

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

---

División de Ciencias Biológicas y de la Salud



**Casa abierta al tiempo**

**ATRIBUTOS DE CALIDAD Y COMPUESTOS VOLÁTILES COMO  
INDICADORES DE SENESCENCIA EN NARANJA (*Citrus sinensis*) VARIEDAD  
VALENCIA CULTIVADA EN SISTEMAS CONVENCIONAL Y ORGÁNICO**

**TESIS**

que para obtener el grado de

**Maestra en Biotecnología**

**PRESENTA**

**Q.A. Diana Alejandra Macías Ojeda**

Comité tutorial:

Dra. Clara Pelayo Zaldívar

Codirectora

Dr. Fernando Díaz de León Sánchez

Codirector

Dr. Irán Alia Tejacal

Asesor

México, D. F. 16 de Enero de 2015

“La Maestría en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana está incluida en el Padrón Nacional de Posgrado del CONACyT y además cuenta con apoyo del mismo Consejo, con el No. de Registro 0471-O”

Este trabajo se realizó en los Laboratorios de Biotecnología Poscosecha de Frutas y Hortalizas y de Fisiología, Bioquímica y Biología Molecular de Plantas de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, bajo la dirección de los Doctores Clara Pelayo Zaldívar y Fernando Díaz de León Sánchez.

México D.F. a 16 de Enero del 2015

El jurado designado por la  
División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis

**ATRIBUTOS DE CALIDAD Y COMPUESTOS VOLÁTILES COMO  
INDICADORES DE SENESCENCIA EN NARANJA (*Citrus sinensis*) VARIEDAD  
VALENCIA CULTIVADA EN SISTEMAS CONVENCIONAL Y ORGÁNICO**

que presentó

**Q.A. Diana Alejandra Macías Ojeda**

Comité Tutorial:

Codirectora: Dra. Clara Pelayo Zaldívar

Codirector: Dr. Fernando Díaz de León Sánchez

Asesor: Dr. Irán Alía Tejacal

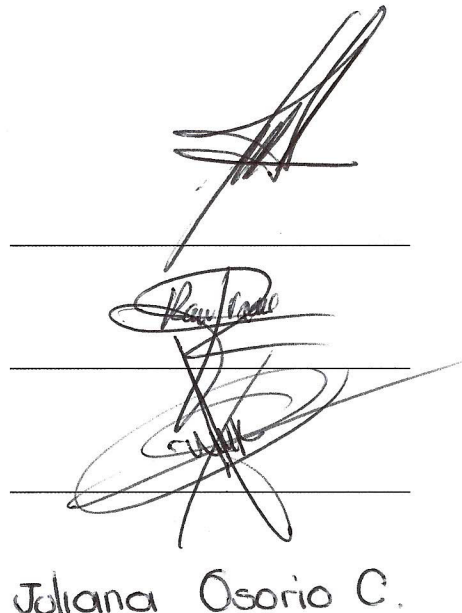
Jurado:

Presidente: Dr. Irán Alía Tejacal

Secretario: Dr. José Ramón Verde Calvo

Vocal: Dr. Fernando Rivera Cabrera

Vocal: Dra. Juliana Osorio Córdoba



Three handwritten signatures are present, each written over a horizontal line. The first signature is at the top, the second in the middle, and the third at the bottom. The third signature is written in a cursive style and is followed by the printed name 'Juliana Osorio C.' on a line below it.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Unidad Iztapalapa

Fecha : 15/01/2015  
Página : 1/1

### CONSTANCIA DE PRESENTACION DE EXAMEN DE GRADO

La Universidad Autónoma Metropolitana extiende la presente CONSTANCIA DE PRESENTACION DE EXAMEN DE GRADO de MAESTRA EN BIOTECNOLOGIA de la alumna DIANA ALEJANDRA MACIAS OJEDA, matrícula 2123800495, quien cumplió con los 140 créditos correspondientes a las unidades de enseñanza aprendizaje del plan de estudio. Con fecha dieciséis de enero del 2015 presentó la DEFENSA de su EXAMEN DE GRADO cuya denominación es:

ATRIBUTOS DE CALIDAD Y COMPUESTOS VOLATILES COMO INDICADORES DE SENESCENCIA EN NARANJA (*Citrus sinensis*) VARIEDAD VALENCIA CULTIVADA EN SISTEMAS CONVENCIONAL Y ORGANICO.

Cabe mencionar que la aprobación tiene un valor de 40 créditos y el programa consta de 180 créditos.

El jurado del examen ha tenido a bien otorgarle la calificación de:

APROBADA

### JURADO

Presidente

DR. IRAN ALIA TEJACAL

Secretario

DR. JOSE RAMON VERDE CALVO

Vocal

DR. FERNANDO RIVERA CABRERA

Vocal

Juliana Osorio C.

DRA. JULIANA OSORIO CORDOBA

## AGRADECIMIENTOS

A mis codirectores, la Dra. Clara Pelayo Zaldívar y el Dr. Fernando Díaz de León Sánchez que me mostraron que además de ser grandes seres humanos, son profesionistas comprometidos con la ciencia. Gracias por todo su apoyo y confianza, por compartir conmigo sus conocimientos y experiencias, pero sobre todo, por ayudarme a crecer.

A mi asesor, el Dr. Irán Alia Tejacal, gracias por todo su apoyo y por enriquecer este trabajo con sus valiosas aportaciones.

A Don Dago, por mostrarme la nobleza de la ciencia más allá de lo académico. Por ser un gran amigo y un excelente ser humano.

Al Profr. Adolfo García Osuna, por compartir sus conocimientos, por todas sus consideraciones y su disponibilidad: sus acertados consejos contribuyeron en gran medida a enriquecer este trabajo.

A la Dra. Juliana Osorio Córdoba, no tengo palabras para agradecer tu presencia en mi vida, eres de esas personas invaluable que uno quiere conservar siempre a su lado. Gracias por los consejos, por tu confianza, por el ánimo... simplemente por estar.

Al Dr. Jose Ramón Verde y al Dr. Fernando Rivera, por su apoyo, su tiempo, su amistad y su comprensión. Gracias por contribuir con sus acertados comentarios en la mejora de este trabajo.

Gracias infinitas a los grupos de trabajo de los Laboratorios de Biotecnología Poscosecha de Frutas y Hortalizas y de Fisiología, Bioquímica y Biología Molecular de Plantas que con sus atinados comentarios ayudaron a darle forma a este trabajo, gracias por todo el apoyo y por tantísimos buenos ratos.

A mi queridísima Lizette, gracias por ser mi amiga y compañera de viajes. Gracias por tus consejos, tu apoyo y esas pláticas infinitas y entrañables.

A todos 'mis niños', gracias por su amistad y su ayuda durante los experimentos y después de ellos: Adriana, Dalia, Katia, Karen, Marcela y Fernando. Sin ustedes el camino hubiera sido más arduo y menos divertido.

Al CONACyT, por la beca otorgada para continuar con mi formación académica, por apoyar la inmensa capacidad que tenemos los mexicanos, por confiar en nuestros sueños y ayudar a hacerlos realidad.

A la UAM por abrirme sus puertas y hacerme sentir como en casa; a la UNAM por ser mi *alma mater* y darme los cimientos para construir una identidad crítica y analítica, con fundamentos científicos y humanísticos.

A mi amado Agus, que siempre estás ahí para levantarme de las caídas más dolorosas y para provocarme las mayores alegrías. Gracias por ayudarme a ser mejor persona cada día pero sobre todo, gracias por confiar en mí.

A mi madre y hermanos por todo su apoyo y porque sé que siempre están ahí para mí; a mi papá, porque tengo la certeza de que guías cada uno de mis pasos; a mis amigos, que han soportado mis descuidos, olvidos y malos ratos... y que han decidido quedarse. Los quiero a todos.

Porque la culminación de este trabajo lleva un poco de todos ustedes...

## DEDICATORIAS

A Agustín, mi compañero.

A mis padres y hermanos.

A mis peluditos mordelones.

*“La función de la ciencia es descubrir la existencia de un reino general de orden en la naturaleza y encontrar las causas que rigen este orden; esta medida se refiere por igual a la relación del hombre - social y política - y al universo entero en su conjunto”.*

Dmitri Ivanovich Mendeleiev

<b>INDICE GENERAL</b>		Pag
<b>RESUMEN</b> -----		8
<b>ABSTRACT</b> -----		11
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> -----		14
<b>2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> -----		16
<b>2.1. Características generales de los cítricos</b> -----		16
2.1.1. <i>Fisiología y composición de los frutos cítricos</i> -----		17
2.1.2. <i>Parámetros de calidad de la naranja</i> -----		18
<b>2.2. Panorama de la producción de naranja a nivel nacional e internacional</b> -----		20
<b>2.3. Compuestos volátiles</b> -----		21
2.3.1. <i>Compuestos volátiles del aroma de cítricos</i> -----		22
2.3.1.1. <u>Compuestos volátiles en la cáscara de los cítricos</u> -----		24
2.3.1.2. <u>Compuestos volátiles en el jugo de cítricos</u> -----		25
2.3.1.3. <u>Métodos de extracción de aceites esenciales de los cítricos</u> -----		26
2.3.1.4. <u>Compuestos volátiles típicos del aroma de naranja fresca</u> -----		29
2.3.1.5. <u>Compuestos volátiles responsables del olor a viejo en naranjas almacenadas</u> ----		31
<b>2.4. Metabolitos de fermentación</b> -----		35
<b>2.5. Aspectos nutricionales y propiedades funcionales de los cítricos</b> -----		36
2.5.1. <i>Compuestos antioxidantes</i> -----		37
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> -----		39
<b>4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN</b> -----		39
<b>5. OBJETIVOS</b> -----		40
<b>5.1. Objetivo general</b> -----		40
<b>5.2. Objetivos particulares</b> -----		40
<b>6. HIPÓTESIS</b> -----		41
<b>7. MATERIALES Y MÉTODOS</b> -----		42
<b>7.1. Material biológico y procesamiento de muestras</b> -----		42
<b>7.2. Diseño experimental</b> -----		43
7.2.1. <i>Primer experimento</i> -----		46
7.2.2. <i>Experimento exploratorio</i> -----		47
7.2.3. <i>Segundo experimento</i> -----		48
<b>7.3. Procedimientos de medición y análisis</b> -----		49
7.3.1. <i>Porcentaje de pérdida de peso por transpiración (%PP)</i> -----		49
7.3.2. <i>Determinación de sólidos solubles totales (SST)</i> -----		49
7.3.3. <i>Determinación de acidez titulable (AT)</i> -----		49
7.3.4. <i>Determinación del índice de madurez (SST/AT)</i> -----		50
7.3.5. <i>Porcentaje de jugo</i> -----		50

7.3.6. Color -----	50
7.3.7. Prueba de compresión de frutos enteros -----	50
7.3.8. Rendimiento de aceite esencial -----	51
7.3.9. Determinación de metabolitos de fermentación y otros compuestos volátiles -	52
7.3.10. Determinación de compuestos del aroma en jugo -----	53
7.3.10.1. <u>Cromatografía de gases – Espectrometría de masas</u> -----	54
7.3.11. Evaluación sensorial -----	54
7.3.12. Determinación de actividad secuestradora del ion radical ABTS -----	55
<b>8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN -----</b>	<b>56</b>
<b>8.1. Porcentaje de pérdida de peso por transpiración (%PP) -----</b>	<b>56</b>
<b>8.2. Parámetros de calidad en jugo -----</b>	<b>60</b>
<b>8.3. Color -----</b>	<b>66</b>
8.3.1. Escala de color en flavedo -----	66
8.3.2. Escala de color en jugo -----	69
8.3.3. Determinación del color en los frutos -----	71
<b>8.4. Prueba de compresión de frutos enteros -----</b>	<b>78</b>
<b>8.5. Rendimiento de aceite esencial -----</b>	<b>80</b>
<b>8.6. Determinación de compuestos del aroma -----</b>	<b>82</b>
<b>8.7. Determinación de metabolitos de fermentación -----</b>	<b>89</b>
<b>8.8. Evaluación sensorial -----</b>	<b>93</b>
<b>8.9. Determinación de actividad secuestradora del ion radical ABTS -----</b>	<b>102</b>
<b>9. CONCLUSIONES -----</b>	<b>105</b>
<b>10. PERSPECTIVAS -----</b>	<b>108</b>
<b>11. BIBLIOGRAFÍA -----</b>	<b>109</b>
<b>ANEXOS -----</b>	<b>118</b>
<b>ANEXO 1. CURVAS DE CALIBRACIÓN DE COMPUESTOS VOLÁTILES -----</b>	<b>119</b>
<b>ANEXO 2. CURVAS DE CALIBRACIÓN DE METABOLITOS DE FERMENTACIÓN -----</b>	<b>121</b>
<b>ANEXO 3. CURVA DE CALIBRACIÓN DE ACTIVIDAD SECUESTRADORA DEL ION RADICAL ABTS -----</b>	<b>122</b>
<b>ANEXO 4. CROMATOGRAMAS CORRESPONDIENTES A LA METODOLOGÍA DE CROMATOGRAFÍA DE GASES-ESPECTROMETRÍA DE MASAS -----</b>	<b>123</b>
<b>ANEXO 5. CUESTIONARIOS APLICADOS A LOS CONSUMIDORES EN LA EVALUACIÓN SENSORIAL-----</b>	<b>125</b>
<b>A. Experimento exploratorio -----</b>	<b>125</b>
<b>B. Segundo experimento -----</b>	<b>126</b>



## RESUMEN

En este trabajo se investigó la capacidad de conservación de naranja 'Valencia' cultivada en sistemas convencional y orgánico a través del monitoreo de indicadores de senescencia en postcosecha. Las muestras para el estudio se obtuvieron de dos huertas comerciales en Tehuixtla y Zacapalco, estado de Morelos, la primera bajo un sistema de producción orgánica y la segunda convencional. La fruta fue cosechada en madurez comercial, seleccionada por ausencia de defectos y almacenada a 24 y 11 °C por períodos de 12-15 y 28-29 días en tres experimentos. A intervalos regulares durante el almacenamiento se evaluaron los parámetros especificados en las normas oficiales de calidad y otros componentes químicos como presuntos indicadores de senescencia.

La pérdida de peso debida a transpiración fue superior en los frutos almacenados a temperatura ambiente que en los refrigerados, y no mostró diferencia significativa entre sistemas de cultivo. El índice de madurez, determinado por el cociente sólidos solubles totales/acidez titulable, no presentó diferencias significativas por efecto del sistema de cultivo ni por la temperatura de almacenamiento. Además, los valores de este índice (13.1-24.1) estuvieron por arriba del intervalo marcado por las normas de calidad vigentes (7-12), lo cual se atribuyó a las condiciones climatológicas de las zonas de producción, caracterizadas por temperaturas muy elevadas que propiciaron una acidez baja en los frutos.

La cantidad de jugo generalmente fue superior al 40% (p/p), lo cual coincide con lo establecido por la norma mexicana NMX-FF-027-SCFI-2007.

Con base en los parámetros cromáticos L\*, a\* y b\* medidos, se calculó el índice de color de cítricos (ICC), el cual presentó una alta correlación con la apreciación visual del color de la fruta. Durante el almacenamiento se observó que el ICC del flavedo aumentó, mientras que en el jugo no presentó diferencias entre sistemas de cultivo ni entre temperaturas de almacenamiento.

La fuerza en Newtons (N), necesaria para comprimir la fruta 5 mm por su lado ecuatorial, guardó relación con la pérdida de peso (deshidratación) y se redujo durante las primeras semanas de almacenamiento a 24°C, de 35 a 28 N para después aumentar a medida que progresaba la deshidratación y la cáscara se endurecía. El punto de inflexión, que marca

el cambio de pendiente de la curva N vs tiempo, puede ser indicativo del inicio del proceso de senescencia del fruto y fue observado a los 21 días a temperatura ambiente, mientras que en refrigeración no se observó durante todo el periodo de almacenamiento.

El rendimiento del aceite esencial contenido en el flavedo de las frutas no mostró diferencias significativas durante el almacenamiento en ambas temperaturas.

Algunos volátiles del aroma característico de la naranja fresca son el linalool, limoneno, octanal, decanal y butanoato de etilo, mientras que dentro de los asociados con el olor a viejo los más reportados en jugos procesados son el  $\alpha$ -terpineol, el p-vinilguayacol y la 2, 5-dimetil-4hidroxi-3(2H)-furanona (DMHF, furaneol). De los volátiles monitoreados, el linalool, limoneno y el  $\alpha$ -terpineol estuvieron presentes tanto en jugo como en aceite esencial, mientras que el butanoato de etilo sólo fue detectado en jugo; octanal y decanal sólo se detectaron en el aceite esencial y el p- vinilguayacol no se detectó en el jugo ni en el aceite esencial.

Los perfiles de compuestos volátiles en el jugo durante el almacenamiento comenzaron a cambiar significativamente a los 21 días: los niveles de linalool y limoneno disminuyeron, mientras que los del  $\alpha$ -terpineol aumentaron; y la concentración del butanoato de etilo mostró diferencias con una pequeña disminución en los últimos días de almacenamiento.

Dentro de los metabolitos de fermentación, que también tienen un impacto en la percepción del aroma de los frutos, los niveles de acetaldehído en el jugo tendieron a disminuir al final del almacenamiento en las naranjas de los dos sistemas de producción almacenadas a las dos temperaturas. El nivel de etanol no mostró diferencias significativas respecto al análisis inicial en el almacenamiento a temperatura ambiente, y en refrigeración disminuyó al final del almacenamiento.

