

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIA, TECNOLOGÍA E INGENIERÍA
DE ALIMENTOS**



**CAMBIOS EN VITAMINA C, POLIFENOLES TOTALES Y CAPACIDAD
ANTIOXIDANTE EN LA NARANJA (*Citrus sinensis*) DURANTE EL
ALMACENAMIENTO.**

Tesis

Para optar el título de:

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

CABRERA CANDIOTE, MIJAEL

PROMOCIÓN 2010 – II

Tingo María – Perú

2015

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme la Fe y
fortaleza para perseverar y
culminar mi carrera.

A mis amados padres
EDILBERTO y MARIA por su
apoyo moral y económico para
hacer realidad mi profesión.

A mis hermanos: HUGO,
WILSON, ROLANDA, ALBERTO,
MERCEDES y ISABEL por
guiarme en todos estos años de
estudio con sus consejos, afecto y
apoyo incondicional

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), en especial a la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias (FIIA) por darme la oportunidad de culminar mis estudios y ser un profesional.

A la Dr. Elizabeth S. Ordoñez Gomez, por su importante guía, asesoría y supervisión en el presente trabajo de tesis.

A la Ing. Aurelia por su colaboración y apoyo en la realización y culminación de la Tesis

A todos mis profesores por haber contribuido con mi formación profesional y haberme proporcionado los conocimientos necesarios para poder ejecutar mi Tesis.

A mis amigos y compañeros de la Facultad por la hermosa convivencia durante mis años de estudio, por su gran amistad, apoyo ánimo y compañía en los momentos difíciles de la vida. A todos y cada uno de ellos agradecerle por ser parte de mi vida.

INDICE GENERAL

	Pagina
RESUMEN	
I. INTRODUCCION.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.	3
2.1.Generalidades de la naranja	3
2.2.1. Definición y distribución	3
2.2.2. Clasificación taxonómica	4
2.2.3. Importancia de la producción.....	4
2.2.4. Anatomía del fruto.....	5
2.2.5. Composición química.....	7
2.2.6. Fisiología de la fruta.....	9
2.2.7. Factores fisiológicos	9
2.2.Aspectos generales de vitamina C.	10
2.3.1. Definición.	10
2.3.2. Importancia biológica	11
2.3.3. Acción de la vitamina C.	12
2.3.4. Vitamina C en naranjas.....	12
2.3.Aspectos generales de polifenoles.	14
2.5.3. Definición.	14
2.5.4. Clasificación de los polifenoles	16
2.5.5. Flavonoides en cítricos.	17
2.4.Radicales libres.	19
2.5.Antioxidantes naturales.	20

2.6.1. Aspectos generales de antioxidantes.	20
2.6.2. Tipos de antioxidantes	22
2.6.3. Acción antioxidante en cítricos.....	23
2.6. Aspectos generales del almacenamiento de frutos cítricos.....	24
3.3.1 Sistemas de almacenamiento	24
3.3.2 Factores de calidad en el almacenamiento de naranjas	26
3.3.3 Condiciones del almacenamiento.	27
3.3.4 Daño por frío en frutas cítricas	27
III. MATERIALES Y METODOS.....	29
3.1. Lugar de ejecución	29
3.2. Materia prima	29
3.3. Equipos, materiales y reactivos.	30
3.3.1 Equipos de laboratorio.	30
3.3.2 Materiales de laboratorio.	30
3.3.3 Reactivos y solventes.	31
3.4. Métodos de análisis.....	31
3.5. Metodología experimental	32
3.5.1 Acondicionamiento de la materia prima.	32
3.5.2 Preparación de la muestra	32
3.5.3 Caracterización fisicoquímica de la naranja durante el almacenamiento.....	34
3.5.4 Cuantificación de la vitamina C de la naranja almacenada durante el almacenamiento.....	35

3.5.5	Cuantificación de polifenoles totales de la naranja almacenada durante el almacenamiento.	39
3.5.6	Determinación de la capacidad antioxidante en el zumo de naranja almacenada.	40
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	45
4.1.	Caracterización fisicoquímica de la naranja durante el almacenamiento.	45
4.1.1.	Cuantificación de solidos solubles totales.....	45
4.1.2.	Cuantificación de acidez	48
4.1.3.	Cuantificación de pH.....	51
4.1.4.	Cuantificación de pérdida de peso.....	55
4.2.	Cuantificación de la vitamina C de la naranja durante el almacenamiento.	58
4.2.1.	Curva estándar del ácido ascórbico.....	58
4.2.2.	Cuantificación de la vitamina C.....	59
4.3.	Cuantificación de polifenoles totales de la naranja durante el almacenamiento.	63
4.4.	Determinación de la capacidad antioxidante en el zumo de naranja almacenada.....	68
4.4.1.	Coeficiente de inhibición (IC_{50}) del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH).....	68
4.4.2.	Coeficiente de inhibición (IC_{50}) radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolino-6-ácido sulfónico) ABTS ⁺	72
V.	CONCLUSIONES	76

VI. RECOMENDACIONES.....	77
ABSTRACT.....	78
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
VIII. ANEXO	94

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Composición química de la naranja (100 g parte comestible).....	8
2. Fitoquímicos presentes en algunos alimentos.	15
3. Temperatura de almacenamiento para diferentes cultivos de naranjas.	27
4. Preparación de las concentraciones para la curva estándar de ácido ascórbico.	36
5. Contenido de los tubos para la lectura en el espectrofotómetro.	37
6. Preparación de las soluciones de trabajo para la cuantificación de vitamina C.....	38
7. Preparación de las concentraciones de trabajo en el zumo de naranja para DPPH+	41
8. Preparación de concentraciones de trabajo en el zumo de naranja para ABTS+	43
9. Resultados de los grados Brix (°Bx) durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.	46
10. Resultados de acidez (% ácido cítrico) durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.	49
11. Resultados de pH durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.....	52
12. Resultados de Pérdida de peso (%) durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.	55

13. Determinación de vitamina C durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.....	60
14. Determinación de polifenoles totales durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.	65
15. Determinación del coeficiente de inhibición del radical DPPH (IC50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) durante el almacenamiento de naranja.....	69
16. Determinación del coeficiente de inhibición del radical ABTS0+ (IC50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) durante el almacenamiento de naranja.....	73

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Corte transversal de la naranja.	6
2. Estructura química del ácido ascórbico.....	11
3. Conversión del ácido ascórbico a ácido dehidroascorbico.....	14
4. Estructura básica de los flavonoides.	17
5. Estructura molecular de flavonoides importantes en cítricos, naringina y hesperidina.	19
6. Diagrama del proceso para los análisis físicoquímico, vitamina C, polifenoles totales y capacidad antioxidante (DPPPH y ABTS).	33
7. Comportamiento de los grados Brix durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.	46
8. Comportamiento de la acidez durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.	49
9. Comportamiento del pH durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.	53
10. Comportamiento en la pérdida de peso durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.	56
11. Comportamiento de la vitamina C durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.	61
12. Comportamiento de los polifenoles totales durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.	65

13. Comportamiento del coeficiente de inhibición frente al radical DPPH durante el almacenamiento de naranja.....	70
14. Comportamiento del coeficiente de inhibición frente al radical ABTS durante el almacenamiento de naranja.....	73

INDICE DE ANEXOS

Anexo	Página
A-I. Determinación de la curva estándar de ácido ascórbico para cuantificación de vitamina C.....	94
A-II. Determinación de la curva estándar de ácido gálico para la cuantificación de polifenoles.....	95
A-IIIa. Análisis de varianza de Brix a los 4 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	96
A-IIIb. Análisis de varianza de Brix a los 8 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	96
A-IIIc. Análisis de varianza de Brix a los 12 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	96
A-IIId. Análisis de varianza de Brix a los 16 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	97
A-IIIE. Análisis de varianza de Brix a los 20 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	97
A-IVa. Análisis de varianza de la Acidez a los 4 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	97
A-IVb. Análisis de varianza de la Acidez a los 8 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	98
A-IVc. Análisis de varianza de la Acidez a los 12 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	98
A-IVd. Análisis de varianza de la Acidez a los 16 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	98

A-IVe.	Análisis de varianza de la Acidez a los 20 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	99
A-Va.	Análisis de varianza de pH a los 4 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C.....	99
A-Vb.	Análisis de varianza de pH a los 8 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C.....	99
A-Vc.	Análisis de varianza de pH a los 12 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C.....	100
A-Vd.	Análisis de varianza de pH a los 16 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C.....	100
A-Ve.	Análisis de varianza de pH a los 20 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C.....	100
A-VIa.	Análisis de varianza de pérdida de peso a los 4 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	101
A-VIb.	Análisis de varianza de pérdida de peso a los 8 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	101
A-VIc.	Análisis de varianza de pérdida de peso a los 12 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	101
A-VId.	Análisis de varianza de pérdida de peso a los 16 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	102
A-VIe.	Análisis de varianza de pérdida de peso a los 20 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	102
A-VIIa.	Análisis de varianza de vitamina C a los 4 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C.....	102

A-VIIb. Análisis de varianza de vitamina C a los 8 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C.....	103
A-VIIc. Análisis de varianza de vitamina C a los 12 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C.....	103
A-VIIId. Análisis de varianza de vitamina C a los 16 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C.....	103
A-VIIe. Análisis de varianza de vitamina C a los 20 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C.....	104
A-VIIIa. Análisis de varianza de polifenoles totales a los 4 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C.....	104
A-VIIIb. Análisis de varianza de polifenoles totales a los 8 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C.....	104
A-VIIIc. Análisis de varianza de polifenoles totales a los 12 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C.....	105
A-VIIId. Análisis de varianza de polifenoles totales a los 16 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C.....	105
A-VIIIe. Análisis de varianza de polifenoles totales a los 20 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C.....	105
A-IXa. Análisis de varianza de la capacidad antioxidante (DPPH) a los 4 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	106
A-IXb. Análisis de varianza de la capacidad antioxidante (DPPH) a los 8 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	106
A-IXc. Análisis de varianza de la capacidad antioxidante (DPPH) a los 12 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	106

A-IXd.	Análisis de varianza de la capacidad antioxidante (DPPH) a los 16 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	107
A-IXe.	Análisis de varianza de la capacidad antioxidante (DPPH) a los 20 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	107
A-Xa.	Análisis de varianza de la capacidad antioxidante (ABTS) a los 4 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	107
A-Xb.	Análisis de varianza de la capacidad antioxidante (ABTS) a los 8 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	108
A-Xc.	Análisis de varianza de la capacidad antioxidante (ABTS) a los 12 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	108
A-Xd.	Análisis de varianza de la capacidad antioxidante (ABTS) a los 16 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	108
A-Xe.	Análisis de varianza de la capacidad antioxidante (ABTS) a los 20 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.....	109

RESUMEN

El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio del Centro de Investigación de Productos Naturales (CIPNA) y en el Centro de Investigación y Desarrollo Biotecnológico de la Amazonia CIDBAM–UNAS. Los objetivos fueron: Evaluar los cambios en el contenido de vitamina C, polifenoles totales y capacidad antioxidante (DPPH y ABTS) en zumo de naranja, durante el almacenamiento. Las naranjas fueron almacenadas a diferentes condiciones: 4 °C, 75±2% HR; 12±1 °C, 45±2% HR y 28±1b °C, 75±2% HR durante 20 días. Para los análisis se extrajo el zumo, se filtró y centrifugó; los resultados fueron evaluados mediante el diseño completo al azar (DCA) y la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$). A 4 °C el zumo alcanzó un pH de 3,90; acidez 0,90%, 10,04 Brix y 14,70% de pérdida de peso; a 12 °C, un pH de 3,93; acidez 0,85%, 10,52 Brix y 22,89% de pérdida de peso; a 28 °C, un pH de 3,95, acidez 0,80%, 10,92 Brix y 16,71% de pérdida de peso. El contenido de vitamina C a 4, 12 y 28 °C fue 53,34; 53,44; 51,21 mg vit.C/100 mL de zumo respectivamente. El contenido de polifenoles totales a 4, 12, 28 °C fue 69,07; 79,20; 70,30 mg EAG/100 mL zumo respectivamente, observándose un aumento de 24, 42, 25% de polifenoles totales en la naranja durante los 20 días de almacenamiento. El coeficiente de inhibición (IC_{50}) frente al radical DPPH⁺ a 4, 12, 28 °C fue 232,38; 236,44 y 231,44 µg/mL respectivamente; frente al radical ABTS⁺ a 4, 12, 28 °C fue 161,50; 170,34; 146,78 µg/mL respectivamente; mostrando un incremento de la actividad antioxidante en la naranja frente al radical DPPH⁺ y ABTS⁺ durante los 20 días.

I. INTRODUCCION

Dentro de los cítricos el naranjo es considerado como los frutales más importantes en el mundo, su cultivo y consumo se realiza por igual en los cinco continentes, siendo explotados en forma comercial prácticamente en todos los países donde las condiciones de clima les permiten prosperar, cubriendo principalmente las áreas tropicales y subtropicales del mundo. En el Perú la producción de la naranja está principalmente destinada al mercado en fresco, sin embargo cuando está destinada a mercados internacionales se comercializa en condiciones de refrigeración (6 °C).

Las naranjas después de la cosecha aún continúan vivas, en tal sentido la fruta cosechada continúa respirando, madurando e iniciando el proceso de senescencia lo cual implica una serie de cambios estructurales, bioquímicos y de sus componentes, siendo necesario el almacenamiento en refrigeración para mantener la calidad poscosecha. Además esta fruta es una fuente importante de compuestos bioactivos que incluyen antioxidantes tales como ácido ascórbico, flavonoides, compuestos fenólicos, fibra dietética, carotenos y pectinas que son importantes para la nutrición humana. Varios estudios han demostrado que la principal fuente de la capacidad antioxidante de la mayoría de los cítricos es la vitamina C y la gran cantidad de polifenoles (flavonoides). Ante esto resulta interesante demostrar el comportamiento de

estas propiedades benéficas durante el almacenamiento de la naranja en diferentes sistemas, en base a este marco para la presente investigación de tesis se han planteado los siguientes objetivos:

- Realizar la caracterización físicoquímica: Pérdida de peso, Brix, pH y acidez de las naranjas durante el tiempo de almacenamiento en las diferentes temperaturas de almacenamiento.
- Cuantificaciones de Vitamina C y polifenoles totales en jugo extraído de naranja (*Citrus sinensis*) almacenadas a 4, 12 y 28°C.
- Evaluar la capacidad antioxidante (DPPH y ABTS) en jugo extraído de naranja (*Citrus sinensis*) almacenadas a 4, 12 y 28°C.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Generalidades de la naranja

2.2.1. Definición y distribución

La naranja es el fruto del naranjo dulce, árbol que pertenece al género *citrus* de la familia de las rutáceas, esta familia comprende más de 1600 especies. El género cítrico es el más importante de la familia y consta de unas 20 especies con frutos comestibles todos ellos muy abundantes en vitamina C, flavonoides y aceites esenciales. Los frutos, llamados hesperidios, tienen la particularidad de que su pulpa está formada por numerosas vesículas llenas de jugo. La naranja dulce es el más cultivado de todos los cítricos, siendo la especie más importante del género cítrico. Tras ella le siguen en importancia sus parientes más próximos: mandarinos, limoneros, pomelos y limeros (GÜEMEZ *et al*, 2010)

La naranja se cultiva en 60 países de los cinco continentes del mundo, prosperan bien en sitios subtropicales (Mediterráneo), donde adquieren su color y sabor máspreciado, sin embargo se cultivan en terrenos altos en climas tropicales siendo la altitud ideal para el cultivo entre los 500 y 1200 msnm. Por producción y consumo per cápita es hoy en día la fruta más importante a nivel mundial (GÓMEZ y SCHWENTESIUS, 1997).

2.2.2. Clasificación taxonómica

GONZALES (2014) describe la clasificación de la naranja de la siguiente manera:

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Subclase	: Rosidae
Orden	: Geraniales
Familia	: Rutaceae
Subfamilia	: Citroideae
Tribu	: Citreae
Género	: Citrus
Especie	: <i>Citrus sinensis</i>

2.2.3. Importancia de la producción

En el mundo hay plantadas alrededor de siete millones de hectáreas (ha) de cítricos: el 50% corresponde a naranja, 10,5% a limón y mandarina y 3,5 % de toronja (SAMANIEGO *et al.*, 2004). El país con mayor producción de naranjas en el mundo es Brasil con 17 millones de toneladas en el año 2011, seguido por los Estados Unidos con cerca de 8 millones de toneladas. China es el mayor productor a nivel mundial de mandarinas seguido a larga distancia por España; India, México y Argentina son los países con mayor producción de limones y limas. El 75% del volumen de naranja que se

produce en el mundo se utiliza para la producción industrial de jugos y concentrados (HERNANDEZ, 2014).

La naranja es uno de los cítricos más utilizados por los consumidores para ingerir en forma de jugo natural, gracias a las cualidades beneficiosas que su consumo conlleva para la salud. El jugo de naranja es un producto complejo formado por agua, azúcares, ácidos orgánicos, sales minerales, vitaminas y pigmentos, además de una serie de componentes orgánicos volátiles e inestables responsables de su sabor y aroma (SCHVAB *et al.*, 2013).

2.2.4. Anatomía del fruto

REINA *et al.* (1995) menciona que el fruto es una baya modificada, con una cáscara gruesa y correosa que se puede separar y que contiene numerosas glándulas oleosas y se denomina hesperidio (fruto dividido en varias secciones, las cuales están envueltos en una membrana), un fruto se desarrolla o bien a partir de la unidad fundamental del gineceo (parte femenina de la flor), el carpelo o de varios carpelos unidos entre si más o menos íntimamente. AGUSTÍ *et al.* (2003) describe las siguientes partes del fruto:

- **Exocarpio o flavedo:** Es la región más externa y constituye la parte visible de la corteza, formada por células epidérmicas de color verde cuando el fruto es inmaduro y naranja o amarillo según la especie en la madurez. Aquí se encuentran las glándulas de aceites esenciales producidas por los cítricos.

- **Mesocarpio o albedo:** Es la región situada entre el exocarpio y el endocarpio, formado por un tejido blanco esponjoso de células parenquimáticas.
- **Endocarpio:** Es la región más interna y está constituido por los lóculos o gajos. Los lóculos contienen las vesículas de zumo, formadas por un cuerpo de células completamente vacuolizadas y un pedúnculo (corazón) que las mantiene unidas a la epidermis dorsal de los carpelos y limitadas lateralmente por los septos.

El exocarpio y mesocarpio constituyen la corteza del fruto propiamente dicha y dentro de los lóculos del endocarpio se encuentran las semillas.

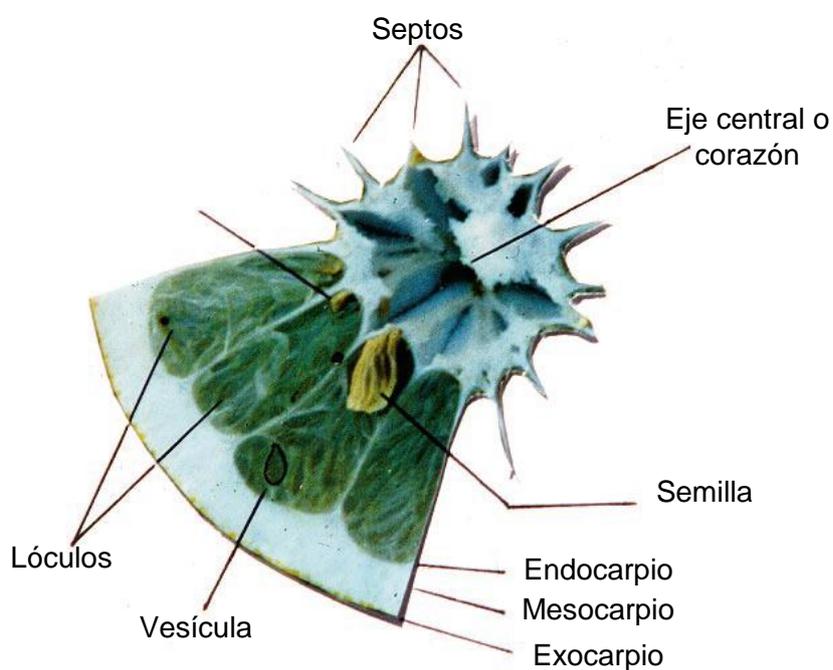


Figura 1. Corte transversal de la naranja.

2.2.5. Composición química

El papel de los cítricos en el suministro de nutrientes y valor medicinal ha sido reconocido desde la antigüedad. De entre sus beneficios cabe destacar el hecho de que proporcione la suficiente vitamina C según las recomendaciones dietéticas. Además los flavonoides procedentes sobre todo de los jugos cítricos de las naranjas y los pomelos, son muy efectivos para mejorar la circulación de la sangre y poseen por otro lado propiedades antialérgicas, anticancerígenas y antivirales. Los pomelos y las naranjas también contienen fibra y pectina, sustancias que son conocidas por su capacidad de reducir el riesgo de ataques de corazón si su ingesta es diaria. El consumo de los cítricos en general y de las naranjas en particular es sumamente importante ya que los nutrientes y los factores promotores de una correcta salud (especialmente los antioxidantes) que proceden de estas fuentes son directamente asimiladas por el cuerpo y la pérdida de nutrientes es insignificante en comparación con los jugos de zumos procesados (ARÉVALO, 2013). Los principales componentes químicos de la naranja se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Composición química de la naranja (100 g parte comestible).

Componentes	Unid.	<i>Citrus sinensis</i>
Agua	g	86,75
Proteína	g	0,94
Lípidos	g	0,12
Carbohidratos	g	11,75
Vitamina A	IU	225
Vitamin E	mg	0,2
Complejo B	mg	0,587
Tiamina	mg	0,087
β - caroteno	μ g	71
α - caroteno	mcg	11
Vitamina C	mg	53,2
Sodio	mg	1,56
Potasio	mg	181
Calcio	mg	40
Magnesio	mg	10

Fuente: YAHIA (2011)

Los cítricos son también una relativamente buena fuente de vitaminas del complejo B y la vitamina A. La vitamina A, como tal, no está presente en los cítricos. α - y β -caroteno en la pulpa son los precursores de la vitamina A. La vitamina A se informa por lo general en unidades internacionales (UI), que son igual a 0,3 g, teniendo en cuenta que cada molécula de los rendimientos de β -caroteno una molécula de vitamina A (aproximadamente la mitad de su peso molecular), el β -caroteno 0,6 mg o 1,2 μ g de α -caroteno son

equivalentes a 1 IU, mandarinas y naranjas son la mejor fuente de carotenos entre cítricos (LADINAYA, 2008).

2.2.6. Fisiología de la fruta

Según ARIAS y TOLEDO (2007), un aspecto fundamental a tener en cuenta en el manejo postcosecha de frutas es que éstas continúan vivas aún después de cosechadas. En tal sentido, la fruta cosechada continúa respirando, madurando en algunos casos e iniciando procesos de senescencia, todo lo cual implica una serie de cambios estructurales, bioquímicos y de componentes que son específicos para cada fruta. Asimismo, el producto cosechado está constantemente expuesto a la pérdida de agua debido a la transpiración y a otros fenómenos fisiológicos.

2.2.7. Factores fisiológicos

Respiración. Mediante la respiración la fruta obtiene la energía necesaria para desarrollar una serie de procesos biológicos indispensables. El proceso respiratorio ocurre a expensas de las sustancias de reserva (azúcares, almidones, etc.) las que son oxidadas, con el consiguiente consumo de oxígeno (O_2) y producción de dióxido de carbono (CO_2) (ARIAS y TOLEDO, 2007). Los productos frescos no pueden seguir reponiendo los hidratos de carbono ni el agua una vez recolectados, por lo que la respiración utiliza el almidón o el azúcar almacenado y se detienen cuando se agotan las reservas de esas sustancias; se inicia entonces un proceso de envejecimiento que conduce a la muerte y la putrefacción del producto (REINA *et al.*, 1995).

