de naranja y mandarina y tratado térmicamente a 80 °C.

Según la prueba de t para la comparación de medias existe diferencia altamente significativa ($p < 0,05$) en el contenidos de azúcares reductores entre naranja y mandarina a 60 °C, 70 °C y 80 °C y 0, 3, 6, 9 12 minutos.

En los Cuadros 5, 6 y 7, Figuras 8, 9, 10 se presenta en incremento de azúcares reductores en jugos de naranja y mandarina donde el jugo fresco de naranja presentó un contenido de azúcares reductores de 5,08 g de Glu/100g jugo, siendo el valor próximo a lo mencionado por ABIT *et al.*, (1999), quien reportó 4,99 g de Glu/100g de jugo; mientras que el jugo fresco de mandarina presentó un contenido de azúcares reductores de 2,52 g de Glu/100g jugo, existiendo una mínima diferencia con lo mencionado por GUILLEN (2006), quien reportó 2,47 g de Glu/100g jugo; los azúcares reductores se incrementan a medida que se aplica un tratamiento térmico por la evaporación de agua del jugo FELLOWS, (1994) y KIMBAL, (2002), al aplicar un tratamiento térmico ocurre una hidrólisis parcial de los azúcares no reductores como sacarosa en medio ácido, CALVAY, (2000).

4.5 Actividad antioxidante en los jugos frescos de naranja y mandarina y tratados térmicamente

4.5.1 Radical 1,1 diphenyl-2-picrilhidrazyl (DPPH) a 60 °C

El en Cuadro 8 y en las Figuras 11, 12, se muestra la actividad antioxidante en IC_{50} (mg/mL) y AAI en los jugos frescos de naranja, el jugo fresco de mandarina y tratados térmicamente a 60 °C.

Cuadro 8. Actividad antioxidante en IC₅₀ (mg/mL) y AAI en los jugos frescos de naranja y mandarina y tratados térmicamente a 60 °C.

| Tiempo T.T. (min) | IC ₅₀ de naranja (mg/mL) | IC ₅₀ de mandarina (mg/mL) | AAI de naranja | AAI de mandarina |
|-------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 0 | 5,367 ± 0,01 ^a | 9,438 ± 0,04 ^b | 0,00727 ± 0,01 ^a | 0,00413 ± 0,02 ^b |
| 3 | 5,451 ± 0,02 ^a | 9,776 ± 0,01 ^b | 0,00715 ± 0,02 ^a | 0,00399 ± 0,00 ^b |
| 6 | 5,508 ± 0,04 ^a | 10,075 ± 0,22 ^b | 0,00708 ± 0,04 ^a | 0,00387 ± 0,08 ^b |
| 9 | 5,590 ± 0,01 ^a | 10,443 ± 0,11 ^b | 0,00698 ± 0,01 ^a | 0,00373 ± 0,04 ^b |
| 12 | 5,655 ± 0,02 ^a | 10,717 ± 0,08 ^b | 0,00690 ± 0,03 ^a | 0,00364 ± 0,03 ^b |

Los valores representan el promedio ± SEM con n = 5, superíndices diferentes en una fila indican que existe diferencia estadística significativa (p<0,05).

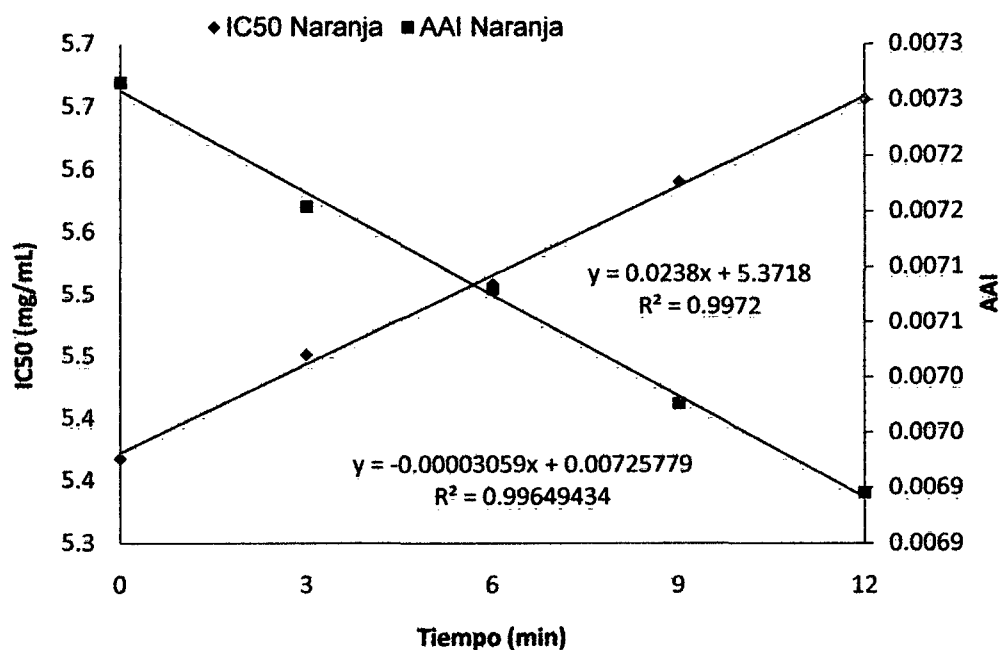


Figura 11. Actividad antioxidante en IC₅₀ (mg/mL) y AAI en jugo fresco de naranja y tratado térmicamente a 60 °C.

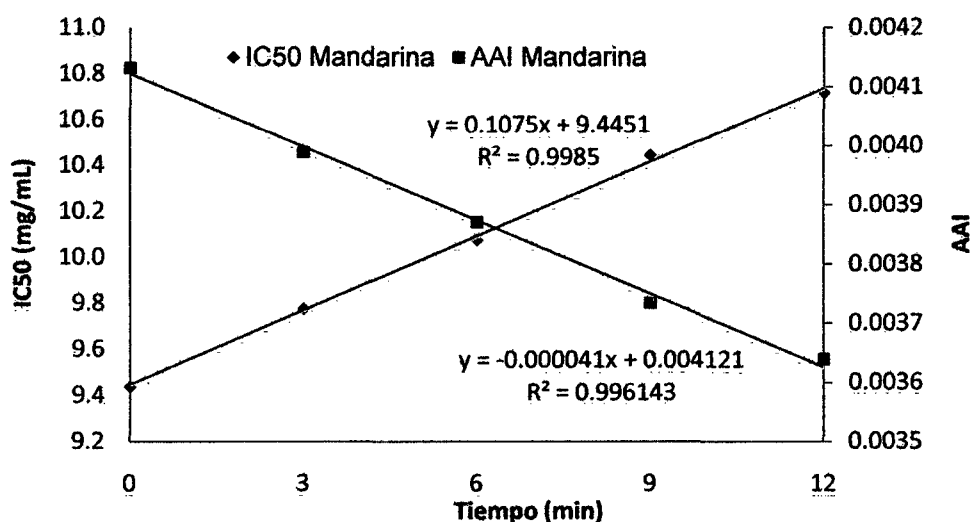


Figura 12. Actividad antioxidante en IC₅₀ (mg/mL) y AAI en jugo fresco de mandarina y tratado térmicamente a 60 °C.

4.5.2 Radical 1,1 diphenyl-2-picrilhidrazyl (DPPH) a 70 °C

En el Cuadro 9 y en la Figura 13, 14 se observa la actividad antioxidante en IC₅₀(mg/mL) y AAI en los JFN y JFM y tratados térmicamente a 70 °C.

Cuadro 9. Actividad antioxidante en IC₅₀ (mg/mL) y AAI en los jugos frescos de naranja y mandarina y tratados térmicamente a 70 °C.

| Tiempo (min) | IC ₅₀ de naranja (mg/mL) | IC ₅₀ de mandarina (mg/mL) | AAI de Naranja | AAI de mandarina |
|--------------|-------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 0 | 5,367 ± 0,01 ^a | 9,438 ± 0,04 ^b | 0,00727 ± 0,01 ^a | 0,00413 ± 0,02 ^b |
| 3 | 5,518 ± 0,02 ^a | 9,953 ± 0,16 ^b | 0,00706 ± 0,03 ^a | 0,00391 ± 0,07 ^b |
| 6 | 5,588 ± 0,04 ^a | 10,442 ± 0,16 ^b | 0,00697 ± 0,05 ^a | 0,00373 ± 0,06 ^b |
| 9 | 5,732 ± 0,02 ^a | 10,817 ± 0,12 ^b | 0,00680 ± 0,02 ^a | 0,00360 ± 0,04 ^b |
| 12 | 5,861 ± 0,10 ^a | 11,332 ± 0,13 ^b | 0,00665 ± 0,10 ^a | 0,00344 ± 0,04 ^b |

Los valores representan el promedio ± SEM con n = 5, superíndices diferentes en una fila indican que existe diferencia estadística significativa (p<0,05).