La capacidad antioxidante, medida por el ensayo de la actividad secuestrante del ión radical ABTS, mostró valores mayores en cáscara que en jugo; además, durante el almacenamiento a temperatura ambiente la capacidad antioxidante en la cáscara aumentó significativamente.

De manera simultánea a las pruebas fisicoquímicas se realizó una evaluación sensorial. Los resultados indicaron que los frutos fueron del agrado de los consumidores en casi todos los atributos evaluados durante el almacenamiento, excepto al día 21 a temperatura ambiente, cuando comenzaron a evaluar con desagrado los frutos, principalmente debido a los atributos de intensidad de acidez, cantidad de jugo y firmeza del fruto.

De acuerdo con los resultados anteriores, se concluyó que conviene establecer una norma de calidad específica para la naranja producida en las zonas citrícolas del Estado de Morelos o adaptar la existente que es de carácter nacional, a estas regiones productoras. En cuanto a los indicadores de senescencia, los cambios en la fuerza de compresión del fruto completo, la disminución en los niveles de limoneno y linalool, y el incremento en las concentraciones de  $\alpha$ -terpineol parecen ser los parámetros más informativos de este proceso biológico. Considerando estos parámetros, la naranja a temperatura ambiente (24°C) mostró una vida de almacenamiento de 21 días, lo cual fue confirmado con las evaluaciones sensoriales, en tanto que la naranja refrigerada no la agotó después de 27-28 días.

## **ABSTRACT**

The aim of this study was to evaluate the conservation capacity of 'Valencia' oranges grown in conventional and organic systems by monitoring senescence indicators after harvest. Fruit samples were obtained from two commercial orchards in Tehuixtla and Zacapalco, two regions of the state of Morelos in Mexico, grown under organic and conventional systems, respectively. Fruit samples were harvested at commercial maturity, selected by absence of defects, and stored at 24 and 11°C for 12-15 and 28-29 days, respectively in three consecutive experiments. At regular times during storage, the parameters specified in official quality standards were evaluated as well as other chemical constituents as indicators of senescence.

Weight loss by transpiration was higher in fruits stored at room temperature than in those kept at low temperature, and was not significantly different between either type of crop system. The maturity index, determined by the ratio of total soluble solids to titratable acidity (TSS/TA), did not differ significantly between type of crop system or storage temperature. Furthermore, the values obtained (13.1-24.1) were above the range currently specified by quality standards (7-12). This was likely a result of weather conditions in the orchards which were characterized by high temperatures that favored low values of acidity in the juice of fruits.

The volume of juice obtained was generally greater than 40% (w/w), which is consistent with the Mexican standard NMX-FF-027-SCFI-2007.

Based on the L\*, a\* and b\* color parameters, the citrus color index (CCI) was calculated, which showed a high correlation with the external color of the fruit. The flavedo CCI increased during storage, while the CCI of juice was no different either between crop systems or between storage temperatures.

The force in Newtons (N) necessary to compress the fruit 5 mm on its equatorial side, was correlated with weight loss (dehydration) and declined during the first weeks of storage at 24°C (from 35 to 28 N). Later, the compression force increased with both the degree of dehydration and the hardening of the peel. The inflection point, which marks a change in the slope of the curve N vs time, may indicate the onset of senescence and was observed

after 21 days in samples stored at room temperature, while being completely absent in refrigerated fruit for the entire length of the storage period.

The yield of the essential oil contained in the flavedo of fruits did not differ significantly during storage at either temperature.

Among the volatiles responsible for the characteristic aroma of fresh oranges are linalool, limonene, octanal, decanal and ethyl butanoate, while in aged or processed juices  $\alpha$ -terpineol, p-vinylguaiacol and 2, 5-dimethyl-4-hydroxy-3 (2H)-furanone (DMHF, furaneol) have been reported. Linalool, limonene and  $\alpha$ -terpineol were present in both the juice and essential flavedo oils of fresh fruits, while ethyl butanoate was only detected in juice; octanal and decanal were only detected in essential oil and p- vinylguaiacol was not detected either in juice or in the essential oil.

Profiles of volatile compounds in the juice during storage began to change significantly after 21 days of storage at room temperature; specifically, the concentrations of linalool and limonene decreased, while the level of  $\alpha$ -terpineol increased. The concentration of ethyl butanoate also showed differences, with a small decrease in the last days of storage.

Among fermentation metabolites, which also have an impact on the perception of fruit aroma, the levels of acetaldehyde in the juice tended to decrease towards the end of storage in both fruits of the two crop systems and at the two temperatures. Ethanol did not differ significantly during storage at room temperature, and at a low temperature, the level of ethanol decreased towards the end of storage.

Antioxidant capacity, measured by the ABTS ion radical scavenging activity assay, was higher in the peel than in the juice of fruits, and increased significantly in the peel during storage at room temperature.

A sensory evaluation was also performed that was concomitant with the above physicochemical tests. Results indicated a positive preference score by consumers in nearly all fruit attributes during most of the storage period, except after 21 days for fruit kept at room temperature. In this case, consumer evaluation was negative mainly due to the attributes of acidity, volume of juice and firmness of the fruits.

We concluded that it would be appropriate to establish a quality standard specific for the oranges produced in the citrus-growing areas of the State of Morelos or to adapt the existing national standard to these regions. Additionally, changes in the compression force of whole fruit, decreased levels of linalool and limonene, and increasing concentrations of  $\alpha$ -terpineol seem to be the most informative, and therefore, the most appropriate indicators of senescence. According to these parameters, oranges can be stored at room temperature (24 ° C) for up to 21 days, a fact that was confirmed by sensory evaluations, while the shelf life of refrigerated fruit was not exhausted even after 27-28 days of storage.

## 1. INTRODUCCIÓN

La elección de los alimentos de consumo habitual involucra aspectos relacionados con cultura, tradición y experiencias propias. Hay también otros factores determinantes como la situación económica, la salud, el medio ambiente y la evidencia científica respecto a los beneficios del consumo de un determinado tipo de alimentos. En la producción de alimentos de origen vegetal existen tres sistemas bien diferenciados de acuerdo a la naturaleza de las sustancias utilizadas para suministrar nutrientes y controlar plagas: convencional, orgánico e integrado.

El cultivo convencional utiliza agroquímicos como fertilizantes y plaguicidas; por otra parte, el sistema de producción orgánica tiene como propósito mantener el equilibrio del medio ambiente, procurando el respeto de los procesos naturales mediante el manejo de diversos factores que logren, a su vez, nuevos equilibrios entre los organismos que lo conforman: plantas, animales y microorganismos. En cuanto al manejo de plagas y enfermedades, la producción orgánica busca favorecer los mecanismos naturales de defensa de los organismos, obteniendo así alimentos libres de plaguicidas o fertilizantes químicos que degraden los recursos naturales y puedan perjudicar nuestra salud. De esta manera, un aumento en la proporción de alimentos producidos mediante agricultura orgánica reduciría los costos asociados a la regeneración y limpieza del medio ambiente (La Rosa et al., 2008). Sin embargo, dado que estos productos no son tratados con fungicidas químicos, sufren un mayor daño causado por microorganismos a velocidades relativamente altas (Porat et al., 2000). Por su parte, los sistemas integrados de cultivo sólo minimizan el uso de agroquímicos reemplazándolos por alternativas ambientalmente amigables sin descuidar los aspectos económicos (Glover et al., 2000).

Tanto el sistema orgánico como el integrado se consideran más seguros para el ambiente, la principal diferencia entre ambos radica en que el integrado incluye un “Manejo Integral de Plagas” (*Integrated Pest Management*), el cual combina medios naturales y fungicidas específicos a bajas dosis, inocuos y amigables con el medio ambiente; además de que se orienta a la producción comercial en gran escala.

Los consumidores actuales buscan alimentos más saludables y su elección de compra tiende a ser cada vez más informada y responsable, tomando en cuenta su bienestar y el del medio ambiente. El interés por estos productos ha aumentado en los últimos años,

pues mientras que para algunos la inocuidad alimentaria parece ser el aspecto fundamental, para otros lo primordial es el medio ambiente (Hoefkens et al., 2010).

Es muy extendida la creencia de que los productos orgánicos poseen mejores cualidades nutrimentales y sensoriales que sus análogos convencionales. En un estudio con consumidores realizado en Tailandia, Roitner- Schobesberger et al. (2008) encontraron que las principales razones que manifestaron éstos para comprar productos orgánicos fue que esperaban que fueran más saludables además de ser amigables con el ambiente. La confirmación de estas aseveraciones aún no es contundente por lo que es un tema actual de investigación para los productores y científicos dedicados a los alimentos (Roussos, 2011).

Respecto a los frutales, el cultivo de cítricos es importante para México pues de acuerdo a datos publicados por la SAGARPA (2012a) se destina aproximadamente medio millón de hectáreas para este propósito, las cuales se distribuyen en 23 estados de clima tropical y subtropical de la República Mexicana, siendo los más importantes Veracruz, San Luis Potosí y Tamaulipas.

Debido a la relevancia comercial de estos frutos, es crítico realizar una evaluación correcta de su estado de desarrollo fisiológico así como sus características de calidad. Además de la apariencia (textura, color, brillo de la cáscara, entre otras cualidades), el sabor y gusto propios de la naranja son atributos esenciales para su viabilidad comercial. Por lo tanto, el conocimiento de los compuestos que afectan esos atributos de calidad, principalmente volátiles, azúcares y ácidos orgánicos, así como los factores que los modifican, es de vital importancia.

En este trabajo se investiga la capacidad de conservación de naranjas variedad Valencia cultivada en sistemas convencional y orgánico a través del monitoreo de indicadores de senescencia en postcosecha tales como: metabolitos de fermentación (acetaldehído, etanol y acetato de etilo) presentes en el jugo, volátiles típicos del sabor a naranja y aquellos responsables del olor a viejo presentes tanto en jugo como en aceite esencial, capacidad antioxidante y otras características de calidad (color del flavedo y jugo, acidez titulable, sólidos solubles totales, cociente SST/AT, porcentaje de jugo, prueba de



compresión de frutos, rendimiento de aceite esencial y pérdida de peso por transpiración).

## **2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. Características generales y de calidad de los cítricos**

La familia botánica de las Rutáceas es muy amplia y abarca unas 1700 especies de plantas que crecen en climas cálidos y templados, a ella pertenece el género *Citrus* que incluye frutos como la naranja dulce (*C. sinensis* Osbeck), la naranja ácida (*C. aurantium* Linn.), la mandarina (*C. reticulata* Blanco), el limón (*C. limon* Burm.), la lima ácida o limón Mexicano (*C. aurantifolia* Swingle), el pomelo (*C. máxima* Burm.) y la toronja (*C. paradisi* Macfad), entre otros.

Se considera que las naranjas se han cultivado desde tiempos remotos y son nativas de las regiones tropicales de Asia, especialmente del archipiélago Malayo. A partir de su hábitat natural, el cultivo de naranja se propagó a la India, la costa este de África y desde allí a Levante, España. Poco después del inicio de la era cristiana (mitad del siglo I), la naranja fue cultivada en Italia y se tienen registros de que durante el siglo IV, los frutos cítricos incluyendo la naranja fueron motivos en los mosaicos bizantinos. Probablemente, las cuatro actividades humanas que más contribuyeron a la temprana expansión del cultivo de naranja fueron la conquista romana, las rutas comerciales árabes, la práctica y diseminación del islamismo alrededor del Mar Mediterráneo (excepto en las costas francesa e italiana) y las Cruzadas. A partir de Europa, los cítricos se esparcieron a América, Sudáfrica y, finalmente, a Australia (Tolkowsky, 1938, citado por Batchelor y Sinclair, 2012).

En el siglo XVI los españoles establecieron las primeras plantaciones de naranja dulce en Florida, México y en algunas partes de Sudamérica. Fue hasta finales del siglo XIX que se estableció la producción comercial de naranja en Florida y California. En la actualidad, las naranjas dulces se producen en todas las regiones subtropicales del mundo, donde el clima es favorable, es decir que no es severo durante el invierno y el suelo es apropiado (Batchelor y Sinclair, 2012).

Existe una concentración importante de la producción comercial de naranja en los Estados Unidos (Florida, California, Texas y Arizona), España, Italia, Brasil, Argentina, Israel, Sudáfrica y algunos países del norte de África (Ryall y Pentzer, 1974).

Asimismo, muchas regiones desérticas se han acondicionado para el cultivo de cítricos mediante el desarrollo de instalaciones de irrigación y grandes extensiones de superficie de tierras bajas para desagüe. También se han desarrollado técnicas de protección contra las heladas y el frío para extender el cultivo de cítricos a regiones del norte donde antes no era rentable (Ting y Attaway, 1971).

### 2.1.1. Fisiología y composición de los frutos cítricos

Estructuralmente, los cítricos son bayas especiales llamadas hesperidios que están constituidas por tres partes principales: el *exocarpio*, el *mesocarpio* y el *endocarpio*. De manera convencional, el conjunto de exocarpio y mesocarpio se denomina cáscara o corteza.

El exocarpio, la parte colorida de la cáscara, se denomina *flavedo* y en él se encuentran los pigmentos como la clorofila y los compuestos carotenoides, así como las glándulas oleíferas que contienen el aceite esencial. El mesocarpio se denomina *albedo* y constituye la fracción interna de la cáscara, de color blanco y cuya composición es principalmente celulosa, carbohidratos, sustancias pécticas y flavonoides. Por su parte, el endocarpio es la parte comestible del cítrico y está constituido por segmentos o gajos en el interior de los cuales se encuentran las vesículas que contienen células llenas de jugo y las semillas (Figura 1) (Safina, 1978).

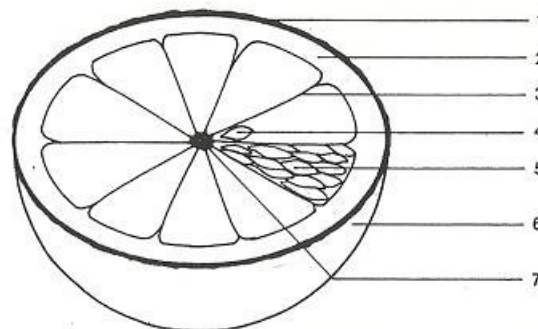


Figura 1. Estructura de los frutos cítricos.

1= flavedo; 2= albedo; 3= membranas carpelares; 4= semillas; 5= vesículas de jugo; 6= glándulas de aceite esencial; 7= eje central (Safina, 1978).

### *2.1.2. Parámetros de calidad de la naranja*

Para que un fruto sea destinado al consumo humano es necesario que haya alcanzado un grado suficiente de maduración y se encuentre sano. En tal contexto, un fruto se considera maduro cuando su contenido de azúcares, sustancias aromáticas y ácidos, entre otros, ha alcanzado un nivel que lo hace aceptable al gusto del consumidor. El cultivar, los factores climáticos y las labores culturales son aspectos que afectan directamente el desarrollo de los frutos, provocando que puedan presentar considerables variaciones en sus características físicas y sensoriales. Según Sams (1999), el suministro de nutrientes es un factor precosecha que afecta fuertemente la calidad postcosecha de frutas y hortalizas, por ejemplo, se ha reportado que el nitrógeno, el fósforo, el potasio y el calcio tienen efectos notables en la textura y el tamaño de los productos hortofrutícolas. A pesar de estas variaciones, se debe cumplir con un mínimo de requerimientos de calidad para que tales productos sean aptos para su consumo.

De acuerdo con Arpaia y Kader (2012), en los Estados Unidos se considera como **índice de cosecha** para la naranja una relación de sólidos solubles totales: acidez titulable (SST/AT) mayor o igual a 8.0 y un color amarillo-naranja en al menos 25% de la superficie del fruto, o una relación SST/AT mayor o igual a 10.0 y un color verde-amarillo en al menos 25% de la superficie del fruto.

Asimismo, respecto a **características de calidad**, se deben evaluar la intensidad y uniformidad de color, la firmeza, el tamaño, la forma, la uniformidad y tersura de la cáscara, la ausencia de pudriciones y defectos incluyendo daño físico (abrasión y magulladuras), manchas u oscurecimientos en la cáscara, daño por congelamiento o por frío y daño por insectos. La calidad del sabor se evalúa mediante la relación SST/AT, la presencia de compuestos volátiles que imparten el aroma típico del fruto y la ausencia de compuestos que producen sabores indeseables, incluyendo volátiles con aroma a viejo y metabolitos producidos por fermentación (Arpaia y Kader, 2012).

En México, las especificaciones de calidad que deben cumplir las naranjas frescas para consumo humano se regulan de acuerdo a la norma mexicana NMX-FF-027-SCFI-2007 (Dirección General de Normas, Secretaría de Economía, 2007) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Especificaciones de calidad para naranja fresca.