Transpiración. La mayoría de los productos frescos contienen en el momento de la cosecha, del 65 al 95 % de agua. Dentro de las plantas en crecimiento existe un flujo continuo de agua. Esta se absorbe del suelo por las raíces, sube por los tallos y se desprende por las partes aéreas, sobre todo por las hojas, como vapor de agua. Los productos frescos siguen teniendo agua después de la cosecha, pero, a diferencia de las plantas en crecimiento, ya no pueden reponer el agua a partir de la tierra, y tienen que recurrir al contenido de agua que tuvieron en el momento de la recolección. Esta pérdida de agua de los productos frescos después de la cosecha constituye un grave problema, que da lugar a mermas y a pérdidas de peso (REINA *et al.*, 1995).

2.2. Aspectos generales de vitamina C

2.3.1. Definición

El término vitamina C, descubierta en 1928 por Szent – Gyorgyl, debe usarse como un nombre descriptivo genérico para todos los compuestos que muestran desde el punto de vista cualitativo la actividad biológica del ácido ascórbico, el ácido ascórbico es una cetolactona de seis carbonos de peso molecular de 176,13 g/mol su estructura responde a la lactona del ácido L- xilo-2-cetohexónico (Figura 2), que tiene relación estructural con la glucosa y otras hexosas, se oxida de modo reversible en el organismo para dar ácido dehidroascórbico, este último compuesto posee la actividad completa de la vitamina C (GARCIA *et al.*, 2003).

La vitamina C se encuentra principalmente en alimentos de origen vegetal; los cereales, al igual que las carnes y los pescados y sus derivados, no lo contienen, por esta razón, el consumo rutinario de frutas y verduras frescas que aportan vitamina C es requerida diariamente, ya que al ser hidrosoluble, el hombre lo almacena escasamente; por ejemplo, el jugo de 1 o 2 naranjas contiene aproximadamente 80 mg de ácido ascórbico, suficiente para satisfacer la necesidades de 50 – 60 mg diarios (BADUI, 2013).

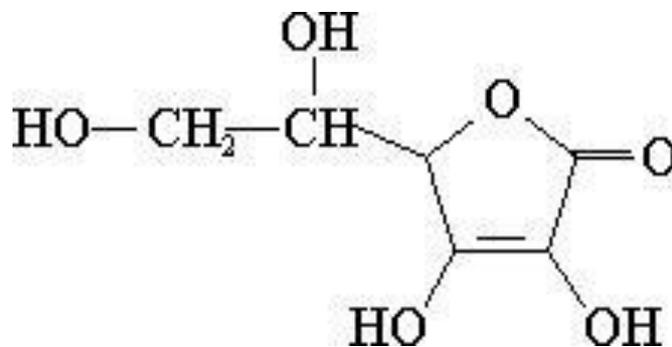


Figura 2. Estructura química del ácido ascórbico.

2.3.2. Importancia biológica

La vitamina C (ácido ascórbico) es necesaria para la prevención del escorbuto y el mantenimiento de la piel sana, las encías y los vasos sanguíneos. Funciona en la formación de colágeno, la absorción de hierro inorgánico, la reducción del nivel de colesterol en plasma, la inhibición de la formación de nitrosamina, la mejora del sistema inmune, y la reacción con oxígeno singlete y otros radicales libres. Como un antioxidante reduce el riesgo de la arteriosclerosis, enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (REKHA *et al.*, 2012). El ácido ascórbico puede actuar como un antioxidante hidrosoluble general, por ejemplo para reducir el tocoferol oxidado

en las membranas y puede inhibir la información de nitrosamina durante la digestión. Así como también mantiene a muchos metales cofactores en estado reducido (MURRAY, 2013).

2.3.3. Acción de la vitamina C

LATHAM (2002), menciona que es un agente antioxidante y reductor poderoso, puede por lo tanto reducir la acción perjudicial de los radicales libres y es también importante para mejorar la absorción del hierro no-heminico en alimentos de origen vegetal. La vitamina C es uno de los antioxidantes más populares, que desempeñan un papel crucial en la prevención de daños en la peroxidación de los sistemas biológicos (KHOMDRAM y DEVI, 2010)

2.3.4. Vitamina C en naranjas

La principal contribución de los cítricos en la nutrición humana es, sin duda, su aporte de vitaminas, especialmente de ácido ascórbico (vitamina C), el contenido de vitamina C del jugo de diferentes frutas cítricas varía considerablemente. Las naranjas contienen generalmente 40-70 mg de vitamina C/100 ml de jugo, mientras pomelos, mandarinas y limones proporcionan 20-50 mg / 100 g. El ácido ascórbico es generalmente alto en las naranjas maduras y pomelos, la cáscara es rica en ácido ascórbico. La concentración de ácido ascórbico en el jugo de naranjas es una quinta parte de la del flavedo y un tercio de la del albedo sobre una base de peso fresco (LADINAYA, 2008)

El ácido ascórbico es un importante nutriente como parámetro de calidad y muy sensible a la degradación debido a su oxidación en comparación también a sus nutrientes durante el procesamiento y almacenamiento de alimentos. El ácido ascórbico también está implicado en el ciclo celular y en otras reacciones enzimáticas importantes en las plantas, la oxidación de ácidos ascórbico conduce a la destrucción de la vitamina C (TARABIH y ELMETWALLY, 2014). Las enzimas tales como el ácido ascórbico oxidasa, fenolasa, citocromo oxidasa y peroxidasa pueden oxidar el ácido ascórbico, los compuestos fenólicos, flavonoides y ácidos pueden inhibir la oxidación enzimática y no enzimática. En un proceso de oxidación no enzimática, sales de cobre y hierro catalizan la oxidación. El ácido monodehidroascórbico se forma primero y luego el ácido dehidroascórbico en la segunda etapa (Figura 3). El ácido dehidroascórbico (DHA) en forma oxidada también es biológicamente activo como el ácido L-ascórbico (forma reducida). En la fruta intacta, los cambios con respecto a la reducción a la forma oxidada y viceversa continúan teniendo lugar en función de equilibrio de iones de hidrógeno. El nivel de DHA aumenta durante el almacenamiento de los cítricos. La presencia de DHA es menor (1,0 a 4,6 mg/100 g) inicialmente y contribuye menos de 10 % de la vitamina C total durante el almacenamiento, el DHA aumentó aproximadamente 3,0 a 6,0 mg/100 g, la proporción de vitamina C presente en forma de DHA es 10 a 20 por ciento en los limones y las naranjas (LADINAYA, 2008).

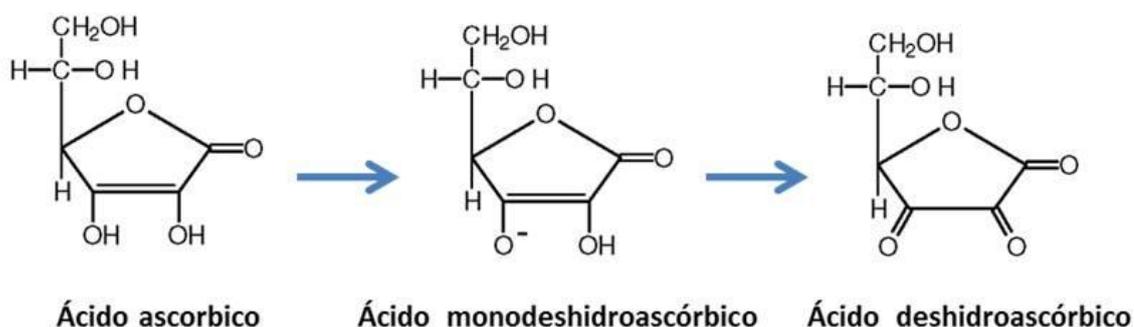


Figura 3. Conversión del ácido ascórbico a ácido dehidroascórbico.

2.3. Aspectos generales de polifenoles

2.5.3. Definición

Los compuestos fenólicos o polifenoles, constituyen un grupo bastante amplio de sustancias químicas, que se caracterizan por presentar en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos y abarcan a más de 8000 compuestos distintos y han demostrado poseer importante actividad antioxidante (SOTERO *et al*, 2011). Los polifenoles son un grupo de metabolitos secundarios que se encuentra ampliamente distribuido en las plantas medicinales, vegetales, frutas y las diversas variedades de bebidas como es el té, vino y jugo de frutas, estos metabolitos son los antioxidantes más abundantes en la dieta humana (Cuadro 2) (MAHDAVI *et al*, 2010).

La capacidad antioxidante de los polifenoles parece estar relacionado con su capacidad para quelar metales, secuestrar radicales libres, aunque en ocasiones, también pueden promover reacciones de oxidación “in vitro”. Destacan los flavonoides, los ácidos fenólicos, taninos, chalconas y curaminas por su conocida actividad antioxidante, quienes constituyen la fracción polifenólica de una gran diversidad de alimentos (MARTÍNEZ, 2000).

Las frutas y verduras son ricas de metabolitos secundarios tales como compuestos fenólicos que ahora se identifican como agentes antioxidantes naturales. Los compuestos fenólicos se ha demostrado que poseen una actividad antioxidante basado en su (grupo hidroxilo) donación a los radicales libres (KUMAR *et al.*, 2013).

Cuadro 2. Fitoquímicos presentes en algunos alimentos.

Alimentos	Fitoquímicos	Acción
Tomate	Licopeno	Infecciones
Ajo, cebolla, poro	Saponina	El aumento del colesterol
	Alicina	Tumores
Zanahorias, verduras verdes oscuras, mango, melocotón, melón	Betacarotenos	Alteraciones pulmonares, malignas
Brócoli, coles, col de bruselas, ajo, cebollas	Isotiocianatos	Cáncer del pulmón
Manzanas, uvas, cebollas	Quercetina	Afecciones cardíacas Evolución celular cancerosa
Fresas, uvas	Ácido elágico	Intoxicación por humo del tabaco
Naranjas, duraznos	Terpeno	Úlceras Cáncer
Brócoli, coles	Indoles	Ciertos tipos de cáncer
Frutas, verduras, soja, cítricos, té verde, vino, cacao.	Flavonoides	Afecciones cardíacas
Frutas, verduras, bayas, nueces, soja, frejol, azafrán, aceitunas	Polifenoles	Afecciones cardíacas Ciertos tipos de cáncer

Fuente: (ROSALES, 2004)

2.5.4. Clasificación de los polifenoles

Según SOTERO *et al* (2011) los compuestos fenólicos más característicos son los flavonoides, cumarinas, cromenos y benzofuranos. De éstos, los más característicos son los flavonoides, que son un grupo muy numeroso

Flavonoides: Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presente en los alimentos, etc. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos, estas sustancias están ampliamente distribuidas en plantas, frutas, verduras y en diversas bebidas y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana. Los flavonoides además, inhiben diversas enzimas responsables de la producción de anión superóxido; entre ellas la xantina – oxidasa, la ciclooxigenasa (COX), la succinoxidasa y la NADH oxidasa mitocondriales (PIETTA, 2000). Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos ($C_6-C_3-C_6$), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico), ver Figura 4. Los flavonoides se ubican principalmente en las hojas y en el exterior de las plantas, apareciendo solo rastros de ellos en las partes de la planta por encima de la superficie del suelo. Una excepción son los tubérculos de cebolla, que contienen una gran cantidad de quercetina 4'-D-

glucósidos (MARTÍNEZ *et al.*, 2002). Los flavonoides son compuestos polifenólicos naturales que están presentes en grandes variedades de vegetales, frutas y bebidas; y muchos son considerados como una fuente importante de antioxidantes, lo que pueden interactuar directamente con especies reactivas de oxígeno e inhibidores de la lipoperoxidación (GONZALES *et al.*, 2000).

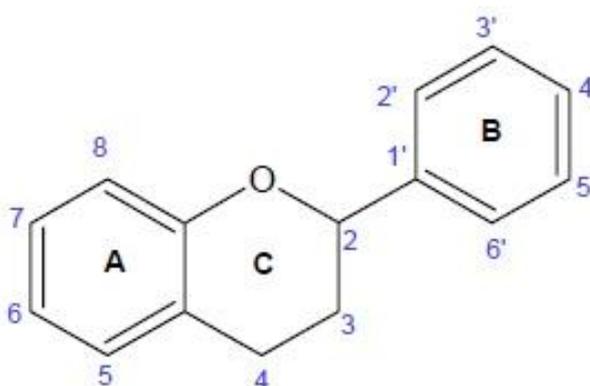


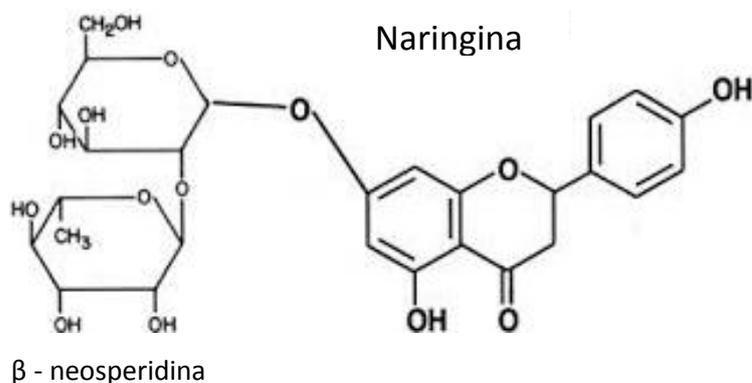
Figura 4. Estructura básica de los flavonoides.

2.5.5. Flavonoides en cítricos

El principal flavonoide glucósido en los cítricos es la hesperidina, naringina y neohesperidina; en general, la concentración de flavanonas disminuye a medida que madura la fruta. La hesperidina es el flavonoide principal de las naranjas, la hesperidina es el 7- β -rutinósido de hesperetina (Figura 5), en la hesperidina, la ramnosa y glucosa están en la forma de rutinosa como un disacárido y debido a la rutinosa, no son amargos. La hesperidina también se encuentra en las mandarinas, limones, limas y los híbridos. La nubosidad de jugo y mermelada de naranjas es debido a la precipitación de la hesperidina, que es menos soluble en agua, también se puede encontrar en el segmento de la membrana en forma de manchas

blancas, cristales en las naranjas por daño en congelación y en forma de manchas blancas en el jugo de naranja concentrado congelado.

El principal compuesto flavonoide de la toronja es la naringina; tiene un sabor amargo y es soluble en agua, por lo que algunas toronjas frescas y pomelos tienen sabor ligeramente amargo. Es un ramnoglucósido de la aglicona, naringenina. El sabor amargo de la naringina se encontró que era debido a la estructura de la fracción de disacárido. En el pomelo los azúcares ramnosa y glucosa se enlazan para formar neohesperidose (2-O- α -L-ramnopiranosil-D-glucosa), que es el resto de azúcar de naringina y neohesperidina. Flavanonas cítricos contienen neohesperidose como muchos disacárido son amargas, mientras que, los flavonones contienen el rutinosa disacárido isómeros (6-O- α -L-ramnopiranosil-Dglucose) que son de mal gusto. (LADINAYA, 2008)



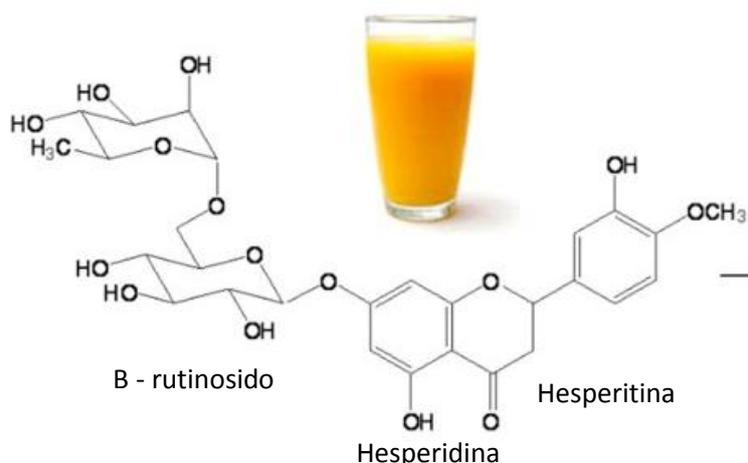


Figura 5. Estructura molecular de flavonoides importantes en cítricos, naringina y hesperidina.

2.4. Radicales libres

Son moléculas que en su estructura atómica presentan un electrón o impar en el orbital externo y puede existir independiente (CLARCKSON y THOMPSON, 2000). Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre, por lo que son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. 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 así una verdadera reacción en cadena que destruye nuestras células. (AVELLO y SUWALSKY, 2006). Cerca de 5% o más del oxígeno inhalado (O_2) se convierten en especies reactivas de oxígeno (radicales superóxidos, hidroxilo, peróxido, etc) por reducción univalente de O_2 (KHOMDRAM y DEVI, 2010)

Los procesos de oxidación producen radicales libres que pueden interferir en los procesos normales y dañar las células corporales causando

estrés oxidativo. El estrés oxidativo, se define como el desbalance entre la producción de radicales libres y cantidad de antioxidantes presentes en el ambiente. Es la pérdida de equilibrio entre pro oxidación y antioxidación a favor de los prooxidantes (ELEJALDE, 2001).

Los radicales libres del oxígeno se forman continuamente en el organismo por el metabolismo normal, siendo eliminados por las defensas antioxidantes. Cuando son producidos en exceso pueden ocasionar una lesión tisular, por cuyo motivo han sido implicados en muchas enfermedades. Se insiste también sobre la importancia de la defensa antioxidante, cuya función es prevenir la oxidación, ya sea eliminando las especies reactivas del oxígeno tales como el radical superóxido, el radical hidroxilo o el peróxido de hidrogeno, previniendo su formación (KORC *et al.*, 1995).

El problema para la salud se produce cuando nuestro organismo tiene que soportar un exceso de radicales durante años, producidos mayormente por contaminantes externos, que provienen principalmente de la contaminación atmosférica y el humo de cigarrillos, los que producen distintos tipos de radicales libres en nuestro organismo (AVELLO y SUWALSKY, 2006).

2.5. Antioxidantes naturales

2.6.1. Aspectos generales de antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias que estando presente a bajas concentraciones con respecto a una molécula oxidable (biomolécula), retarda o previene la oxidación de este sustrato, los antioxidantes reaccionan con los radicales libre para formar compuesto estables no reactivos, proceso conocido

como atrapamiento (captura) de radicales libres (DOMINGUEZ, 2014). Los antioxidantes son compuestos que inhiben o retardan la oxidación de otras moléculas mediante la inhibición de la propagación de la reacción de oxidación (MARTINEZ, 2000).

Los antioxidantes son sustancias que detienen o previenen una cadena de propagación oxidado, mediante la estabilización del radical generado (radical libre). Nuestro organismo posee antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos para protegerse de estos radicales, sin embargo, otra fuente muy importante de ellos son las plantas y precisamente el estudio de estos compuestos es prioritario por su rol en la protección del cuerpo humano en contra de un número considerable de enfermedades degenerativas, las evidencias experimentales sugieren que protege de manera importante las funciones biológicas de las células en contra de la actividad de los radicales libres(estrés oxidativo) (FIGUEROA *et al.*,2011).

Un antioxidante se define como aquella sustancia que presenta en concentraciones muy pequeñas comparadas con las de un sustrato oxidable, disminuye o evita la oxidación del sustrato. En Bioquímica puede considerarse como un donador de electrones capaz de evitar una reacción en cadena de oxido-reducción. Los antioxidantes han sido clasificados de diferentes maneras, de las cuales las más utilizadas establecen las diferencias de acuerdo a la estructura química y función biológica, dividiéndolos en enzimáticos y no enzimáticos (HICKS *et al.*, 2006).

Para equilibrar la respuesta oxidante el organismo dispone de una serie de sistemas antioxidantes que contrarrestan la generación de radicales

libres (RL). Un antioxidante es una entidad química que a bajas concentraciones y en comparación con el oxidante, retarda o previene la oxidación de un sustrato, el cual incluye a lípidos, proteínas, hidratos de carbono y ADN (RAMOS *et al.*, 2006).

Los antioxidantes cumplen un rol fundamental en la industria alimentaria al evitar la degradación química de los alimentos, conservando las propiedades organolépticas y alimentarias del alimento por largos periodos, minimizando el daño generado a las biomoléculas. Desde el punto de vista químico, la actividad antioxidante de los polifenoles presentes en los preparados naturales (flavonoides, flavonas, flavonoles, antocianinos, etc.), está representada principalmente por su capacidad de atrapar radicales libres, especialmente el oxígeno (GORMAZ, 2005).

2.6.2. Tipos de antioxidantes

Antioxidantes enzimáticos: Las defensas antioxidantes consisten en evitar la reducción univalente del oxígeno mediante sistemas enzimáticos. Se han descrito un grupo de enzimas especializadas en inactivar por diferentes mecanismos a las (ERO), como es el caso de la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GSH-Px), entre otras (HICKS *et al.*, 2006). Las enzimas antioxidantes catalizan la desactivación selectiva de las especies reactivas generadas. Además, existen enzimas de degradación que eliminan aquellos componentes que las especies reactivas hayan alterado. El recambio celular por el cual las estructuras y los materiales alterados se

eliminan y se resintetizan de nuevo es capital para evitar la acumulación de material inservible, que podría generar graves disfunciones (TUR, 2004).

Antioxidantes no enzimáticos: Algunos de los antioxidantes no enzimáticos son: el glutati6n en su forma reducida (GSH), algunos minerales como selenio, zinc o vitaminas como riboflavina, 6cido asc6rbico (vitamina C) y α -tocoferol (vitamina E), estos son esenciales para la defensa contra el da1o oxidante debido a que actúan como cofactores de las enzimas antioxidantes (HICKS *et al.*, 2006). Los sistemas antioxidantes no enzimáticos est1n constituidos principalmente por un grupo de tres vitaminas: Vitamina C, Vitamina E y betacaroteno y dos oligoelementos fundamentales el selenio y el zinc. Sus niveles de efectividad, ya que no se sintetizan en el organismo, dependen del equilibrio del propio consumo end6geno y de los aportes de la dieta (ZU1IGA, 2005).

2.6.3. Acci6n antioxidante en c6tricos

Los c6tricos tienen una amplia aceptaci6n debido a su atractivo sabor y valor nutricional por los beneficios de salud en t6rminos de su capacidad antioxidante, la principal fuente de la capacidad antioxidante de la mayoría de los c6tricos y otras frutas no es la vitamina C o fibras diet6ticas si no, el poder antioxidante total de dichas frutas fue una capacidad combinada de vitamina C y compuestos fen6licos para impartir diferentes característicasy antioxidantes, como la quelaci6n de iones f6rrico, capacidad reductora, etc. (AL-JUHAIMI y GHAF0OR, 2013). Muchas especies de c6tricos son de mucho inter6s porque se acumulan una gran cantidad de flavonoides, donde se

acumula principalmente glucósidos flavanona, hesperidina y narirutin, que comprenden más del 90% de todos los flavonoides. (KAFKAS *et al.*, 2011). Además estas frutas contienen una variedad de diferentes compuestos antioxidantes tales como ácido ascórbico, tocoferol, glutatión y carotenoides, los cuales pueden contribuir a la protección contra el daño oxidativo siendo la vitamina C y los polifenoles uno de los antioxidantes mas populares, que desempeñan un papel crucial en la prevención de daños en la peroxidación de los sistemas biológicos (KHOMDRAM y DEVI, 2010).