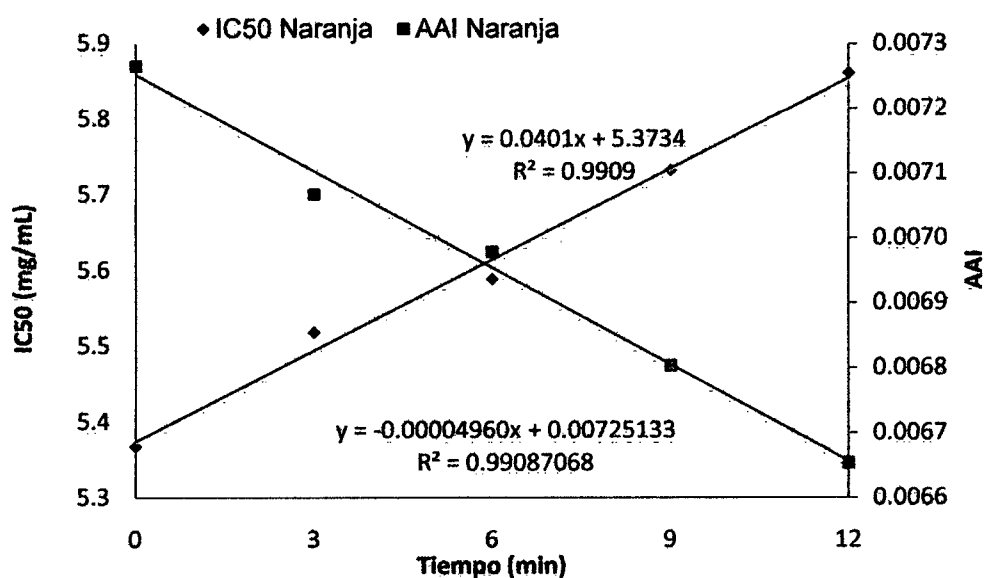


Figura 13. Actividad antioxidante en IC_{50} (mg/mL) y AAI en jugo fresco de naranja y tratado térmicamente a 70 °C.

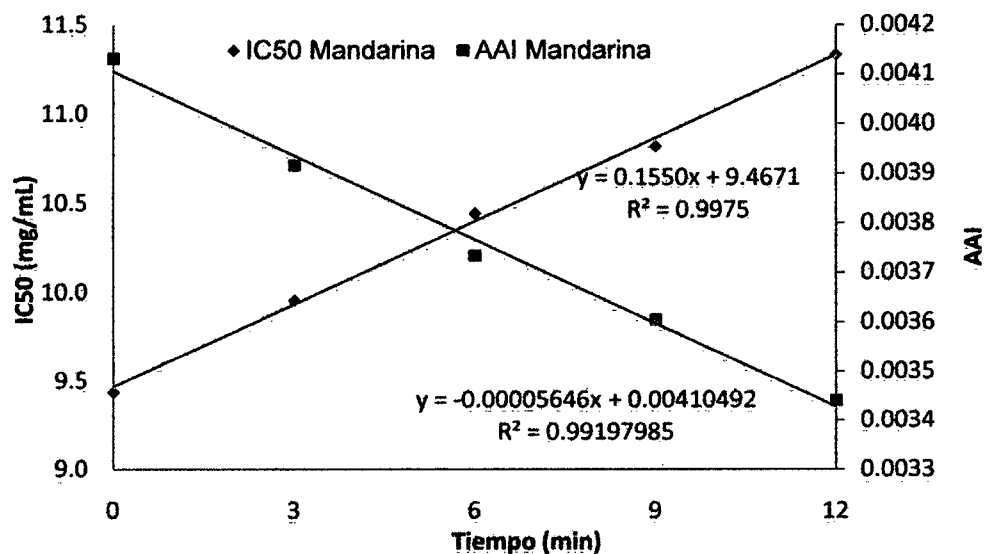


Figura 14. Actividad antioxidante en IC_{50} (mg/mL) y AAI en jugo fresco de mandarina y tratado térmicamente a 70 °C.

4.5.3 Radical 1,1 diphenyl-2-picrilhidrazyl (DPPH) a 80 °C

El en Cuadro 10 y la Figura 15, 16 se muestra la actividad antioxidante en IC_{50} (mg/mL) en JFN y JFM y tratados térmicamente a 80 °C.

Cuadro 10. Actividad antioxidante en IC₅₀ (mg/mL) y AAI en los jugos frescos de naranja y mandarina y tratados térmicamente a 80 °C.

| Tiempo T.T. (min) | IC ₅₀ de naranja (mg/mL) | IC ₅₀ de mandarina (mg/mL) | AAI de naranja | AAI de mandarina |
|-------------------------|---|---|----------------------------|----------------------------|
| 0 | 5,367 ± 0,01 ^a | 9,438 ± 0,04 ^b | 0,0072 ± 0,01 ^a | 0,0041 ± 0,02 ^b |
| 3 | 5,544 ± 0,02 ^a | 10,189 ± 0,01 ^b | 0,0070 ± 0,02 ^a | 0,0038 ± 0,00 ^b |
| 6 | 5,712 ± 0,00 ^a | 10,770 ± 0,06 ^b | 0,0068 ± 0,00 ^a | 0,0036 ± 0,02 ^b |
| 9 | 5,846 ± 0,03 ^a | 11,467 ± 0,07 ^b | 0,0067 ± 0,03 ^a | 0,0034 ± 0,02 ^b |
| 12 | 5,962 ± 0,03 ^a | 12,121 ± 0,04 ^b | 0,0065 ± 0,00 ^a | 0,0032 ± 0,01 ^b |

Los valores representan el promedio ± SEM con n = 5, superíndices diferentes en una fila indican que existe diferencia estadística significativa (p<0,05).

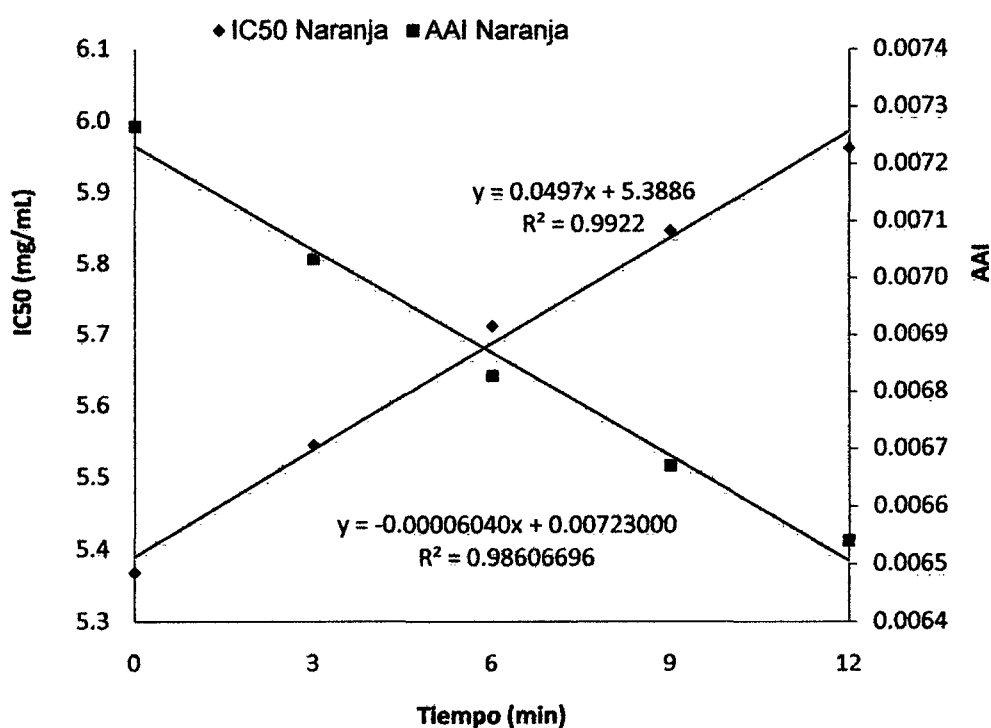


Figura 15. Actividad antioxidante en IC₅₀ (mg/mL) y AAI en jugo fresco de naranja y tratado térmicamente a 80 °C.