<b>Características sensoriales</b>	Estar enteras	
	Tener consistencia firme y de aspecto fresco	
	Ser de forma y color característicos de la especie y de acuerdo a la variedad	
	Estar sanas interior y exteriormente, excluyendo todo producto afectado por pudrición o que esté deteriorado de tal forma que no sea apto para su consumo	
	Estar exentas de daños causados por plagas o enfermedades	
	Estar limpias, exentas de materia extraña visible (tierra, manchas o residuos de materia orgánica)	
	Exentas de humedad exterior anormal	
	Exentas de cualquier olor y/o sabor extraño	
	Presentar estado de desarrollo y madurez suficiente que les permita soportar el transporte, el manejo y llegar en condiciones satisfactorias a su destino	
<b>Madurez (punto sazón o madurez fisiológica)</b>	<i>Contenido de jugo</i>	No menor de 40% en peso (masa)
	<i>Sólidos solubles totales: acidez titulable (expresada como ácido cítrico)</i>	No menor de 7:1
<b>Presencia de defectos</b>	<i>Extra</i>	Sin defectos, salvo superficiales muy leves que no afecten: aspecto general del producto, estado de conservación y presentación. Uniformes en grado de madurez, color y tamaño. Tolerancia por lote o envase: 5% en número o en peso (masa) que no reúnan todos los requisitos para este grado, pero que satisfagan los del grado Primera.
	<i>Primera</i>	Uniformes en grado de madurez, color y tamaño. Pueden presentar defectos leves que cubran un área menor de 0.5 cm <sup>2</sup> de superficie total del fruto (raspaduras, costras, manchas, quemaduras de sol u otras que no afecten el interior, el aspecto general del producto, conservación y presentación en el envase). Tolerancia por lote o envase: 10% en número de naranjas que no reúnan los requisitos de este grado, pero que satisfagan los del grado Segunda.
	<i>Segunda</i>	Naranjas que no se clasifican en grados superiores pero cumplen con características sensoriales. Uniformes en cuanto al grado de madurez, color y tamaño. Se permiten defectos, siempre que las naranjas conserven sus características esenciales de estado de conservación y presentación (defectos en cáscara debido a raspaduras, costras, manchas, quemaduras de sol u otros, en áreas mayores a 0.5 cm <sup>2</sup> ). Los defectos no deben afectar el interior de la naranja. Tolerancia por lote o envase: 15% en número de naranjas que no reúnan los requisitos de este grado, excluyendo naranjas afectadas por pudrición u otro deterioro que las haga impropias para su consumo.
<b>Tamaño y color</b>	<i>Tamaño</i>	Mínimo 58 mm diámetro ecuatorial para los 3 grados de calidad.
	<i>Color</i>	Característica de variedad. Coloración natural puede modificarse mediante los procesos no tóxicos de desverdizado o pintado. Cuando la fruta se ha pintado, debe indicarse en el envase. Tolerancia por lote o envase: 10% en número o en peso de naranjas que no cumplan requisitos de tamaño y considerando para este parámetro la homogeneidad de color para los 3 grados de calidad.

Fuente: Norma mexicana de calidad NMX-FF-027-SCFI-2007 (Dirección General de Normas, Secretaría de Economía, 2007).

Entonces, los parámetros indicados por normas internacionales para evaluar la calidad de las naranjas incluyen el índice de madurez, el tamaño de los frutos, la apariencia del flavedo y el color que éste presenta, además de la cantidad de jugo y la presencia de defectos externos, entre otros. Sin embargo, estos parámetros no dan una idea precisa sobre la calidad en el sabor de los frutos (olor, aroma y calidad gustativa), sus características de textura o incluso su capacidad de conservación.

Las propiedades de textura de los frutos son una característica importante de calidad pues contribuyen a la apariencia de éstos y a la percepción que puedan tener de ellos los consumidores; durante el almacenamiento, éstas propiedades se van modificando debido a cambios químicos y deshidratación de la cáscara (Ladaniya, 2008). Al diseñarse las estrategias de manejo postcosecha, empaque, transporte y almacenamiento, las propiedades mecánicas de los frutos son un factor que debe considerarse para alargar su vida útil. Con respecto a esto, existen diferentes pruebas que evalúan dichas propiedades, la prueba de compresión de frutos consiste en presionar lentamente la muestra con una sonda y registrar la fuerza requerida para lograr la deformación del producto; esta prueba simula las condiciones de carga estática que los frutos pueden experimentar durante el manejo mecánico y almacenamiento; por ejemplo, la práctica más común por parte de los consumidores para determinar la madurez de los frutos es presionarlos con la punta de los pulgares (Singh y Reddy, 2006).

## **2.2. Panorama de la producción de naranja a nivel nacional e internacional**

La producción y el consumo mundiales de cítricos han registrado un fuerte crecimiento desde las dos últimas décadas del siglo XX, lo cual se debe principalmente a un aumento en las áreas destinadas para su cultivo y el cambio en las preferencias de los consumidores hacia alimentos más sanos (UNCTAD, 2013).

De acuerdo con el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, 2014), se ha estimado un crecimiento del 2% en la producción global de naranja respecto al año anterior, alcanzando 50.7 millones de toneladas con las mayores producciones en China y Brasil. Además, el consumo en fresco se ha incrementado, mientras que la cantidad de fruta empleada para procesamiento y exportación permanece relativamente constante.

De acuerdo a estadísticas de la FAO (2012) para el periodo 2009-2010, México ocupa el quinto lugar a nivel mundial en producción de cítricos (6%), detrás de países como China (22%), Brasil (16%), Estados Unidos (9%) e India (7%). Asimismo, México también es el quinto país productor de naranja fresca (6%) después de Brasil, Estados Unidos, China e India y colocándose por encima de España, Egipto e Italia.

La naranja es considerada como una de las frutas de mayor importancia en el país, tanto por la superficie destinada para su cultivo, como por la producción y el consumo *per cápita*, que es cercano a 40 kg (SAGARPA, 2012b).

Para México, el cultivo de cítricos es una actividad de gran importancia dentro de la fruticultura nacional y se destina aproximadamente medio millón de hectáreas para este propósito, las cuales se distribuyen en 23 estados con clima tropical y subtropical de la República (SAGARPA, 2013). De esa superficie, aproximadamente 80% se destina a los denominados cítricos dulces, cuya producción es del orden de 4.9 millones de toneladas por cosecha, principalmente naranja (83%), toronja (8%), mandarina (5%) y tangerina (4%) (SAGARPA, 2012a).

Respecto a la producción total nacional de naranjas frescas, el estado más importante es Veracruz con 49.2%, seguido por San Luis Potosí con 11.6%, Tamaulipas con 9.5%, Nuevo León con 7.7% y Puebla con 6.9% (SAGARPA, 2013). Cabe agregar que la mayor parte de la producción mexicana de naranja corresponde al cultivar Valencia.

Por su parte, el cultivo de cítricos en el estado de Morelos es relativamente reciente, inició esta actividad en el año 2002; en el caso de la naranja, se destinan 167.8 hectáreas para su siembra con una producción anual aproximada de 4,524 toneladas de acuerdo con datos de SAGARPA (2013). Debido a la reciente introducción de la actividad citrícola en Morelos, son escasos los estudios sobre el impacto que tiene el clima predominante en la región sobre las características fisiológicas y de calidad de la naranja que ahí se cultiva.

### **2.3. Compuestos volátiles**

El sabor que percibimos de los alimentos es el resultado de las sensaciones integradas del gusto y del olor (percepción nasal) o del aroma (percepción retronasal). El gusto se debe principalmente a compuestos no volátiles cuyas percepciones se clasifican en cuatro

tipos básicos: salado, amargo, dulce y ácido. Por su parte, el aroma consiste en una mezcla de cientos de diferentes compuestos orgánicos en bajas concentraciones (partes por millón o partes por billón) que son detectados por nuestro sentido del olfato.

La literatura reporta miles de diferentes compuestos identificados en el aroma de los alimentos, entre ellos ésteres, alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos, hidrocarburos, aminas, mercaptanos, terpenos, éteres y lactonas (Cabral et al., 2010).

De acuerdo con Norman (1977), en el estudio de frutos cítricos el término 'volátiles' se usa para describir componentes extraídos de tejido macerado o de aceite por varios métodos, los cuales incluyen destilación, extracción con disolventes, extracción con vacío y la purga con gases como nitrógeno ( $N_2$ ) y dióxido de carbono ( $CO_2$ ). Asimismo, el término 'volátiles' también describe las emanaciones gaseosas de los frutos cítricos intactos y los componentes presentes en el espacio de cabeza de sus jugos correspondientes.

### *2.3.1. Compuestos volátiles del aroma de cítricos*

El aroma típico de la naranja está dado por una mezcla compleja de compuestos volátiles, de los cuales se ha identificado más de 300 mediante estudios por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas; de ellos, menos de 25 parecen tener una actividad odorífera significativa a los niveles encontrados en el jugo fresco de naranja. Sin embargo, la forma de extraer el jugo, la madurez de los frutos y el cultivar son factores que alteran la lista de aromas con actividad significativa (Pérez- Cacho y Rouseff, 2008).

Los aceites esenciales son líquidos volátiles, en su mayoría insolubles en agua, pero fácilmente solubles en alcohol, éter y aceites vegetales y minerales, químicamente son mezclas de diversos compuestos en las que predominan los monoterpenos ( $C_{10}$ ) y los sesquiterpenos ( $C_{15}$ ), cuyo precursor biológico es el ácido mevalónico (Yáñez Rueda et al., 2007).

De los terpenos, el (R)-limoneno es el principal componente de los aceites esenciales de los cítricos. El carácter del aroma y sabor depende principalmente de los derivados oxigenados de los terpenos (aldehídos, cetonas, ésteres, alcoholes y ácidos grasos). Estos aceites tienen un gran valor en la industria de los saborizantes de alimentos y

bebidas, en la industria farmacéutica y de perfumería y cosméticos, así como otros usos químicos (Braddock, 1999).

De acuerdo con Yáñez Rueda et al. (2007) la formación de los aceites esenciales ocurre en las regiones de la planta ricas en clorofila; durante el crecimiento, éstos son transportados a otros tejidos, concretamente a las yemas florales. Hasta el momento, se desconoce la función exacta de un aceite esencial en un vegetal: podría servir para atraer los insectos, para la polinización o para repeler a los insectos nocivos, o ser simplemente un producto metabólico intermedio.

La cáscara de los cítricos contiene glándulas de aceite en el flavedo (glándulas oleíferas), las cuales se extienden hasta diferentes profundidades dentro del albedo de todas las frutas cítricas (Braddock, 1999). Davis (1932) citado por Ting y Attaway (1971) encontró que los compuestos volátiles relacionados con el sabor y el aroma de los cítricos están generalmente asociados con el aceite esencial de la cáscara, pero también se encuentran en los sacos de aceite que están inmersos en las vesículas de jugo.

En el caso de las naranjas, se ha observado que la cantidad y tipo de compuestos volátiles presentes en el aceite embebido en las vesículas de jugo es diferente en comparación con el aceite de la cáscara (Baldwin et al., 2012). Por ejemplo, de acuerdo con Coleman y Shaw (1971), el valenceno está presente en mayor cantidad en el aceite inmerso en el jugo que en el aceite de la cáscara.

Por lo tanto, el sabor de la naranja no es el resultado de unos cuantos compuestos sino de la interacción de una cantidad notable de ellos: azúcares, ácidos orgánicos y los volátiles responsables del aroma típico. Asimismo, existe otro tipo de compuestos volátiles que se asocian al olor a viejo y que se van formando a medida que los frutos pasan de las etapas de crecimiento y maduración para entrar en la senescencia. En diversos frutos el desarrollo de sabores y olores no deseados puede relacionarse también con la acumulación de metabolitos de fermentación causada por la exposición a ambientes anaerobios así como otros tipos de estrés (Pesis, 2005).



### 2.3.1.1. Compuestos volátiles en la cáscara de los cítricos

Las cantidades de aceite esencial obtenidas de la extracción de distintas variedades de cítricos han sido estimadas por varios investigadores. Hood y Russell (1916) citados por Braddock (1999) reportaron que se podían obtener 3.5kg de aceite/ton de naranja mediante un proceso de escarificación/prensado, asimismo, para limones California de 4 a 10 kg/ton y para naranjas Valencia de 2 a 4.5 kg/ton por los métodos de prensado manual–extracción “a la esponja” y mecanizados (Poore, 1932, citado por Braddock, 1999). En el cuadro 2 se presentan valores teóricos del contenido de aceite esencial recuperable en diversas variedades comerciales de cítricos de Florida.

Cuadro 2. Valores teóricos del contenido de aceite de la cáscara de los principales cultivares de cítricos.

Especie	Cultivar	Muestras	kg aceite/ton fruta			
			Mínimo	Máximo	Promedio	Desv. Est.
Naranja	<i>Hamlin</i>	64	3.50	4.10	3.90	0.75
	<i>Pineapple</i>	100	3.55	7.00	4.85	0.50
	<i>Valencia</i>	255	5.20	8.15	6.75	0.90
Mandarina	<i>Dancy</i>	45	6.75	8.70	7.75	0.90
	<i>Temple</i>	47	3.4	4.55	3.95	0.35
Tangelo	<i>Orlando</i>	36	4.85	6.35	5.65	0.35
Toronja	<i>Duncan</i>	83	2.4	3.45	2.80	0.30
	<i>Marsh</i>	87	2.75	3.65	3.10	0.25
	<i>Ruby</i>	82	2.55	3.90	3.25	0.25
Limón	<i>Bearss</i>	270	5.95	9.60	7.55	1.20
	<i>Persa</i>	121	3.65	4.60	4.05	0.60

Adaptado de Braddock (1999).

El (R)-limoneno ha sido un subproducto cítrico de importancia comercial durante los últimos 60 años. Químicamente, es un miembro de la familia de los monoterpenos cíclicos, con la fórmula condensada C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>, si se almacena a temperaturas elevadas en contacto con el aire puede polimerizarse, disminuyendo su rotación óptica y por lo tanto su pureza, reacción que puede ser catalizada por radicales libres y favorecida por la exposición a la luz solar. El almacenamiento comercial puede requerir la adición de un antioxidante adecuado, como 50-200ppm de butil hidroxitolueno (BHT), el cual es volátil y puede ser removido para muchas aplicaciones industriales de limoneno (Braddock, 1999).

Los principales compuestos volátiles del aceite esencial de la cáscara además del limoneno (>90%) son mirceno, sabineno, α – pineno, linalool y decanal, los cuales son

introducidos al jugo de naranja durante el proceso de extracción de éste (Azar et al., 2011).

#### 2.3.1.2. Compuestos volátiles en el jugo de cítricos

Una considerable cantidad de aceite de la cáscara puede migrar hacia el jugo durante el proceso de extracción de este último, dependiendo del tipo de fruta y del sistema de extracción; el contenido de aceite de la cáscara en el jugo puede ser tan alta como 0.06% en volumen en circunstancias donde el objetivo es obtener una recuperación máxima de jugo (Braddock, 1999). La cantidad de aceite del flavedo, albedo y membranas carpelares puede estar influenciada por los diferentes métodos de extracción. Los procesos térmicos como la pasteurización generalmente causan pérdida de ésteres y aldehídos y la formación de sabores indeseables como el  $\alpha$ -terpineol (Perez – Cacho y Rouseff, 2008).

El  $\alpha$ -terpineol es un compuesto que se forma por la degradación oxidativa del limoneno y tiene un impacto negativo en la calidad del sabor pues es bien conocido por su contribución al sabor a viejo en el jugo de naranja cuando su concentración excede de 2  $\mu\text{g/g}$  (Baldwin et al., 2012).

Jordan et al. (2001) encontraron que el  $\alpha$ -terpineol está asociado a la pulpa, por lo que una disminución en la cantidad de pulpa resultaría benéfico en el mantenimiento de la calidad del sabor de jugos de naranja almacenados.

Para recuperar el aceite del jugo se utiliza un proceso de centrifugación en un separador de dos fases o pulidor de aceite, donde una emulsión concentrada del jugo se clarifica para reducir su contenido de aceite en un 50 – 65%. Esta clarificación es similar a la recuperación de aceite por prensado en frío (Braddock, 1999). Los aceites extraídos del jugo de naranja se han descrito con menos aldehídos y más ésteres que los aceites obtenidos por prensado en frío; asimismo, un mayor contenido de ésteres se ha asociado con un aroma más parecido al característico de jugo fresco (Braddock y Kesterson, 1976), probablemente debido a las notas afrutadas que caracterizan a estos compuestos.

Los ésteres, los aldehídos y los alcoholes de bajo peso molecular son solubles en agua y por lo tanto se localizan en las vesículas de jugo (Perez – Cacho y Rouseff, 2008).

### 2.3.1.3. Métodos de extracción de aceites esenciales de los cítricos

Durante siglos se obtuvieron cantidades comerciales de aceite de limón en el lugar de origen de los aceites esenciales, Sicilia (Italia), mediante el prensado de las cáscaras en prensas de tornillo de madera o exprimiendo manualmente esponjas saturadas de aceite en contacto con frutas escarificadas. Las primeras estrategias de recuperación de aceite de naranja dulce en los Estados Unidos se basaron en las técnicas manuales de extracción “a la esponja”, destilación al vacío de los extractos acuosos y por prensado de las cáscaras extraídas con agua (Braddock, 1999).

Comercialmente, la extracción de los aceites esenciales se lleva a cabo por acción de máquinas apropiadas sobre la cáscara de los cítricos y sucesiva separación centrífuga de la emulsión agua-aceite obtenida. Los aceites esenciales así obtenidos son llamados “*de extracción en frío*”.

Safina (1978) ha realizado una exposición detallada del proceso de extracción en frío, indicando que es posible distinguir tres variaciones: primero la obtención del aceite esencial y después del jugo o viceversa, o bien llevando a cabo las dos operaciones al mismo tiempo.