2.6. Aspectos generales del almacenamiento de frutos cítricos

3.3.1. Sistemas de almacenamiento

La creciente demanda y la mayor producción de frutas cítricas han dado como resultado un mayor énfasis en el diseño, construcción y la gerencia de casas de almacenamiento. En Japón y China desde tiempos antiguos las casas de almacenamiento eran simples y al aire libre para el almacenamiento a corto plazo. Actualmente el almacenamiento común aloja el uso de un diseño mejorado y expandido de almacenes de marcos simple que contienen de 2 a 4 cuartos con ventilación. Para los almacenes a baja temperatura la instalación y diseño se han mejorado con equipos sofisticados que han permitido el almacenamiento a largo plazo de grandes cantidades de cítricos. El almacenamiento de atmósfera controlada es la última innovación, pero los costes altos impiden su uso (LADINAYA, 2008).

Almacenamiento a temperatura de ambiente: La temperatura ambiente y la humedad relativa varían considerablemente en regiones subtropicales y tropicales cuando se cosechan las frutas cítricas. En India por ejemplo el alcance de la temperatura es 15 – 25 °C con 60 – 70 % HR en el invierno y 35 – 40 °C con 20 – 30 % de HR en verano. Los cítricos cosechados durante los meses de invierno en regiones subtropicales se pueden almacenar por períodos más largos en condiciones ambientales que las frutas cosechadas en las regiones tropicales. Las altas temperaturas y la humedad relativa en las áreas tropicales aumentan el incidente de pérdida de deterioro postcosecha. Como la mayoría de los países en desarrollo están en regiones tropicales con infraestructuras poscosecha inadecuados, los procedimientos complementarios de reducción de pérdidas pueden jugar un papel importante en la ampliación de las posibilidades de comercialización de los cítricos. Después de la cosecha el período manipulación sin una cadena de frío es de 10 – 15 días, la mayor parte de la fruta fresca producida en estos países se distribuye a nivel nacional y por lo tanto requiere de una adecuada gestión postcosecha. La respuesta de las variedades de naranja dulce varía en diferentes condiciones ambientales de almacenamiento, las naranjas pineapple pierden más peso que naranja Washington Navel durante el almacenamiento, Los materiales de envasado y recipientes juegan un papel importante en la retención de la frescura natural de frutas de color naranja durante el transporte y almacenamiento.

Almacenamiento en refrigeración: En la mayoría de los países con climas subtropicales, donde las naranjas frescas de diferentes periodos de madurez están disponibles durante 6-8 meses, el almacenamiento a largo plazo no es

común, excepto para el comercio internacional. Las naranjas dulces en general se pueden almacenar de 2 – 7 °C durante 8-12 semanas, dependiendo de la variedad y la zona de producción, estas frutas son relativamente sensibles a la refrigeración y sujeto a picaduras a temperaturas inferiores de 2 – 3 °C. Las frutas verdes y no tratados con etileno también desarrollan su color a 15 – 25 °C, teniendo un color bastante aceptable a esta temperatura durante períodos más largos, sin embargo la pérdida de peso y la descomposición son más altos a estas temperaturas, por lo tanto un un adecuado programa de temperatura de almacenamiento es necesario en función de la duración del almacenamiento y la respuesta del cultivar a esas temperaturas (LADINAYA, 2008).

3.3.2. Factores de calidad en el almacenamiento de naranjas

ROYO (2010) menciona que uno de los factores principales es el de mantener la calidad de los frutos hasta el momento de su comercialización. Las bajas temperaturas reducen la germinación de esporas y el crecimiento de patógenos, aunque a 0 °C todavía puede observarse crecimiento significativo de *Botrytis*, *Alternaria* o *Penicillium italicum*.. El almacenamiento a bajas temperaturas no sólo reduce el crecimiento de hongos, sino que al retrasar la senescencia del fruto, éste mantiene mayor contenido e sustancias antifúngicas (fitoalexinas), con lo que mejora la resistencia fisiológica al ataque microbiano. Además, las bajas temperaturas retrasan la pérdida de peso y se mantiene el aspecto fresco de los frutos.

3.3.3. Condiciones del almacenamiento

Según ARIAS y TOLEDO (2007) dependiendo del mercado de destino, las naranjas pueden almacenarse por corto tiempo a la temperatura ambiente, cuando los períodos de almacenamiento son mayores es necesario almacenarlos bajo refrigeración, la temperatura óptima es de 3 a 8 °C donde pueden durar varias semanas e inclusive meses, la humedad relativa debe mantenerse entre 85 a 90 %. En el Cuadro 3 se muestra algunas temperaturas recomendadas para su almacenamiento de naranjas.

Cuadro 3. Temperatura de almacenamiento para diferentes cultivos de naranjas.

Cultivo	Temperatura (°C)	Humedad Relativa (%)	Tiempo de almacenamiento
Navel Washington	2-3	85-90	2,5 – 3,5 meses
Navelate	3-4	85-90	2-3 meses
Navelina	2-3	85-90	4-5 meses
Salustiana	2-3	85-90	4-5 meses
Valencia	2-3	85-90	4-5 meses
Mandarinas (en general)	4-7	85-90	3-12 semanas

Fuente: ARIAS y TOLEDO (2007)

3.3.4. Daño por frío en frutas cítricas

Según ROYO (2010), los cítricos por su origen tropical y subtropical, por lo general son plantas sensibles al frío y su capacidad para sobrevivir a temperaturas de congelación no se aproxima a otras plantas

leñosas de origen templado. Pero los frutos cítricos pueden presentar alteraciones fisiológicas debidas al frío por encima de la temperatura de congelación (1-10°C) y estas fisiopatías muestran diferente sintomatología según la variedad y condiciones ambientales.

Las fisiopatías que se producen en los cítricos suelen suceder en la corteza del fruto, especialmente en el flavedo. Los síntomas más habituales del daño por frío (DF) en el flavedo de cítricos son:

- **El manchado o picado (*pitting*)**. Es el DF más frecuente asociado al almacenamiento de los frutos cítricos a bajas temperaturas y se caracteriza por la formación de manchas en áreas discretas de la piel que se colapsan formando lesiones profundas, este tipo de DF se ha detectado en pomelos, limas, limones, naranjas y tangerinas, es el DF característico en mandarinas Fortune
- **El escaldado** se presenta principalmente en frutos sobremaduros y se caracteriza por un oscurecimiento difuso de la piel que se manifiesta de forma irregular y se extiende paulatinamente por toda la superficie del fruto, por ejemplo en naranjas Navelate, Salustiana, Valencia. Cuando los frutos cítricos son conservados a una temperatura muy baja pueden aparecer otros daños que afectan tanto a la pulpa como a la corteza, proporcionando una consistencia blanda y esponjosa, y provocando una mayor sensibilidad a los ataques de patógenos; para evitar los DF deben almacenarse para su comercialización a temperaturas relativamente altas de 11-13 °C.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo se realizó en el laboratorio del Centro de Investigación de Productos Naturales de la Amazonia (CIPNA) y el Centro de Investigación y Desarrollo Biotecnológico de la Amazonia (CIDBAM) de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS); ubicada en el distrito de Rupa Rupa, provincia de Leoncio Prado, región de Huánuco; a una altitud de 660 m.s.n.m. a 09° 17' 08" de Latitud Sur, a 75° 59' 52" de Latitud Oeste, con clima tropical húmedo y con una humedad relativa media de 84% y temperatura media anual de 24°C.

3.2. Materia prima

La naranja valencia (*Citrus sinensis*) fueron adquiridos del fundo "Matos" ubicado en el distrito de José Crespo y Castillo en la provincia de Leoncio Prado, región de Huánuco; a 09° 11' 13" de Latitud Sur y a 75° 57' 38" de Latitud Oeste, las frutas fueron cosechadas en estado maduro (9 - 10 Brix) para luego inmediatamente ser trasladados a los laboratorios para la preparación de las muestras y su posterior análisis. El tiempo que se realizó el experimento fue en el mes de junio.

3.3. Equipos, materiales y reactivos

3.3.1 Equipos de laboratorio

Espectrofotómetro modelo Genesys 6 (Thermo Electrón Corporation) SN 2M6G261002; balanza analítica modelo ESJ-210-4 (Digital precisión), capacidad 200g y modelo Adventurer Pro AV114 (OHAUS) capacidad 110 g; estufa modelo ODH6–9240A (TOMOS Heating Drying Oven); refrigerador INRESA modelo I420GWBN0 (Colombia); refrigerador icebeam door cooling LG modelo GR-5392QLC (Corea); desionizador modelo D 7035 (Barnstead); agitador magnético modelo 625 standard (VWR™ hotplate/stirrer); homogenizador modelo VORTEX GENIE-2 (scientific industries. SITM); centrifuga modelo MIKRO 22R (Hettich); pH - metro (mettler Toledo seven easy) pH 0-14; T° 0-100°C SN 8513902; refractómetro digital POCKET modelo PAL – 1 Brix 0 – 53 (China).

3.3.2 Materiales de laboratorio

Matraces de Erlenmeyer de 100 y 250 mL.; vasos de precipitación de 50, 100, 250 y 1000 mL.; tubos de ensayo Gene Mate® de 10 mL.; fioles de 10, 25, 50, 100 y 1000 mL.; probetas graduadas de 10, 100 y 250 mL.; micropipetas 0-10 µL, 10-100µL, 20-200µL y 100-1000 µL.; cubetas de poliestireno Gene Mate® (1cm x 1cm x 4,5cm); tips FISHERBRAND® (1000 y 200 µL); microtubos (1,5 - 2,00 mL); embudos 8 cm de diámetro; bureta de titulación 500 mL BRAND (Alemania); frascos ámbar de 100mL, termómetro (- 10 – 150 °C) y varilla de vidrio.

3.3.3 Reactivos y solventes

L(+) ácido ascórbico puro, sigma chemical; 2,6-diclorofenolindofenol; ácido oxálico al 0,4%; hidróxido de sodio 99% pureza; fenolftaleína; ácido gálico (C₇H₆O₅) 98,1% sigma aldrich; folin–ciocalteu phenolre agent (2N, sigma aldrich); carbonato de sodio (Na₂CO₃) p.a. ISO. Scharlau; etanol al 96% de pureza; 1,1-Diphenyl-1-picril-hydrayl (DPPH, sigma aldrich, USA); 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline – 6 ácido sulfónico) diammoniums salt (ABTS; Sigma Aldrich, USA); persulfato de potasio (K₂S₂O₈) p.a. Sigma Chemical; agua destilada desionizada (H₂O_{dd}). solución buffer pH 4 y 7.

3.4. Métodos de análisis

Caracterización fisicoquímica de la naranja

- **Sólidos solubles:** método 945.80 AOAC (1997), la concentración de sólidos solubles se expresó en grados brix (°Bx).
- **pH:** método 973.193 AOAC (1964).
- **Acidez:** método de titulación AOAC (1995).
- **Peso:** método utilizado por PUTTONGSIRI y HARUENKIT (2010).

Cuantificación de ácido ascórbico: Método reportado por HUNG Y YEN (2002).

Cuantificación de polifenoles totales: Método espectrofotométrico desarrollado por Folin Ciocalteu *et al.* (1927), reportado por (SANDOVAL *et al.*, 2001).

Capacidad de inhibir radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH): Método espectrofotométrico de luz visible a 517 nm descrito por (BRAND-WILLIAMS *et al.* 1995).

Capacidad de inhibir el catión 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline – 6 ácido sulfónico) (ABTS⁰⁺): Método descrito por RE *et al.* (1999).

3.5. Metodología experimental

3.5.1 Acondicionamiento de la materia prima

Para el acondicionamiento se siguió el siguiente procedimiento: Los frutos de naranja fueron cosechados en estado de madurez comercial (9 – 10 °Brix) e inmediatamente llevados al laboratorio en cajones de madera. Se seleccionó los frutos considerando que no posean picaduras de insectos u otro daño mecánico. Se realizó el lavado de manera manual con agua clorada (3 gotas de cloro/L de agua), con la finalidad de eliminar impurezas para evitar la contaminación y adulteración de la muestra. Seguidamente se secó con papel absorbente para evitar que quede adherido gotas de agua. Las naranjas fueron separados considerando 100 unidades para cada sistema de almacenamiento que fueron: 4 °C con 75 ± 2 % HR (**T1**), 12 °C 45 ± 2 % HR (**T2**) y 28 °C con 75 ± 2 % HR (**T3**), el tiempo de almacenamiento fue durante 20 días con evaluaciones cada 5 días.

3.5.2 Preparación de la muestra

Para la preparación de la muestra se siguió el flujograma de la Figura 6 la misma que se detalla a continuación:

Pelado: Se realizó de manera manual con un cuchillo de acero inoxidable para extraer el flavedo (cáscara) de las naranjas, teniendo cuidado de no hacer cortes bruscos para evitar afectar la pulpa o que restos de cáscara se queden impregnados en la superficie del fruto. **Cortado:** Se realizó un corte transversal a cada fruto con la ayuda de un cuchillo. **Exprimido:** La obtención del zumo fue de manera manual contando para ello con la ayuda de una exprimidora. **Filtrado:** Para ello se utilizó un tamiz de 2 mm de malla con el objetivo de separar o eliminar restos de semillas, vesículas de zumo y albedos del mesocarpio del fruto. **Centrifugado:** Inmediatamente después del filtrado se centrifugó a 10000 rpm a 4 °C/10 minutos

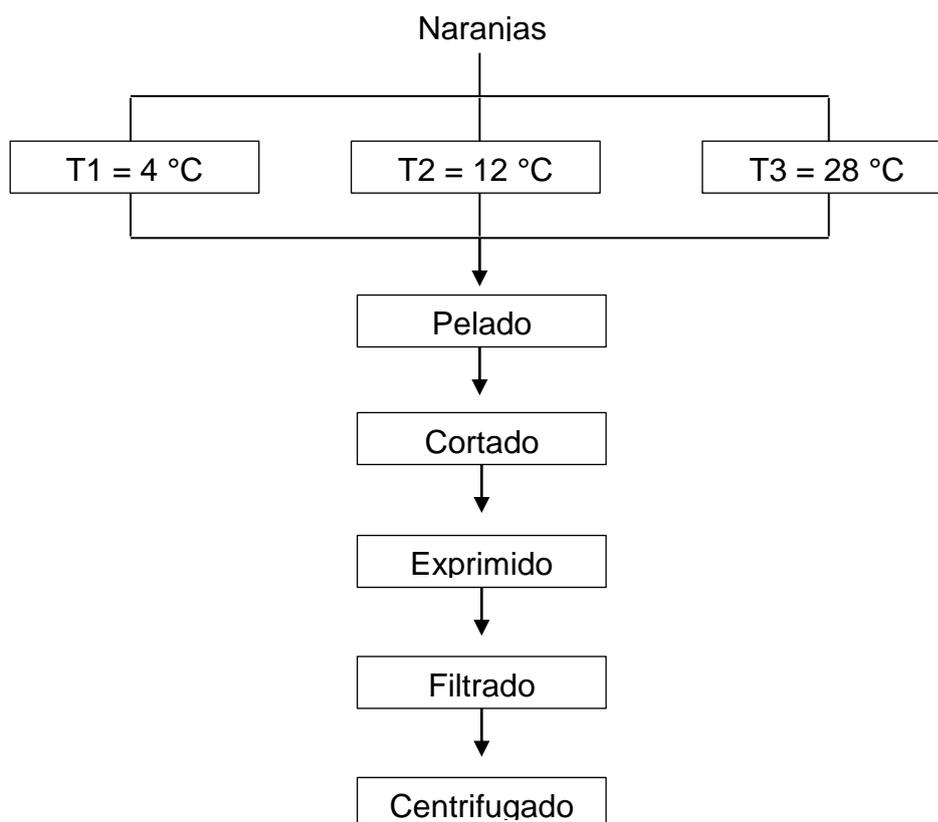


Figura 6. Diagrama de proceso para los análisis fisicoquímico, vitamina C, polifenoles totales y capacidad antioxidante (DPPPH y ABTS) en la naranja almacenada.

3.5.3 Caracterización fisicoquímica de la naranja durante el almacenamiento

Determinación de los sólidos solubles totales: Los sólidos solubles totales se determinó por el método óptico de refractómetro a 20 °C para lo cual fue necesario el uso de un refractómetro digital que se calibro previamente con agua destilada, se tomó una alícuota del zumo de cada tratamiento previa filtración en el lector del equipo y se procedió a la lectura, se realizó tres repeticiones para cada almacenamiento.

Determinación del pH: El zumo de la naranja se filtró y se tomó una alícuota de 10 ml se colocó en un vaso de 50 ml; se introdujo el electrodo del pH-metro a la muestra, se verifico su estabilidad y se registró la lectura, todos los análisis se hicieron por triplicado

Determinación de la acidez titulable: Se filtró el zumo de la naranja de los diferentes tratamientos, se tomó 2 ml y se puso en un matraz Erlenmeyer, luego se diluyo con 20 ml de agua destilada, se adiciona 3 gotas de fenolftaleína al 0,1 % y se procedió a la titulación con NaOH al 0,1 N hasta lograr el color a rosado, todo los análisis se hicieron con tres repeticiones. El porcentaje de acidez se calculó siguiendo la fórmula que se presenta a continuación y

$$\% \text{ acidez} = \frac{G \times N \times \text{Meq}}{M} \times 100 \quad (1)$$

Dónde:

G : Volumen (ml) gastado de la sustancia valorante. N : Normalidad del álcali o sustancia valorante (0,1 N). Meq : Valor del miliequivalente en gramos del ácido cítrico (0,064). M : Volumen del zumo.

Determinación de la pérdida de peso: Se tomó cinco frutas al azar de cada tratamiento y se procedió al pesado, el porcentaje de pérdida de peso se calculó con la siguiente fórmula

$$\% \text{ pérdida de peso} = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100 \quad (2)$$

Dónde:

P_i : Peso inicial (g) de la naranja en el día cero.

P_f : Peso final (g) de la naranja en cada día de evaluación.

Los resultados fueron analizados mediante el diseño completo al azar (DCA) (SAEZ, 2012), en los tratamientos donde hubo diferencia estadística se procedió a determinar la prueba de Tukey $p < 0,05$, para ello se utilizó el programa SAS versión 9,2.

3.5.4 Cuantificación de la vitamina C de la naranja durante el almacenamiento.

3.5.4.1. Elaboración de la curva estándar del ácido ascórbico

Para determinar la curva estándar del ácido ascórbico se utilizó el colorante (2,6 diclorofenolindolfenol) a una concentración de 12 mg/L con agua destilada y como agente reductor se empleó el ácido ascórbico químicamente puro al 0,1 % con una solución de ácido oxálico al 0,4 %, las concentraciones

para la curva estándar estuvo comprendido entre 1 a 5 mg A.A./100mL, la forma de preparación se presenta en el siguiente Cuadro.

Cuadro 4. Preparación de las concentraciones para la curva estándar de ácido ascórbico.

Tubos	Ácido ascórbico (A.A.)	+	Ácido oxálico	mg/100 mL
C ₁	10 µl de ácido ascórbico (0,1%)	+	990 µl de ác. Oxálico al 0,4%	1
C ₂	20 µl de ácido ascórbico (0,1%)	+	980 µl de ác. Oxálico al 0,4%	2
C ₃	30 µl de ácido ascórbico (0,1%)	+	970 µl de ác. Oxálico al 0,4%	3
C ₄	40 µl de ácido ascórbico (0,1%)	+	960 µl de ác. Oxálico al 0,4%	4
C ₅	50 µl de ácido ascórbico (0,1%)	+	950 µl de ác. Oxálico al 0,4%	5

En el Cuadro 5 se muestra el contenido de los tubos para los respectivos análisis, para el tubo I se ajustó con la absorbancia a cero, con el tubo II obtengo la absorbancia denominada (**L1**), nuevamente ajusto a cero la absorbancia con el tubo III y con el tubo IV obtengo la absorbancia denominada (**L2**), haciéndose así para todos los estándares de trabajo, todas las lecturas se hicieron con tres repeticiones y la absorbancia fue leída a 520 nm en el espectrofotómetro. Con los resultados obtenidos de la absorbancia (**L1 – L2**) en el eje de las ordenadas vs concentración (mg A.A/ml) en el eje de las abscisas se procedió a realizar la regresión lineal y su respectivo coeficiente de correlación.

Cuadro 5. Contenido de los tubos para la lectura en el espectrofotómetro.

Tubo	Contenido
I	1000 µl de agua destilada
II	100 µl de ác. Oxálico al 0,4% + 900 µl de colorante
III	100 µl estándar de trabajo(C ₁ – C ₅) + 900 µl agua destilada
IV	100 µl estándar de trabajo(C ₁ – C ₅) + 900 µl de colorante

Fuente: Elaboración propia

3.5.4.2. Cuantificación de la vitamina C

A partir de las muestras almacenadas en los diferentes sistemas 4, 12 y 28 °C se realizó la evaluación a cada 4 días por un espacio de 20 días a excepción del día cero que fue instantánea y sin refrigerar, los análisis se hicieron teniendo en cuenta la precisión y la rapidez para evitar que factores como el traslado de la muestra o la demora en las lecturas se constituyan como posibles variables de interferencia. En el zumo de cada muestra filtrado y centrifugado se preparó las soluciones de trabajo (dilución 1:20) tal como se muestran en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Preparación de las soluciones de trabajo para la cuantificación de vitamina C.

Días	Dilución del zumo: 1:20			Reacción en el espectro		
	Zumo (μL)	ác. oxálico (0,4%) (μL)	Volumen final (mL)	Zumo diluido (μL)	Colorante (μL)	Volumen final (mL)
0	50	950	1	100	900	1
4	50	950	1	100	900	1
8	50	950	1	100	900	1
12	50	950	1	100	900	1
16	50	950	1	100	900	1
20	50	950	1	100	900	1

Fuente: Elaboración propia

Para hacer la lectura en el espectrofotómetro primero se ajustó la absorbancia a cero con el agua desionizada y en otro tubo se agregó 100 μL de ácido oxálico al 0,4 % más 900 μL del colorante (2,6 diclorofenolindofenol) (L_1), para obtener la lectura denominada L_2 se ajustó nuevamente la absorbancia a cero para ello agrego en el tubo respectivo 100 μL de muestra (T_1, T_2, T_3) más 900 μL de agua desionizada y finalmente agrego en otro tubo 100 μL de muestra (T_1, T_2, T_3) más 900 μL de colorante (2,6 diclorofenolindofenol) y registro la lectura respectiva. Todas las lecturas se hicieron por triplicado y las absorbancias se registraron después de 15 segundos y a 520 nm. Para obtener las cantidades de ácido ascórbico se utilizó la siguiente ecuación:

$$A_{520\text{ nm}} = A_{\text{control}}(L_1) - A_{\text{muestra}}(L_2) \quad (3)$$

Dónde: A es la absorbancia

Con el valor obtenido de la ecuación se reemplazó en la ecuación dada por la curva estándar y despejo la variable “x”, finalmente multiplico por el factor de dilución (20) y se logró obtener la concentración de vitamina C en mg/mL de zumo para cada cítrico. Los resultados fueron analizados mediante el diseño completo al azar (DCA) (SAEZ, 2012), en los tratamientos donde hubo diferencia estadística se procedió a determinar la prueba de Tukey $p < 0,05$, para ello se utilizó el programa SAS versión 9,2 (español).

3.5.5 Cuantificación de polifenoles totales de la naranja durante el almacenamiento

3.5.6.1. Determinación de la curva estándar

La curva estándar se preparó realizando una solución stock de 10 mL de ácido gálico a una concentración de 1 mg/mL a partir de ello se hicieron las concentraciones siguientes: 50, 100, 200, 400, 600, 800 y 1000 $\mu\text{g/mL}$ cada solución se preparó por triplicado. En cada tubo se agregó 1580 μL de agua desionizada y 20 μL de muestra control y estándares, se homogenizo ligeramente, luego se adicionó 100 μL de solución fenol folin ciocalteu, se incubo por 1 min a temperatura ambiente; se neutralizó la reacción agregando 300 μL de Na_2CO_3 al 20% y finalmente se incubó por 2 h a temperatura ambiente. Luego se realizó la lectura en el espectrofotómetro UV/VIS a 700 nm, con los resultados obtenidos se graficó la concentración vs absorbancia, luego se procedió a determinar la ecuación y el coeficiente de correlación.