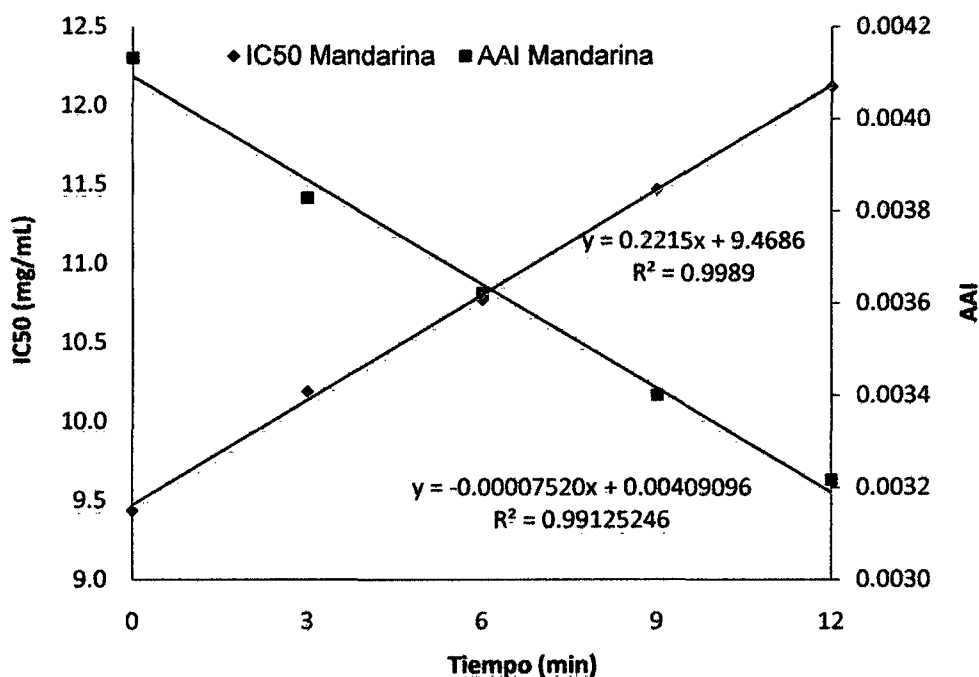


Figura 16. Actividad antioxidante en IC₅₀ (mg/mL) y AAI en jugo fresco de mandarina y tratado térmicamente a 80 °C.

Según la prueba de t para la comparación de medias (Anexo I, II, III, IV, V, VI) existe diferencia altamente significativa ($p < 0,05$) en el contenido de actividad antioxidante en IC₅₀ (mg/mL) y AAI evaluados en JFN, JFM y tratados térmicamente a 60 °C, 70 °C y 80 °C y 0, 3, 6, 9, 12 minutos.

En los Cuadros 8, 9 y 10 se presenta la comparación de los coeficientes del radical DPPH en jugos de naranja y mandarina, encontrándose mayor eficiencia antioxidante en el jugo fresco de naranja con IC₅₀ $5,372 \pm 0,01$ mg/mL y IC₅₀ $9,438 \pm 0,04$ mg/mL para la mandarina; descendiendo la eficiencia antioxidante al aplicarse tratamiento térmico, ya que el efecto antiradical y antioxidante depende de la fracción analizada y destrucción de los componentes antioxidantes AMAROWICZ *et al* (2009).

4.6 Cinética de degradación de actividad antioxidante en los jugos de naranja y mandarina en índice de actividad antioxidante (AAI)

4.6.1 Orden de reacción (n)

Al evaluar el orden de reacción se observó que los jugos al aplicar los tratamiento térmicos siguieron una ley cinética de orden cero, lo que coincide con lo mencionado por ACEVEDO *et al*, (2004).

$$C = C_0 - k.t \quad (7)$$

C y C_0 = representan la concentración de componentes antioxidantes a distintos tiempos de tratamiento y a tiempo inicial, respectivamente.

k = es la constante de velocidad de reacción (mol/L*min).

t = es el tiempo de tratamiento térmico (min).

En las Figuras 17,18 y 19 se observa la evaluación del orden de reacción en n 0; 0,5; 1 para la naranja en índice de actividad antioxidante (AAI).

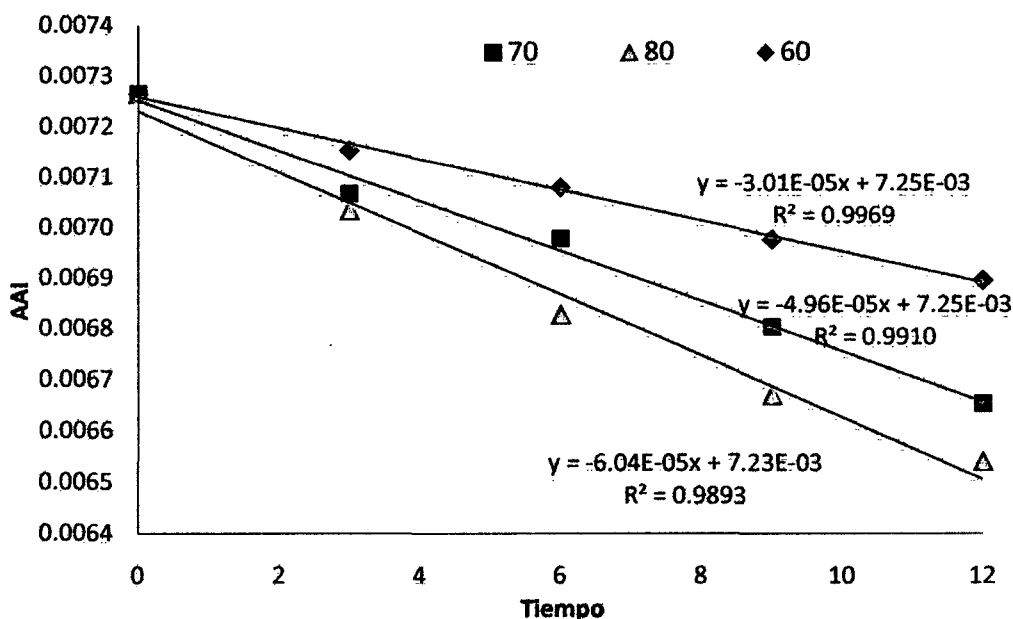


Figura 17. Evaluación del orden de reacción de naranja en n ($n = 0$) en índice de actividad antioxidante (AAI).

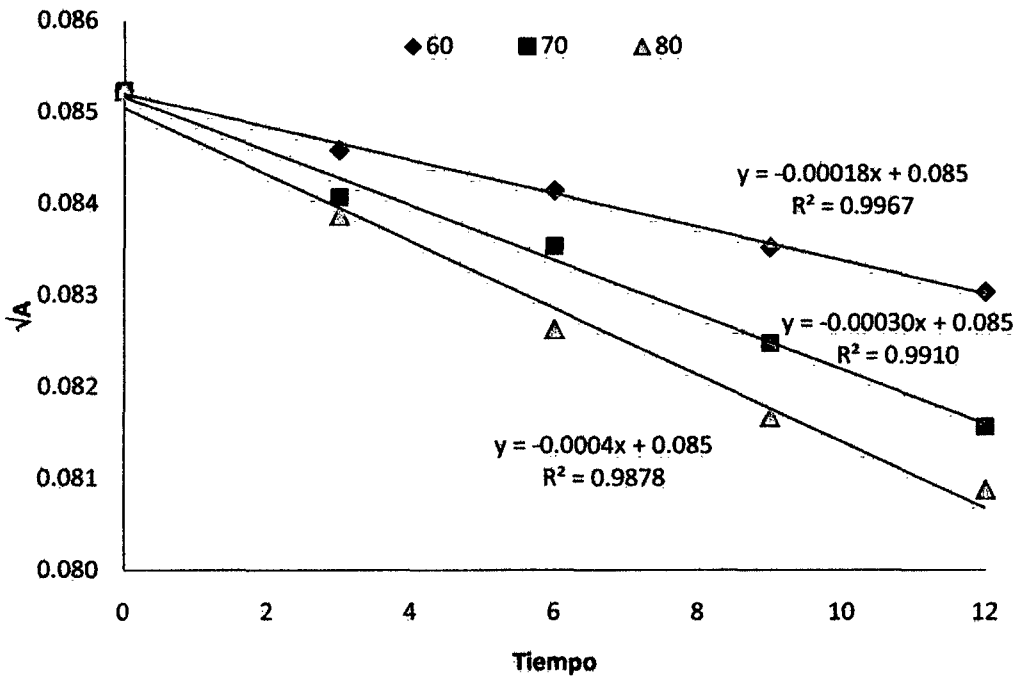


Figura 18. Evaluación del orden de reacción de naranja en n igual a cero ($n = 0,5$) en índice de actividad antioxidante (AAI).