El proceso de extracción ocurre debido a que el aceite ejerce una presión apreciable sobre las paredes de las glándulas en las cuales está contenido y tiende a salir con fuerza cada vez que la pared externa de éstas se rompe. Mientras más turgente está el fruto y la cáscara, tanto más fácil y completa es la extracción del aceite.

Todos los sistemas de extracción se basan en el principio de la ruptura o laceración de las paredes de las glándulas de aceite y en el aprovechamiento de la presión natural que ejerce el aceite en el interior de estas paredes.

Existen principalmente dos sistemas utilizados para la ruptura de las glándulas, para ello se emplean diferentes máquinas que pueden ser las denominadas raspadoras (“*pelatrici*”) y las “*sfumatrici*”; las primeras operan sobre el fruto entero, las segundas sobre la cáscara o, más bien, sobre los medios frutos sometidos preliminarmente a la extracción del jugo. Algunos diagramas de estas máquinas se muestran en la figura 2.

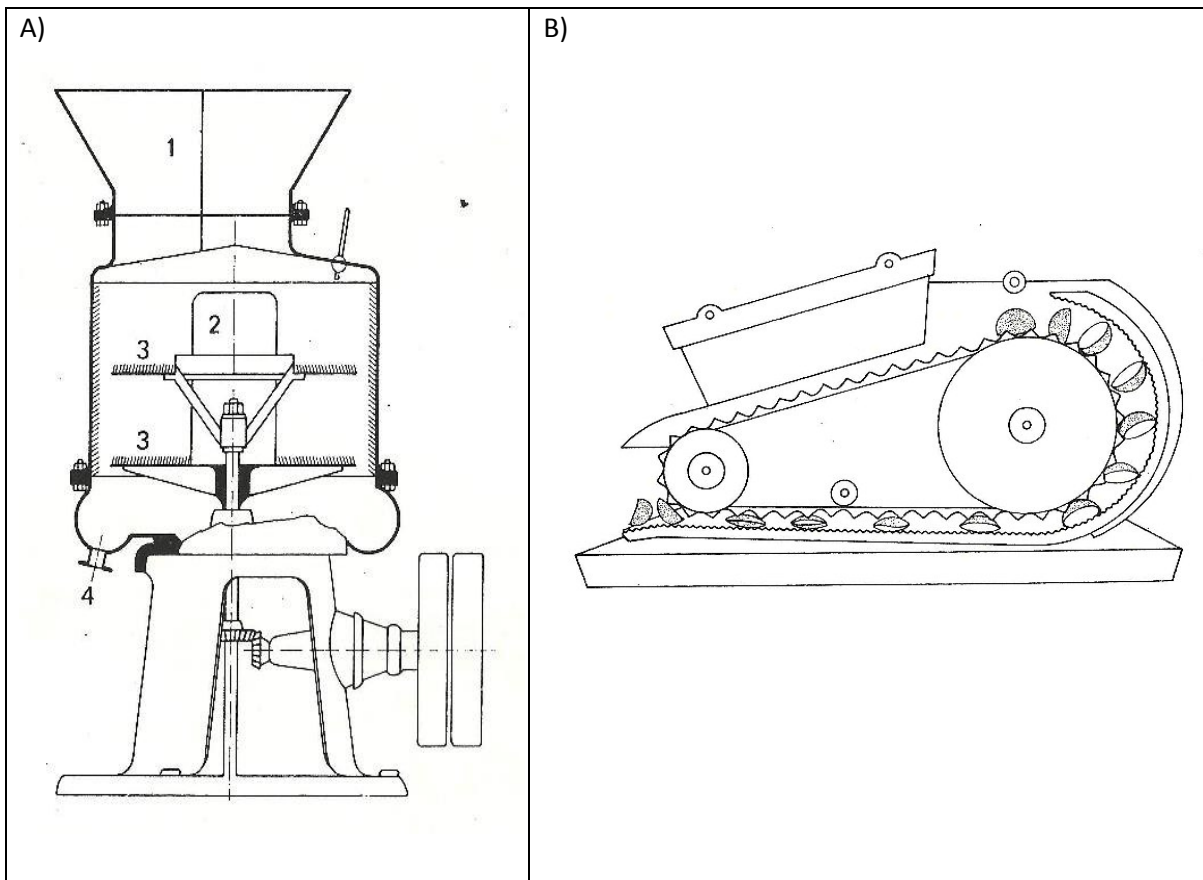


Figura 2. Ejemplos de equipo industrial empleado para la extracción de aceite esencial de cítricos. A) Raspadora 'Avena' (Fratelli Avena, Messina). 1= Tolva de alimentación, 2= Compuerta de descarga, 3= Platos abrasivos, 4= Salida emulsión. B) *Sfumatrice Speciale* (Francesco Speciale-Giarre, Catania): esquema de funcionamiento (Safina, 1978).

El principio en el que se basan las raspadoras consiste en ejercer sobre las cáscaras una acción abrasiva que lacera la superficie externa de las glándulas y provoca la expulsión del aceite, mientras que las "*sfumatrici*" se basan en provocar, con dispositivos especiales que son característicos de cada máquina, la expulsión del aceite por plegado o ruptura de la epidermis y de las glándulas, y la consiguiente creación, en la cáscara, de áreas comprimidas circundadas por áreas a presiones menores que permiten la expulsión del aceite.

La operación de extracción mecánica del jugo ("*birillatura*") o de la extracción manual del endocarpio entero por medio de un cuchillo especial ("*cavatura*"), lleva a un debilitamiento de la cáscara y consecuentemente a una reducción de la presión ejercida por el aceite sobre las paredes de las glándulas, además, aumenta la superficie de contacto de los líquidos extraídos con las paredes internas de la cáscara, las cuales son esponjosas y,

por consiguiente, los absorben con facilidad. Por lo tanto, las cáscaras antes de someterse a la “*sfumatura*”, son tratadas con una disolución de hidróxido de calcio (generalmente al 10%) que reacciona con los componentes pécticos del albedo, volviendo la cáscara más turgente y menos absorbente, lo cual permite una extracción más completa y una recuperación más fácil del aceite.

La inmersión de las cáscaras en lechada de cal dura pocos minutos (4–5, en promedio), a continuación son drenadas y se dejan en reposo por 8-10 horas (generalmente una noche) para dar tiempo a la cal de reaccionar con las sustancias pécticas. Este reposo se realiza extendiendo en el piso las cáscaras tratadas con cal (teniendo cuidado de distribuir las uniformemente y mantener la capa de cáscaras con una altura menor de 25–30cm) o recogéndolas en cestas adecuadas. Después del reposo, las cáscaras, turgentes, se lavan en agua para eliminar el exceso de cal y de aquí se envían a las máquinas extractoras de aceite (“*sfumatrici*”).

El aceite esencial apenas salido de las glándulas en las cuales está contenido, tiende a ser reabsorbido por el tejido esponjoso del albedo o a dispersarse en el aire durante la extracción debido a su volatilidad. Por lo tanto, cualquiera que sea el sistema de extracción adoptado (“*sfumatrice*” o “*pelatrice*”) la operación se lleva a cabo sometiendo simultáneamente el fruto (o cáscara) a fuertes aspersiones de agua cuya función es exclusivamente la captación y el transporte mecánico del aceite esencial.

Universalmente, el agua es el acarreador del aceite de la cáscara cuando es extraído de las glándulas de aceite y entra al proceso de recuperación; debido a que la mayoría de los componentes del aceite son insolubles en agua, la recuperación involucra el manejo de emulsiones aceite-agua y suspensiones homogéneas (Braddock, 1999).

La emulsión aceite – agua se somete, entonces, a separación por centrifugación y el agua separada se recircula al extractor para mejorar la eficiencia del proceso. Por otro lado, dado que la emulsión contiene casi siempre fragmentos de cáscara y otros detritos, ésta se pasa primero a través de máquinas adecuadas dotadas de filtros rotatorios, prensas de tornillo o por la combinación de las dos.

La emulsión así obtenida no contiene ya fragmentos sólidos grandes y hace más simple la operación de centrifugación, mediante la cual no solo se separa el agua del aceite sino que se eliminan también, simultáneamente, las impurezas aún en suspensión, comúnmente llamadas “lodos”.

Entre los diseños comerciales de los principales extractores se encuentran los de *FMC FoodTech Citrus Systems Division*, *Brown International Corporation* y máquinas italianas que utilizan los principios de operación antes mencionados, como la línea *Indelicato Polycitrus*, que se usan para la recuperación de aceite esencial y jugo. Con algunas excepciones, la extracción del aceite de la cáscara es simultánea en los sistemas de extracción de jugo usando equipos FMC, Brown o los italianos (Braddock, 1999).

Resulta de particular interés el funcionamiento de las máquinas italianas en estos procesos de extracción debido a las propiedades que presentan los aceites obtenidos (Braddock, 1999). En estos procedimientos se evita el deterioro o contaminación de los aceites esenciales por el uso de disolventes orgánicos o altas temperaturas de operación.

Además del aceite esencial obtenido por extracción en frío, que es el de mayor demanda, la industria prepara también: aceite destilado o *peratoner*, aceites esenciales concentrados, aceites esenciales desterpenados y desesquiterpenados, alcoholatos y *neroli* (petit grain) (Safina, 1978).

La extracción del jugo y del aceite presenta, cada una, problemas particulares en relación al tipo de fruta a procesar, ya que es diferente el valor comercial de los mismos derivados en diferentes cítricos, asimismo es diferente la calidad de los productos obtenidos en relación a los procesos de elaboración utilizados (Safina, 1978).

#### 2.3.1.4. Compuestos volátiles típicos del aroma de naranja fresca

Actualmente, se reconoce la importancia de las prácticas culturales para los rendimientos de los cultivos y la calidad de la fruta y el jugo. Considerando la superficie de una fruta individual, se ha encontrado que hay más aceite en la mitad estilar y las áreas de las frutas orientadas al sur en las huertas de naranjas Valencia de California (Bartholomew y Sinclair, 1946).

El contenido de aldehído en el aceite de naranja es un indicador primario de fuerza en el sabor y mientras mayor sea, mejor. Un estudio sobre el efecto de la madurez de las frutas en las propiedades físicas y químicas del aceite de naranjas Valencia indicó que el aceite proveniente de frutas inmaduras (verdes) tuvo un 1.3% de aldehídos y carecían del carácter fresco, mientras que el aceite proveniente de frutas maduras contuvo un 1.8% de aldehídos y buen aroma. Los frutos cítricos en el punto óptimo de madurez y firmeza deberían tener los mayores rendimientos de aceite esencial pues las glándulas de aceite presentan la máxima turgencia (Braddock, 1999).

Los principales aldehídos de los aceites los constituye la serie homóloga de unidades alifáticas  $C_2$  y aldehídos terpénicos sintetizados bioquímicamente en la fruta. Las concentraciones de aldehídos en aceite de naranja se determinaron por métodos químicos y de cristalización resultando en 31% octanal, 27% decanal, 6% dodecanal y 7.5% citral (Naves, 1947, citado por Braddock, 1999). Decanal y octanal son los aldehídos primarios de los aceites de cítricos con la excepción de limones y limas, los cuales contienen citral (neral + geranial).

Algunos grupos de estudio se han dedicado a evaluar el impacto en el sabor de compuestos sencillos identificados en los extractos. Basados en técnicas de olfatometría dinámica, Ahmed et al. (1978) sugirieron que el acetaldehído, el hexanal, el octanal, el decanal, el dodecanal y el (R)-limoneno son importantes contribuyentes al sabor de naranja. Datos posteriores obtenidos con las mismas técnicas analíticas confirmaron estas aseveraciones, indicando también al butanoato de etilo, propionato de etilo, 2-metilbutanoato de etilo y linalool como compuestos adicionales importantes para el olor de la naranja (Hinterholzer y Schieberle, 1998).

Evaluaciones sensoriales de jugos modelo preparados con una matriz de jugo desaromatizado y compuestos de sabor agregados identificados en los extractos de jugos revelaron altas calificaciones de sabor para una mezcla de acetaldehído, citral, butanoato de etilo, limoneno y  $\alpha$ -pineno (Ahmed et al., 1978).

Confirmando los resultados anteriores, mediante técnicas de cromatografía de gases de alta resolución (HRGC)/ olfatometría aplicadas en jugos de naranja Valencia extraídos manualmente se identificaron 16 volátiles con actividad odorífera en un extracto con

solvente, entre ellos el 2-metilbutanoato de etilo, el butanoato de etilo, la vainillina y el citral mostraron altas actividades (Marin et al., 1992).

#### 2.3.1.5. Compuestos volátiles responsables del olor a viejo en naranjas almacenadas

La 2, 5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona (DMHF, furaneol) es uno de los más importantes compuestos del aroma, es considerado como un producto de la degradación de azúcares en jugos procesados y está presente naturalmente en varias frutas como la piña, fresa, frambuesa, mango y jitomate, donde es el producto final de una vía de biosíntesis que parte de azúcar como sustrato (Du y Qian, 2008).

Es conocida la importancia de las furanonas en el aroma de las frutas y aunque ha sido posible su identificación, poco es lo que se sabe sobre su biosíntesis. Kallio (1975) citado por Sanz et al. (1997) realizó experimentos con fructosa marcada en mora ártica (*Rubus arcticus*) y propuso una hipótesis sobre la biosíntesis de estas sustancias (Figura 3) según la cual el furaneol se produce a partir de fructosa mediante una serie de reacciones aún sin dilucidar que involucran la transferencia de hidrógeno y deshidratación. En tal caso, el mesifurano (2,5-dimetil-4-metoxi-3(2H)-furanona) sería entonces sintetizado partiendo de furaneol a través de una metilación enzimática. Posteriormente, Sasaki et al. (1991) propusieron una ruta biosintética de la 2-etil-4-hidroxi-5-metil-3(2H)-furanona (un homólogo del furaneol) en levadura, ellos probaron que la vía de las pentosas-fosfato era una etapa anterior en esta síntesis y señalaron a la sedoheptulosa-7-fosfato como el precursor. De manera similar, el furaneol podría ser sintetizado a partir de un intermediario de la misma vía, siendo la fructosa-6-fosfato el precursor más probable (Sanz et al., 1997).



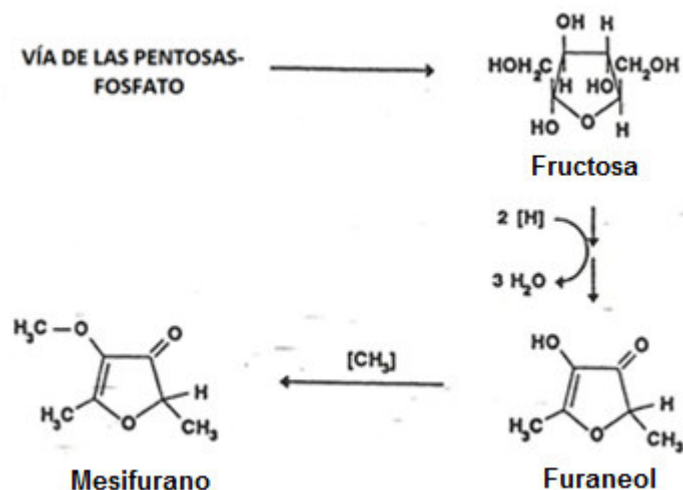


Figura 3. Ruta biosintética propuesta para la formación de furanonas (Sanz et al., 1997; de Kallio, 1975; Sasaki et al., 1991).

El furaneol tiene un umbral sensorial muy bajo y los aromas que presenta frecuentemente se describen como “piña quemada”, “similar a caramelo”, “dulce, floral” y “similar a fresa” (Du y Qian, 2008).

Debido a la amplia distribución del furaneol en la naturaleza y a su extenso uso en la industria de los alimentos, resulta de mucho interés encontrar un método confiable de análisis; comúnmente se utiliza la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) con un detector de arreglo de diodos; sin embargo, por este método es difícil separar completamente el furaneol de otros compuestos de interferencia y dado que los detectores de HPLC tienen baja sensibilidad al furaneol, frecuentemente se necesitan procedimientos tediosos de preparación y concentración de las muestras (Du y Qian, 2008).

Se ha reportado el análisis de furaneol en alimentos a través de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas pero los resultados parecen indicar que la cuantificación es dependiente del método y mediante HPLC los valores obtenidos son considerablemente superiores que usando cromatografía de gases (Wu et al., 1991).

Por otra parte, el  $\alpha$ -terpineol se presenta naturalmente como dos isómeros: el (4R) (+)-  $\alpha$ -terpineol que posee un aroma fuertemente floral, parecido a la lila y se presenta en muchos aceites esenciales, incluido el de naranja; y el (4S) (-)-  $\alpha$ -terpineol que tiene olor

a conífera, con un carácter alquitranado (Ravid et al., 1995). Es un sabor deseable en muchas plantas y frutas como albaricoque y mango, mientras que en otras, tal es el caso de la naranja, es percibido como un sabor desagradable descrito como parecido a “terpentina”, “alcanfor”, “a viejo”, “a humedad” y “pungente” (Haleva–Toledo et al., 1999).

Askar et al. (1973b) citados por Haleva–Toledo et al. (1999) propusieron al  $\alpha$ -terpineol como indicador para la predicción del tiempo de almacenamiento ya que es un producto de degradación de los componentes de aceites esenciales en algunos jugos de frutas. Por ejemplo, durante el procesamiento de cerezas enlatadas, el contenido de  $\alpha$ -terpineol aumenta mientras el (R)-limoneno disminuye; lo mismo ocurre en jugo de naranja envejecido (Kirchner y Miller, 1957; Rymal et al., 1968) y en jugo de naranja enlatado (Tatum et al., 1975; Haleva–Toledo et al., 1999).