3.5.6.2. Cuantificación de polifenoles totales

El procedimiento para la cuantificación de polifenoles totales se realizó adicionando en los tubos de ensayos para cada tratamiento 1580 μL de agua desionizada, 20 μL de muestra directa, 100 μL de fenol folin ciocalteu y finalmente 300 μL de Na_2CO_3 al 20% y se incubo por 2 h a temperatura ambiente y oscuridad, luego se hizo lectura en el espectrofotómetro UV/VIS a una longitud de onda de 700 nm. Las absorbancias obtenidas fueron reemplazadas en la ecuación de la curva estándar y expresadas en equivalente de ácido gálico (g EAG/100 g). Los resultados fueron analizados mediante el diseño completo al azar (DCA) (SAEZ, 2012), en los tratamientos donde hubo diferencia estadística se procedió a determinar la prueba de Tukey $p < 0,05$, para ello se utilizó el programa SAS versión 9,2.

3.5.6 Determinación de la capacidad antioxidante de la naranja durante el almacenamiento.

3.5.6.1. Capacidad de inhibir radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH).

El procedimiento para la evaluación de la capacidad antioxidante para inhibir el radical DPPH, primeramente se preparó una solución stock de DPPH a 1mM (0,0394 g de DPPH en 100 mL de etanol al 96%) y se almacenó a 4°C protegido de la luz. A partir de este stock se preparó 50 mL a 100 μM en etanol al 96%, luego se le midió su absorbancia a 515 nm/5 minutos y la lectura estuvo comprendida en un valor cercano a 1,0, manteniéndose constante a lo

largo del tiempo de reacción. La inhibición del radical DPPH⁺ en el zumo de las naranjas se realizó cada 4 días, el día cero fue al momento de instalar el experimento. Con la muestra inmediatamente se realizó la preparación de las concentraciones de trabajo tal como se pueden ver en el siguiente Cuadro:

Cuadro 7. Preparación de las concentraciones de trabajo en el zumo de naranja para DPPH⁺

Concentración (µg/mL)	Agua desionizada (µL)	Zumo (µL)	Volumen final (µL)
400	600	400	1000
300	700	300	1000
250	750	250	1000
200	800	200	1000
150	850	150	1000
100	900	100	1000

Fuente: Elaboración propia

Para hacer las lecturas se tomó una cubeta y se adicionó 25 µL de cada concentración y 975 µL de solución DPPH⁺ a 100 µM, la inhibición de los radicales libres se determinó por la degradación del color violeta a amarillo, la lectura se realizó en el espectrofotómetro de UV/VIS a 515 nm con un tiempo de 5 minutos a intervalos de tiempo de 30 segundos. Para determinar el porcentaje de inhibición se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{Inhibición DPPH} = \left[\frac{(\text{AbsControl} - \text{AbsMuestra})}{\text{AbsControl}} \right] \times 100 \quad (4)$$

Dónde: Abs Control: Absorbancia del control

Abs Muestra: Absorbancia de la muestra en 5 minutos.

Para calcular el valor de IC_{50} se graficó los valores de la concentración ($\mu\text{g/mL}$) en el eje de las abscisas vs el coeficiente de inhibición (%) de cada concentración en el eje de las ordenadas, luego se obtuvo la ecuación de la regresión lineal, de la cual se obtendrá la concentración media efectiva (IC_{50}). Los resultados de la capacidad de inhibir (IC_{50}) el radical DPPH⁺ fueron analizados mediante el diseño completo al azar (DCA) (WAYNE, 2004), en los tratamientos donde hubo diferencia estadística se procedió a determinar la prueba de Tukey $p < 0,05$, para ello se utilizó el programa SAS versión 9,2.

3.5.6.2. Determinación del Coeficiente de Inhibición (IC_{50}) del radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolino - 6 - ácido sulfónico) ABTS⁺

Para determinar el coeficiente de inhibición del radical ABTS⁺ se preparó en una fiola 10 ml de solución stock de ABTS⁺ a 7 mM en agua destilada desionizada, se agitó hasta la solubilización completa del compuesto, paralelamente también se preparó la solución de persulfato de potasio ($K_2O_8S_2$) de 140 mM en una fiola de 10 ml con agua destilada desionizada se agitó hasta su completa solubilización, luego se tomó una alícuota de 200 μl de la solución de persulfato de potasio de 140 mM y se adicionó a la solución de stock de ABTS⁺ de 7 mM se agitó en un vortex hasta su total solubilización y se almacenó a temperatura ambiente protegido de la luz por 16 horas, al siguiente día se tomó 1 ml en una fiola de 50 ml y se enrazó con agua destilada desionizada se midió su absorbancia a 735 nm/5 minutos y la lectura estuvo comprendida entre 0,7 - 1,200 manteniéndose constante a lo largo del tiempo

de reacción. La inhibición del radical ABTS⁺ en los zumos de naranja se realizó cada 4 días por 20 días a excepción del día cero que fue instantánea, con cada muestra se preparó las concentraciones de trabajo tal como se pueden ver en el siguiente Cuadro:

Cuadro 8. Preparación de concentraciones de trabajo en el zumo de naranja para ABTS⁺

Concentración (µg/mL)	Agua desionizada (µL)	Zumo (µL)	Volumen final (µL)
400	600	400	1000
300	700	300	1000
250	750	250	1000
200	800	200	1000
150	850	150	1000
100	900	100	1000

Fuente: Elaboración propia

Para hacer las lecturas se tomó una cubeta y se adicionó 20 µL de cada concentración de trabajo y 980 µL de solución ABTS⁺, se realizó la lectura en un espectrofotómetro de UV/VIS a 735 nm con un tiempo de 5 minutos en intervalos de tiempo de 30 segundos. Para determinar el porcentaje de inhibición se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición ABTS} = \frac{A_c - A_m}{A_c} \times 100 \quad (5)$$

Donde:

A_c: Absorbancia de los control.

A_m: Absorbancia de las muestra en función del tiempo (5minutos).

Para calcular el valor de IC_{50} se graficó los valores de la concentración ($\mu\text{g/mL}$) en el eje de las abscisas vs el coeficiente de inhibición (%) de cada concentración en el eje de las ordenadas, luego se obtuvo la ecuación de la regresión lineal y la concentración media efectiva (IC_{50}). Los resultados fueron analizados mediante el diseño completo al azar (DCA) (SAEZ, 2012), en los tratamientos donde hubo diferencia estadística se procedió a determinar la prueba de Tukey $p < 0,05$, para ello se utilizó el programa SAS versión 9,2.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. Caracterización fisicoquímica de la naranja durante el almacenamiento.

4.1.1. Cuantificación de sólidos solubles totales.

Los sólidos solubles son una variable de la calidad de los frutos ya que es un cambio bioquímico importante que sufren los hidratos de carbono; según los resultados del Cuadro 9 y Figura 7, en el día cero antes de ser sometido a los sistemas de almacenamiento los grados Brix del jugo de naranja fue 9,14 este valor se encuentra dentro de lo reportado por URIBE *et al.* (2013) en diferentes naranjas injertadas maduras 10,8 a 12,87 °Bx; ALSINA *et al.* (2012) en naranjas del grupo valencia late $9,50 \pm 0,62$, Midnight $8,98 \pm 0,29$ y valencia seedless $9,0 \pm 0,43$ °Bx; SOSA *et al.* (2012) en naranjas 8,6 y 11,2 °Brix. MARCILLA *et al.* (2006) naranja valencia 9,61°Brix; RAPISARDA *et al.* (2008) naranja valencia cosechada 10,47 °Bx; ARIZA *et al.* (2010) en naranja valencia cosechados en diciembre 2008 a setiembre del 2009 entre 7,7 y 9,6 °Brix y entre diciembre a julio 8,7 °Brix. Esta medida de los grados Brix están dentro del rango de madurez mencionado por USDA (1997), para las naranjas Valencia cultivado en el clima subtropical debe superar el valor mínimo requerido 9,0 Brix, en los EE.UU.

Cuadro 9. Resultados de los grados Brix ($^{\circ}\text{Bx}$) durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.

Días	Sistemas de almacenamiento		
	4°C	12°C	28°C
0	9,14 \pm 0,07	9,14 \pm 0,07	9,14 \pm 0,07
4	9,14 \pm 0,13	9,48 \pm 0,20	9,24 \pm 0,08
8	9,52 \pm 0,28	10,32 \pm 0,39	9,58 \pm 0,44
12	9,56 \pm 0,08	10,50 \pm 0,51	9,52 \pm 0,55
16	9,74 \pm 0,47	10,48 \pm 0,39	10,16 \pm 0,48
20	10,04 \pm 0,67	10,52 \pm 0,33	10,92 \pm 0,51

Los valores representan (Promedio \pm SEM) datos provienen del experimento (n=5) valores de la misma fila con superíndice diferentes son significativos ($p \leq 0,05$), en el día cero sin análisis estadístico.

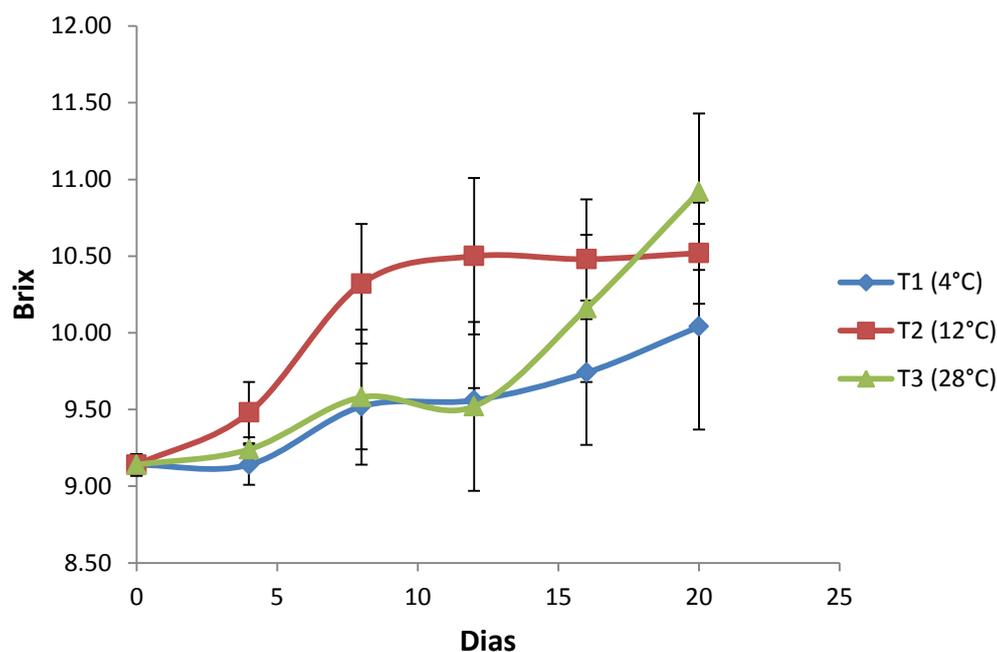


Figura 7. Comportamiento de los grados Brix durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.

A los 4 días de almacenamiento a 4°C los grados Brix no cambiaron pero si en 12 y 28°C, esto podría deberse al frío que retrasa los

procesos tal como lo menciona GONZÁLEZ-CABRERA (2010) que las temperaturas de refrigeración reducen el crecimiento microbiano y la actividad enzimática.

A los 8 y 12 días las naranjas almacenadas a 12°C siguieron aumentando los grados Brix (10,32 a 10,50) concordando con MARCILLA *et al.* (2006), que la naranja almacenada a 15 °C por 2 semanas tuvo 10,28 °Bx; comparado con las naranjas almacenadas a 4 °C el valor de los Brix estuvo entre 9,52 a 9,56 esto podría deberse a la temperatura que influencia directamente todo lo relacionado con procesos enzimáticos, tasas de respiración y producción de etileno, provocando de 2 a 2,5 veces más de estos procesos por cada aumento de 10 °C (EDA, 2006)

A los 16 días de almacenamiento no se encontró diferencia estadística entre los sistemas de almacenamiento (A-IIIId) pero si diferencia numérica el aumento en los grados Brix se dio a 28°C (10,16) este comportamiento puede ser explicado por LADINAYA, (2008) las temperaturas afectan la maduración de la fruta cítrica. Para la temperatura de 12°C los grados Brix disminuyeron ligeramente de 10,50 a 10,48, esto puede deberse a que la síntesis de azúcares en los cítricos cosechados sucede a partir de disminución de los ácidos orgánicos pero el aumento de enzimas glucolíticas invierte el comportamiento (RAPISARDA *et al.*, 2008).

A los 20 días tampoco no se encontró diferencia estadística entre los tres sistemas de almacenamiento (A-IIIE), pero cabe resaltar que a 4°C se tuvo el menor valor en grados Brix 10,04, esto concuerda con lo citado por PÉREZ-APARICIO *et al.* (2008) las temperaturas bajas provocan la subida en

la concentración de sólidos solubles lentamente. Según nuestros resultados concuerda con lo reportado por MARCILLA *et al.* (2006) en naranjas almacenada 5°C a las 4 semanas 11,11 °Bx. RAPI SARDA *et al.* (2008) en naranja Valencia almacenada a 6 ± 1 °C a los 20 días de 10,81 °Bx. LA FUENTE *et al.* (2007) naranjas envasadas en envases de poliéster almacenada 3 °C, 85% HR por 4 semanas el Brix se incrementó de 8,85 a 10,25. El aumento puede deberse a un mecanismo defensivo del fruto contra frío; al aumentar la concentración de azúcar disminuiría el punto de congelación del mismo. A los 12 °C el valor nuevamente se incrementó 10,52°Brix y a 28 °C terminó 10,90 Brix concordando con lo mencionado por LADANIYA (2008), que a mayor temperatura de almacenamiento de los cítricos, causa un mayor aumento de la SST

4.1.2. Cuantificación de acidez

El contenido de ácido de la fruta cambia según la madurez y afecta el sabor, realizando la evaluación en los tres sistemas de almacenamiento en el día cero el valor fue 1,34 % ácido cítrico, como se sabe la acidez conjuntamente con los azúcares son los principales marcadores de calidad en los frutos cítricos (MARCILLA *et al.*, 2006), por esta razón, el valor AT (Acidez titulable) influye en la calidad del sabor de la frutas (FATTAHI *et al.*, 2011). El valor de acidez reportado concuerda con lo citado por REKHA *et al.* (2012) en naranja madura 1,024 a 1,075 % ácido cítrico. RUSSIÁN (2006) en naranja criolla injertada 0,80 a 1,08 y la naranja valencia 0,75 a 1,34 % ácido cítrico. ARIZA *et al.* (2010) en naranja valencia varió entre 0,66 y 1,00 % de ácido

cítrico. AL-JUHAIMI y GHAFOOR (2013) la naranja valencia tuvo $1,69 \pm 0,06\%$ de acidez.

Cuadro 10. Resultados de acidez (% ácido cítrico) durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.

Días	Sistemas de almacenamiento		
	4°C	12°C	28°C
0	$1,34 \pm 0,01$	$1,34 \pm 0,01$	$1,34 \pm 0,01$
4	$1,10 \pm 0,03$	$1,08 \pm 0,07$	$1,04 \pm 0,05$
8	$0,99 \pm 0,07$	$1,07 \pm 0,04$	$0,97 \pm 0,04$
12	$0,97 \pm 0,04$	$1,02 \pm 0,04$	$0,93 \pm 0,05$
16	$0,94 \pm 0,03$	$0,86 \pm 0,01$	$0,91 \pm 0,05$
20	$0,90 \pm 0,03$	$0,85 \pm 0,04$	$0,80 \pm 0,04$

Los valores representan (Promedio \pm SEM) datos provienen del experimento (n=5) valores de la misma fila con superíndice diferentes son significativos ($p \leq 0,05$), en el día cero sin análisis estadístico.

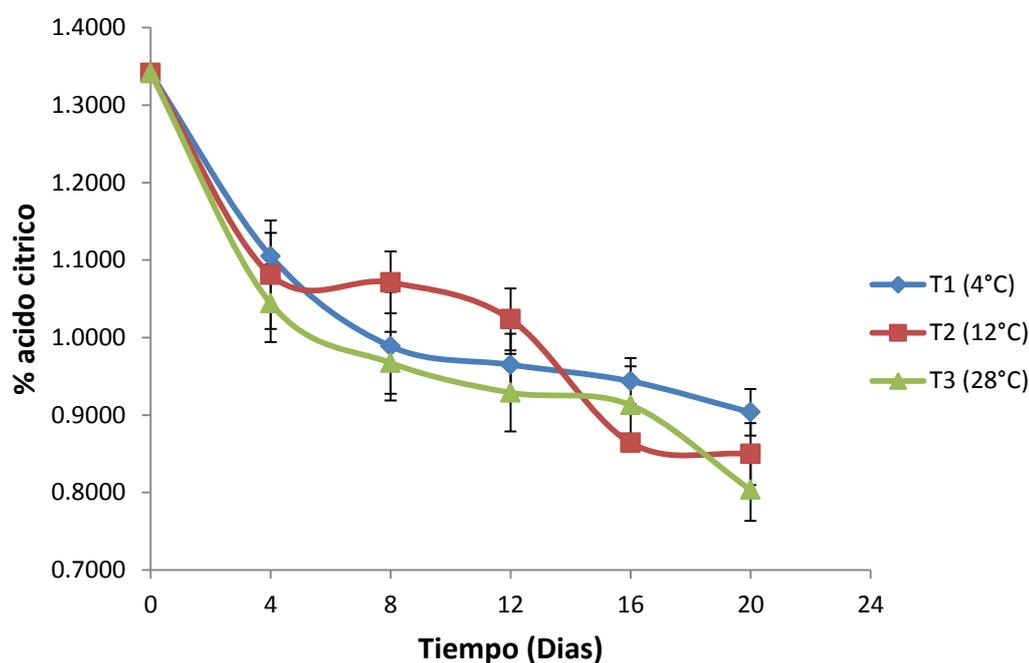


Figura 8. Comportamiento de la acidez durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.

A los 4 y 8 días de almacenamiento no existe una diferencia significativa en los tratamientos (A-IVa, A-IVb), pero cabe resaltar que a 4°C la acidez disminuyó de $1,10 \pm 0,03$ % a $0,99 \pm 0,07$ %, concordando con LA FUENTE *et al.* (2007) las naranjas almacenadas a 3°C y 85% HR a un tiempo de 7 días tuvo una acidez de 0,92 %, DEL CARO *et al.* (2004) menciona que existe una ligera disminución de la acidez en la naranja almacenada a 4 °C en los días 4 y 8 (0,94 a 0,92 %). Para el caso del almacenamiento a 12°C y 28°C no existió mucha variación de acidez de $1,08 \pm 0,07$ a $1,07 \pm 0,04$, y $1,04 \pm 0,05$ % a $0,97 \pm 0,04$ % respectivamente; concordando con REINA *et al.* (1995) la naranja almacenada a 28 °C con 60 % HR tuvo una acidez de 1,29 a los 4 días; ROONGRUANGSRI *et al.* (2013) las mandarinas almacenados a 25°C, 85 ± 2 % HR a los 5 y 10 días tuvo una variación de acidez de 0,79 % a 0,76 %, la disminución en el contenido de ácido cítrico durante el almacenamiento de los cítricos podría ser debido a la utilización de ácidos orgánicos para la producción de energía.

Analizando el mismo Cuadro 10 y la Figura 8 podemos ver que en los días 12 y 16 continúa descendiendo la acidez en todos los tratamientos, las naranjas almacenadas a 4 °C disminuye de $0,97 \pm 0,04$ a $0,94 \pm 0,03$ %; al respecto LA FUENTE *et al.* (2007) menciona que las naranjas almacenadas a 3°C y 85% HR a 14 días tuvo una acidez de 0,90 %, ROONGRUANGSRI *et al.* (2013) las mandarinas almacenados a 5°C, 58 ± 2 % HR tuvo una acidez 0,79 % a 14 días. Para el caso del almacenamiento a 12 °C la acidez disminuyó de $1,02 \pm 0,04$ - $0,86 \pm 0,01$, lo cual podría deberse a la temperatura,

según AGUSTÍ *et al.* (2003) el descenso en la acidez se ha atribuido a la rápida respiración de ácidos orgánicos que tiene lugar a temperaturas altas.

A los 20 días tampoco no se encontró diferencia estadística entre los tres sistemas de almacenamiento (A-IVe), pero cabe resaltar que a 4°C tuvo el mayor valor de acidez $0,90 \pm 0,03$ y el menor correspondió a 28 °C $0,80 \pm 0,04$; los ácidos orgánicos son substratos respirables por lo que se encuentran muy ligados a la respiración (AGUSTÍ *et al.*, 2003). La pérdida de la acidez durante el almacenamiento es una consecuencia de la actividad respiratoria de los frutos cítricos (OBENLANDA *et al.*, 2011). La temperatura influye directamente sobre la respiración y si la temperatura de almacenamiento es mayor a la recomendada la velocidad de respiración es más alta, generando una mayor cantidad de calor, con el uso de temperaturas bajas, se reduce la respiración y ayuda a prolongar su vida de poscosecha (EDA, 2006). Con respecto a los valores reportados concuerdan con lo citado por SRIJAYA *et al.* (2011) mencionando que los estudios han demostrado que la acidez titulable fue menor en los cítricos almacenados a $6 \pm 1^\circ\text{C}$ y $8 \pm 1^\circ\text{C}$ que en frutos almacenados a 20-30°C, concordando con LADANIYA (2008) que las naranjas y la mandarina se pueden almacenar mejor entre 4 y 6 ° C.

4.1.3. Cuantificación de pH

El pH es uno de los parámetros químicos que permite expresar la acidez de la naranja, se le considera un indicador de madurez, ya que su valor tiende a aumentar a medida que el estado fisiológico del fruto pasa de verde a maduro, con respecto al pH los resultados se presentan en el Cuadro 11 y

Figura 9 en donde podemos apreciar que en el día cero fue 3,71, TOLEDO (2009) nos indica el pH de naranja Valencia varía por lo general entre 2,9 y 3,9; REKHA *et al.* (2012) indica que el pH de los zumos de frutas cítricas varia de 3,50 a 4,33; SOSA *et al.* (2012) menciona que las naranjas utilizadas para los ensayos tenían un pH promedio de 4,4, SUPRADITAREPORN y PINTHONG, (2007) los zumos de naranja tenían un pH entre 3,4 y 4,0.

Cuadro 11. Resultados de pH durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.

Días	Sistemas de almacenamiento		
	4°C	12°C	28°C
0	3,71 ± 0,01	3,71 ± 0,01	3,71 ± 0,01
4	3,77 ± 0,04	3,80 ± 0,04	3,84 ± 0,03
8	3,84 ± 0,03	3,79 ± 0,04	3,86 ± 0,06
12	3,89 ± 0,02	3,85 ± 0,02	3,88 ± 0,06
16	3,90 ± 0,13	3,86 ± 0,02	3,90 ± 0,02
20	3,90 ± 0,03	3,93 ± 0,07	3,95 ± 0,01

Los valores representan (Promedio ± SEM) datos provienen del experimento (n=5) valores de la misma fila con superíndice diferentes son significativos ($p \leq 0,05$), en el día cero sin análisis estadístico.