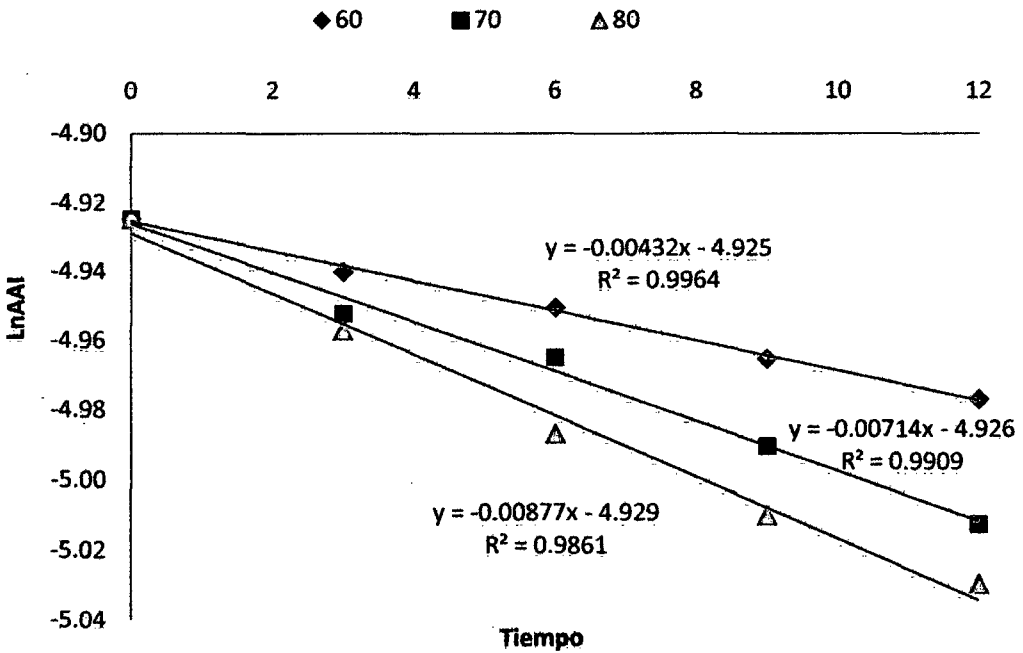


Figura 19. Evaluación del orden de reacción de naranja en n igual a cero ($n = 1$) en índice de actividad antioxidante (AAI).

En las Figuras 20, 21 y 22 se observa la evaluación del orden de reacción en $n = 0$; 0,5 y 1 para mandarina en índice de actividad antioxidante (AAI).

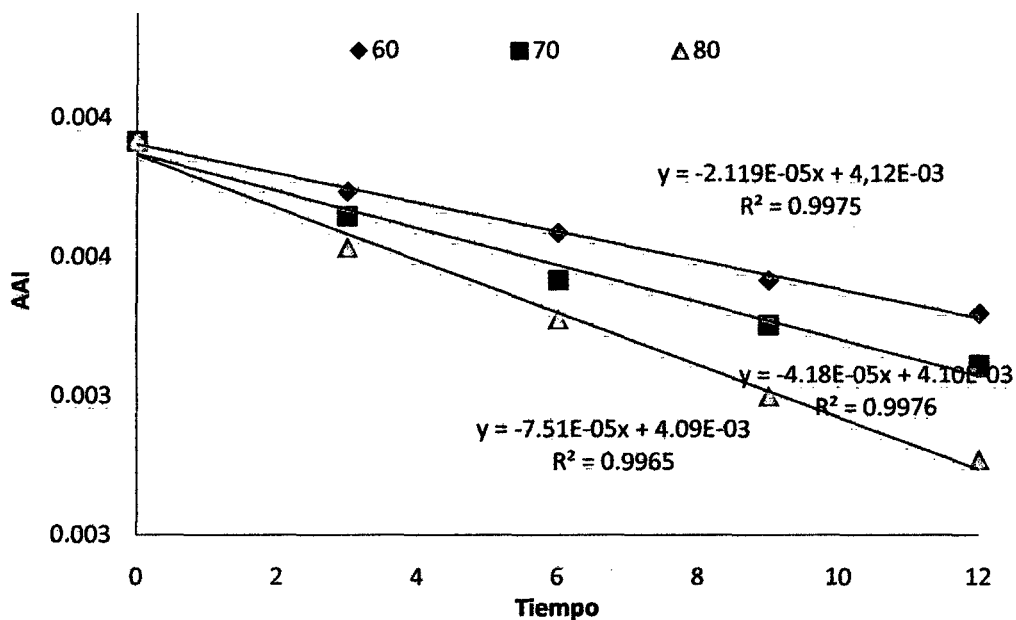


Figura 20. Evaluación del orden de reacción de mandarina en n igual a cero ($n = 0$) en índice de actividad antioxidante (AAI).

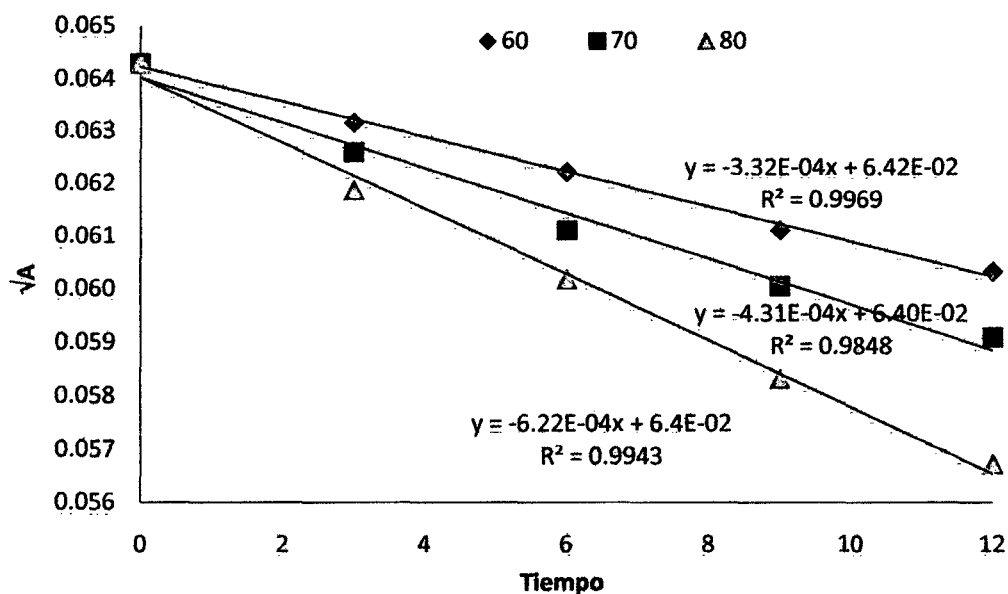


Figura 21. Evaluación del orden de reacción de mandarina en n igual a cero ($n = 0,5$) en índice de actividad antioxidante (AAI).