Se ha sugerido que el  $\alpha$ -terpineol junto con el 4-vinilguayacol (p-vinilguayacol, PVG) y la 2, 5-dimetil-3(2H)-furanona (DMHF, furaneol), son los principales sabores objetables en jugo de naranja enlatado. Asimismo, Hiramoto et al. (1999) señalaron que cuando estos tres compuestos se agregan en conjunto al jugo fresco le dan un aroma ‘envejecido’, extraño, similar al observado en jugos almacenados.

De estos compuestos, el PVG es el más perjudicial, pues contribuye a un sabor a ‘fruta vieja’ o ‘podrida’ en el jugo. Se produce a partir de ácido ferúlico libre generado de las formas enlazadas (glucósidos) en jugo de naranja almacenado (Hiramoto et al, 1999).

En un experimento sobre estabilidad durante el almacenamiento se encontró que, después de 13 días a 32°C en un envase comercial, el jugo de naranja fue descrito como “viejo” y con sabor a “humedad” debido a la formación de  $\alpha$ -terpineol, además, cuando se agrega a jugos de naranja comerciales, el  $\alpha$ -terpineol imparte un olor a viejo y a humedad con un umbral de detección de 2.5 mg/L (Haleva–Toledo et al., 1999).

Los mecanismos de producción y los precursores de PVG, DMHF y  $\alpha$ -terpineol en el jugo de naranja ya se han propuesto por varios autores (Peleg et al., 1992; Haleva–Toledo et al., 1997). En la figura 4 se presentan los mecanismos de deterioro de los compuestos asociados con los cambios de sabor en jugo de naranja almacenado sugeridos por Hiramoto et al. (1999).

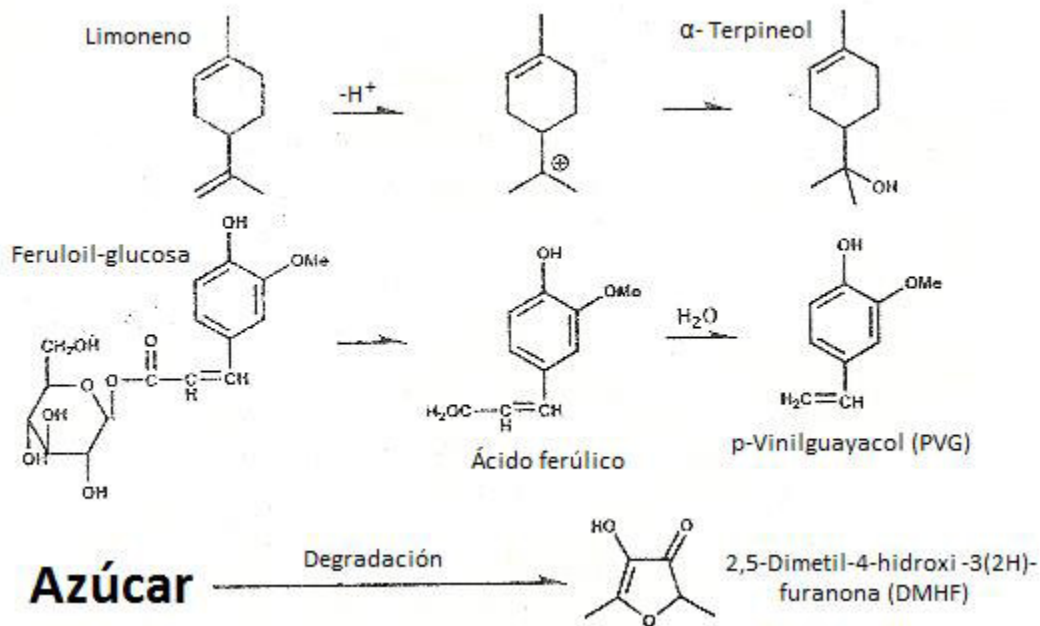


Figura 4. Mecanismos de deterioro del sabor a naranja en el jugo de naranja almacenado (Hiramoto et al., 1999).

Cerdán-Calero et al. (2012) han señalado que además del  $\alpha$ -terpineol, PVG y DMHF, el sabor a “viejo” o “cocido” en los jugos almacenados también se atribuye a un contenido excesivo de otro terpeno: el 1-terpinen-4-ol.

Moshonas y Shaw (1989) notaron que durante 8 meses de almacenamiento de jugo de naranja envasado asépticamente, se presentó una disminución gradual en varios componentes de sabor, mientras que el  $\alpha$ -terpineol y el furfural incrementaron.

Durr et al. (1981) identificaron decrementos en el contenido de limoneno, linalool, neral y algunos otros componentes de los aceites esenciales durante el almacenamiento de jugo de naranja, mientras que el contenido de  $\alpha$ -terpineol incrementó, siguiendo una tendencia que parece ser más dependiente de la temperatura de almacenamiento que del contenido inicial de (R)-limoneno. Siguiendo la misma línea de investigación, Pérez-López et al. (2006) mostraron que el limoneno, linalool,  $\alpha$ -terpineol y terpinen-4-ol se consideran como parámetros de control de calidad en el procesamiento de jugos.

Askar et al. (1973a) citados por Haleva-Toledo et al. (1999) señalaron que en soluciones modelo de jugo de naranja, el  $\alpha$ -terpineol se formó a partir de (R)-limoneno o linalool aunque no se proporcionaron datos cuantitativos. Poco se han reportado sobre los efectos

del pH, el cual varía entre jugos de cítricos, y la temperatura sobre la formación de  $\alpha$ -terpineol a partir de sus precursores.

Cabe destacar que en la literatura consultada referente a los compuestos que imparten olor a viejo, ni el furaneol ni *p*-vinilguayacol han sido reportados en jugo de naranja fresca.

#### **2.4. Metabolitos de fermentación**

La fermentación alcohólica es un proceso bioquímico que consta de dos pasos: 1) el piruvato es descarboxilado a acetaldehído por la enzima piruvato descarboxilasa y 2) el acetaldehído es a continuación convertido a etanol por la enzima alcohol deshidrogenasa.

La presencia y percepción de sabores desagradables en cítricos está fuertemente asociada con la acumulación de productos de fermentación alcohólica como acetaldehído y etanol. Éstos se acumulan a bajos niveles durante la maduración fisiológica y sensorial o de consumo, por lo que juegan un papel importante en la biosíntesis de los volátiles del aroma de las frutas. Sin embargo, después de la exposición a condiciones anóxicas e hipóxicas, el acetaldehído y el etanol pueden aumentar hasta niveles extremos que llevan a la percepción de sabores desagradables (Shi et al., 2007).

De acuerdo con Shi et al. (2007) las condiciones hipóxicas pueden presentarse durante o después de ciertos procedimientos postcosecha, por ejemplo: después de la aplicación de recubrimientos con cera que restringen el intercambio gaseoso a través de la cáscara (Hagenmaier, 2002); durante el almacenamiento bajo atmósferas modificadas o controladas, las cuales contienen bajos niveles de  $O_2$  y/o altos niveles de  $CO_2$  (Ke y Kader, 1990); después de la aplicación de tratamientos de cuarentena que involucren exposición a atmósferas anaeróbicas (Shellie et al., 1997); bajo condiciones inapropiadas de almacenamiento, tales como altas temperaturas y ventilación inadecuada, que causan una reducción en los niveles de  $O_2$  (Waks et al., 1985); y después de la exposición a etileno y algún otro tipo de estrés (Kimmerer y Kozlowski, 1982).

Los niveles de etanol y acetaldehído en el interior de las frutas cítricas varían en función del grado de madurez, el cultivar, el espesor y la composición de los recubrimientos de cera así como de la duración y temperatura de almacenamiento (Norman, 1977).

Norman (1977) menciona que Davis (1970) relacionó el contenido de etanol y acetaldehído en el espacio de cabeza del jugo con la madurez del fruto, sugiriendo la medición de etanol en el jugo como índice de madurez junto con el cociente SST/AT, típicamente utilizado para tal fin.

Dentro de los cítricos, las mandarinas son más perecederas y tienen una vida de almacenamiento potencial más corta que las naranjas, toronjas y limones. Además, se ha reportado que después de ser cubiertas con ceras producen más etanol y acetaldehído que otras especies de cítricos. Una de las razones principales para que las mandarinas sean más sensibles a las condiciones anaeróbicas que otras variedades cítricas es que su cáscara es menos permeable a los gases. Esta característica anatómica limita el intercambio gaseoso (ingreso de O<sub>2</sub> y salida de CO<sub>2</sub>) y reduce la liberación de los volátiles de la fermentación alcohólica producidos en el interior del fruto, resultando en la acumulación de etanol y acetaldehído y la consecuente sensación de sabor desagradable (Shi et al., 2008).

### **2.5. Aspectos nutricionales y propiedades funcionales de los cítricos**

Los cítricos son fuentes ricas en vitamina C, folatos, fibra dietética y minerales así como diversos fitoquímicos incluyendo flavonoides, aminoácidos, triterpenos, ácidos fenólicos y carotenoides (Roussos, 2011).

Entre los productos cítricos, el jugo de naranja debe destacarse como una importante fuente de flavanonas (principalmente, hesperidina y narirutina) en la dieta. Los flavonoides de cítricos poseen propiedades promotoras de la salud y se han sugerido como uno de los posibles agentes que previenen cáncer (Peterson et al., 2006). Estudios *in vitro* e *in vivo* describieron las actividades anticarcinogénicas, antitumorales y antimutagénicas de estos compuestos (Roussos, 2011).

Por lo tanto, además del ácido ascórbico, los carotenoides y los aminoácidos, los jugos de naranja y sus constituyentes se consideran importantes fuentes dietéticas de compuestos biológicamente activos como los fenoles (flavonoides, ácidos hidroxicinámicos) y su consumo puede ejercer efectos benéficos para la salud (Rapisarda et al., 2008).

Se ha encontrado que la ingesta dietética de los frutos cítricos o sus jugos está inversamente asociada con enfermedades como el cáncer colorectal, gástrico, de esófago y de estómago (Roussos, 2011); esto es posiblemente debido a su potencial antioxidante y su efecto sobre el metabolismo de lípidos en el plasma. Los extractos de frutas cítricas también han mostrado actividades anticancerígenas, antiinflamatorias, antitumorales e inhibidoras de la formación de coágulos en la sangre (Goulas y Manganaris, 2012).

Los componentes responsables de estos efectos benéficos no se conocen completamente, pero los flavonoides de los cítricos son un grupo que puede estar involucrado, tales compuestos son identificados como flavonas metoxiladas, flavononas y glucósidos de flavonona (Goulas y Manganaris, 2012).

Existe una enorme cantidad de estudios que indican que el perfil fitoquímico y la actividad secuestrante de radicales puede variar significativamente entre especies de cítricos, entre cultivares dentro de las mismas especies, o incluso dentro del mismo cultivar producido en diferentes condiciones climáticas o bajo diferentes prácticas agrícolas (Goulas y Manganaris, 2012).

#### *2.5.1. Compuestos antioxidantes*

La mayoría de las plantas poseen sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos para protegerse de la oxidación. Ting y Newhall (1965) mostraron que el  $\alpha$ -tocoferol del flavedo de las naranjas retarda la oxidación del (R) – limoneno.

Hiramoto et al. (1999) han tratado de estabilizar sabores cítricos mediante la aplicación de antioxidantes naturales de las fracciones no volátiles de los aceites esenciales obtenidos por prensado en frío. Ting y Newhall (1965) señalaron que estos antioxidantes pueden ser buenos estabilizadores para sabores cítricos y debido a sus orígenes deberían ser menos objetables que los de origen sintético.

Asimismo, también se aislaron dos nuevos antioxidantes a partir de los aceites de limón y lima y seis antioxidantes de toronja, todos obtenidos por prensado en frío; estos compuestos son cumarinas y furanocumarinas que constituyen los principales componentes de las fracciones no volátiles. Algunas publicaciones reportan que las

cumarinas y furanocumarinas exhiben una actividad farmacológica y también se les han atribuido varias propiedades fisiológicas (Hiramoto et al., 1999).

Goulas y Manganaris (2012) realizaron la evaluación de los contenidos de polifenoles, ácido ascórbico y carotenoides además de la actividad secuestradora de radicales en diferentes cultivos de frutas cítricas (naranja 'Valencia', tres cultivares de toronja y el híbrido interespecífico 'Mandora'). Su estudio proporcionó evidencia que apoya la superioridad de la naranja 'Valencia' como una excelente fuente de compuestos bioactivos, respecto a los otros cítricos evaluados. Además, los resultados también demostraron que la cáscara de los cítricos comparte similares fitoquímicos bioactivos y su concentración fue siempre mayor comparada con aquella presente en la pulpa, por tanto, pueden ser consideradas como una fuente significativa de varios fitoquímicos que pueden ser utilizados como antioxidantes naturales. Goulas y Manganaris (2012) señalan que es necesario hacer ensayos que permitan evaluar la capacidad antioxidante de los compuestos individuales y la existencia de sinergismo entre ellos.

Respecto al efecto de las prácticas culturales en estos compuestos, los resultados no han sido del todo concluyentes; se ha sugerido que en ausencia de plaguicidas las plantas podrían contener niveles mayores de componentes antioxidantes como resultado de una mayor síntesis de fitoquímicos activos producidos como defensa contra el estrés biótico y abiótico (Tarozzi et al., 2006). Brandt y Molgaard (2001) mencionaron que los productos orgánicos podrían contener 10–50% más fitoquímicos que los productos no orgánicos, mientras que Woese et al. (1997) y Bourn y Prescott (2002) reportaron hallazgos contradictorios.

Por su parte, Roussos (2011) no encontró diferencias significativas en las características de la fruta (concentración de carbohidratos y ácidos orgánicos), la cantidad de compuestos fitoactivos como fenólicos totales, o-difenol total y flavonoides totales y las capacidades antioxidantes de naranjas variedad Salustiana cultivadas mediante sistema orgánico e integrado.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Aunque en estudios previos se han determinado los parámetros de calidad de los frutos cultivados en dos regiones citrícolas del Estado de Morelos, se desconoce si cumplen o no con las especificaciones indicadas en las normas oficiales de calidad.

A pesar de que la naranja ha sido estudiada por muchos años, hasta el momento no se ha establecido un parámetro que determine con certeza el momento en que los frutos han entrado en la etapa de senescencia. Este parámetro permitiría evaluar con más precisión el efecto de tecnologías de conservación postcosecha en la vida útil de este fruto.

### **4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN**

¿Los parámetros de calidad determinados en las naranjas cultivadas en el Estado de Morelos se ajustarán a las especificaciones de las normas oficiales de calidad?

¿Existirá algún parámetro que ayude a determinar con certeza el momento en que los frutos de naranja han entrado a la etapa de la senescencia?

¿La cantidad, la variedad y la proporción de algunos compuestos volátiles producidos por las naranjas a lo largo del tiempo de almacenamiento serán buenos indicadores de senescencia?

¿Los compuestos volátiles asociados al aroma a viejo que se han reportado en jugo de naranja procesado también estarán presentes en los frutos de naranja sin procesar (jugo y aceite esencial)?

¿La generación de compuestos volátiles con aroma a viejo en los frutos durante el almacenamiento a temperatura ambiente y en refrigeración guardará alguna relación con el cambio en la cantidad y variedad de compuestos volátiles de aroma típico a naranja fresca presentes en las muestras?

¿Habrá algún compuesto con aroma a “viejo” o típico de aroma a fresco cuya cinética de cambio en los frutos sea un buen indicador de la vida de almacenamiento de la naranja?



¿Los compuestos volátiles con aroma típico a naranja fresca y con aroma a viejo presentes en el aceite esencial serán diferentes en cuanto a cantidad y proporción respecto a los que se encuentran en el jugo de naranja durante el almacenamiento de los frutos a temperatura ambiente y en refrigeración?

¿Existirá una relación entre la cantidad, variedad y proporción de compuestos volátiles producidos y los cambios de calidad observados durante el almacenamiento de las naranjas?

¿Los niveles de metabolitos de fermentación en el jugo de las naranjas se elevarán durante el almacenamiento en mayor o menor medida según el estado de senescencia de las naranjas?

¿Los cambios en los parámetros de calidad así como en el nivel de metabolitos de fermentación, volátiles con aroma a viejo y con aroma típico a naranja fresca serán percibidos por los consumidores?

¿La capacidad antioxidante de los frutos se verá modificada durante el almacenamiento a temperatura ambiente y en refrigeración?

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1. Objetivo general**

Determinar la capacidad de conservación de naranjas 'Valencia' cultivadas en el estado de Morelos y producidas por sistemas convencional y orgánico durante su almacenamiento a temperatura ambiente y en refrigeración.

### **5.2. Objetivos particulares**

Determinar los parámetros de calidad de frutos producidos en dos regiones de reciente ingreso en la actividad citrícola del Estado de Morelos y contrastarlos con los reportados en normas oficiales.

Cuantificar los volátiles responsables del aroma típico de la naranja y los responsables del olor a viejo de frutos almacenados a temperatura ambiente y en refrigeración.

Determinar la producción de metabolitos de fermentación en naranjas almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración.