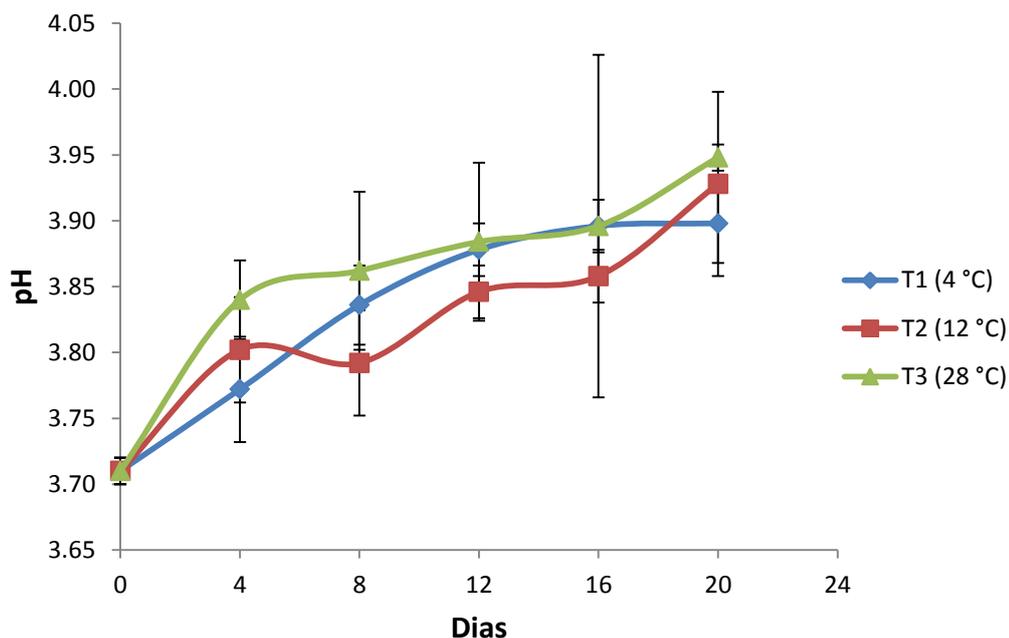


Figura 9. Comportamiento del pH durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.

A los 4 y 8 días de almacenamiento no hubo diferencia estadística significativa (A-Va, A-Vb) entre los sistemas de conservación, pero si hubo aumento en el pH en todo los sistemas, a los 4 °C el pH vario de 3,77 a 3,84 concordando con lo reportado por SRIJAYA *et al.* (2011) el pH de la naranja mosambi almacenada a 8 ± 2 °C a 7 días fue 4,1. A los 28 °C el pH varió de 3,84 a 3,86 este comportamiento puede ser explicado por REINA *et al.* (1995) que durante el proceso de almacenamiento, las frutas cítricas pierden sus condiciones iniciales de pH como consecuencia del incremento en los azúcares expresados como sólidos solubles.

Analizando el mismo Cuadro 11 y la Figura 9 podemos ver que en los días 12 y 16 continua aumentando el pH en todo los tratamientos pero entre los sistemas no se encontró diferencia significativa (A-Vc, A-Vd) SRIJAYA *et al.*

(2011) menciona que en el período de almacenamiento de las frutas cítricas existe una tendencia al aumento del pH. A los 4 °C y 28 °C tuvo un valor de 3,89 a 3,90 y 3,88 a 3,90 lo cual esto concuerda con ROONGRUANGSRI *et al.* (2013) que la mandarina 'Sai Num Phueng' y 'See Thong' tuvo 3,75 y 3,90 a 5 ° C durante 14 días y a los 25 ° C durante 15 días tuvo un valor de 3,77 y 3,90, ante estos resultados REINA *et al.*, (1995) menciona que el aumento del pH para el caso de la naranja y la mandarina, al contrario del limón es benéfica debido a que aumenta su dulzura y por tanto su calidad, hasta el momento en que empieza el deterioro de la fruta terminando en su pudrición.

A los 20 días no se encontró diferencia estadística significativa, pero a los 4 °C el pH no vario con respecto al día 16, este comportamiento lo explica SRIJAYA *et al.* (2011) las muestras (naranjas) mostraron un ligero aumento en el pH hasta los 15 días de almacenamiento, después de lo cual se observó un aumento insignificante en las muestras refrigeradas. El mayor valor de pH podemos encontrarlo a los 28 °C al igual que en la acidez tuvo el menor valor (Cuadro 11) este comportamiento es explicado por LADINAYA (2008) que los ácidos orgánicos son sustratos respiratorios en la fruta, teniendo el cociente respiratorio más que 1 (CO_2 producido / O_2 consumido) que indica la utilización de ácidos, principalmente ácidos cítrico y málico a través del ciclo TCA (ácido tricarbóxico), en la que los ácidos se oxidan y ATPs se forman para la síntesis de nuevos compuestos. Varios metabolitos se forman durante el proceso. Los ácidos orgánicos se utilizan durante la formación de muchos flavor y compuestos aromáticos, además el ácido libre junto con las sales (K, Ca, Mg) forma un sistema tampón muy eficaz. RAPISARDA *et al.* (2008) menciona que

la acidez titulable en las naranjas disminuye y esta tendencia se refleja en los niveles de pH que aumentaron significativamente al final del almacenamiento.

4.1.4. Cuantificación de pérdida de peso

Las pérdidas de peso en los frutos se incrementan como consecuencia de la transpiración después de la cosecha y significa una disminución de la calidad y aceptabilidad. Las naranjas fueron almacenadas a diferentes temperaturas y HR cuyos valores de pérdida de peso se describen en el siguiente Cuadro 12, este comportamiento es explicado por GONZÁLEZ-CABRERA (2010) las frutas frescas son tejidos vivos sujetos a continuos cambios después de la cosecha. Una característica muy importante es el hecho de que respiran y también que transpiran.

Cuadro 12. Resultados de Pérdida de peso (%) durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.

Días	Sistemas de almacenamiento		
	4°C	12°C	28°C
0	0	0	0
4	3,53 ± 0,24 ^b	7,55 ± 0,86 ^a	4,57 ± 0,82 ^b
8	6,13 ± 0,27 ^b	15,72 ± 1,07 ^a	7,85 ± 0,77 ^b
12	9,52 ± 0,78 ^b	18,45 ± 0,88 ^a	10,41 ± 0,30 ^b
16	12,62 ± 1,20 ^b	22,47 ± 1,12 ^a	14,62 ± 0,46 ^b
20	14,70 ± 0,97 ^b	22,89 ± 1,32 ^a	16,71 ± 0,27 ^b

Los valores representan (Promedio ± SEM) datos provienen del experimento (n=5) valores de la misma fila con superíndice diferentes son significativos ($p \leq 0,05$), en el día cero sin análisis estadístico.

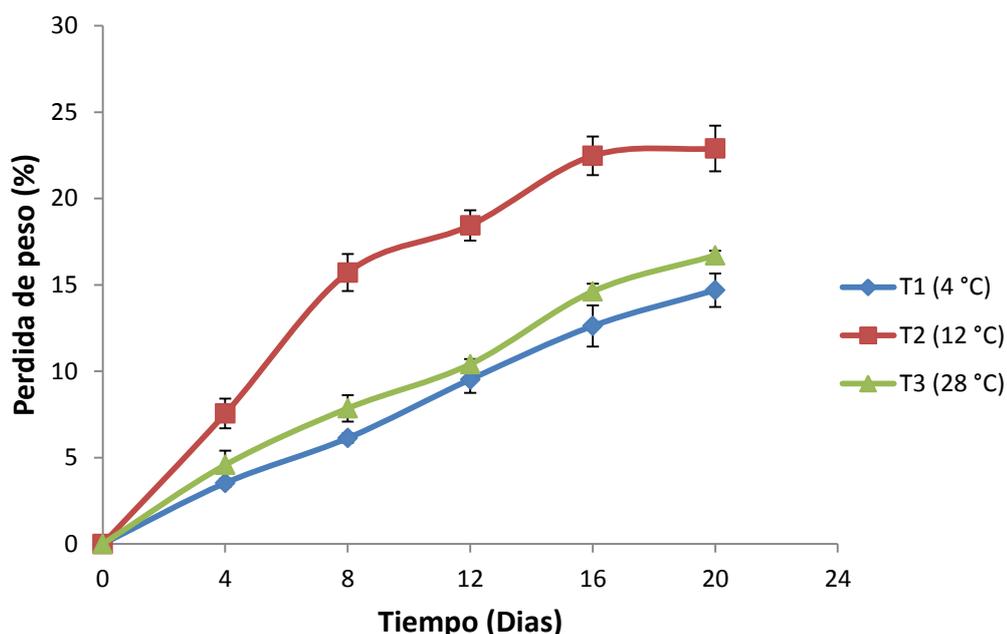


Figura 10. Comportamiento en la pérdida de peso durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.

A los 4 y 8 días existió diferencia estadísticas significativa entre los tratamientos (A-VIa, A-VIb), a la temperatura de 28 ± 1 °C con 75 ± 2 % HR la pérdida de peso vario entre 4,57 a 7,85 %, REINA *et al.* (1995) menciona que la pérdida de peso de la naranja almacenada a 28 °C con 60 % HR a los 4 y 8 días fue de 2,98 a 7,91 %. RODRÍGUEZ *et al.*, (2001) a 20 °C con 70 % HR por 6 días se perdió 6 % de pérdida de peso, estas pérdidas pueden deberse a que tras la recolección estas frutas continúan respirando y transpirando, y dependen exclusivamente de sus reservas alimenticias y de su propio contenido en agua. En esta etapa, las pérdidas de sustratos respirables no se compensan y se inicia el proceso de deterioro (GONZÁLEZ, 2014). Mientras que a la temperatura de 12 ± 1 °C con 45 ± 2 % HR hubo una alta elevación de la pérdida de peso con 7,55 y 15,72 %, esto puede ser explicado por EDA,

(2006) en condiciones de humedades relativas bajas el producto pierde agua de los tejidos y está asociada con la pérdida de la calidad y peso de los mismos, si el aire está seco (baja humedad relativa), la humedad será tomada de los productos almacenados provocando el marchitamiento.

A los 12 y 16 días existe diferencia estadística entre los diversos tratamientos (A-VIc, A-VId), existe una diferencia entre la pérdida de peso a los 4 ± 1 °C y 28 ± 1 °C con una similar humedad relativa de 75 ± 2 % que fue de 10,41 a 14,62 % y 9,52 a 12,62 % respectivamente, esto es explicado por (ROONGRUANGSRI et al., 2013) a mayor temperatura de almacenamiento se tradujo en una mayor pérdida de agua, aumento de los SST y una caída de la acidez. (SRIJAYA et al., 2011) menciona que la pérdida de peso es debido principalmente a la transpiración. La transpiración no sólo provocó la desecación y encogimiento, también acelera el reblandecimiento y la pérdida de la apariencia atractiva de la fruta, pero el estrés hídrico resultante también aceleró la senescencia.

A los 20 días de almacenamiento hubo diferencia estadísticas entre los sistemas, obteniéndose una mayor pérdida de peso a los 12 ± 1 °C a 45 ± 2 % HR con $22,89 \pm 1,32$ %, explicado por EDA (2006) la humedad relativa del aire en los cuartos de almacenamientos es el segundo factor importante en el almacenamiento de frutas y hortalizas, (SALVADOR et al., 2007) menciona que la transpiración es mayor a una baja humedad del ambiente y a altas temperaturas, las cuales no solo causa desecación, arrugamiento y ablandamiento sino que también acelera la senescencia. A la temperatura de 4 ± 1 °C con 75 ± 2 % HR tuvo la pérdida de peso más baja con 14,70 % la cual

podría deberse a la baja temperatura que fue almacenada como lo explica MARTÍNEZ-JÁVEGA (2002) en el almacenamiento a baja temperatura se reduce el gradiente de presión de vapor de agua entre el fruto y la atmósfera de almacenamiento, con lo que disminuye la velocidad de pérdida de agua por transpiración.

4.2. Cuantificación de la vitamina C de la naranja durante el almacenamiento.

4.2.1. Curva estándar del ácido ascórbico.

Para la cuantificación de Vitamina C en los zumos de naranja fue necesario establecer una curva de patrón y se realizó utilizando ácido ascórbico. Las concentraciones estuvieron comprendidas entre 0,005 a 0,04 mg/ml, los resultados de las absorbancias se presentan en el A-I con sus respectivas repeticiones BADUI (2013) menciona que el ácido L – ascórbico ($C_6H_8O_6$) interviene en reacciones de óxido-reducción y de hidroxilación de hormonas esteroidales y aminoácidos aromáticos, es estable a pH ácido, muy sensible a la temperatura y al oxígeno ya que se transforma en ácido dehidroascorbico

Según los resultados del A-I la ecuación encontrada es de primer orden, en un diagrama de dispersión indica que las puntuaciones de la variable dependiente Y (absorbancia) siguen una línea con respecto a la variable independiente X (concentración), según SAEZ (2012) menciona que un modelo matemático capaz de relacionar Y con X está basada en una relación de tipo lineal. En la ecuación encontrada tiene un $R^2 = 0,9998$ según GORGAS *et al.*

(2011) indica que un r^2 cercano a 1 se ajusta más a una línea recta y existe una dependencia más directa entre las variables.

4.2.2. Cuantificación de la vitamina C

La vitamina C contiene ácido L-ascórbico (AA), así como ácido dehidro-L-ascórbico (DHA), es uno de los antioxidantes más populares, que desempeñan un papel crucial en la prevención de daños en la peroxidación de los sistemas biológicos. En el Cuadro 13 y Figura 11 se presentan los resultados de la cuantificación de vitamina C en el zumo de naranjas almacenados a diferentes temperaturas por 20 días. Con respecto al día cero encontramos que las naranjas tuvieron 51,81 mg AA/ 100 ml de zumo, concordando con AL-JUHAIMI y GHAFLOOR (2013) el contenido de ácido ascórbico en el jugo de naranja fue de 53,24 mg/100mL, KHOMDRAM y DEVI (2010) las naranjas poseen alrededor de 50 mg AA/100 mL de zumo, BASSALA y EL-HAMAHMY (2011) la naranja Washinton navel tuvo 48,4 mg ácido ascórbico/100 ml de jugo, por su parte LADINAYA (2008) menciona que las naranjas contienen generalmente 40-70 mg de vitamina C / 100 ml de jugo. NJOKU *et al.* (2011), menciona que los factores que afectan el contenido de vitamina C en los cítricos son las condiciones climáticas, el estado de madurez de los frutos (especie y variedad), método de cosecha, manejo poscosecha, la manipulación y el almacenamiento. Según AL-JUHAIMI (2014), las frutas cítricas a menudo son apreciadas debido a los altos contenidos de vitamina C que tienen múltiples beneficios para la salud mediante la prevención y curación de ciertas enfermedades.

A los 4 días de almacenamiento no existió diferencia estadística entre los sistemas de almacenamiento (A-VIIa) pero si hubo una disminución del contenido de ácido ascórbico en todo los tratamientos, este comportamiento puede ser explicado por MAURICIO *et al.* (2005) la disminución del ácido ascórbico durante los 2 primeros días de almacenamiento, puede estar asociada a su alta tasa respiratoria en la que se generan EROS. En este panorama, enzimas como ascorbato peroxidasa y ascorbato reductasa, encargadas de detoxificar las células, pueden jugar un papel importante al usar el ácido ascórbico como sustrato y TARABIH y EL-METWALLY (2014), menciona que la vitamina C de la naranja disminuye debido a la conversión de ácido ascórbico (AA) a ácido dehidro-ascórbico (DHA) y la disminución activa del ácido ascórbico.

Cuadro 13. Determinación de vitamina C durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.

Dias	Sistemas de almacenamiento		
	4°C	12°C	28°C
0	51,80 ± 0,39	51,80 ± 0,39	51,80 ± 0,39
4	51,51 ± 0,39 ^a	50,91 ± 0,54 ^a	50,17 ± 0,39 ^a
8	52,55 ± 0,52 ^a	51,51 ± 0,39 ^{ab}	50,77 ± 0,26 ^b
12	53,00 ± 0,68 ^a	52,40 ± 0,64 ^a	51,06 ± 0,90 ^a
16	53,15 ± 0,59 ^a	53,29 ± 0,59 ^a	51,21 ± 0,52 ^a
20	53,34 ± 0,58 ^a	53,44 ± 0,45 ^a	51,21 ± 0,68 ^a

Los valores representan (Promedio ± SEM) datos provienen del experimento (n=3) valores de la misma fila con superíndice diferentes son significativos ($p \leq 0,05$), en el día cero sin análisis estadístico.

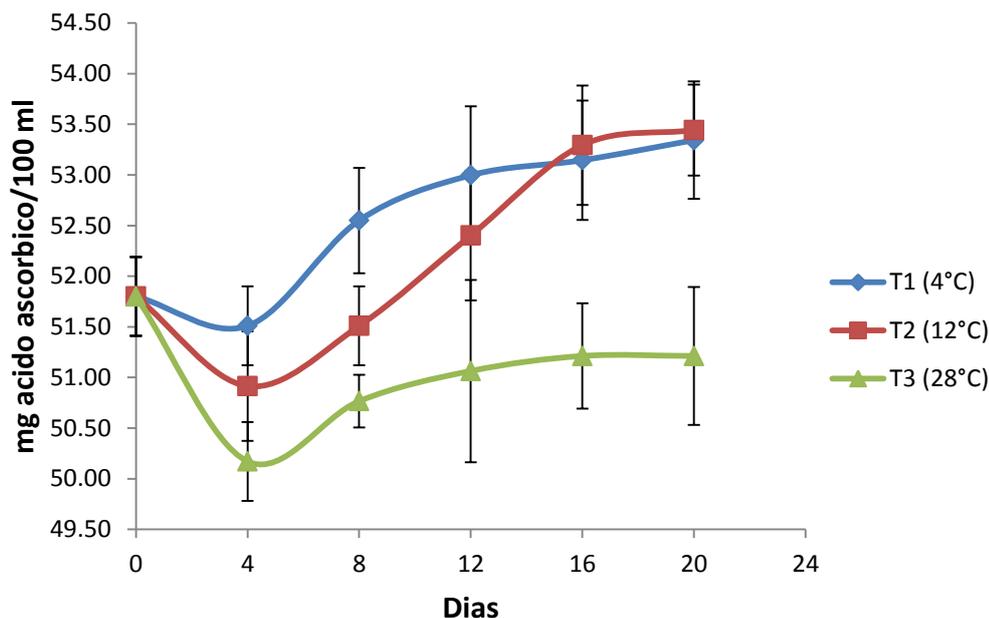


Figura 11. Comportamiento de la vitamina C durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.

A los 8 días se encontró que existe diferencia significativa entre los sistemas almacenamiento (A-VIIb), a 28°C se tuvo el menor contenido de vitamina C ($50,77 \pm 0,26$) y a 4°C fue el mayor ($52,55 \pm 0,52$), este comportamiento puede aducirse que se debe a lo reportado por LADINAYA (2008), menciona que el contenido de ácido ascórbico (vitamina C) disminuye durante el almacenamiento de las frutas cítricas bajo ambiente, esta pérdida es más rápida a temperaturas más altas.

A los 12 y 16 días de almacenamiento no hubo diferencia estadística significativa en los tres tratamientos (A-VIIc y A-VIIId), en los sistemas de almacenamiento de 4 y 12 °C el contenido de ácido ascórbico aumentó (53,00 a 53,15 y 52,40 a 53,29) tal puede deberse a lo explicado por HAMEDANI *et al.* (2012), la temperatura baja afecta positivamente a la

acumulación del contenido de vitamina C durante el almacenamiento de frutas, así mismo PEREIRA *et al.* (2013), menciona que la naranjas valencia Delta almacenadas a 7 ± 2 °C y $85 \pm 2\%$ HR por 16 días tuvo un aumento de 18,6 % de ácido ascórbico. A la temperatura de 12 °C (45 ± 2 % HR) se ve que hay un aumento de vitamina C como también de los sólidos solubles según LADINAYA (2008) existe una correlación entre el contenido de ácido ascórbico y el contenido de azúcares reductores (azúcares hexosa) sugieren que estos componentes están asociados en la síntesis de ácido ascórbico.

A los 20 días de almacenamiento no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos (A-VI) según el Cuadro 13 y la Figura 11 podemos indicar que el mayor contenido de vitamina C se encuentra a la temperatura de 12 °C (45 ± 2 % HR) con $53,44 \pm 0,52$ y el menor fue a 28 °C ($75 \pm 2\%$ HR) $51,21 \pm 0,68$ mg ácido ascórbico/ 100 ml de jugo; según NJOKU *et al.* (2011) cuanto menor sea la temperatura mayor será la concentración de vitamina C en el jugo de la fruta y una temperatura más alta no favorece vitamina C. A la temperatura de 12 °C se observa el mayor contenido de ácido ascórbico lo cual puede estar relacionado con la pérdida de agua de las naranjas tal como menciona LADINAYA (2008) cuando la fruta pierde agua la concentración de sus sólidos tienden a aumentar y al igual que el ácido ascórbico. Durante los 20 días de almacenamiento a 28 °C la concentración de vitamina C disminuye (Cuadro 13) según DA SILVA (2012), las frutas expuestas a una temperatura más alta pueden iniciar tempranamente su senescencia, en el que el ácido ascórbico se consume en reacciones oxidativas, por lo cual cuanto mayor es la temperatura de almacenamiento del

fruto, menor es el grado promedio de AA. A la temperatura de 4 °C tuvo $53,34 \pm 0,58$ mg Acido Ascorbico/100 ml concordando con BASSALA y EL-HAMAHMY (2011) que las naranjas navel Washinton y valencia almacenadas a 1 °C y 85-90% de humedad relativa a los 20 días fue 52,4 y 56,5 mg/100 ml de jugo respectivamente.

De las muestras analizadas podemos indicar que estos tienen alto contenido de vitamina C y pueden cumplir con el requerimiento diario tal como lo indica BADUI (2013) para el hombre adulto se recomienda una ingesta diaria de 50 mg, al igual que LADINAYA (2008), la ingesta diaria para un adulto se estima de 30-60 mg/día y una naranja al día puede cumplir con este requisito y asegurar una buena salud, así mismo GARCIA *et al.* (2003) menciona que la ingesta diaria del ácido ascórbico debe ser igual a la cantidad que se excreta o destruye por oxidación. Los seres humanos adultos pierden 3 a 4 % de sus reservas corporales al día, para conservar una reserva corporal de 1500 mg de ácido ascórbico o más en un varón adulto, se requería de la absorción de unos 60 mg/día.

4.3. Cuantificación de polifenoles totales de la naranja durante el almacenamiento.

Para la cuantificación de polifenoles totales en los zumos de naranja fue necesario establecer una curva de patrón y se realizó utilizando ácido galico. Las concentraciones estuvieron comprendidas entre 1,0 a 0,05 mg/mL, los resultados de las absorbancias se presentan en el A-II con sus respectivas repeticiones. AQUINO *et al.* (1989) indica que el método de folin

ciocalteu permite medir fenoles totales y para la cuantificación debe crearse la curva de calibración y puede realizarse con ácido gálico (EGA), porque este es un compuesto estable y se pierde solo 5% de su valor real después de dos semanas de refrigeración y tapado. Realizando la regresión entre la absorbancia y la concentración de ácido gálico se encontró un $R^2 = 0,9996$, la ecuación encontrada es de primer orden teniendo como variables “y” (absorbancia) y “x” (concentración mg/mL), esta alta correlación encontrada permite afirmar que la curva tuvo buen ajuste al modelo matemático, al respecto HERNÁNDEZ *et al.* (2006) menciona que el valor de $R^2 = 0,9918$ indica que existe una relación positiva muy fuerte casi perfecta.