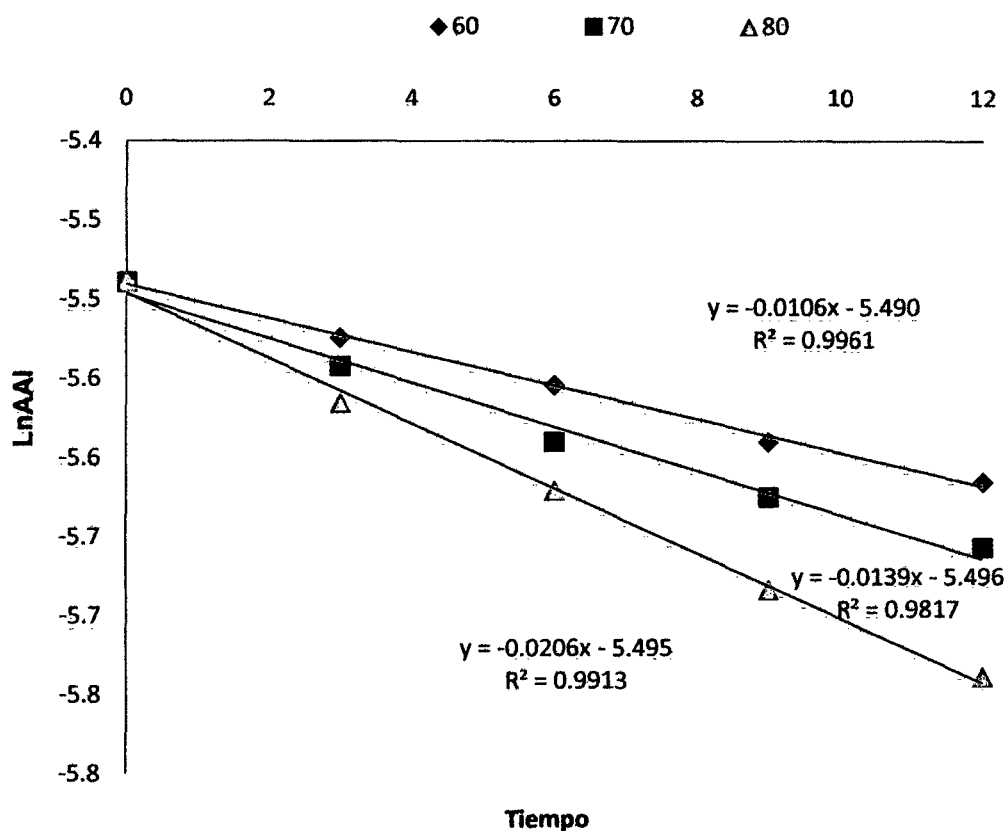


Figura 22. Evaluación del orden de reacción de mandarina en n igual a cero ($n = 1$) en índice de actividad antioxidante (AAI).

4.6.2 Constante de velocidad de reacción (k).

Según la prueba de t para la comparación de medias (Anexo VII) existe diferencia altamente significativa ($p < 0,05$) en la velocidad de reacción (k) entre jugos de naranja y mandarina tratados a 60 °C, 70 °C y 80 °C.

En el Cuadro 11 se muestra la velocidad de reacción (k) en índice de actividad antioxidante (AAI).

Cuadro 11. Velocidad de reacción (k) en índice de actividad antioxidante (AAI).

| Temp °C | K de jugo de naranja (mg/L.min) 10 ⁻⁵ | K de jugo de mandarina (mg/L.min) 10 ⁻⁵ | Coef. corr. naranja (R ²) | Coef. corr. mandarina (R ²) |
|------------|--|--|---|---|
| 60 | 3,01 ± 0,00 ^a | 2,12 ± 0,01 ^b | 0,9969 | 0,9975 |
| 70 | 4,96 ± 0,00 ^a | 4,18 ± 0,00 ^b | 0,9910 | 0,9976 |
| 80 | 6,04 ± 0,00 ^a | 7,52 ± 0,00 ^b | 0,9893 | 0,9965 |

Los valores representan el promedio ± SEM con n = 5, superíndices diferentes en una fila indican que existe diferencia estadística significativa (p<0,05).

4.6.3 Energía de activación (Ea) del jugo de naranja y mandarina

En la Figura 17 se muestra gráficamente de la regresión lineal Ln k versus 1/T (inversa de la temperatura) en índice de actividad antioxidante (AAI).

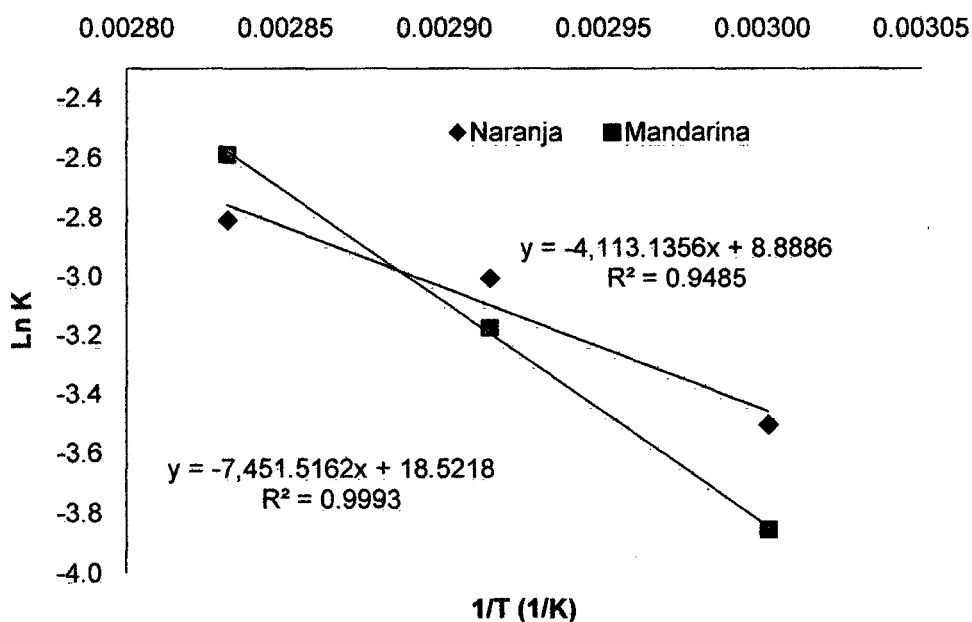


Figura 23. Regresión lineal Ln k versus 1/T (inversa de la temperatura) en índice de actividad antioxidante (AAI).

El en Cuadro 12, se muestra la energía de activación (Ea) para resultados de los tres tratamientos.

Cuadro 12. Energía de activación (Ea) en índice de actividad antioxidante.

| Ea de naranja (kcal/mol) | Ea de mandarina (kcal/mol) |
|---------------------------------|-----------------------------------|
| 8,173 ± 0,24 ^a | 14,806 ± 0,41 ^b |

Los valores representan el promedio ± SEM con n=5, superíndices diferentes en una fila indican que existe diferencia estadística significativa (p<0,05).

Según la prueba de t para la comparación de medias (Anexo VIII) existe diferencia altamente significativa (p<0,05) en la energía de activación (Ea) entre jugos de naranja y mandarina tratados.

En los Cuadros 12, se presenta la comparación de las energías de activación siendo la menor para el jugo de naranja 8,173 ± 0,24 kcal/mol y para la mandarina 14,806 ± 0,41 kcal/mol estudiadas a 60 °C, 70 °C y 80 °C, en tanto que ACEVEDO *et al*, (2004), reportó una energía de activación de 10,212 kcal/mol para naranja y 15,475 kcal/mol para mandarina, aplicando un tratamiento térmico de 70 °C, 80 °C y 90 °C, siendo como tiempo máximo de tratamiento térmico 120 minutos, presentando una mayor sensibilidad a la temperatura el jugo de mandarina.