Evaluar los cambios en las características sensoriales de los frutos almacenados a temperatura ambiente y en refrigeración.

Cuantificar la capacidad antioxidante en las naranjas almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración.

## **6. HIPÓTESIS**

Los parámetros de calidad determinados en los frutos del Estado de Morelos se ajustarán a los especificados en las normas oficiales.

El perfil de los componentes del aroma se modificará al iniciarse el proceso de senescencia en los frutos.

Dentro de los metabolitos de fermentación, el etanol mostrará un incremento con el inicio de la senescencia.

Las propiedades mecánicas de los frutos se modificarán de manera más dramática con el inicio de la senescencia.

Los cambios en los parámetros físicos y químicos de calidad así como en el perfil de compuestos volátiles que presentarán las naranjas en el inicio de la senescencia serán percibidos por los consumidores.

La capacidad antioxidante de las naranjas mostrará un aumento o se conservará durante el proceso de senescencia de los frutos.

## **7. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **7.1. Material biológico y procesamiento de muestras**

Las frutas de naranja (*Citrus sinensis*) 'Valencia' cultivadas bajo los dos sistemas de producción (convencional y orgánico) fueron obtenidas en dos huertas ubicadas en Tehuixtla, Jojutla y en Zacapalco, Tepalcingo, ambas situadas en el estado de Morelos, la primera bajo un sistema de producción orgánica y la segunda en un sistema de producción convencional.

Las frutas de cada tipo de sistema de producción se seleccionaron para descartar las que presentaban defectos evidentes. Las frutas seleccionadas se dispusieron de manera aleatoria formando unidades experimentales que fueron repartidas en los dos niveles del factor de temperatura de almacenamiento (temperatura ambiente y refrigeración) de acuerdo a la distribución que se detalla más adelante, en la sección 7.2, "Diseño experimental".

Seis unidades experimentales para cada tratamiento fueron asignadas para la evaluación de pérdida fisiológica de peso. Éstas se mantuvieron durante el experimento en sus respectivas condiciones de almacenamiento y se monitoreó su peso diariamente.

Para determinar los cambios en los frutos a lo largo del tiempo de almacenamiento se formaron unidades experimentales por duplicado para cada repetición de los tratamientos en cada tiempo de muestreo, de manera tal que, en cada muestreo, una unidad experimental se utilizó para la realización de las pruebas de calidad (color en el flavedo y en el jugo, sólidos solubles totales, acidez titulable, cociente SST/AT, porcentaje de jugo, prueba de compresión de frutos), además se obtuvo el jugo (para la determinación de metabolitos de fermentación, compuestos volátiles responsables del aroma típico y a viejo) y la cáscara (para la determinación de capacidad antioxidante).

El jugo se obtuvo utilizando un extractor eléctrico marca Philips Modelo HR2737 Comfort® con superficie plástica, de cada unidad experimental se midieron 20mL de jugo que se distribuyeron equitativamente en dos viales correspondientes a la determinación de 1) metabolitos de fermentación, y 2) compuestos volátiles del aroma, cada uno con 10mL de jugo más 1mL de solución alcalina de EDTA (NaOH 1.66M, EDTA 0.55M) llegando a una concentración de EDTA de 0.05M y un pH aproximadamente de 9 en la solución final;

bajo estas condiciones se previenen las reacciones químicas y enzimáticas en el jugo. De inmediato se agitaron vigorosamente y se congelaron con nitrógeno líquido para posteriormente almacenarse a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis. (Nota: en el segundo experimento se duplicaron los volúmenes agregados en cada vial).

La segunda unidad experimental de cada tratamiento fue utilizada en cada muestreo para la obtención de aceite esencial, que se analizó posteriormente para determinar la presencia de compuestos volátiles responsables del aroma típico y a viejo de las naranjas. (Nota: en el segundo experimento se calculó el rendimiento de aceite esencial).

La obtención del aceite esencial se efectuó mediante una extracción en frío, para lo cual se procedió a realizar un raspado de las cáscaras de la fruta. La raspadura de las naranjas de cada unidad experimental se arrastró con 200mL de agua bidestilada y se recibió en un vaso de precipitados sumergido en hielo. Esta manipulación duró alrededor de 20 minutos por unidad experimental, procurando siempre conservar el recipiente a baja temperatura y con poca luz para evitar la oxidación del aceite esencial.

La suspensión resultante se centrifugó a  $8000 \times g$  durante 10 minutos. Se separó la fase superior (orgánica) mediante el uso de una pipeta Pasteur y se descartó la porción acuosa. Posteriormente, la fase orgánica se sometió a otra centrifugación, esta vez a  $12200 \times g$  durante 20 minutos. Con ayuda de otra pipeta Pasteur se volvió a separar la fase orgánica, que fue recibida en tubos Eppendorf de 1.5mL en los cuales previamente se habían pesado 100mg de sulfato de sodio anhidro para eliminar completamente la humedad de las muestras. Se agitó cada tubo y se realizó una tercera centrifugación a  $12000 \times g$  durante un minuto para la formación de una pastilla compacta de sulfato de sodio hidratado y así poder decantar el aceite esencial con facilidad en otro tubo Eppendorf (previamente identificado y etiquetado) que se congeló con nitrógeno líquido y se almacenó a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis.

## **7.2. Diseño experimental**

El trabajo experimental del proyecto se organizó en tres etapas que para fines de este escrito se han denominado: Primer experimento, experimento exploratorio y segundo experimento (Cuadro 3).

Cuadro 3. Diseño experimental del proyecto

			Primer experimento	Experimento exploratorio	Segundo experimento
Unidad experimental*			3	Análisis de calidad:3 Evaluación sensorial:11	6
Factores y niveles en estudio	Factor 1: Tipo de sistema de cultivo	Nivel 1: Convencional	✓	✓	✓
		Nivel 2: Orgánico	✓	✓	
	Factor 2: Temperatura de almacenamiento	Nivel 1: Temperatura ambiente (24°C)	✓	✓	✓
		Nivel 2: Refrigeración (11°C)	✓		✓
Fecha de recolección de frutos			16/04/2013	10/10/2013	18/02/2014
Frecuencia de muestreo durante el almacenamiento (días)			Temperatura ambiente: 0, 5, 8, 12, 15 Refrigeración: 0, 8, 15, 21, 29	0, 7, 12	0, 7, 14, 21, 28
Total de frutos empleados**			396	114	480

\* Frutos de naranja 'Valencia'.

\*\* Véanse detalles en secciones 7.2.1, 7.2.2 y 7.2.3.

### **Variables de respuesta**

- 1) Concentración de metabolitos de fermentación y otros compuestos volátiles.
- 2) Concentración de los volátiles responsables del aroma típico de naranja y del olor a viejo.
- 3) Parámetros fisicoquímicos y fisiológicos: acidez titulable (AT), sólidos solubles totales (SST), cociente SST/AT, color en el flavedo y en el jugo, porcentaje de jugo, pérdida de peso por transpiración, prueba de compresión de frutos enteros y rendimiento de aceite esencial.
- 4) Determinación de capacidad antioxidante.

Cuadro 4. Métodos analíticos empleados y variables de respuesta determinadas en la investigación

		Compuesto/Determinación	Método de determinación	Experimento*		
				1°	Exp	2°
Metabolitos de fermentación y otros volátiles		Acetaldehído	CG	✓		
		Etanol	CG	✓		
		Metanol	CG	✓		
Compuestos volátiles	Aroma típico	Octanal	CG		+	✓
		Decanal	CG		+	✓
		Limoneno	CG		+	✓
		Linalool	CG		+	✓
		Butanoato de etilo	CG		+	✓
	Olor a viejo	$\alpha$ -terpineol	CG		+	✓
		p-vinilguayacol (PVG)	CG		+	✓
	Características de calidad		Acidez Titulable (AT)	Titulación volumétrica	✓	✓
Sólidos Solubles Totales (SST)			Refractómetro	✓	✓	✓
Índice de Madurez (SST/AT)			Cociente	✓	✓	✓
Porcentaje de jugo			Gravimetría	✓		✓
Pérdida de peso por transpiración			Gravimetría	✓	✓	✓
Color del flavedo			Colorímetro Hunter-Lab	✓	✓	✓
Color del jugo			Colorímetro Hunter-Lab		✓	✓
Prueba de compresión de frutos enteros			Brookfield Texture Analyzer C3		✓	✓
Capacidad antioxidante		Actividad secuestradora del ion radical ABTS	Espectrofotométrico			✓

\* Primero, exploratorio y segundo.

+ Sólo en el muestreo final (día 12 de almacenamiento).

### **Análisis estadístico**

Los resultados de las variables de respuesta de los experimentos del presente estudio se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA) y posterior prueba de comparaciones múltiples de medias por el método de Tukey con significancia del 5%.

En cada experimento se evaluó el efecto del sistema de producción y/o de la temperatura de almacenamiento, así como del tiempo de almacenamiento en cada una de las variables de respuesta.

En el primer experimento, a los días 8 y 15 se realizó el análisis estadístico para observar el efecto de la temperatura de almacenamiento y del sistema de producción; en los días 5 y 12 se analizó el efecto del sistema de producción en el almacenamiento a temperatura ambiente, y en los días 21 y 29, el efecto del sistema de producción en el almacenamiento bajo refrigeración.

En el experimento exploratorio se realizó el análisis estadístico para observar el efecto del sistema de cultivo y del tiempo de almacenamiento sobre las variables de respuesta en la naranja almacenada a temperatura ambiente (24°C).

En el segundo experimento sólo se trabajó con un sistema de cultivo (convencional), por lo que el análisis estadístico evaluó el efecto de la temperatura y el tiempo de almacenamiento sobre las variables de respuesta.

Para comparar los resultados de la evaluación sensorial se utilizó la prueba de *t* de Student con significancia de 5% y la corrección de Bonferroni.

#### *7.2.1. Primer experimento*

De acuerdo con el cuadro 3 se emplearon 396 frutas (198 de cultivo convencional y 198 de cultivo orgánico) distribuidas de la siguiente manera:

4 tratamientos, 4 tiempos de muestreo, 3 repeticiones de 3 frutas c/u (por duplicado para evaluación de calidad y obtención de aceite esencial)

+ Análisis inicial: 3 repeticiones de 3 frutas c/u para cada tipo de cultivo: convencional y orgánico (por duplicado para evaluación de calidad y obtención de aceite esencial)

+ 6 unidades experimentales (3 frutas c/u) por cada tratamiento (4) para evaluar pérdida fisiológica de peso.

Los cuatro tratamientos fueron: 1) Cultivo orgánico-temperatura ambiente, 2) Cultivo convencional-temperatura ambiente, 3) Cultivo orgánico-refrigeración y 4) Cultivo convencional-refrigeración.

El almacenamiento a temperatura ambiente se mantuvo con una temperatura de 22 – 24°C y una humedad relativa oscilando entre 41–59%; mientras que en refrigeración se mantuvo una temperatura de 10 – 11°C y la humedad relativa fue de 74–75% hasta el día 15, desde entonces se mantuvo a 94% hasta el final del experimento.

### 7.2.2. Experimento exploratorio

Como parte del planteamiento del segundo experimento, se realizó un estudio exploratorio con el propósito de:

- Determinar si la medición de la textura de la cáscara y el color del jugo podían resultar parámetros informativos de la senescencia de la naranja y de esta manera relacionarlos con la capacidad de conservación de la misma.
- Precisar los descriptores para las pruebas sensoriales de apariencia, aroma y sabor de la fruta, además de determinar la percepción sensorial que los consumidores tienen de las naranjas a través del tiempo de almacenamiento.

Para la realización de este experimento y conforme al cuadro 3, se utilizaron 114 naranjas variedad Valencia (57 frutos de cultivo convencional, 57 frutos de cultivo orgánico), distribuidas aleatoriamente de acuerdo a la siguiente disposición:

2 tratamientos, 2 tiempos de muestreo, 14 frutas para cada sistema de cultivo (11 naranjas para evaluación sensorial y 3 naranjas para análisis de calidad).

+ Análisis inicial: 14 frutas para cada sistema de cultivo (11 naranjas para evaluación sensorial y 3 naranjas para análisis de calidad).

+ 5 unidades experimentales (3 frutas c/u) en cada sistema de cultivo para evaluar pérdida fisiológica de peso.

Las muestras se almacenaron a  $23\pm 1^{\circ}\text{C}$  con una humedad relativa de 83%.

Adicionalmente, se tomaron muestras de jugo el último día de muestreo (día 12 de almacenamiento), para posterior análisis, identificación y cuantificación de metabolitos de fermentación, compuestos volátiles responsables del aroma típico y a viejo. Estas muestras se procesaron y almacenaron de acuerdo con lo descrito en la sección 7.1.



### 7.2.3. Segundo experimento

Debido a la poca disponibilidad de frutos en estado óptimo de madurez provenientes de la huerta de cultivo orgánico (Tehuixtla, Jojutla, Morelos) de donde se obtuvo el material biológico en los experimentos anteriores, el segundo experimento se realizó únicamente con frutos de cultivo convencional (Zacapalco, Tepalcingo, Morelos).

Este muestreo se realizó procurando un mayor control en la cosecha de los frutos para que éstos se encontraran en un estado de madurez óptimo para consumo y así reducir la variabilidad en los resultados, teniendo especial cuidado en características como:

- Tamaño homogéneo (diámetro ecuatorial entre 67-84mm de acuerdo al calibre intermedio indicado en la NMX-FF-027-SCFI-2007. Especificaciones de naranja fresca (*Citrus sinensis* Osbeck)).
- Frutos de forma redonda.
- Cáscara delgada con coloración amarilla-anaranjada.
- Frutos provenientes de zonas con condiciones uniformes de suelo y riego.

Se recolectaron 1200 frutos en campo, para realizar una segunda selección de las 480 frutas requeridas para el experimento (cuadro 3), distribuidas de la siguiente manera:

2 temperaturas de almacenamiento (temperatura ambiente y refrigeración),  
4 tiempos de muestreo, 3 repeticiones de 6 frutas c/u (por duplicado para evaluación de calidad y obtención de aceite esencial)

+ Análisis inicial: 3 repeticiones de 6 frutas c/u (por duplicado para la evaluación de calidad y obtención de aceite esencial).

+ 6 unidades experimentales (6 frutas c/u) por cada temperatura de almacenamiento para evaluar la pérdida fisiológica de peso.

+ 12 frutos por cada temperatura de almacenamiento para evaluación sensorial: en 3 tiempos de muestreo (y 12 frutos para la evaluación inicial).

Las condiciones de almacenamiento fueron las siguientes: a temperatura ambiente se mantuvo una temperatura de 23 – 25°C y una humedad relativa oscilando entre 55–83%;

mientras que en refrigeración se mantuvo una temperatura de 11 – 13°C y una humedad relativa de 65–88%.

### 7.3. Procedimientos de medición y análisis

#### 7.3.1. Porcentaje de pérdida de peso por transpiración (%PP)

Se llevó un registro del peso de las unidades experimentales de cada tratamiento destinadas para esta determinación durante el almacenamiento. En cada día, el %PP se calculó sustituyendo esos datos en la siguiente ecuación:

$$\%PP = \left(1 - \frac{P_n}{P_i}\right) * 100$$

Donde: %PP = porcentaje de pérdida de peso

P<sub>n</sub> = peso (g) de los frutos a los n días de almacenamiento

P<sub>i</sub> = peso (g) inicial de los frutos.

#### 7.3.2. Determinación de sólidos solubles totales (SST)

Se determinó el contenido de SST en muestras de jugo procediéndose de la siguiente manera: se colocó una gota de agua destilada en un refractómetro portátil marca Erma (Erma Inc. Tokio, Japón, A-contrast 11-520-0) para calibrar el instrumento (la escala debe indicar cero), se limpió, se colocó entonces una gota del jugo de naranja y se tomó la lectura. El resultado se reportó como porcentaje de SST.

#### 7.3.3. Determinación de acidez titulable (AT)

Se determinó la AT de la siguiente manera: se tomó una alícuota de 5mL de jugo de naranja y se agregaron 50mL de agua destilada, adicionando también 2 ó 3 gotas de fenolftaleína, se tituló con solución de NaOH 0.1N a un punto final de pH =8.2 (momento en que el indicador cambia a un color rosa tenue). A continuación, la acidez se calculó con la siguiente ecuación:

$$\%Acidez\ Titulable\ (g\ \acute{a}cido\ c\acute{it}rico/100mL\ jugo) = \left(\frac{(V_{NaOH})(N_{NaOH})(g/meq.\ \acute{a}cido)}{(V_{jugos})}\right) * 100$$

Donde: N<sub>NaOH</sub> = normalidad (meq/mL) de NaOH

V<sub>NaOH</sub> = volumen (mL) de NaOH

meq. ácido = miliequivalentes del ácido cítrico= 0.064g/meq

V<sub>jugos</sub> = volumen (mL) de la muestra de jugo

#### 7.3.4. Determinación del índice de madurez (SST/AT)

Los resultados de las determinaciones de sólidos solubles totales y acidez titulable obtenidos para cada muestra se relacionaron mediante el cociente SST/AT que es un indicador objetivo del grado de madurez.

#### 7.3.5. Porcentaje de jugo

Se registró el peso de las tres frutas enteras que integraban cada unidad experimental y, después de la extracción del jugo, también se registró el peso de este último, ambos pesos se relacionaron mediante la ecuación:

$$\%Jugo = \left( \frac{P_{jugo}}{P_{fruta}} \right) * 100$$

Donde:  $P_{jugo}$  = Peso (g) de jugo extraído de la unidad experimental (3 frutas)

$P_{fruta}$  = Peso (g) de la unidad experimental (3 frutas enteras).