Los compuestos fenólicos o polifenoles, constituyen un grupo bastante amplio de sustancias químicas, que se caracterizan por poseer una actividad antioxidante. En el Cuadro 14 y Figura 12 se presenta los resultados de la cuantificación de polifenoles totales durante 20 días. Con respecto al día cero tenemos 55,80 mg EAG / 100 ml de zumo, este dato se encuentra cercano a lo reportado por HAMEDANI *et al.* (2012) en naranja 52,16 mg EAG/100ml, PEREIRA *et al.* (2013) en el jugo de naranja 50,4 mg EAG / 100 ml, FATTAHI *et al.*, (2011) en naranjas de variedad Siavaraz 53 mg EAG/100ml y SOSA *et al.* (2012) varía de 37,3 a 47,3 mg EAG/100 ml, la variación en el contenido de polifenoles puede deberse a lo indicado por HASHEMPOUR *et al.* (2013) el contenido fenólico y la composición de los frutos dependen de los factores ambientales, así como las condiciones de procesamiento postcosecha. Así mismo CONTRERAS-OLIVA *et al.* (2012) y GHASEMI *et al.* (2009) menciona que los cítricos contienen compuestos fenólicos como flavonona, flavonoides

(hesperidina, narirutin y naringina) y ácidos hidroxicinámicos (representados por los ácidos ferúlico, caféico, sinapico y *p*-cumárico), estos son los fenoles más importantes en la fracción soluble en agua.

Cuadro 14. Determinación de polifenoles totales durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.

Días	Sistemas de almacenamiento		
	4°C	12°C	28°C
0	55,80 ± 0,56 ^a	55,80 ± 0,56 ^a	55,80 ± 0,56 ^a
4	57,10 ± 0,55 ^b	60,00 ± 0,50 ^a	59,40 ± 0,40 ^a
8	59,37 ± 0,58 ^b	61,03 ± 0,28 ^{ab}	61,36 ± 0,32 ^a
12	60,90 ± 0,58 ^a	61,87 ± 0,52 ^a	62,90 ± 0,62 ^a
16	62,50 ± 0,68 ^b	66,00 ± 0,32 ^a	64,17 ± 0,50 ^{ab}
20	69,07 ± 0,12 ^c	79,20 ± 0,12 ^a	70,30 ± 0,21 ^b

Los valores representan (Promedio ± SEM) datos provienen del experimento (n=3) valores de la misma fila con superíndice diferentes son significativos ($p \leq 0,05$), en el día cero sin análisis estadístico.

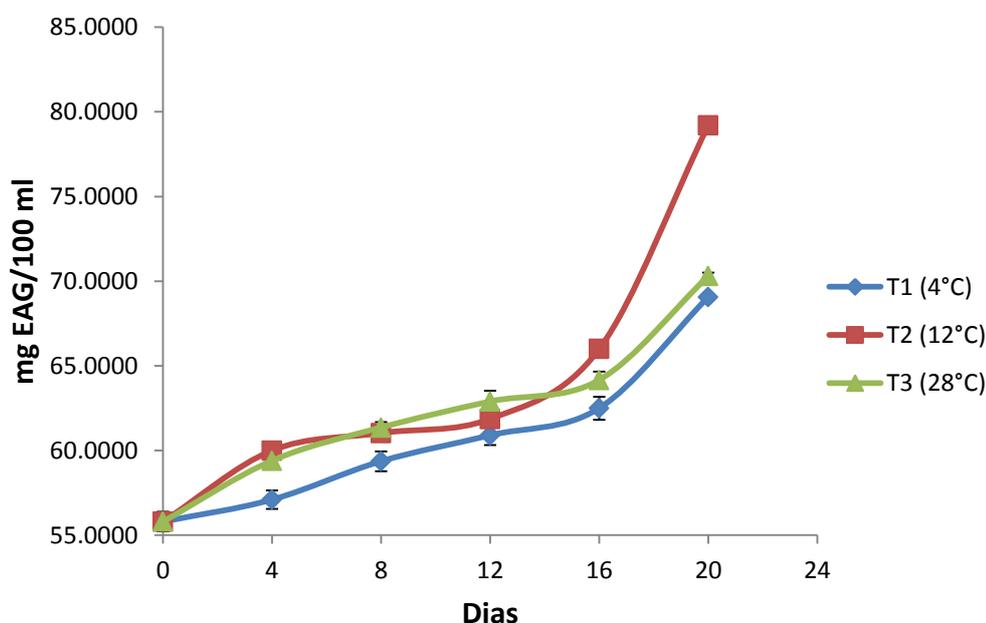


Figura 12. Comportamiento de los polifenoles totales durante el almacenamiento de la naranja a diferentes temperaturas.

De 4, 8 y 16 días de almacenamiento hubo diferencia significativa en los tres sistemas (AIIIa, A-IIIb, AVIII d) pero a 12 días los tres sistemas de almacenamiento fueron iguales (A-VIIIc), por otro lado cabe resaltar según los resultados que en cada sistema de almacenamiento el contenido de polifenoles totales aumentó, este comportamiento puede ser explicado por VAN DE VELDE *et al.* (2013) los compuestos fenólicos están involucrados en muchas interacciones de las plantas en respuesta a factores de estrés biótico y abiótico, por su parte LADINAYA (2008) menciona que los compuestos fenólicos desempeñan un papel importante en las defensas de las plantas, frutas y flores.

A los 20 días de almacenamiento hubo diferencia significativa en cuanto a los sistemas de almacenamiento (A-VIIIe) en el sistema a 4 °C, se ve un aumento 20 % con respecto al valor inicial, este incremento encontrado es superior a lo citado por PEREIRA *et al.* (2013) la naranja valencia delta almacenadas a 7 ± 2 ° C y $85 \pm 2\%$ HR por 20 días aumentó un 10 % en el contenido de polifenoles totales. Así mismo, MOHAMMADIAN *et al.* (2011) indica que el incremento de los compuestos fenólicos en los tejidos durante el tratamiento a baja temperatura puede ser debido a la adaptación del enfriamiento como mecanismos de defensa para el barrido ROS y también para mediar en estas tensiones de estrés. ROYO (2010) menciona que se han descrito genes marcadores de daño en frutos cítricos como son el gen β -1,3-glucanasa y el gen fenilalanina-amonio liasa (PAL), el frío induce el mRNA de la PAL. TOMÁS-BARBERÁN (2003) la conservación a bajas temperaturas,

suelen inducir a las enzimas responsables de la biosíntesis de algunas sustancias fitoquímicos,

En el sistema de 12 °C a los 20 días se ve un aumento en el contenido de polifenoles totales en 40% con respecto al valor inicial, según los resultados el mayor aumento de polifenoles sucedió en este sistema de almacenamiento, en el desarrollo del experimento se pudo apreciar que en este sistema hubo la mayor pérdida de peso en las naranjas comparando a los otros sistemas, esto posiblemente sea la razón del mayor aumento en el contenido de polifenoles totales. Según CACERES *et al.* (2000) las pérdidas de peso (agua) en los frutos se incrementan como consecuencia de la transpiración después de la cosecha, así mismo DELLA (2010) cuando se elimina el agua del alimento se produce una concentración de solutos del alimento, BADUI (2013) menciona que la reducción del contenido de agua provoca la concentración de otras sustancias como los ácidos, azúcares, proteínas, etc., las cuales contribuyen a la estabilidad microbiana del alimento. TOMÁS-BARBERÁN (2003) el grado de madurez influye de forma relevante sobre la composición de fitoquímicos (naturaleza fenólica), PUTTONGSIRI y HARUENKIT (2010) menciona que los polifenoles totales y compuestos bioactivos aumentan durante el almacenamiento a bajas temperaturas,

En el sistema de 28 °C a los 20 días tuvo un aumento de 25% con respecto al inicial, PEREIRA *et al.* (2014) indica en naranja valencia delta almacenada a 24 °C \pm 2 y 40% \pm 5 H.R a 20 días tuvo un aumento de 10,7 % del contenido polifenólico; cabe resaltar que en este sistema de almacenamiento se tuvo pérdida de frutos por efecto de la senescencia y

podrición, este comportamiento puede ser explicado por PUTTONGSIRI y HARUENKIT (2010) que durante la poscosecha muchos cambios fisiológicos pueden tener lugar en la fruta que conducen a la senescencia y la descomposición de la estructura celular, por lo tanto se produce una liberación de ácidos fenólicos libres y aminoácidos libres lo que contribuye a un incremento en los polifenoles totales. SULLON (2009) indica que una vez iniciada la maduración de los frutos existe la presencia de etileno el cual es conocido como una hormona de maduración y provoca cambios en la composición de los frutos, en los frutos maduros la presencia de etileno favorece el aumento en la concentración polifenólica. Así mismo, DEL CARO *et al.* (2004) a mayor estrés (heridas, temperatura y la exposición a etileno) estimulan la actividad PAL con mayor producción consecuente de los principales compuestos fenólicos y la síntesis de nuevas sustancias polifenólicas.

4.4. Determinación de la capacidad antioxidante de la naranja durante el almacenamiento

4.4.1. Coeficiente de inhibición (IC_{50}) del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH)

El DPPH es usualmente usado como un reactivo para evaluar la captura de radicales libres y determinar así la capacidad antioxidante *in vitro*, en el Cuadro 15 y Figura 13 se presenta los resultados de la determinación del coeficiente de inhibición (IC_{50}) durante 20 días en los tres sistemas de almacenamiento de naranjas. Con respecto al día cero se tuvo un valor de IC_{50}

294,672 $\mu\text{g/mL}$ este dato concuerda con KELEBEK *et al.* (2008) en naranjas Moro y Sanguinela fue IC_{50} 180 $\mu\text{g/ml}$ y 290 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente y KELEBEK *et al.* (2009) la naranja dulce tiene IC_{50} 310 $\mu\text{g/mL}$. Otros cítricos estudiados tienen valores similares como lo indica DOMINGUEZ (2014) para el zumo de Lima dulce IC_{50} 354,36 $\mu\text{g/mL}$, Limón Tahiti IC_{50} 457,46 $\mu\text{g/mL}$, Limón rugoso IC_{50} 419,36 $\mu\text{g/mL}$ y Mandarina cleopatra IC_{50} 482,19 $\mu\text{g/mL}$; ORDOÑEZ Y REATEGUI (2009) reportan en Lima dulce IC_{50} 279,43 $\mu\text{g/mL}$.

Cuadro 15. Determinación del coeficiente de inhibición del radical DPPH (IC_{50} $\mu\text{g/mL}$) durante el almacenamiento de naranja.

Días	Sistemas de almacenamiento		
	4°C	12°C	28°C
0	294,672 \pm 0,717	294,672 \pm 0,717	294,672 \pm 0,717
4	271,712 \pm 0,590 ^c	290,491 \pm 0,747 ^a	285,203 \pm 0,880 ^b
8	256,137 \pm 0,266 ^b	263,366 \pm 0,505 ^a	263,886 \pm 0,451 ^a
12	242,781 \pm 0,820 ^{ab}	240,929 \pm 0,118 ^b	244,060 \pm 0,748 ^a
16	236,254 \pm 0,416 ^a	237,276 \pm 0,767 ^a	233,796 \pm 0,430 ^b
20	232,385 \pm 0,800 ^b	236,442 \pm 0,984 ^a	231,441 \pm 0,369 ^b

Los valores representan (Promedio \pm SEM) datos provienen del experimento (n=3) valores de la misma fila con superíndice diferentes son significativos ($p \leq 0,05$), en el día cero sin análisis estadístico.

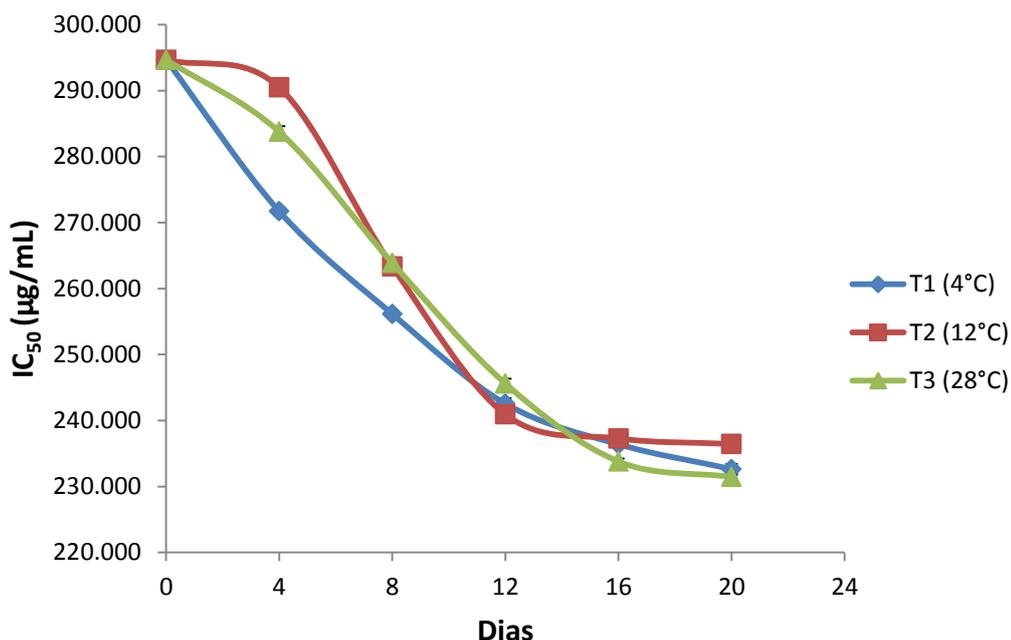


Figura 13. Comportamiento del coeficiente de inhibición frente al radical DPPH durante el almacenamiento de naranja.

Según los resultados del Cuadro 15 y Figura 13 Sobre el almacenamiento durante los 20 días entre los tres sistemas se encontró diferencia estadística (A-IXe). Con respecto al sistema de 4 °C se encontró diferencia estadística significativa frente a los otros sistemas, también podemos apreciar que a medida que pasa el tiempo incrementa la capacidad de inhibición del radical DPPH⁺ y comparando con el día cero hasta los 20 días tuvo un incremento de 21,13 %, coincidiendo con RAPISARDA *et al.* (2008) en el almacenamiento a 6°C hubo un incremento en el coeficiente inhibición a los 20 días en naranjas: Valencia, Ovale, T. Mesina y T. Meli fue de 21,54 %, 15,71 %, 19,84 % y 24,72%, al respecto HAMEDANI *et al.* (2012) reporta que la actividad antioxidante aumenta en los zumos de naranja durante el almacenamiento a baja temperatura, PUTTONGSIRI y HARUENKIT (2010)

menciona que la actividad antioxidante de la mandarina medida por DPPH aumentó significativamente durante el almacenamiento independientemente de la temperatura, MOHAMMADIAN *et al.* (2011) menciona que el incremento de compuestos fenólicos en los tejidos durante los tratamientos en frío puede ser debido parcialmente a la adaptación al enfriamiento como mecanismos de defensa para el barrido ROS y IRKIN *et al.* (2015) menciona que la hesperidina tiene una actividad antioxidante más alta que neohesperidina.

Con respecto al sistema de 12 °C podemos indicar que la mayor eficiencia frente al radical DPPH se encontró a los 20 días con IC_{50} 236,442 μ g/mL teniendo un incremento de su eficiencia de 19,76 % con respecto al valor inicial, Según PUTTONGSIRI y HARUENKIT (2010) menciona que el ácido ascórbico y los compuestos fenólicos en los cítricos juegan un papel importante en la actividad antioxidante. En este sistema se obtuvo un mayor contenido de polifenoles pero menor capacidad antioxidante que los otros sistemas este comportamiento es explicado por ZAVALETA *et al.* (2005) que la mayor o menor actividad, no siempre va aparejada con la concentración de polifenoles, cuando se evalúa la capacidad de secuestro de radicales libres no siempre es importante el contenido de polifenoles sino más bien la posición del grupo hidroxilo.

En el sistema a 28 °C tuvo un comportamiento similar a los otros obteniendo la mayor eficiencia a los 20 días con un valor de IC_{50} 231,441 μ g/mL teniendo un incremento de la capacidad de inhibición del radical DPPH⁺ de 21,45 %, la cual puede haberse debido a la senescencia de la fruta, DUZZIONI *et al.* (2010) explica que la cantidad y el perfil de estos fitoquímicos cambian de

acuerdo al tipo, variedad y grado de madurez de la fruta, así como las condiciones climáticas y edáficas de cultivo, ZAPATA *et al.* (2005) menciona que la contribución de los compuestos fenólicos a la actividad antioxidante es mucho mayor que la de la vitamina C o los carotenoides, no obstante para los frutos cítricos se ha encontrado que el ácido ascórbico también tiene un papel fundamental en sus propiedades antioxidantes.

4.4.2. Coeficiente de inhibición (IC_{50}) radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolino-6-ácido sulfónico) ABTS⁺

Los antioxidantes actúan en modo sinérgico y por lo tanto es necesario más de un método para evaluar la capacidad antioxidante de una muestra, bajo este contexto en el Cuadro 16 y Figura 14 se presenta los resultados de la determinación del coeficiente de inhibición (IC_{50}) frente al radical ABTS durante 20 días. Con respecto al día cero se tuvo un valor de IC_{50} 242,401 $\mu\text{g/mL}$ comparando con otros frutos cítricos tenemos DOMINGUEZ (2014) para el zumo de Lima dulce IC_{50} 371,19 $\mu\text{g/mL}$, Limon Tahiti IC_{50} 468,50 $\mu\text{g/mL}$, Limon rugoso IC_{50} 432,48 $\mu\text{g/mL}$ y Mandarina cleopatra IC_{50} 512,97 $\mu\text{g/mL}$.

Cuadro 16. Determinación del coeficiente de inhibición del radical ABTS⁰⁺ (IC₅₀ µg/mL) durante el almacenamiento de naranja.

Dias	Sistemas de almacenamiento		
	4°C	12°C	28°C
0	242,401 ± 0,452	242,401 ± 0,452	242,401 ± 0,452
4	238,908 ± 0,614 ^b	242,488 ± 0,364 ^a	231,2321 ± 0,701 ^c
8	208,336 ± 0,484 ^c	219,501 ± 0,462 ^a	213,448 ± 0,343 ^b
12	203,673 ± 0,264 ^c	219,943 ± 0,994 ^a	210,545 ± 0,806 ^b
16	189,240 ± 0,444 ^b	208,308 ± 0,732 ^a	155,717 ± 0,581 ^c
20	161,502 ± 0,493 ^b	170,345 ± 0,364 ^a	146,787 ± 0,725 ^c

Los valores representan (Promedio ± SEM) datos provienen del experimento (n=3) valores de la misma fila con superíndice diferentes son significativos (p≤0,05), en el día cero sin análisis estadístico.

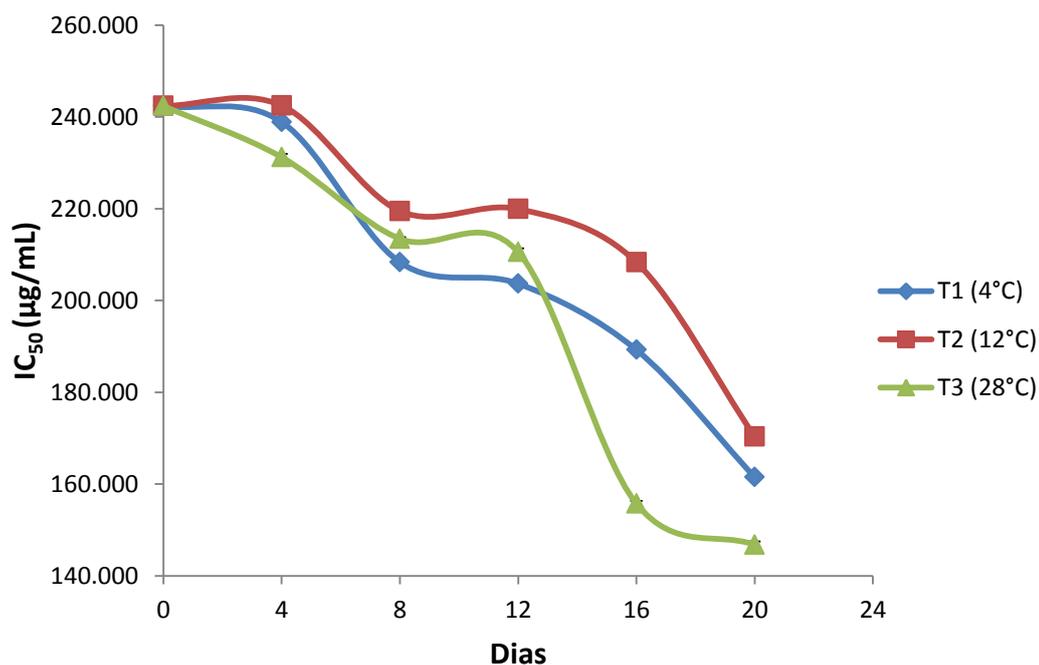


Figura 14. Comportamiento del coeficiente de inhibición frente al radical ABTS durante el almacenamiento de naranja.

Analizando los resultados estadísticamente en los tres sistemas de almacenamiento a medida que transcurre el tiempo se puede apreciar que existe

diferencia significativa (A-Xe). En el sistema de 4 °C a medida que pasa el tiempo se incrementa la capacidad de inhibición del radical ABTS⁺ y comparando con el día cero hasta los 20 días tuvo un incremento de 33,37 %, esto puede estar relacionado con el aumento de sus compuestos bioactivos. PEREIRA *et al.* (2013) reportó el aumento de polifenoles y vitamina C en naranjas almacenadas a temperaturas bajas, MOHAMMADIAN *et al.* (2011) encontró que la aclimatación al frío induce acumulación de fenoles totales y el aumento de la capacidad antioxidante en la naranja. DEL CARO *et al.* (2004) menciona que además del ácido ascórbico, los cítricos contienen glucósidos de flavanona, como la hesperidina, narirutina y naringina que son los fenoles soluble en agua; por otra JARA (2007) explica que el ABTS resulta más adecuado para extracciones con agua y ciertos disolventes orgánicos bastante polares, como el metanol o el etanol, es decir, antioxidantes de naturaleza básicamente hidrofílica.

Según los resultados para el sistema de 12 °C se pudo apreciar la mayor eficiencia frente al radical ABTS⁺ lo presentó a los 20 días con IC₅₀ 170,345 µg/mL teniendo un incremento de 29,72 % con respecto al contenido inicial, al respecto PUTTONGSIRI y HARUENKIT (2010) para el caso de la mandarina la actividad antioxidante medida por el radical ABTS aumento significativamente durante el almacenamiento. HAMEDANI *et al.* (2012) menciona que la eficacia antioxidante de zumo de naranja puede atribuirse en gran parte al contenido fenólico total. En este sistema tenemos el menor incremento de la capacidad de inhibición del radical ABTS lo cual puede deberse a lo mencionado por QUIÑONES *et al.* (2012) explica que la estructura

química de los polifenoles, más que su concentración, determina el rango de absorción y actividad biológica.

Para el sistema de 28 °C a los 20 días frente al radical ABTS⁺ tuvo un IC₅₀ 146,787 µg/mL con un incremento de 39,44 % con respecto al inicio, este incremento es mayor a lo presentado frente al radical DPPH, PUTTONGSIRI y HARUENKIT (2010) reporta que en la mandarina existe mayor inhibición frente al radical ABTS que al DPPH lo que indica que los antioxidantes son tanto hidrofílico y lipofílico. Por otro lado AL-JUHAIMI (2014) menciona que existen diversos factores que pueden influir la madurez de la planta o la fruta y de los métodos de análisis utilizados en el estudio para la cuantificación del poder antioxidante. El incremento de la capacidad de inhibición del radical ABTS puede deberse a lo reportado por KELEBEK (2008) y MAZHAR-ASJAD *et al.* (2013) que los compuestos fenólicos en zumos de naranja se correlacionan fuertemente con la capacidad antioxidante. OKWU (2008) reporta que los compuestos fenólicos en particular flavonoides cítricos poseen una actividad antioxidante importante hacia radicales. Según ZAVALETA *et al.* (2005) el contenido de flavonoides puede ser bajo, sin embargo estos presentan dentro de su estructura el grupo hidroxilo que determina su propiedad antioxidante, los flavonoides con sustituyentes dihidroxílicos en posiciones 3 y 4 del anillo B muestran ser más activos como antioxidantes.