V CONCLUSIONES

- En cuanto al rendimiento el jugo de naranja presentó $49,24 \pm 0,21$ g jugo/100 g fruto y $39,94 \pm 0,50$ g jugo/100 g fruto para la mandarina; para el pH la naranja presentó $3,51 \pm 0,02$ y la mandarina $3,61 \pm 0,02$; acidez titulable $1,49 \pm 0,02$ g a.c./100 g jugo para la naranja y $1,47 \pm 0,01$ g a.c./100g jugo; sólidos solubles totales $10,11 \pm 0,05$ °brix para naranja y $10,36 \pm 0,03$ °brix para mandarina; índice de madurez $12,96 \pm 0,05$ para naranja y $13,06 \pm 0,14$ para mandarina y densidad $1,045 \pm 0,001$ g/cc de naranja y $1,079 \pm 0,01$ g/cc.
- En mayor contenido de vitamina C presentó el jugo de naranja valencia $47,25 \pm 0,15$ mg a.a./100 ml jugo; y el jugo de mandarina común $29,46 \pm 0,01$ mg a.a./100 ml jugo.
- El mayor contenido de azúcares reductores se encontró en jugo de naranja valencia $5,08 \pm 0,05$ g Glu/100 g jugo; y el jugo de mandarina común $2,52 \pm 0,04$ g Glu/100 g jugo.
- Los jugos tratados térmicamente presentaron una orden de reacción cero, y las velocidades de reacción (k): $3,01 \text{ E-}05 \pm 0,00$; $4,96 \text{ E-}05 \pm 0,00$; $6,94 \text{ E-}05 \pm 0,00$ para la naranja y $2,12 \text{ E-}05 \pm 0,01$; $4,18 \text{ E-}05 \pm 0,00$; $7,52 \text{ E-}05 \pm 0,00$ para la mandarina; y una energía de activación $8,173 \pm 0,24$ kcal/mol y $14,806 \pm 0,41$ kcal/mol de naranja y mandarina respectivamente.

VI RECOMENDACIONES

- Evaluar la cinética de la degradación de la actividad antioxidante por tratamiento térmico en jugos de naranja y mandarina frente a otros radicales.
- Evaluar la cinética de la degradación de la actividad antioxidante por tratamiento térmico en otras frutas con propiedades antioxidantes.
- Evaluar la cinética de la degradación del color de los jugos tratados térmicamente.
- Evaluar el contenido de polifenoles en diferentes variedades de naranja y mandarina de la zona de Huallaga.
- Evaluar la actividad antioxidante en diferentes variedades de naranja y mandarina de la zona de Huallaga.
- Evaluar la actividad antioxidante por otros métodos para establecer su grado de correlación en diferentes variedades de naranja y mandarina.
- Evaluar los componentes bioactivos en la cáscara de la naranja de la variedad valencia y de la cáscara mandarina de la variedad común.
- Evaluar la cinética de la degradación de los componentes bioactivos en la cáscara de la naranja de la variedad valencia y de la cáscara mandarina de la variedad común u otra variedad de cítricos.

VII ABSTRACT

Citrics grow on the Amazon of Peruvian, whose production not yet technician and his consumption is low, this reseach purpose was to evaluated the kinetics degradation of the antioxidant activity for heat treatment in orange juices and tangerine again of the DPPH⁺ free radical (1,1 difenil-2-picrilhidrozil),. The fresh and processed juices were obtained to 60°C, 70°C y 80°C with 0, 3, 6, 9, 12 minutes, the antioxidant activity was determined by espectophometric method. And was expressed how in hibition coefficient (IC₅₀) with a value to fresh juice of 5,371± 0,01 mg/mL y 9,438 ± 0,04 mg/mL to orange and tangerine respectively; while to treatment of 80°C and 12 minutes were 5,966 ± 0,03 mg/mL y 12,122 ± 0,04 mg/mL presenting a kinetics of order zero with activation energy of 8,173 ± 0,24 y 14,806 ± 0,41 kcal/mol respectively. In conclusion the results demonstrated that than the studied juices lose their antioxidant activity.

VIII REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIB, M., FERRARIS, N., CARUGHI, I., FONTANARROSA, M. E., SANCHIS, J.C. 1999. Estudio comparativo de métodos químicos y físicos para la determinación de azúcares reductores en jugos cítricos. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe. Bogotá
- ACEVEDO, B., MONTIEL, M. y AVANZA, J., 2004. Estudio cinético de la degradación de la actividad antioxidante hidrosoluble de jugos cítricos por tratamiento térmico. Laboratorio de Tecnología Química. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Argentina.
- ALVARADO, J. 1996. Principios de ingeniería aplicados a alimentos. Secretaria General de la OEA. Programa Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Universidad Técnica de Ambato. Ecuador.
- ALVAREZ, M.; MACHADO, A.; PADRÓN, A.; GARCÍA, D.; CAMACHO, D.; 2004 Evaluación microbiológica y fisicoquímica de bebidas pasteurizadas fortificadas con extractos de desechos desodorizados de naranja. Venezuela.
- AMOROWICZ, R., ESTRELLA, I., HERNANDEZ, T., DUEÑAS, M., TROSZYKA, A., KOSIUKA, A., PEGG, R. 2009. Antioxidant activity

of a red lentil extract and its fractions. *Int. J. Mol. Sci.* Vol. 10:5513:5527.

A.O.A.C. 1997. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemistry*. Washington U.S.A.

A.O.A.C. 2000. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemistry*. Washington U.S.A.

AVALO, B., PÉREZ, E. y TOVAR M. 2009. Caracterización preliminar del proceso de concentración del jugo natural de naranja en un evaporador de tres efectos. Universidad de Carabobo. Venezuela.

AVELLO, M. y SUWALSKY M, 2006. Radicales Libres, antioxidantes naturales y mecanismo de protección. *Atenea* 464, II Seminario pp 161-172.

BARAHONA, A., 2002 Actividad Antioxidante de Frutas Autóctonas de Guatemala. *Atti- Resumenes. XI Congreso Italo - Latianamericano Di Etnomedicina“ Alberto Di Capua”*. Roma.

BASAGA, H. 1989 Biochemical aspects of free radicals. *Biochem Cell Biol*; 68:989-98.

BOLAÑOS, B. 2003. Determinación de las propiedades antioxidantes de los jugos de fruta producidos industrialmente disponibles para su consumo en el área metropolitana de la Ciudad de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de ciencias químicas y farmacia.

BRAND, W., CUVELIER M., BERSET C. 1995 Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, *Lebensm.-Wiss.u.Technol* 28:25-30.

BRAVERMAN, 1967 *Introducción a la bioquímica de los alimentos*. Ed. Omega,

Barcelona.

- CALVAY, H; 2009. Evaluación de la capacidad en la pulpa concentrada de Camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) Mc Vaugh) Journal of chromatography A. 880, 149-168.
- CANO, A.; ARNAO, M. 2004. La actividad antioxidante total en jugos de cítricos como factor de calidad del producto. Agrícola Vergel 192, 654-658.
- CASP, A. y REQUENA, J.; 2003. Procesos de conservación de alimentos. Ediciones Mundi-Prensa, México.
- CASP, V. 2003. Procesos de Conservación de Alimentos. Ediciones Mundi – Prensa. Madrid – España.
- CASTAÑEDA, C. RAMOS, L. IBÁÑEZ V. 2008 Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas
- CASTILLO, J. 2005. Manual técnico de cítricos. [En línea]: Infoagro, (<http://www.infoagro.com/citricos/mandarina2.htm> 19 Ene de 2012)
- CERVATO, G. et al., 2000. Antioxidant properties of Orégano (*Origanum vulgare*) leaf extracts. J. Food Biochem.
- CERVATO, G., 2000 Antioxidant properties of Orégano (*Origanum vulgare*) leaf extracts. J. Food Biochem; 24:453-465.
- CHEFTEL y CHEFTE 1980 Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Tomo I y II. Ed. Acribia, Zaragoza
- COVENIN (924:83) Frutas y Productos Derivados. Determinación de Sólidos Solubles por Refractometría. Fondonorma. Ministerio de Fomento. Caracas,

Venezuela.