#### 7.3.6. Color

Se determinó el color del flavedo en dos puntos opuestos sobre el eje ecuatorial de las naranjas que integraban cada unidad experimental utilizando un colorímetro Hunter-Lab modelo ColorFlex® (Hunter Associates Laboratory, EUA), previa estandarización del equipo y obteniéndose los valores de color en la escala CIE L\*, a\*, b\*. Posteriormente se calculó para cada punto medido el índice de color de cítricos (ICC) mediante la siguiente ecuación reportada por Jiménez et al., 1981 citados por Artés et al., 2000:

$$ICC = \frac{1000 \cdot a^*}{L^* \cdot b^*}$$

El color en el jugo se determinó utilizando el mismo colorímetro HunterLab obteniéndose los valores de color en la escala CIE L\*, a\*, b\* y se calculó el ICC. El jugo extraído de cada fruto fue filtrado para eliminar restos de vesículas y semillas, posteriormente se depositó en una celda especial para medir el color en líquidos y se realizó la medición por duplicado.

#### 7.3.7. Prueba de compresión de frutos enteros

Para evaluar los cambios en propiedades mecánicas de los frutos se aplicó una prueba de compresión de frutos enteros utilizando un equipo Brookfield Texture Analyzer C3 (figura 5). Para esta prueba se colocó cada naranja sobre una base plana y se utilizó una sonda cilíndrica con una carga de activación de 4N. La fuerza de compresión se aplicó a una

velocidad de 1mm/s hasta comprimir la fruta 5mm a partir del punto de contacto. Los valores fueron expresados como la fuerza en Newtons (N) requerida para comprimir las frutas una distancia de 5mm.



Figura 5. Brookfield Texture Analyzer C3 empleado para realizar la prueba de compresión de frutos

La prueba de compresión se realizó colocando cada naranja sobre la base plana del equipo de tal manera que la fuerza se ejerciera sobre su eje ecuatorial, por ser la forma más habitual en la que los consumidores prueban la firmeza de la fruta al momento de su elección de compra.

#### 7.3.8. Rendimiento de aceite esencial

Se determinó pesando las unidades experimentales antes de retirarles la cáscara (raspado para extracción del aceite esencial) y posteriormente se midió el volumen de aceite obtenido de cada unidad experimental. El cálculo se realizó para cada unidad experimental de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento} = \frac{(\text{Volumen de aceite})(100 - \%PP)}{P_n}$$

Donde:     %PP= porcentaje de pérdida fisiológica de peso al día y la temperatura de almacenamiento correspondiente.

$P_n$ = peso de la unidad experimental en el día  $n$  de almacenamiento

### 7.3.9. Determinación de metabolitos de fermentación y otros compuestos volátiles

Se pesaron 2 g de NaCl en un vial, se agregaron 5mL de jugo y se selló. Se agitó durante 30s en un vórtex y se dejó reposar 10 min en un baño a temperatura constante de 30°C. Se tomó una muestra de 1mL de la mezcla gaseosa del espacio de cabeza y se inyectó en modo *splitless* a un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890 serie II con las siguientes condiciones para la separación de los compuestos volátiles (Pelayo, 2001).

#### Condiciones cromatográficas

Columna empacada de vidrio: Carbowax 20M al 5% sobre Carbopack B 60/80. Longitud 2m, diámetro externo 6mm, diámetro interno 2mm.

Gas acarreador: N<sub>2</sub>, flujo 20 mL/min.

Temperatura del inyector: 115°C.

Temperatura del detector: 200°C.

Programa de temperatura: Inicial, 80°C por 1min con incrementos de 10°C/min hasta 130°C por 5 min.

Tiempo de corrida: 6 min.

Detector: de ionización de flama (FID).

#### Construcción de curva patrón

Se preparó una disolución modelo de jugo de naranja de acuerdo a la formulación descrita por Peleg et al. (1992), con algunas modificaciones. La composición porcentual se presenta en el cuadro 5.

Cuadro 5. Composición porcentual de la disolución modelo de jugo de naranja

<b>Componente</b>	<b>% p/v</b>
Glucosa	2.5
Fructosa	2.5
Sacarosa	5.0
Ácido cítrico	1.2
Citrato de sodio	0.6
Ácido ascórbico	0.06
Prolina	0.3
Arginina	0.1
Agua desionizada	87.74

Utilizando esta disolución se construyeron las curvas patrón por separado para cada compuesto determinado (etanol, acetaldehído y metanol), para lo cual en cada caso se

prepararon disoluciones con 5 concentraciones de estándares comerciales de los compuestos volátiles a cuantificar; se tomaron alícuotas de 5mL de cada una de las disoluciones y se procesaron de la misma manera que las muestras de jugo utilizando las condiciones cromatográficas descritas anteriormente.

#### *7.3.10. Determinación de compuestos del aroma en jugo*

Se utilizó la técnica de microextracción en fase sólida (SPME, por sus siglas en inglés Solid Phase Microextraction), para lo cual, en un vial de 10mL, se colocaron 3ml de jugo y 1.2g de cloruro de sodio (NaCl), se selló y se agitó en vórtex durante 1min. Se colocó en un termoblock a 30°C durante 10min para adsorber los compuestos volátiles del espacio de cabeza utilizando una fibra SPME de divinilbenceno/ Carboxen®/ polidimetil siloxano 50/30µm. Posteriormente se desorbió durante 10min a 250°C en el puerto de inyección (modo *splitless*) de un cromatógrafo de gases (Hewlett Packard 5890 serie II), bajo las siguientes condiciones cromatográficas:

#### **Condiciones cromatográficas**

Columna capilar: Agilent DB-Waxetr (60m X 0.32mm D.I., 1µm de espesor fase estacionaria, J&W Scientific, Folsom, CA).

Gas acarreador: H<sub>2</sub>, flujo 3 mL/min.

Temperatura del inyector: 250°C.

Temperatura del detector: 250°C.

Programa de temperatura: Inicial, 60°C por 5min con incrementos de 5°C/min hasta 230°C por 7min.

Tiempo de corrida: 46min.

Detector: de ionización de flama (FID).

Para la construcción de las curvas patrón de cada compuesto determinado (limoneno, butanoato de etilo, linalool, α- terpineol) se procedió a la preparación de una disolución modelo de jugo de naranja, siguiendo la formulación de Peleg et al. (1992), con algunas modificaciones (cuadro 5) descrita en la sección 7.3.9.

#### 7.3.10.1. Cromatografía de gases – Espectrometría de masas

Con la finalidad de corroborar la presencia de los compuestos de interés en las muestras de jugo y aceite esencial, tres muestras de jugo (de acuerdo al procedimiento detallado anteriormente) y tres muestras de aceite esencial (colocando 150µL de aceite en un vial de 10mL que se selló, se expuso la fibra SPME descrita en la sección anterior durante 10min a 30°C dentro de un termoblock, la temperatura, tiempo de desorción y modo de inyección *splitless* fueron las mismas que se mencionaron en la sección 7.3.10) del segundo experimento se analizaron utilizando un Cromatógrafo de Gases HP-6890 acoplado a un Detector Selectivo de Masas 5975B manteniendo las condiciones cromatográficas descritas en la sección 7.3.10, con variaciones en el gas acarreador como se observa a continuación:

#### ***Condiciones cromatográficas CG – EM***

Columna capilar: Agilent DB-Waxetr (60m X 0.32mm D.I., 1µm de espesor fase estacionaria, J&W Scientific, Folsom, CA).

Gas acarreador: He, flujo 2mL/min.

Temperatura del inyector: 250°C.

Temperatura del detector: 250°C.

Programa de temperatura: Inicial, 60°C por 5min con incrementos de 5°C/min hasta 230°C por 7min.

Tiempo de corrida: 46min.

Detector: selectivo de masas (MSD). Energía de ionización 70eV, alcance de la exploración 18- 500 m/z.

#### *7.3.11. Evaluación sensorial*

Para conocer la percepción de los consumidores durante el almacenamiento de los frutos se efectuaron pruebas de nivel de agrado (hedónicas). Cada prueba incluyó la evaluación de 45 consumidores. Se utilizó una escala hedónica de 7 puntos (donde 7 corresponde a “me gusta muchísimo” y 1 a “me desagrada muchísimo”) y una escala “*Just About Right*” (JAR) de 5 puntos, donde 5 corresponde a “mucho más de lo que me gusta” (o “mucho más de lo que esperaba” en la evaluación de frescura del experimento exploratorio) y 1 a “mucho menos de lo que me gusta” o “mucho menos de lo que esperaba”.

En el experimento exploratorio, las pruebas sensoriales se realizaron en los días 1, 8 y 12 de almacenamiento y se proporcionó a los consumidores una muestra de naranja entera (sin cortar) para evaluar su apariencia general y un trozo de naranja para evaluar sabor, olor y frescura. En la evaluación de apariencia externa, olor y sabor se utilizó la escala hedónica de 7 puntos, y en la percepción de frescura se empleó la escala JAR, ambas descritas anteriormente. Además, se formularon preguntas abiertas para describir apariencia, sabor, olor y frescura según la percepción del consumidor. Cabe agregar que al día 14 de almacenamiento se realizó una prueba adicional en que se pidió a los consumidores evaluar sólo sabor y olor de los frutos.

En el segundo experimento se consideraron las respuestas de las preguntas abiertas que se realizaron en el experimento exploratorio acerca de la percepción de olor, sabor y apariencia hacia las naranja 'Valencia' por parte de los consumidores y se formuló un nuevo cuestionario tomando los atributos mencionados más destacados. La apariencia, el olor, el color de la cáscara y el sabor se evaluaron utilizando la escala hedónica de 7 puntos, mientras que en la evaluación de firmeza, cantidad de jugo, intensidad de dulzor y de acidez se utilizó la escala JAR de 5 puntos. Las evaluaciones se realizaron a los 0, 7, 14 y 21 días de almacenamiento de los frutos.

Los cuestionarios de ambos experimentos se muestran en el **anexo 5**.

### *7.3.12. Determinación de actividad secuestradora del ion radical ABTS*

La solución de ABTS<sup>•+</sup> se preparó disolviendo 0.0165g de persulfato de potasio ( $K_2S_2O_8$ ) en agua destilada, se agregaron 0.0962g de ABTS y se aforó a 100mL. El reactivo preparado se dejó en reposo durante 16 horas a temperatura ambiente.

A 15mL de PBS 1X (solución amortiguadora salina de fosfatos) se le agregaron 800μL de la solución ABTS<sup>•+</sup> y posteriormente se midió su absorbancia a 734nm, la cual debía estar dentro del intervalo comprendido entre 0.65 y 0.80.

En tubos de ensayo se agregaron 100μL de las diluciones de las muestras\* y 1000μL de ABTS<sup>•+</sup>. Las muestras de flavedo se dejaron reposando durante 40 minutos y las de jugo durante 20 min, ambas a temperatura ambiente en total oscuridad. Se determinó su



absorbancia utilizando un espectrofotómetro Beckman Du 650 a 734nm. El valor de la capacidad antioxidante de las muestras se obtuvo a partir de la comparación con una curva patrón de Trolox, que se realizó en concentraciones de 0 hasta 20 $\mu$ M. Por lo tanto, los resultados están expresados como equivalentes de Trolox (mM equivalente de Trolox en 1g de cáscara o en 1mL de jugo).

\*Para la extracción del material biológico se procedió de la siguiente manera: en el caso del flavedo se pesó 1g de muestra congelada y se homogeneizó en 10mL de metanol a 4000rpm aproximadamente con un equipo OMNI GLH General Laboratory Homogenizer con la cuchilla de 20mm x 195mm y se dejó reposando durante 2 días a temperatura ambiente en oscuridad; para el jugo sólo se procedió a descongelar y se utilizó directamente. A partir del homogeneizado de flavedo y del jugo se hicieron diluciones 1:100 con PBS 1X (solución amortiguadora salina de fosfatos).

## **8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **8.1. Porcentaje de pérdida de peso por transpiración (%PP)**

En la figura 6 se muestran los resultados del porcentaje de pérdida de peso por transpiración (%PP) en las naranjas 'Valencia' de los tres experimentos realizados; el análisis estadístico mostró que existen diferencias significativas tanto entre temperaturas como entre días de almacenamiento en cada experimento. Cabe destacar que se presentaron mayores %PP en los frutos almacenados a temperatura ambiente comparados con los mantenidos en refrigeración, ya que en el primer experimento a los 30 días a temperatura ambiente las naranjas perdieron aproximadamente 30% y en refrigeración apenas llegaron a 6%, mientras que en el segundo experimento las pérdidas fueron de 21.5% y 9.6%, respectivamente. En el experimento exploratorio las pérdidas de peso se encuentran en 7.4% a los 12 días de almacenamiento a temperatura ambiente.

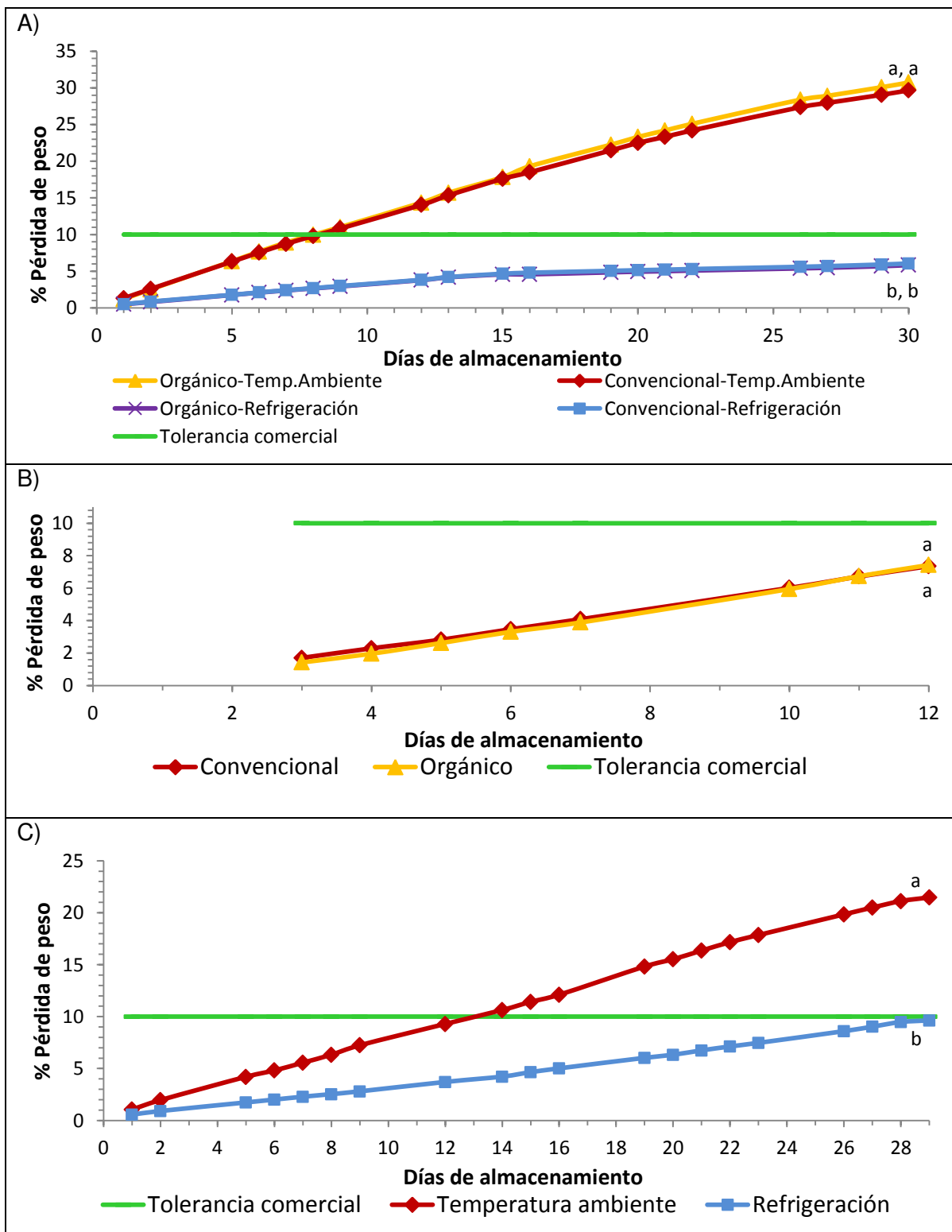


Figura 6. Pérdida fisiológica de peso de naranjas 'Valencia' durante el almacenamiento en: A) Primer experimento (frutos de dos sistemas de cultivo y almacenados a dos temperaturas); B) Experimento exploratorio (frutos de dos sistemas de cultivo en almacenamiento a temperatura ambiente); C) Segundo experimento (frutos de sistema convencional almacenados a dos temperaturas). Los valores son el promedio de seis réplicas. Medias seguidas por la misma letra no tienen diferencias significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ).