V. CONCLUSIONES

- Según la caracterización fisicoquímica el mejor sistema de almacenamiento por 20 días fue 4 °C (sólidos solubles (10,04 °Bx), acidez (0,90 % ácido cítrico), pH (3,90) y la pérdida de peso (14,70 %))
- En los tres sistemas de almacenamiento de naranjas por 20 días el contenido de ácido ascórbico se conserva mejor a 4°C (53,34 mg ácido ascórbico/100 ml de jugo) mejor que 12°C (53,44 mg ácido ascórbico/100 ml de jugo) mejor que 28°C (51,21 mg ácido ascórbico/100 ml de jugo).
- En los tres sistemas de almacenamiento de naranjas por 20 días el mejor comportamiento de polifenoles totales fue 4 °C (69,07 mg EAG/100 ml) mayor que 28 °C (70,30 mg EAG/100 ml) mayor que 12 °C (79,20 mg AG/100 ml).
- En los tres sistemas de almacenamiento de naranjas por 20 días la mayor estabilidad frente al radical DPPH y ABTS fue 4°C mayor que 28°C mayor que 12°C.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar la conservación de la naranja a temperatura de 4 °C con 75 % de HR para mantener sus propiedades fisicoquímicas y compuestos bioactivos (vitamina C y polifenoles).
- Estudiar el comportamiento fisicoquímico y de sus compuestos bioactivos durante el desarrollo del fruto del naranjo.
- Estudiar la estabilidad de sus compuestos bioactivos del zumo de naranja durante el almacenamiento en congelación y refrigeración.
- Evaluar la relación y el comportamiento de sus compuestos bioactivos en el flavedo (cáscara) y el endocarpio (zumo) de la naranja durante el almacenamiento.
- Estudiar la calidad física y química y capacidad antioxidante de la naranja en durante todo el periodo de producción de frutos.

ABSTRACT

This research was developed in the Investigation Center for Natural Products (CIPNA) and in the Research and Development Center for Amazon Biotechnology CIDBAM – UNAS. The objectives were to evaluate the changes in the content of vitamin C, total polyphenols, and antioxidant capacity (DPPH and ABTS) in orange juice during storage. The oranges were stored for twenty days under different conditions: 4 ± 1 °C, $75\pm 2\%$ RH; 12 ± 1 °C, $45\pm 2\%$ RH and 28 ± 1 °C, $75\pm 2\%$ RH. For the analysis, juice was extracted, filtered and centrifuged. The results were analyzed using a completely randomized design (CRD) and the Tukey test ($p \leq 0.05$); using the SAS version 9.2 program. The results were: at 4°C, the juice reached a pH of 3.90, 0.90% acidity, 10.04 Brix and 14.70% weight loss; at 12°C, a pH of 3.93, 0.85% acidity, 10.52 Brix and 22.89% weight loss; and at 28°C, a pH of 3.95, 0.80% acidity, 10.92 Brix and 16.71% weight loss. The vitamin C content at 4, 12 and 28°C was 53.34, 53.44 and 51.21 mg vit.C/100 ml of juice, respectively. The total polyphenol content at 4, 12 and 28°C was 69.07, 79.20, 70.30 mg EAG/100 ml of juice, respectively; with a increase of 24, 42 and 25% of the total polyphenols in the orange during the 20 days of storage. The inhibition coefficient (IC_{50}) against the radical DPPH⁺ at 4, 12 and 28°C was 232.38, 236.44 and 231.44 µg/ml, respectively and against the radical ABTS⁺ at 4, 12 and 28°C was 161.50, 170.34 and 146.78 µg/ml, respectively; showing an increase in antioxidant activity in the oranges against the DPPH⁺ and ABTS⁺ radicals during the 20 days.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUSTÍ, M.; MARTÍNEZ-FUENTES, A.; MESEJO, C.; JUAN, M.; ALMELA, V. 2003. Cuajado y desarrollo de los frutos cítricos. Instituto Agroforestal Mediterráneo. Valencia (España). Serie Divulgación Técnica nº55. 80 p.
- AL-JUHAIMI, F. 2014. Citrus fruits by-products as sources of bioactive compounds with antioxidant potential. *Pak. J. Bot., Kingdom. Saudi Arabia.* 46(4): 1459-1462.
- AL-JUHAIMI, F. y GHAFLOOR, K. 2013. Bioactive compounds, antioxidant and physico-chemical properties of juice from lemon, mandarin and orange fruits cultivated in Saudi Arabia. *Pak. J. Bot. Kingdom. Saudi Arabia.* 45(4): 1193-1196.
- ALSINA, D.; NESCIER, I.; SANTINI1, Z.; GARIGLIO, N.; CIVES, H. 2012. Propiedades fisicoquímicas de naranjas cultivadas en la zona centro-este de la provincia de Santa Fe. *Horticultura Argentina. Santa Fe. Argentina.* 31(74): 1851-9342
- AOAC. 1964. Official Methods of analysis of AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 1141 p.
- AOAC. 1995. Official Methods of analysis of AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 1192 p.

- AOAC. 1997. Official Methods of analysis of AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 2658 p.
- AQUINO, R.; DE SIMONE, F.; PIZZA, C.; CONTI, C.; STEIN, M. 1989. Plants metabolites, structure and in vitro antiviral activity of quinovic acid glycosides from *Uncaria tomentosa* and *Guettarda platypoda*. Journal of Natural Products, United States. 52(4): 679–685.
- ARÉVALO, M. 2013. Determinaciones cuantitativas en naranja mediante tecnologías NIRS. Máster en tecnología y calidad en las industrias agroalimentarias. Navarra. España. Universidad Pública de Navarra. 61 p.
- ARIAS, J. C. y TOLEDO, J. 2007. Manual de manejo postcosecha de frutas tropicales. FAO. Roma. Italia. 136 p.
- ARIZA, R.; ALIA, A.; NICOLÁS, M.; AMBRIZ, R.; LUGO, A.; BARRIOS, A.; BARBOSA, F. 2010. Calidad de los frutos de naranja 'valencia' en Morelos. Rev. Iber. Tecnología Postcosecha. México. 11(2):148-153.
- AVELLO, M. y SUWALSKY, M. 2006 Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Atenea. Concepción Chile. 494(1): 161-172.
- BADUI, S. 2013. Química de los alimentos. 5ta ed. Ciudad de México, México, Pearson S. A. 744 p.
- BASSALA, M. y EL-HAMAHMY, M. 2011. Hot water dip and preconditioning treatments to reduce chilling injury and maintain postharvest quality of Navel and Valencia oranges during cold quarantine. Postharvest Biology and Technology. Smailia. Egipto. 60(1): 186–191.

- BRAND, W.; CUVELIER, M.; BERSET, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie*, Canada. 28: 25–30.
- CÁCERES, I.; MULKAY, T.; RODRÍGUEZ, J.; PAUMIER, A. 2000. Conservación de productos hortofrutícolas. Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical. La habana. Cuba. 19 p.
- CLARCKSON, P. y THOMPSON, H. 2000. Antioxidants: What role do they play in physical activity and heald. *J. Am. Soc.Clin.Nutr. U.S.A.* 72 (1): 637 – 646.
- CONTRERAS-OLIVA, A.; PÉREZ-GAGO, M.B.; SALVADOR, A.; BERMEJO, A.; ROJAS-ARGUDO, C. 2012. Calidad fisicoquímica, sensorial y nutricional de naranjas cv. valencia recubiertas con quitosano. *Agrociencia*. Valencia, España. 46(5): 441-453.
- DA SILVA, J. 2012. Ecobrimentos, temperatura e tempo de armazenamento na conservação pós-colheita de laranjas 'champagne' (*Citrus sinensis* L. Osbeck). Tesis Doctorado en Agronomía. Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados. Brasil. 143 p.
- DEL CARO, A.; PIGA, A.; VACCA, V.; AGABBIO, M. 2004. Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. *Food Chemistry*. Sassari. Italia. 84(1): 99–105.
- DELLA, P. 2010. Secado de alimentos por métodos combinados: Deshidratación osmótica y secado por microondas y aire caliente. Tesis

- master en Tecnología de los Alimentos. Buenos Aires. Argentina. Universidad Tecnológica Nacional. 213 p.
- DOMINGUEZ, E. 2014. Evaluación de la actividad antioxidante, vitamina c de zumos cítricos de lima dulce (*Citrus limetta*), limón tahití (*Citrus latifolia*), limón rugoso (*Citrus jambhiri* Lush) y mandarina cleopatra (*Citrus reshni*) almacenados en refrigeración. Tesis Ing. Industrias Alimentarias. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 100 p.
- DUZZIONI, A.; FRANCO, A.; DUZZIONI, M.; SYLOS, C. M. 2010. Determinação da atividade antioxidante e de constituintes bioativos em frutas cítricas. Alim. Nutr. Araraquara. Brasil. 21(4): 643-649.
- EDA (Entrenamiento y Desarrollo de Agricultores). 2006. Compatibilidad de productos frescos en almacenamiento. Boletín Técnico de Poscosecha, Honduras. 4 p.
- ELEJALDE, J. 2001. Oxidación entre la vida y la enfermedad. An..Med. Interna. Madrid, España. 18 (1): 1 – 4.
- FATTAHI, J.; HAMIDOGHLI, Y.; FOTOUHI, R.; GHASEMNEJAD, M.; BAKHSHI, D. 2011. Assessment of fruit quality and antioxidant activity of three citrus species during ripening. South west J Hortic Biol Environ. Ramsar. Iran. 2(2): 113-128.
- FIGUEROA, R., TAMAYO, J., GONZÁLEZ, S., MORENO, G., VARGAS, L. 2011 Actividad antioxidante de antocianinas presentes en cáscara de pitahaya (*Hylocereus undatus*). Rev. Iber. Tecnología Postcosecha. Hermosillo, México 12(1): 44 - 50.

- GARCIA, L.; DEL RIO, C.; SOUZA, R.; SUAREZ, J. 2003. El limón y sus componentes bioactivos. Consejería de agricultura, agua y medio ambiente. Murcia, España. 128 p.
- GHASEMI, K.; GHASEMI, Y.; EBRAHIMZADEH, M. A. 2009. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. Pak. J. Pharm. Sci. Sari. Iran. 22(3): 277 – 281.
- GÓMEZ, M. y SCHWENTESIUS, R. 1997. La agroindustria de la naranja en México. 1 ed. Texococ, México. CUESTAAM. 185 p.
- GONZALES, M., BETANCOURT, M., ORTIZ, R. 2000. Daño oxidativo y antioxidante. Bioquímica. 25 (1): 3-9.
- GONZÁLEZ, A. 2014. Identificación de materiales de naranja para la agroindustria de jugos y concentrados de exportación, adaptados a las condiciones agroecológicas de la zona cafetera central. Tesis ing. Agrónomo. Dosquebradas. Colombia. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. 123 p.
- GONZÁLEZ-CABRERA, M. 2010. Conservación de mora, uvilla y frutilla mediante la utilización del aceite esencial de canela (*cinnamomum zeynalicum*). Tesis para optar el título de Bioquímico Farmacéutico. Riobamba. Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 117 p.
- GORGAS, J.; CARDIEL, N.; ZAMORANO, J. 2011. Estadística básica para estudiantes de ciencias. Madrid, España. Universidad Complutense de Madrid. 258 p.
- GORMAZ, A. 2005. Extracto hidroalcohólico de *Bluddleja globosa* y extracto seco de *Rosamarinus officinalis* como preservante de filetes de

- Oncorhynchus mykiss*. Tesis Bioquímico. Santiago, Chile. Universidad de Chile. 40 p.
- GÜEMEZ, F., ZAPATA, J., GONZÁLEZ, E., KÚ CHÉ, M., LECHUGA, P., SALINAS, A. 2010. Potencialidades del mercado nacional e internacional de la hesperidina de origen natural obtenida de la naranja como sustituto de antioxidantes químicos en la industria alimentaria. SINNCO. México. 22 p.
- HAMEDANI, M.; RABIEI, V.; MORADI, H.; GHANBARI, A.; AZIMI, M. 2012. Determination of storage duration and temperature effects on fruit quality parameters of blood orange (*Citrus sinensis* cv. Tarocco). Biharean Biologist. Oradea. Romania. 6 (1): 10-13.
- HASHEMPOUR, A.; SHARIFZADEH, K.; BAKHSHI, D.; FOTUHIGHAZVINI, R.; GHASEMNEZHAD, M.; MIGHANI, H. 2013. Variation in total phenolic, ascorbic acid and antioxidant activity of citrus fruit of six species cultivated in north of iran. Intl. J. Agric: Res & Rev. Rasht. Iran. 3 (1): 1-5.
- HERNÁNDEZ, J. 2014. Crecimiento y producción de naranja cv. Valencia *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, como respuesta a la aplicación de correctivos y fertilizante. Tesis magister en Ciencias Agrarias. Medellín, Colombia. Universidad Nacional de Colombia. 79 p.
- HERNÁNDEZ, R.; FERNÁNDEZ, C.; BAPTISTA, P. 2006. Metodología de la investigación. 4 Ed. D.F., México, McGraw-Hill Interamericana. 839 p.
- HICKS, J., TORRES, P., SIERRA, M. 2006. Estrés oxidante. Concepto y clasificación. Revista de Endocrinología y Nutrición. 14(4): 223 – 226.

- HUNG, CH-Y y YEN, G-CH. 2002. Antioxidant activity of phenolic compounds isolated from *Mesona procumbens* Hemsl. J. Agric. Food chem. 50(10): 2993–2997.
- IRKIN, R.; DOGAN, S.; DEGIRMENCIOGLU, N.; DIKEN, M. E.; GULDAS, M. 2015. Phenolic content, antioxidant activities and stimulatory roles of citrus fruits on some lactic acid bacteria. Biological Sciences. 1(1): 108-124.
- JARA, J. 2007. Efecto de fibra antioxidante de uva en status antioxidante y parámetros de riesgo cardiovascular en humanos. Tesis doctoralen ciencia y tecnología de alimentos. Madrid. España. Universidad Autonoma de Madrid. 272 p.
- KAFKAS, E.; POLATÖZ, S.; KOÇ, N. 2011. Quantification and comparison of sugars, carboxylic acids and vitamin c components of various citrus species by HPLC techniques. Journal of Agricultural Science and Technology. Adana. Turquia. 5(2): 175-180.
- KELEBEK, H.; CANBAS, A.; SELLI, S. 2008. Determination of phenolic composition and antioxidant capacity of blood orange juices obtained from cvs. Moro and Sanguinello (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) grown in Turkey. Food Chemistry. Adana. Turquia. 107(4): 1710–1716.
- KELEBEK, H.; SELLI, S.; CANBAS, A.; CABAROGLU, T. 2009. HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic compositions and antioxidant capacity of orange juice and orange wine made from a Turkish cv. Kozan. Microchemical Journal. Amsterdam. Holanda. 91(2): 187–192
- KHOMDRAM, S. y DEVI, S. 2010. Determination of antioxidant activity and vitamin c of some wild fruits of manipur. The Bioscan. 5(3): 501-504.

- KORC, I., BIDEGAIN, M., MARTELL, M. 1995. Radicales libres: bioquímica y sistemas antioxidantes, implicancia en la patología neonatal. Rev.Med.Uruguay. Montevideo, Uruguay 11(2): 121 – 135.
- KUMAR, R., VIJAY, S., Y KHAN, N. 2013. Comparative Nutritional Analysis and Antioxidant Activity of Fruit Juices of some Citrus spp. Octa. J. Biosci. India. 1(1):44-53.
- LA FUENTE, V.; PÉREZ, J.; TOLEDANO, A. 2007. Envasado en fresco de naranjas cv “navelina” bajo diferentes condiciones de atmósfera y formato. V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones. Cordova. España. 9(1): 1448-1459
- LADINAYA, M. 2008. citrus fruit: biology, technology and evaluation. San Diego, USA. Elsevier. 576 p.
- LATHAM, M.C. 2002. Nutrición humana en el mundo en desarrollo. Colección FAO: Alimentación y nutrición N° 29. Roma, Italia. 525 p.
- MAHDAVI, R., NIKNIAZ, Z., RAFRAF, M., JOUYBA, A. 2010. Determination and comparison of total polyphenol and vitamin C contents of natural fresh and comercial fruit juices. Journal of Nutrition. Pakistan. 9(10): 968-972.
- MARCILLA, A.; ZARZO, M.; DEL RÍO, M. A. 2006. Effect of storage temperature on the flavour of citrus fruit. Spanish Journal of Agricultural Research Valencia. España. 4(4), 336-344.
- MARTÍNEZ, S., GONZALES, J., CULEBRAS, M., TUÑÓN, J. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr. Hosp. España. 17(6): 271-278.

- MARTINEZ, V. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos en la dieta. ALAN. Caracas, Venezuela. 50 (1): 5 – 18.
- MARTÍNEZ-JÁVEGA, J.M. 2002. Estado actual de las aplicaciones del frío en la poscosecha de cítricos. Actas del I Congreso Español de Ciencias y Técnicas del Frío. Valencia. España. Instituto Valencia de Investigaciones Agrarias. p. 433-442.
- MAURICIO, A., RIVERA, Á. Y NARVÁEZ, C.E. 2005. Capacidad antioxidante durante la maduración de arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh). Rev. Colombiana de Química. Bogotá. Colombia. 34(1): 57-65
- MAZHAR-ASJAD, H.M.; SHOAIB-AKHTAR, M.; BASHIR, S.; DIN, B.; GULZAR, F.; KHALID, R.; ASAD, M. 2013. Phenol, flavonoid contents and antioxidant activity of six common citrus plants in Pakistan. J. Pharm. Cosmet. Sci. Sargodha. Pakistan. 1(1): 1-5.
- MOHAMMADIAN, M. A.; MOBRAMI, Z.; SAJEDI, R. H. 2011. Bioactive compounds and antioxidant capacities in the flavedo tissue of two citrus cultivars under low temperatura. Braz. J. Plant Physiol. Campos dos Goytacazes. Brasil. 23(3): 203 – 208.
- MURRAY, L. 2013. Bioquímica de Harper. 29va Edición. Madrid, España. Ed. McGraw-Hill. 1528 p.
- NJOKU, P.C., AYUK, A.A., OKOYE, C.V. 2011. temperature effects on vitamin C content in citrus fruits. Pakistan Journal of Nutrition. Faisalabad, Pakistan. 10(12): 1168-1169.
- OBENLANDA, D.; COLLIN, S.; MACKEYC, B.; SIEVERTB, J.; ARPAIAB, M. 2011. Storage temperature and time influences sensory quality of

- mandarins by altering soluble solids, acidity and aroma volatile composition. *Postharvest Biology and Technology*. California. United States. 59 (1): 187–193.
- OKWU, D. 2008. Citrus fruits: a rich source of phytochemicals and their roles in human health. *Int. J. Chem. Sci. Abia State, Nigeria*. 6(2): 451-471.
- ORDOÑEZ, E. y REATEGUI, D. 2009. Determinación de la actividad antioxidante, polifenoles y vitamina C en arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh), Guanabana (*Annonamuricata* L.), Guayaba (*Psidiumguajava*L.), Maracuya (*Pasiflora edulis*), Papaya (*Carica papaya* L.), Carambola (*Averrhoa carambola* L.), Taperiba (*Spondias bombín* L.) y Lima (*Citrus Limetta*). Artículo científico. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 27 p.
- PEREIRA, G MACHADO, F.; COSTA, J. 2013. Quality of 'Delta Valencia' orange grown in semiarid climate and stored under refrigeration after coating with wax. *Food Sci. Technol, Campinas. Fortaleza. Brasil*. 33(2): 276-281.
- PEREIRA, G.; CASTRO MACHADO, F.; CORREIA DA COSTA, J. 2014. Application of coating extends postharvest quality in the 'Valencia Delta' orange during ambient storage. *Revista Ciencia Agronomica. Ceara. Brasil*. 45(3): 520-527.
- PÉREZ-APARICIO, J.; ZAPATA-SOBERÁ, L.; LAFUENTE-ROSALES, V.; TOLEDANO-MEDINA, M. 2008. Almacenamiento de naranjas cv. "salustiana" y cv. "valencia" y su influencia en la calidad del zumo. *Rev. Iber. Tecnología Postcosecha. Cordova. España*. 9(2):113-120

- PIETTA, P. 2000. Flavonoides and antioxidants. *J. Natur. Prod.* 63(1): 1035-1042.
- PUTTONGSIRI, T. Y HARUENKIT, R. 2010. Changes in ascorbic acid, total polyphenol, phenolic acids and antioxidant activity in juice extracted from coated Kiew Wan tangerine during storage at 4, 12 and 20°C. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*. Bangkok. Tailandia. 44(2): 280 – 289.
- QUIÑONES, M.; MIGUEL, M. y ALEIXANDRE, A. 2012. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutricion hospitalaria*. Madrid. España. 27(1):76-89.
- RAMOS, M., IBARRA, B., GOMEZ, B. ZAMORA, L. 2006. Diabetes, estrés oxidativo y antioxidantes. *Investigación en salud*. Guadalajara, México 8(1): 7 - 15.
- RAPISARDA, P.; LO BIANCO, M.; PANNUZZO, P.; TIMPANARO, N. 2008. Effect of cold storage on vitamin C, phenolics and antioxidant activity of five orange genotypes (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Postharvest Biology and Technolog.* Acireale. Italia. 49 (3) 348–354.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, United Kingdom. 26(9/10): 1231–1237.
- REINA, C.; VARGAS, E.; WITZ, M. 1995. Manejo postcosecha y evaluación de la calidad para la naranja (*Citrus sinensis*), limón (*Citrus aurantifolia*) y mandarina (*Citrus reticulata*) que se comercializa en la ciudad de Neiva. Programa de ingeniería agrícola. Neiva. Colombia. 118 p.