- CUNHA, H.; ELESBAO, R.; CORDEIRO, A.; HERBSTER, C.; COSTA, N.:
2001. Calidad de las frutas nativas de Latinoamerica para industria. Jobo
(*Spondias monbin L.E.*) Agroindustria tropical, CP 3761, 60.511-110,
Fortaleza, CE, Brasil.
- DA PORTO C., 2000. Antirradical Properties of Commercial Cognans Assessed
by the DPPH Test. J.Agric. Food Chem. 2000;48:4241-4245.
- DAGLIA M., PAPETTI A., GREGOTTI C., BERTE F., GAZZANI G., 2000 In vitro
antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. J
Agric Food Chem 48: 1449-1454.
- DAVIES, F. 2010. El cultivo de los cítricos. UNA La Molina. Boletín técnico.
- ELLIOT J., 1999 Application of antioxidant vitamins in foods and beverages.
Food Technol. 53:46-48.
- FELLOWS, P. 1994 Tecnología del Procesado de los Alimentos. Acribia.
Zaragoza, España. 554 pp.
- FENNEMA, O. 1993. Química de los alimentos. Tercera edición. Editorial
Acribia S.A. Zaragoza. España.
- GARCIA, L., ROJO, M., SANCHEZ, E., GARCIA, V. 2001. Plantas con
Propiedades antioxidantes. Cuba, Rev. Cubana de Investigación, Instituto
Superior de Ciencias Básicas y Pre clínicas, Universidad Autónoma
Metropolitana Iztapalapa 25: 3.9p.
- GRAUMLICT, H.; MARCH, J.; ADAMS, J. 1987. Aseptically packaged orange

juice and concentrate: a review of the influence of processing and packaging conditions on quality *Journal Agr. Food Chem.* 34:402.

GUILLEN, C. 2006. El cultivo de las mandarinas 2da parte, [En línea]: Infoagro, (<http://www.infoagro.com/citricos/mandarina2.htm> 19 Ene de 2012).

HALLIWELL B. 1996. Antioxidantes. Conocimientos actuales sobre nutrición. 7 ed. México: Instituto Internacional de Ciencias de la Vida, 731p.

HOURS R., Ferreyra M., Schvab M., Gerard L., Luz M., Zapata L., Davies V. 2005. Caracterización fisicoquímica y microbiológica de jugos de naranja destinados a vinificación. Facultad de Ciencia de la Alimentación. Universidad Nacional de la Plata. Argentina.

HU C., KITTS D. 2000 Studies on the Antioxidant Activity of Echinacea Root Extract. *J. Agric. Food Chem.* 48:1466-1472.

INIA 2002. Cultivo de los cítricos. Boletín Técnico.

KIMBALL, D. 2002 Procesado de Cítricos. Acribia. Zaragoza, España. 463 pp.

KIMBALL, D., 1999. Procesado de cítricos. Ediciones Acribia, S.A, Zaragoza, España.

LABUZA, T. 1995. Metodología para la determinación de vida útil en alimentos. Universidad Católica de Valparaíso. Escuela de Ingeniería en alimentos. 132 p.

LABUZA, T. y RIBOH, D. 1982. Theory and application Arrhenius Kinetics to prediction kinetics of food components. *Food Technology.* 34 (10):66.

MULLER, G.; LIETZ, P.; MUNGH, H. 1981. Microbiología de los alimentos

Vegetales. Zaragoza, España: Acribia.

PRIOR, R., Wu, X., Schaich, K., 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem* 53:4290-302.

RAMIREZ, E. 2008. Técnicas de análisis espectrofotométricas en alimentos.

RAMOS, C. 2007. Los carotenoides: el licopeno y su acción en el cáncer. *Toxicología alimentaria*. Lima –Perú.

RAUMA A., Mykkänem H., 2000 Antioxidant status in vegetarians versus omnivores. *Inter. J. Applied Basic Nutri. Sci.* 16:111-119.

RAUMA, A., Mykkänem, H. 2000. Antioxidant status in vegetarians versus omnivores. *Inter. J. Applied Basic Nutri. Sci.*

SANDOVAL, M., OKUHAMA, N., ZHANG, H., CONDEZO, L., LAO, J., ANGELES, F., MUSAH, R., BOBROWKI, P., MILLER, M. 2001. Antiinflammatory and antioxidant activities of cats claw (*uncaria tormentosa* and *Uncaria guianensis*) are independent of their alkaloid content. *Phytomedicine*. Vol. 9:325-337.

SOTO, J. 2005. Detección de Fitoquímicos, contenido de Vitamina C y Ácido fólico en Chironja (*Citrus sinensis* x *Citrus paradisi*) injertada en diferentes patrones de cítrica. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Universidad de Puerto Rico.

TOLEDO, R. 2007. *Fundamentals of Food Process Engineering*. Third Edition, Springer Science. New York.

- VERÓNICA, G. 2002. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes, Instituto Superior de Medicina Militar Dr. Luis Díaz Soto. Habana – Cuba.
- YAHUACA, M.; GUTIÉRREZ, H. y ALVARADO, A. 2001. Actividad anti-lipoperoxidante de diversos compuestos antioxidantes, su participación en el daño hepático 5as Jornadas de Investigación Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas. México.
- YUREKLI, A.; OZKAN, M.; KALKAN, T.; SAYBASILI, H. 2006. GSM base station electromagnetic radiation and oxidative stress in rats. *Electromagnetic Biology and Medicine*.
- ZAPATA, M.; GERARD, L.; DAVIES, C.; SCHVAB, M. 2007. Estudio de los componentes antioxidantes y actividad antioxidante en tomates. *Ciencias Exactas y Naturales - Ingenierías y Tecnologías*.

IX ANEXOS

ANEXO I

Comparación de medias del análisis de IC₅₀ (mg/mL), tratados térmicamente a 60°C (evaluado en Statgraphics).

1. 0 minutos

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 5.37088 +/- 0.0247273

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 9.43766 +/- 0.109228

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Suponiendo varianzas iguales: -4.06678 +/- 0.093016

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: media1 = media2.

Hipótesis Alt.: media1 <> media2

Suponiendo varianzas iguales: t = -100.822 valor-P < 0.001

2. 3 minutos

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 5.45462 +/- 0.0369337

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 9.77546 +/- 0.177324

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Suponiendo varianzas iguales: -4.32084 +/- 0.150439

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: media1 = media2

Hipótesis Alt.: media1 <> media2

Suponiendo varianzas iguales: t = -66.2322 valor-P < 0.001

3. 6 minutos

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 5.51134 +/- 0.0529769

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 10.0742 +/- 0.425361

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Suponiendo varianzas iguales: -4.5629 +/- 0.356017

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: media1 = media2

Hipótesis Alt.: media1 <> media2

Suponiendo varianzas iguales: t = -29.555 valor-P < 0.001

4. 9 minutos

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 5.59322 +/- 0.0489325

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 9.88668 +/- 0.18762

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Suponiendo varianzas iguales: -4.29346 +/- 0.161042

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: media1 = media2

Hipótesis Alt.: media1 <> media2

Suponiendo varianzas iguales: t = -61.4793 valor-P < 0.001

5. 12 minutos

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 5.6588 +/- 0.0571992

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 10.1651 +/- 0.169925

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Suponiendo varianzas iguales: -4.50628 +/- 0.148914

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: media1 = media2

Hipótesis Alt.: $\text{media1} <> \text{media2}$

Suponiendo varianzas iguales: $t = -69.7819$ valor-P < 0.001

ANEXO II

Comparación de medias del análisis de IC_{50} (mg/mL), tratados térmicamente a 70°C (evaluado en Statgraphics).

1. 3 minutos

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 5.59984 ± 0.0628124

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 9.4486 ± 0.288467

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Suponiendo varianzas iguales: -3.84876 ± 0.245203

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: $\text{media1} = \text{media2}$

Hipótesis Alt.: $\text{media1} <> \text{media2}$

Suponiendo varianzas iguales: $t = -36.1956$ valor-P < 0.001

2. 6 minutos

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 5.74972 ± 0.0624588

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 9.94364 ± 0.32116

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Suponiendo varianzas iguales: -4.19392 ± 0.27174

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: $\text{media1} = \text{media2}$

Hipótesis Alt.: $\text{media1} <> \text{media2}$

Suponiendo varianzas iguales: $t = -35.5899$ valor-P < 0.001

3. 9 minutos

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 5.78946 +/- 0.0305014

95.0% intervalos de confianza para la media de Mandarina: 10.2878 +/- 0.23411

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Suponiendo varianzas iguales: -4.4983 +/- 0.196086

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: media1 = media2

Hipótesis Alt.: media1 <> media2

Suponiendo varianzas iguales: $t \cong -52.901$ valor-P < 0.001

4. 12 minutos

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 5.92704 +/- 0.158215

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 10.6358 +/- 0.645886

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias

Suponiendo varianzas iguales: -4.7088 +/- 0.552306

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: media1 \cong media2

Hipótesis Alt.: media1 <> media2

Suponiendo varianzas iguales: $t = -19.6604$ valor-P < 0.001

ANEXO III

Comparación de medias del análisis de IC₅₀ (mg/mL), tratados térmicamente a 80°C (evaluado en Statgraphics).