- REKHA, C.; POORNIMA, G.; MANASA, M.; ABHIPSA, V.; PAVITHRA, D.; VIJAY KUMAR, H T.; PRASHITH KEKUDA, T R. 2012. Ascorbic acid, total phenol content and antioxidant activity of fresh juices of four ripe and uUnripe Citrus Fruits. Chem Sci Trans. Karnataka. India. 1(2), 303-310.
- RODRÍGUEZ, F., VILLEGAS, O., CAMARENA, G., MARTÍNEZ, A. 2001. Calidad de naranja 'valencia' durante el almacenamiento a baja temperatura. Revista Chapingo serie horticultura. Hermosillo – México. 7(2): 259-274
- ROONGRUANGSRI, W.; RATTANAPANONE, N.; LEKSAWASDI, N. Y BOONYAKIAT, D. 2013. Influence of storage conditions on physico-chemical and biochemical of two tangerine cultivars. Journal of Agricultural Science. Chiang Mai. Thailand. 5(2): 70-84
- ROSALES, C. 2004. Optimización del proceso de bioseparacion de compuestos fenólicos a partir de dos variedades de frejol negro (*Phaseolus vulgaris* L.), maíz azul (*Zea mays* L.) y jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Tesis Ing. en Biotecnología. Monterrey, México. Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey. 79 p.
- ROYO, C. 2010. Respuesta de los frutos cítricos a las bajas temperaturas: estudio mediante micromatrices. Tesis Doctoral en Biotecnología molecular. Valencia. España. Universidad Politécnica de Valencia. 243 p.
- RUSSIÁN, T. 2006. Calidad del fruto en accesiones de naranja 'criolla' y 'valencia' en el sector Macanillas-Curimagua, estado Falcón. Agronomía Trop. Falcon. Venezuela. 56(3): 415-432

- SÁEZ, A. 2012. Apuntes de estadística para Ingenieros. Andalucía, España. Universidad de Jaen. 235 p.
- SALVADOR, A.; NAVARRO, P.; MARTÍNEZ-JÁVEGA, J.M. 2007. Tecnología postcosecha de cítricos. In: XI Simposium Internacional de Citricultura (2007, Victoria, Mexico). 2007. Valencia. España. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. p 1-11.
- SAMANIEGO, J.A., CABRERA, F., MADRID, M., MEDINA, V., 2004. Tecnología de producción de naranja y toronja. Memoria Jornada de Tecnología de Producción de Cítricos. Fundación Produce Sinaloa. México. 15 p.
- SANDOVAL, M., OKUHAMA, N., ANGELES, F. 2001. Técnicas de investigación para determinar la actividad antioxidante y anti-inflamatoria de plantas medicinales de la amazonia. International work shop. Iquitos – Perú. 25 p.
- SCHVAB, M.; FERREYRA, M.; GERARD, L.; DAVIES, C. 2013. Parámetros de calidad de jugos de naranja entrerrianas. Rev. Iber. Tecnología Postcosecha. Hermosillo. México. 14(1): 85 - 92.
- SOSA, L.; VAN DE VELDE, F.; PIROVANI, M. 2012. Aplicación de niveles de oxígeno superatmosféricos en naranjas mínimamente procesadas. Rev. Iber. Tecnología Postcosecha. Hermosillo. México. 13(2):175-180.
- SOTERO, V., MACO, M., VELA, J., MERINO, C., DÁVILA, É., GARCÍA, D. 2011. Evaluación de la actividad antioxidante y compuestos fenólicos en pulpay semillas de cuatro frutales amazónicos de la familia antioxidant

- evaluation and phenolic compounds in pulp and seeds of four fruits from the family *Sterculiaceae*. *Rev Soc Quím. Perú*. 77 (1): 66-74.
- SRIJAYA, M.; KUSUMA, DL.; PUSHKALA R. 2011. Shelf Life Extension of Mosambi (*Citrus sinensis*) by gamma irradiation. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. Anantapur. India. 2(4): 994-1004.
- SULLON, J. 2009. Evaluación de la actividad antioxidante del noni (*Morinda citrifolia* L.) en tres estados de madurez en Tingo María. Tesis para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Tingo María. Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 84 p.
- SUPRADITAREPORN, W. y PINTHONG, R. 2007. Physical, Chemical and microbiological Changes during Storage of Orange Juices cv. Sai Nam Pung and cv. Khieo Waan in Northern Thailand. *Int. J. Agri. Biol. Chiang Mai, Thailand*. 9(5): 726 – 730.
- TARABIH, M.E. y EL-METWALLY, M.A. 2014. Effect of jojoba oil and boric acid as postharvest treatments on the shelf life of Washington Navel orange fruits. *Int. J. Agric. Res. Giza. Egipto*. 9(1): 1-16.
- TOLEDO, A.R. 2009. Obtención de compuestos bioactivos de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) mediante la extracción de CO₂ supercrítico. Universidad de Sonora. Hermosillo. México. 113 p.
- TOMÁS-BARBERÁN, F. A. 2003. Los polifenoles de los alimentos y la salud. *Alim. Nutri. Salud. Madrid. España*. 10(2): 41-53.
- TUR, J. 2004. Los antioxidantes en la dieta mediterránea. *Rev. Esp. Nutr Comunitaria. Palma de Mallorca, España* 10 (4): 198 – 207.

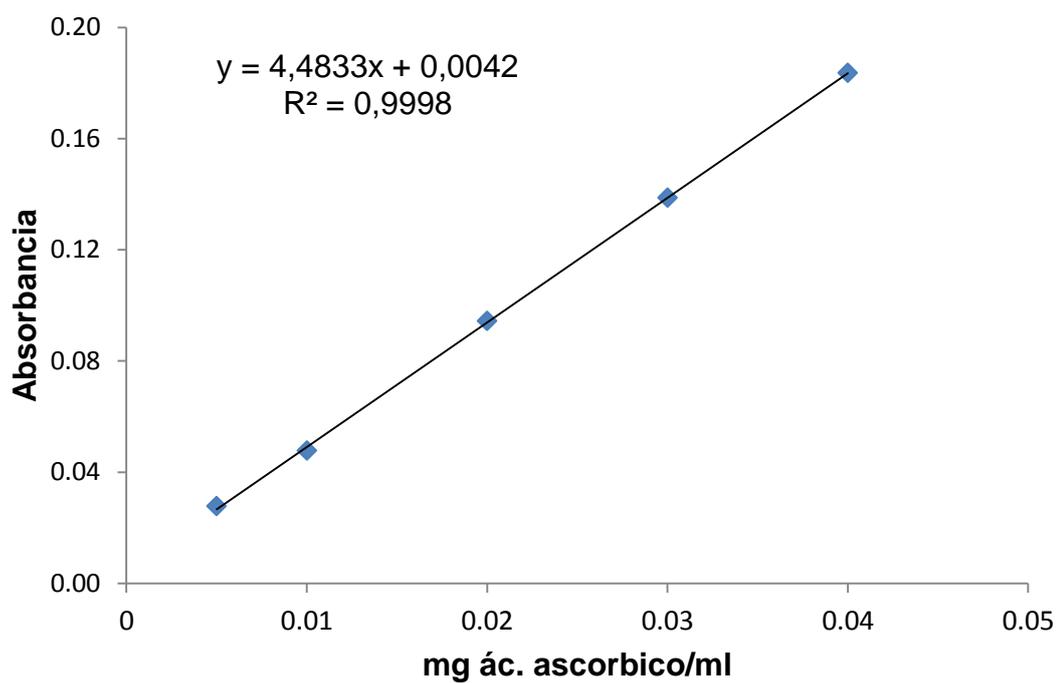
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. 1997. United States Standards for Grades of Florida Oranges and Tangelos. Washington: USDA, Agricultural Marketing Service, 17 p.
- URIBE, A.; CURTIÍ, S.A.; HERNÁNDEZ, C.; TICANTE, S.J. 2013. Calidad de naranja 'valencia' injertada en 20 portainjertos. Rev. Chapingo Serie Horticultura Veracruz. México. 19(1): 61-69.
- VAN DE VELDE, F.; GÜEMES, D.; PIAGENTINI, A.; PIROVANI, M. E. 2013. Health potential and physicochemical attributes after minimal processing and during refrigerated storage of orange (*Citrus sinensis* L., Osbeck). *International Journal of Fruit Science*. Santa Fe. Argentina 13(1):285–298.
- YAHIA, E. 2011. Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits: Volumen 2. Philadelphia, USA. Woodhead Publishing. 560 p.
- ZAPATA, P.; VALVERDE, J.M.; GUILLÉN, F.; BAILÉN, G.; CASTILLO, S.; MARTÍNEZ-ROMERO, D.; VALERO, D.; SERRANO, M. 2005. Actividad antioxidante en diferentes frutos habituales en la dieta mediterránea. Rev. Iber. Tecnología Postcosecha. México. 11(2):259-262.
- ZAVALETA J, MUÑOZ AM, BLANCO T, ALVARADO C, LOJA B. 2005. Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. Rev. Horizonte Médico. Lima. Perú. 2(5): 29 – 38.
- ZUÑIGA, M. 2005. Caracterización de fibra dietaria en orujo y capacidad antioxidante en vino, hollejo y semilla de uva. Ing. ciencias agrarias facultad de ciencias agrarias. Universidad de Chile. 68 p.

VIII. ANEXO

A-I. Determinación de la curva estándar de ácido ascórbico para cuantificación de vitamina C.

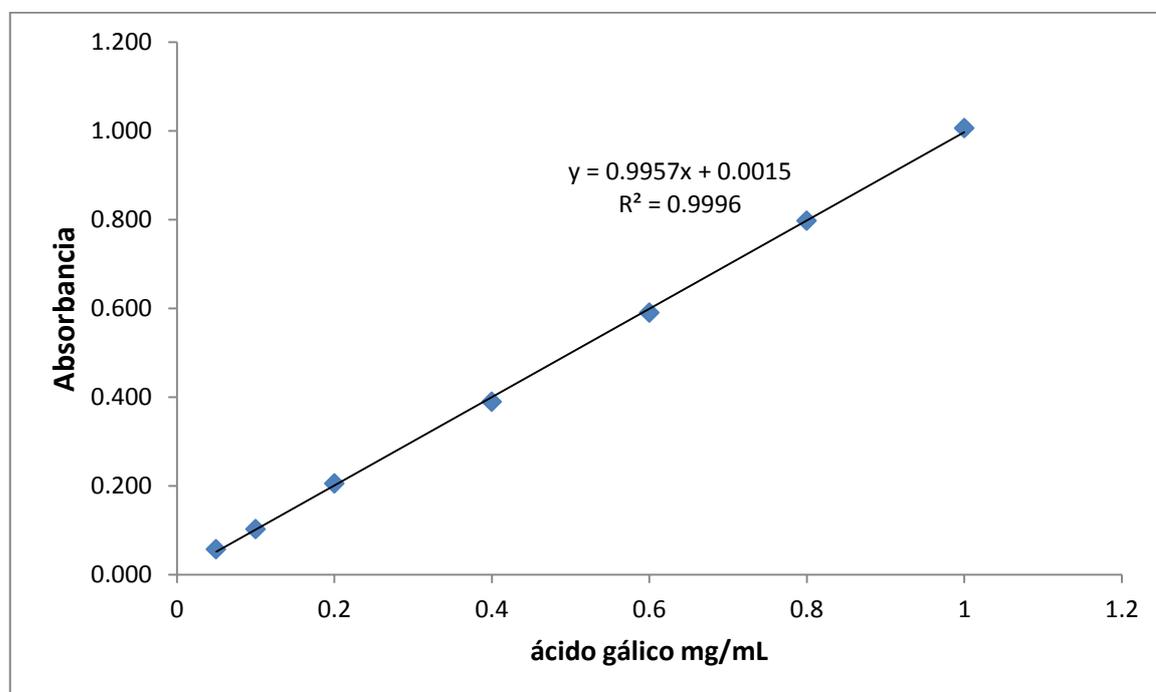
Repeticiones	Concentraciones (mg A.A./ml)				
	0,005	0,01	0,02	0,03	0,04
1	0,216	0,195	0,150	0,105	0,060
2	0,216	0,196	0,148	0,105	0,063
3	0,218	0,199	0,152	0,107	0,059
Promedio	0,2167	0,1967	0,150	0,1057	0,0607

Fuente: Elaboración propia



A-II. Determinación de la curva estándar de ácido gálico para la cuantificación de polifenoles.

Concentraciones (mg EAG/mL)	Absorbancias (700 nm)			Promedio
	R ₁	R ₂	R ₃	
0,05	0.05	0.061	0.06	0.057
0,10	0.103	0.101	0.103	0.102
0,20	0.233	0.194	0.188	0.205
0,40	0.387	0.394	0.386	0.389
0,60	0.563	0.595	0.587	0.582
0,80	0.79	0.784	0.818	0.797
1,00	0.969	1.035	1.014	1.006



A-IIIa. Análisis de varianza de Brix a los 4 días en naranja almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	0,31	0,15	1,46	0,26
Error experimental	12	1,25	0,10	-----	-----
Total	14	1,55	-----	-----	-----
$R^2 = 0,20$		CV = 3,48	MSE =0,32	Media=9,29	

A-IIIb. Análisis de varianza de Brix a los 8 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	1,99	0,99	1,46	1,39
Error experimental	12	8,54	0,71	-----	-----
Total	14	10,53	-----	-----	-----
$R^2 = 0,19$		CV = 8,60	MSE =0,84	Media=9,80	

A-IIIc. Análisis de varianza de Brix a los 12 días en naranja almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	3,08	1,54	1,46	1,63
Error experimental	12	11,34	0,95	-----	-----
Total	14	14,41	-----	-----	-----
$R^2 = 0,21$		CV = 9,86	MSE =0,97	Media=9,86	

A-III d. Análisis de varianza de Brix a los 16 días en naranja almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	1,38	0,69	0,69	0,52
Error experimental	12	11,95	1,00	-----	-----
Total	14	13,33	-----	-----	-----

R2 = 0,10 CV = 9,86 MSE = 1,00 Media= 10,13

A-III e. Análisis de varianza de Brix a los 20 días en naranja almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	1,94	0,97	0,72	0,51
Error experimental	12	16,29	1,36	-----	-----
Total	14	18,23	-----	-----	-----

R2 = 0,11 CV = 11,10 MSE = 1,17 Media= 10,49

A-IV a. Análisis de varianza de la Acidez a los 4 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	0,0094	0,0047	0,35	0,71
Error experimental	12	0,1598	0,0133	-----	-----
Total	14	0.1692	-----	-----	-----

R2 = 0,0555 CV = 10,7169 MSE = 0,1154 Media= 1,0768

A-IVb. Análisis de varianza de la Acidez a los 8 días en naranja almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	0,0300	0,0150	1,02	0,3897
Error experimental	12	0,1766	0,0147	-----	-----
Total	14	0,2067	-----	-----	-----

R2 = 0,1453 CV = 12,023 MSE = 0,1213 Media= 1,0091

A-IVc. Análisis de varianza de la Acidez a los 12 días en naranja almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	0,0228	0,0114	1,22	0,3293
Error experimental	12	0,1121	0,0093	-----	-----
Total	14	0,1349	-----	-----	-----

R2 = 0,1690 CV = 9,9390 MSE = 0,0967 Media= 0,9724

A-IVd. Análisis de varianza de la Acidez a los 16 días en naranja almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	0,0160	0,0080	1,14	0,3508
Error experimental	12	0,0841	0,0070	-----	-----
Total	14	0,1001	-----	-----	-----

R2 = 0,1602 CV = 9,2295 MSE = 0,0837 Media= 0,9070

A-IVe. Análisis de varianza de la Acidez a los 20 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	0,0251	0,0126	2,07	0,1693
Error experimental	12	0,0729	0,0061	-----	-----
Total	14	0,0980	-----	-----	-----

R2 = 0,2563

CV = 9,1475

MSE = 0,0780

Media= 0,8523

A-Va. Análisis de varianza de pH a los 4 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	0,0123	0,0062	0,89	0,4357
Error experimental	12	0,0830	0,0069	-----	-----
Total	14	0,0953	-----	-----	-----

R2 = 0,1293

CV = 2,1861

MSE = 0,0832

Media= 3,8053

A-Vb. Análisis de varianza de pH a los 8 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	0,0125	0,0063	0,64	0,5420
Error experimental	12	0,1165	0,0097	-----	-----
Total	14	0,1290	-----	-----	-----

R2 = 0,0971

CV = 2,5724

MSE = 0,0985

Media= 3,8300

A-Vc. Análisis de varianza de pH a los 12 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	0,0042	0,0021	0,27	0,7712
Error experimental	12	0,0943	0,0079	-----	-----
Total	14	0,0985	-----	-----	-----

R2 = 0,0424

CV = 2,2913

MSE = 0,0887

Media= 3,8693

A-Vd. Análisis de varianza de pH a los 16 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	0,0048	0,0024	0,08	0,9219
Error experimental	12	0,3527	0,0294	-----	-----
Total	14	0,3575	-----	-----	-----

R2 = 0,135

CV = 4,4149

MSE = 0,1714

Media= 3,8833

A-Ve. Análisis de varianza de pH a los 20 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	0,0063	0,0032	0,30	0,7445
Error experimental	12	0,1256	0,0105	-----	-----
Total	14	0,1319	-----	-----	-----

R2 = 0,048

CV = 2,6072

MSE = 0,1023

Media= 3,9247

A-VIa. Análisis de varianza de pérdida de peso a los 4 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	43,4892	21,7446	8,88	0,0043
Error experimental	12	29,3835	2,4487	-----	-----
Total	14	0,3575	-----	-----	-----

R2 = 0,5968 CV = 29,9995 MSE = 1,5648 Media= 5,2161

A-VIb. Análisis de varianza de pérdida de peso a los 8 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	261,1422	130,0334	43,04	<0,0001
Error experimental	12	36,4014	3,0334	-----	-----
Total	14	297,5435	-----	-----	-----

R2 = 0,8776 CV = 17,5941 MSE = 1,7417 Media= 9,8992

A-VIc. Análisis de varianza de pérdida de peso a los 12 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	241,9213	120,9606	49,61	<0,0001
Error experimental	12	29,2563	2,4380	-----	-----
Total	14	271,1776	-----	-----	-----

R2 = 0,8921 CV = 12,2041 MSE = 1,5614 Media=12,7942

A-VId. Análisis de varianza de pérdida de peso a los 16 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	271,1976	135,5988	27,83	<0,0001
Error experimental	12	58,4615	4,8718	-----	-----
Total	14	329,6591	-----	-----	-----

R2 = 0,8227 CV = 13,3202 MSE = 2,2072 Media=16,5705

A-VIe. Análisis de varianza de pérdida de peso a los 20 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	182,3556	91,1778	19,78	0,0002
Error experimental	12	55,3237	4,6103	-----	-----
Total	14	237,6792	-----	-----	-----

R2 = 0,7672 CV = 11,8626 MSE = 2,1472 Media=18,1003

A-VIIa. Análisis de varianza de vitamina C a los 4 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	2,6976	1,3488	2,26	0,1856
Error experimental	6	3,5821	0,5970	-----	-----
Total	8	6,2797	-----	-----	-----

R2 = 0,4296 CV = 1,5190 MSE = 0,7727 Media=50,8653

A-VIIb. Análisis de varianza de vitamina C a los 8 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	4,8204	2,4102	4,95	0,0536
Error experimental	6	2,9187	0,4865	-----	-----
Total	8	7,7391	-----	-----	-----

R2 = 0,6286 CV = 1,3514 MSE = 0,6975 Media=51,6088

A-VIIc. Análisis de varianza de vitamina C a los 12 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	5,8817	2,9409	1,73	0,2556
Error experimental	6	10,2156	1,7026	-----	-----
Total	8	16,0973	-----	-----	-----

R2 = 0,3654 CV = 2,5019 MSE = 1,3048 Media=52,1541

A-VIIId. Análisis de varianza de vitamina C a los 16 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	8,0929	4,0464	4,16	0,0736
Error experimental	6	5,8375	0,9729	-----	-----
Total	8	13,9304	-----	-----	-----

R2 = 0,5810 CV = 1,8770 MSE = 0,9864 Media=52,5506

A-VIIe. Análisis de varianza de vitamina C a los 20 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	12,0026	6,0013	5,61	0,0424
Error experimental	6	6,4237	1,0706	-----	-----
Total	8	18,4263	-----	-----	-----

R2 = 0,6514 CV = 1,9591 MSE = 1,0347 Media=52,8148

A-VIIIa. Análisis de varianza de polifenoles totales a los 4 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	14,0600	7,0300	9,76	0,0130
Error experimental	6	4,3200	0,7200	-----	-----
Total	8	18,3800	-----	-----	-----

R2 = 0,7650 CV = 1,4423 MSE = 0,8485 Media=58,8333

A-VIIIb. Análisis de varianza de polifenoles totales a 8 días en naranjas almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	6,8579	3,4289	6,60	0,0305
Error experimental	6	3,1149	0,5192	-----	-----
Total	8	9,9728	-----	-----	-----

R2 = 0,6877 CV = 1,1892 MSE = 0,7205 Media=60,5867

A-VIIIc. Análisis de varianza de polifenoles totales a los 12 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	6,0022	3,011	3,030	0,1233
Error experimental	6	5,9467	0,9911	-----	-----
Total	8	11,9489	-----	-----	-----

R2 = 0,5023 CV = 1,6086 MSE = 0,9955 Media=61,8889

A-VIII d. Análisis de varianza de polifenoles totales a los 16 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	18,3889	9,1944	11,20	0,0094
Error experimental	6	4,9267	0,8211	-----	-----
Total	8	23,3155	-----	-----	-----

R2 = 0,7887 CV = 1,4110 MSE = 0,9062 Media=64,2222

A-VIII e. Análisis de varianza de polifenoles totales a los 20 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	183,4156	91,7078	1289,64	<0,0001
Error experimental	6	0,4267	0,0711	-----	-----
Total	8	183,8422	-----	-----	-----

R2 = 0,9977 CV = 0,3660 MSE = 0,2667 Media=72,8556

A-IXa. Análisis de varianza de la capacidad antioxidante (DPPH) a los 4 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	562,5834	281,2917	167,44	<0,0001
Error experimental	6	10,0795	1,6799	-----	-----
Total	8	572,6629	-----	-----	-----
R2 = 0,9823		CV = 0,45881	MSE =0,2961	Media= 282,686	

A-IXb. Análisis de varianza de la capacidad antioxidante (DPPH) a 8 días en naranja almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	112,5658	56,2828	106,36	<0,0001
Error experimental	12	3,1749	0,5292	-----	-----
Total	14	115,7407	-----	-----	-----
R2 = 0,9725		CV = 0,2785	MSE =0,7274	Media= 261,1295	

A-IXc. Análisis de varianza de la capacidad antioxidante (DPPH) a 12 días en naranja almacenadas a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	14,8672	7,4336	5,96	0,0375
Error experimental	6	7,4788	1,2465	-----	-----
Total	8	115,7407	-----	-----	-----
R2 = 0,6653		CV = 0,4602	MSE =1,1164	Media= 242,5895	

A-IXd. Análisis de varianza de la capacidad antioxidante (DPPH) a los 16 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	19,1944	9,5972	10,14	0,0119
Error experimental	6	5,6798	0,9466	-----	-----
Total	8	115,7407	-----	-----	-----
R2 = 0,7717		CV = 0,4126	MSE = 0,9729	Media= 235,7756	

A-IXe. Análisis de varianza de la capacidad antioxidante (DPPH) a los 20 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C.

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	48,9556	24,4778	14,02	0,0055
Error experimental	6	10,4738	1,7456	-----	-----
Total	8	59,4293	-----	-----	-----
R2 = 0,8238		CV = 0,5657	MSE = 1,3212	Media= 233,5393	

A-Xa. Análisis de varianza de la capacidad antioxidante (ABTS) a los 4 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	198,4201	99,2100	99,09	<0,0001
Error experimental	6	6,0070	1,0012	-----	-----
Total	8	204,4271	-----	-----	-----
R2 = 0,9706		CV = 0,4212	MSE = 1,0006	Media= 237,5426	

A-Xb. Análisis de varianza de la capacidad antioxidante (ABTS) a los 8 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	187,4391	93,7196	165,72	<0,0001
Error experimental	6	3,3932	0,5655	-----	-----
Total	8	190,8324179	-----	-----	-----
R2 = 0,9822		CV = 0,3518	MSE = 1,7520	Media= 213,7618	

A-Xc. Análisis de varianza de la capacidad antioxidante (ABTS) a los 12 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	400,2619	200,1309	117,17	<0,0001
Error experimental	6	10,2478	1,7080	-----	-----
Total	8	410,5097	-----	-----	-----
R2 = 0,9750		CV = 0,6182	MSE = 1,3069	Media= 211,3869	

A-Xd. Análisis de varianza de la capacidad antioxidante (ABTS) a los 16 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	4253,1686	2126,5843	1985,49	<0,0001
Error experimental	6	6,4264	1,0710	-----	-----
Total	8	4259,5950	-----	-----	-----
R2 = 0,9985		CV = 0,5612	MSE = 1,0349	Media= 184,4219	

A-Xe. Análisis de varianza de la capacidad antioxidante (ABTS) a los 20 días en naranja almacenada a 4, 12, 28 °C

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Pr<F.
Tratamientos	2	849,6888	424,8444	470,89	<0,0001
Error experimental	6	5,4133	0,9022	-----	-----
Total	8	855,1022	-----	-----	-----
R ² = 0,9937		CV = 0,5954	MSE = 0,9498	Media= 159,5448	