1. 3 minutos

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 5.72106 +/- 0.0288002

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 10.1879 +/- 0.361989

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Suponiendo varianzas iguales: -4.46682 +/- 0.301604

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: media1 \equiv media2

Hipótesis Alt.: media1 $\langle \rangle$ media2

Suponiendo varianzas iguales: t \equiv -34.1525 valor-P < 0.001

2. 6 minutos

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 5.87866 +/- 0.0577043

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 10.7622 +/- 0.168994

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Suponiendo varianzas iguales: -4.88356 +/- 0.148317

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: media1 = media2

Hipótesis Alt.: media1 $\langle \rangle$ media2

Suponiendo varianzas iguales: t \equiv -75.929 valor-P < 0.001

3. 9 minutos

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 5.81766 +/- 0.144591

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 11.4617 +/- 0.327021

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Suponiendo varianzas iguales: -5.644 +/- 0.296975

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: $\text{media1} = \text{media2}$

Hipótesis Alt.: $\text{media1} <> \text{media2}$

Suponiendo varianzas iguales: $t = -43.8256$ valor-P < 0.001

4. 12 minutos

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 5.67142 ± 0.0852531

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 12.1189 ± 0.161239

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Suponiendo varianzas iguales: -6.44752 ± 0.151485

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: $\text{media1} = \text{media2}$

Hipótesis Alt.: $\text{media1} <> \text{media2}$

Suponiendo varianzas iguales: $t = -98.1483$ valor-P < 0.001

ANEXO IV

Comparación de medias del análisis de AAI, tratados térmicamente a 60°C

(evaluado en Statgraphics).

1. 0 minutos

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 7.26148 ± 0.0335132

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 4.13266 ± 0.047661

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Varianzas iguales: 3.12882 ± 0.0483917

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: $\text{media1} = \text{media2}$

Hipótesis Alt.: $\text{media1} <> \text{media2}$

Varianzas iguales: $t = 149.098$ valor- $P < 0.001$

2. 3 minutos

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 7.15008 ± 0.0484178

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 3.99024 ± 0.071097

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Varianzas iguales: 3.15984 ± 0.0714429

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: $\text{media1} = \text{media2}$

Hipótesis Alt.: $\text{media1} <> \text{media2}$

Varianzas iguales: $t = 101.992$ valor- $P < 0.001$

3. 6 minutos

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 7.07668 ± 0.068274

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 3.87482 ± 0.163926

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Varianzas iguales: 3.20186 ± 0.147487

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: $\text{media1} = \text{media2}$

Hipótesis Alt.: $\text{media1} <> \text{media2}$

Varianzas iguales: $t = 50.0623$ valor- $P < 0.001$

4. 9 minutos

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 6.97302 ± 0.0608665

95.0% intervalos de confianza para la media de Mandarina: 3.94542 ± 0.074128

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Varianzas iguales: 3.0276 +/- 0.0796635

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: media1 = media2

Hipótesis Alt.: media1 <> media2

Varianzas iguales: t = 87.6395 valor-P < 0.001

5. 12 minutos

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 6.89228 +/- 0.0696425

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 3.8372 +/- 0.0642762

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Varianzas iguales: 3.05508 +/- 0.0787128

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: media1 = media2

Hipótesis Alt.: media1 <> media2

Varianzas iguales: t = 89.5031 valor-P < 0.001

ANEXO V

Comparación de medias del análisis de AAI, tratados térmicamente a 70°C

(evaluado en Statgraphics).

1. 3 minutos

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 6.96494 +/- 0.0784703

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 4.12964 +/- 0.129664

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Varianzas iguales: 2.8353 +/- 0.12588

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: $\text{media1} = \text{media2}$

Hipótesis Alt.: $\text{media1} \neq \text{media2}$

Varianzas iguales: $t = 51.9403$ valor-P < 0.001

2. 6 minutos**Comparación de Medias**

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 6.78332 ± 0.0736455

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 3.92424 ± 0.127391

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Varianzas iguales: 2.85908 ± 0.122214

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: $\text{media1} = \text{media2}$

Hipótesis Alt.: $\text{media1} \neq \text{media2}$

Varianzas iguales: $t = 53.9469$ valor-P < 0.001

3. 9 minutos**Comparación de Medias**

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 6.73652 ± 0.0355098

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 3.79192 ± 0.085221

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Varianzas iguales: 2.9446 ± 0.0766805

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: $\text{media1} = \text{media2}$

Hipótesis Alt.: $\text{media1} \neq \text{media2}$

Varianzas iguales: $t = 88.5529$ valor-P < 0.001

4. 12 minutos

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 6.58238 +/- 0.171594

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 3.67412 +/- 0.231474

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Varianzas iguales: 2.90826 +/- 0.239318

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: media1 = media2

Hipótesis Alt.: media1 <> media2

Varianzas iguales: t = 28.0233 valor-P < 0.001

ANEXO VI

Comparación de medias del análisis de AAI, tratados térmicamente a 80°C

(evaluado en Statgraphics).

1. 3 minutos**Comparación de Medias**

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 6.817 +/- 0.034377

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 3.83048 +/- 0.131307

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Varianzas iguales: 2.98652 +/- 0.112734

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: media1 = media2

Hipótesis Alt.: media1 <> media2

Varianzas iguales: t = 61.0901 valor-P < 0.001

2. 6 minutos**Comparación de Medias**

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 6.6345 +/- 0.0657663

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 3.62426 +/- 0.056839

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Varianzas iguales: 3.01024 +/- 0.0721962

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: media1 = media2

Hipótesis Alt.: media1 <> media2

Varianzas iguales: t = 96.1496 valor-P < 0.001

3. 9 minutos

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 6.70594 +/- 0.169744

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 3.4041 +/- 0.0968568

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Varianzas iguales: 3.30184 +/- 0.162319

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: media1 = media2

Hipótesis Alt.: media1 <> media2

Varianzas iguales: t = 46.9081 valor-P < 0.001

4. 12 minutos

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 6.8774 +/- 0.103893

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 3.21838 +/- 0.043183

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Varianzas iguales: 3.65902 +/- 0.093446

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: media1 = media2

Hipótesis Alt.: $\mu_1 < \mu_2$

Varianzas iguales: $t = 90.2953$ valor-P < 0.001

ANEXO VII

Comparación de medias del análisis de la velocidad de reacción (k), tratado térmicamente a 60° C, 70° C y 80° C (evaluado en Statgraphics).

60

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 0.0305148 ± 0.0040163

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 0.021189 ± 0.00842

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Varianzas iguales: 0.009325 ± 0.00774894

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: $\mu_1 = \mu_2$

Hipótesis Alt.: $\mu_1 < \mu_2$

Varianzas iguales: $t = 2.77503$ valor-P = 0.0241087

70

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 0.052892 ± 0.011062

95.0% Intervalos de confianza para la media de Mandarina: 0.041825 ± 0.02106

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Varianzas iguales: 0.0110662 ± 0.0197623

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: $\mu_1 = \mu_2$

Hipótesis Alt.: $\mu_1 < \mu_2$

Varianzas iguales: $t = 1.29128$ valor-P = 0.232664

80

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 0.029306 +/- 0.0104299

95.0% intervalos de confianza para la media de Mandarina: 0.075164 +/- 0.00667

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Varianzas iguales: -0.0458578 +/- 0.0102831

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: media1 = media2

Hipótesis Alt.: media1 <> media2

Varianzas iguales: $t = -10.2837$ valor-P < 0.001

ANEXO VIII

Comparación de medias del análisis de energía de activación (evaluado en Statgraphics).

Comparación de Medias

95.0% Intervalos de confianza para la media de Naranja: 3.04103 +/- 2.4002

95.0% intervalos de confianza para la media de Mandarina: 15.2394 +/- 3.75318

95.0% intervalo de confianza para la diferencia de medias:

Varianzas iguales: -12.1984 +/- 3.70017

Prueba t para comparar medias

Hipótesis nula: media1 = media2

Hipótesis Alt.: media1 <> media2

Varianzas iguales: $t = -7.60226$ valor-P < 0.001