En el primer experimento (figura 6A), para el caso de las naranjas almacenadas a temperatura ambiente (humedad relativa: 41 – 59%; temperatura: 22 – 24°C) provenientes de ambos sistemas de cultivo el límite de tolerancia comercial de pérdida de peso (10%) se alcanzó a los 8 días, mientras que para las naranjas almacenadas en refrigeración este límite no se alcanzó durante el tiempo del experimento (30 días). Asimismo, el cambio de pendiente observada en dicha figura para los tratamientos almacenados bajo refrigeración se debe a que los frutos fueron sometidos a una abrupta variación de humedad relativa dentro de la cámara de refrigeración en el día 15 del experimento, cambiando de una humedad relativa de 74 – 75% antes de este día, hasta 94% después del mismo. La temperatura en la cámara de refrigeración osciló entre 10 y 11°C durante todo el experimento.

La figura 6B muestra que en el experimento exploratorio, el **%PP** nunca llegó a la tolerancia comercial, esto debido principalmente a la alta humedad relativa que se mantuvo en la cámara de maduración (83%).

En el segundo experimento se observó que las naranjas almacenadas a temperatura ambiente sobrepasaron la tolerancia comercial a los 14 días de iniciado el experimento, mientras que las refrigeradas alcanzaron valores muy cercanos al límite de tolerancia hasta los 28-29 días de almacenamiento (figura 6C).

De acuerdo con Valero y Serrano (2010), durante el almacenamiento postcosecha se produce un decremento en la cantidad de agua en los frutos debido a dos factores principalmente: 1) al cortarlos de la planta ya no pueden tomar humedad del suelo así que la que pierden no puede ser restituida, y 2) la transpiración del fruto, el cual es un proceso fisiológico en el cual el vapor de agua sale del interior de los frutos al exterior a través de estomas, lenticelas y cutícula presentes en la epidermis.

En los resultados de los experimentos realizados, fue evidente que **%PP** en los frutos no se ve afectado por el tipo de cultivo sino por las condiciones de almacenamiento (temperatura y humedad relativa). Tal comportamiento es un indicio de que la transpiración de las naranjas provenientes de ambos sistemas de cultivo no es diferente siempre y cuando se encuentren bajo las mismas condiciones de almacenamiento y

podría, además, sugerir que las estructuras a través de las cuales ocurre el intercambio gaseoso tales como las lenticelas y los estomas, así como la composición química de la capa cerosa no son afectados por el sistema de cultivo.

Cabe agregar que desde un punto de vista económico, la pérdida fisiológica de peso tiene implicaciones importantes. Según los resultados obtenidos, en el primer experimento a los 8 días se perderían 100kg/ton de naranja almacenada a temperatura ambiente y sólo 30kg/ton si se mantiene en refrigeración, si el periodo de almacenamiento se prolonga hasta 30 días las pérdidas alcanzarían 300kg/ton y 60kg/ton para el almacenamiento a temperatura ambiente y en refrigeración, respectivamente.

De manera similar, en el segundo experimento a los 14 días de almacenamiento se perderían 100kg/ton de naranja a temperatura ambiente, mientras que sólo 40kg/ton en la refrigerada, pero si se duplica este periodo, se perderían 210 y 100kg/ton, respectivamente. Como ya se observó anteriormente, el impacto que tiene la humedad relativa en estas pérdidas de peso es crítico, por lo que a nivel comercial debe ser un factor importante a vigilar. Además, los resultados del almacenamiento a temperatura ambiente confirman la relevancia de efectuar la operación postcosecha de encerado en los cítricos, la cual mejora la apariencia de los frutos al mismo tiempo que los protege de la deshidratación y del ataque de microorganismos, entre otras ventajas.

Otro factor importante a considerar es que a medida que los frutos se deshidratan, se presenta un deterioro en su apariencia debido a la pérdida de turgencia, esto representa una disminución en la calidad de los frutos pues, en general, los consumidores no aceptan frutos que no cumplen con sus expectativas (Serrano y Valero, 2010).

## 8.2. Parámetros de calidad en jugo

A continuación se presentan los resultados de las determinaciones de sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT), índice de madurez (IM) y porcentaje de jugo de las muestras provenientes de cultivo convencional (cuadro 6) y orgánico (cuadro 7) durante el almacenamiento a temperatura ambiente (24°C) y en refrigeración (11°C).

Cuadro 6. Parámetros de calidad en jugo de naranjas de cultivo convencional durante el almacenamiento.

Experimento	Temperatura Almacenamiento	Días de Almacenamiento	SST (%)	AT (%)	IM (SST/AT)	% Jugo
1		0	10.07	0.565	18.00	34.75
		1	10.87	0.501	21.95	46.22 *
	11°C	8	10.73	0.578	18.64	41.67
		15	10.87	0.514	21.20	42.72
		21	11.40 *	0.538	21.28	42.65
		29	11.47 *	0.518	22.19	39.45
	24°C	5	10.53	0.493	21.45	48.85 *
		8	10.40	0.480	21.76	44.03 *
		12	11.67 *	0.593	19.88	49.94 *
		15	11.13	0.469	24.07	46.77 *
	E	24°C	0	9.93	0.725	14.02
7			10.27	0.994	11.50	-
12			9.93	1.216	10.34	-
2	11°C	0	11.27	0.742	15.18	54.00
		7	11.27	0.666	16.99	43.80*
		14	11.13	0.755	14.76	47.66
		21	11.20	0.713	15.75	56.82
		28	11.00	0.832	13.28	48.34
	24°C	7	10.87	0.708	15.42	47.98
		14	11.40	0.751	15.20	50.13
		21	11.60	0.777	15.05	56.38
		28	11.53	0.713	16.22	54.46

Los valores son el promedio de tres réplicas. En cada experimento, los valores seguidos por un asterisco en cada columna presentan diferencias significativas respecto al valor inicial (día 0 de almacenamiento) de acuerdo al método de comparaciones múltiples de Tukey ( $\alpha=0.05$ ). Abreviaturas: 1= Primer experimento; E= Experimento exploratorio; 2= Segundo experimento.

Cuadro 7. Parámetros de calidad en jugo de naranjas de cultivo orgánico durante el almacenamiento.

Experimento	Temperatura Almacenamiento	Días de Almacenamiento	SST (%)	AT (%)	IM (SST/AT)	% Jugo
1		0	9.93	0.471	21.46	36.43
		1	9.53	0.422	22.62	41.36
	11°C	8	10.87	0.540	20.57	43.47
		15	10.33	0.454	22.76	39.93
		21	10.53	0.471	22.50	41.25
		29	10.60	0.482	22.23	38.47
	24°C	5	9.67	0.493	20.00	46.41*
		8	10.47	0.499	21.99	40.67
		12	10.40	0.454	22.94	49.44*
		15	10.73	0.456	23.58	41.12
	E	24°C	0	9.33	0.627	16.31
7			10.47*	0.806	13.10	-
12			9.87	0.649	15.60	-

Los valores son el promedio de tres réplicas. En cada experimento, los valores seguidos por un asterisco en cada columna presentan diferencias significativas respecto al valor inicial (día 0 de almacenamiento) de acuerdo al método de comparaciones múltiples de Tukey ( $\alpha=0.05$ ). Abreviaturas: 1= Primer experimento; E= Experimento exploratorio.

De manera general, tanto para las naranjas de cultivo convencional como orgánico, los **sólidos solubles totales (SST)** no mostraron diferencias significativas respecto al valor inicial de cada experimento durante el almacenamiento a temperatura ambiente (24°C) y en refrigeración (11°C) (cuadros 6 y 7).

Sin embargo, se presentaron algunas excepciones: en el primer experimento, los **SST** del jugo de las naranjas convencionales almacenadas a 24°C a los 12 días aumentaron significativamente respecto al valor inicial, mientras que en el caso del almacenamiento a 11°C se observó un incremento a los 21 y 29 días con respecto al valor inicial ( $\alpha=0.05$ ); estos incrementos al final del periodo de almacenamiento en cada caso pueden deberse a la deshidratación que provoca que los **SST** se concentren y a la alta variabilidad que se presentaron en los frutos (cuadro 6). En el experimento exploratorio, los **SST** de las naranjas de cultivo orgánico almacenadas a 24°C se incrementaron significativamente al día 7 (cuadro 7); este aumento podría deberse nuevamente a la alta variabilidad que se presentó entre las muestras biológicas.

Debido al mayor control en la elección de los frutos cosechados en el segundo experimento, la variabilidad entre los promedios de %**SST** de las naranjas convencionales

disminuyó en comparación con los experimentos anteriores y, como ya se mencionó, no se observaron diferencias significativas durante el almacenamiento (cuadro 6).

Asimismo, la **acidez titulable (AT)** de las naranjas de ambos sistemas de cultivo no mostró diferencias significativas durante el almacenamiento a 24 y 11°C respecto al valor inicial de cada experimento (cuadros 6 y 7).

Los valores promedio de **AT** obtenidos a lo largo del almacenamiento para las naranjas convencionales fueron significativamente menores en el primer experimento que en los otros dos. Asimismo, las desviaciones estándar presentadas por los resultados del segundo experimento son menores que en los otros dos casos, lo cual indica una mayor homogeneidad de las muestras debido, como ya se mencionó, al mayor cuidado que se procuró en la selección de las naranjas al momento de la cosecha (cuadro 6).

Ahora bien, dado que los cítricos son frutos no climatéricos, su tasa respiratoria no exhibe un incremento notable en la madurez fisiológica y de consumo, e incluso se ha observado que ésta disminuye a medida que avanza el tiempo de almacenamiento (Ladaniya, 2008).

A través de la respiración los frutos obtienen la energía que necesitan para mantener sus funciones vitales, este proceso involucra la ruptura oxidativa de compuestos orgánicos como azúcares, ácidos orgánicos (como el cítrico y el málico presentes en vacuolas), lípidos y, en casos extremos, incluso proteínas. Los sustratos más comunes en la respiración de los cítricos son la glucosa y la fructosa (Ladaniya, 2008).

Debido a que la tasa respiratoria es baja y disminuye de forma constante después de la cosecha de los cítricos, la cantidad disponible de azúcares y ácidos orgánicos es lentamente convertida a CO<sub>2</sub>, agua y calor. Sin embargo, se ha observado que los cambios en la cantidad de sólidos solubles totales y acidez titulable en el jugo dependen más bien de las condiciones en las cuales son almacenadas; por ejemplo, en condiciones de baja humedad se produce una rápida pérdida de agua que concentra los componentes en el jugo (entre ellos, sólidos solubles y ácidos orgánicos) durante el almacenamiento (Ladaniya, 2008).

Los resultados obtenidos en los tres experimentos no concuerdan con lo reportado por la literatura relativa a **SST** y **AT**, pues no se mostraron cambios ni tendencias en estos parámetros durante el almacenamiento.

Muchos productores y comerciantes utilizan la determinación de sólidos solubles totales (**SST**) como una primera estimación del contenido de azúcares en los frutos, relacionándolo con el grado de dulzor como un atributo de preferencia en los productos. Sin embargo, en años recientes la percepción del gusto por parte de los consumidores no sólo depende del contenido de azúcares, sino que la acidez se ha convertido en un factor importante. Por esta razón, la relación **SST/AT** se ha utilizado como un **índice de madurez (IM)** que se asocia con el grado de aceptación de los frutos (Valero y Serrano, 2010).

El **índice de madurez (IM)**, junto con el color y la apariencia del flavedo, es un parámetro habitual para evaluar la madurez de corte en naranjas. Esto adquiere particular importancia para la naranja, ya que si estos frutos se cosechan antes de alcanzar la madurez de consumo, ya no podrán alcanzarla durante el almacenamiento postcosecha. La calidad interna de los cítricos es mayor cuando los frutos alcanzan la madurez óptima en el árbol (Ladaniya, 2008).

En todos los experimentos, el **IM** se mantuvo constante durante el periodo de almacenamiento en ambas temperaturas tanto para los frutos orgánicos como para los convencionales, no se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos en ninguno de los tiempos de muestreo ni al comparar éstos con sus respectivos valores iniciales (cuadros 6 y 7).

Los valores iniciales de **IM** en el primer experimento fueron 18.00 para las naranjas convencionales (cuadro 6) y 21.46 para las orgánicas (cuadro 7). En el experimento exploratorio a las convencionales les correspondió un valor de 14.02 (cuadro 6) y a las orgánicas de 16.31 (cuadro 7). Por su parte, el segundo experimento sólo contó con naranjas convencionales, cuyo valor inicial fue de 15.18 (cuadro 7).

En general, en los tres experimentos realizados se observó que desde el inicio y durante el periodo de almacenamiento en ambas temperaturas, tanto las naranjas de cultivo



convencional como orgánico se encuentran muy por encima del **IM** que indica la NMX-FF-027-SCFI-2007 (el cual corresponde a 7) y del intervalo especificado en normas de calidad (**IM**= 7-12). Sólo se observaron excepciones en el experimento exploratorio, pues al día 7 y 12 del almacenamiento a temperatura ambiente los valores de **IM** fueron de 11.50 y 10.34, respectivamente, cumpliendo con ello la especificación de las normas de calidad, sin embargo cabe agregar que en estos dos casos las desviaciones estándar fueron muy grandes.

Ahora bien, el cultivo de naranja necesita temperaturas cálidas en el verano y una cantidad considerable de lluvia (aproximadamente 1200mm al año), además de un ambiente húmedo en el suelo y mucha luz (SAGARPA, 2012b).

De acuerdo con datos de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural (1997), en el estado de Morelos se han delimitado cuatro tipos climáticos: cálido subhúmedo, semicálido, templado subhúmedo y semifrío. Jojutla y Tepalcingo son los dos municipios donde se encuentran las huertas de origen de las naranjas utilizadas en este experimento y las características de sus agro-hábitats se presentan en el cuadro 8.

Cuadro 8. Agro-hábitat de las huertas de cultivo orgánico y convencional en el estado de Morelos

Municipio	Sistema de cultivo	Tipo climático	Fisiografía	Unidad de suelo
Jojutla	Orgánico	<p><b>Cálido subhúmedo:</b></p> <p>Temperatura media anual: 22°C</p> <p>Temperatura del mes más frío: 18°C</p> <p>Presenta lluvias en verano.</p> <p>Precipitación del mes más seco: 60mm</p> <p>% de lluvia invernal:</p>	Planicies (valles, llanuras y mesetas)	<p><b>Vertisol:</b> Suelos pesados (arcillosos), 30% o más de arcilla, difíciles de labrar y de drenaje interno con tendencia a deficiente.</p> <p>Presentan buenos niveles de fertilidad y se pueden utilizar en gran variedad de cultivos: maíz, caña de azúcar, arroz, sorgo, etc.</p>
Tepalcingo	Convencional	<p>5-10.2% de la anual</p> <p>Cociente P/T (precipitación total anual en mm/temperatura media anual en °C) &lt;43.2</p> <p>Es el clima más seco de los cálidos subhúmedos.</p>	Sierras	<p><b>Feozem háplico:</b> Suelos ubicados en sistemas de lomeríos y sierras, con profundidad de hasta 125cm, básicamente soportan vegetación natural de selva baja caducifolia.</p>

Fuente: (SAGAR, 1997).

Conforme a lo anteriormente expuesto y dado que el **IM** de las naranjas en todos los experimentos se encuentra por encima del intervalo especificado en normas de calidad, este comportamiento no se debe a que los frutos se estén cosechando ya entrada la senescencia, sino más bien a que su calidad y, particularmente, el balance de sólidos solubles y ácidos orgánicos es fuertemente afectado por el tipo de suelo y las condiciones climáticas de cultivo (Reuther, 1973), sugiriendo que bajo éstas, las naranjas no se ajustan a los requerimientos de las normas actuales, sin embargo, esta calidad es la suficiente para que los frutos sean aceptados por los consumidores a nivel regional.

En el primer experimento, el **porcentaje de jugo** de las naranjas de cultivo convencional, presentaron un aumento significativo en todos los tiempos de almacenamiento a 24°C (5, 8, 12 y 15 días) respecto al valor inicial que mostraron las naranjas. Asimismo, las naranjas de cultivo orgánico almacenadas a 24°C aumentaron significativamente a los días 5 y 12 respecto al valor inicial. Las naranjas de ambos sistemas en refrigeración no mostraron diferencias significativas respecto al valor inicial durante el almacenamiento (cuadros 6 y 7).

Como ya se ha discutido previamente, se presentó una mayor pérdida fisiológica de peso en los frutos almacenados a temperatura ambiente que en refrigeración (sección 9.1). De acuerdo con Ladaniya (2008), durante el almacenamiento la pérdida de peso por transpiración también ejerce un efecto sobre el porcentaje de jugo, que puede presentar un “incremento” considerado así erróneamente al ser referenciado al peso completo del fruto, cuya cáscara ha disminuido su aportación al peso total, pues usualmente ésta se deshidrata más rápidamente que la pulpa.

En el segundo experimento, no se detectaron diferencias significativas en el **porcentaje de jugo** para ambas temperaturas durante el periodo de almacenamiento de las naranjas de cultivo convencional, excepto al día 7 en refrigeración, en el que se presentó una disminución ( $\alpha=0.05$ ) respecto a los valores exhibidos al inicio del experimento (cuadro 6), esto no podría considerarse una tendencia presentada por los frutos por efecto de la temperatura de almacenamiento sino, más bien, ser atribuida a la variabilidad entre las muestras biológicas.

Es importante señalar que, en general, durante el almacenamiento las naranjas conservaron un **porcentaje de jugo** igual o mayor al especificado en la norma mexicana NMX-FF-027-SCFI-2007 (>40%).

En un trabajo previo, Tránsito (2013) evaluó las características de calidad de naranjas 'Valencia' cultivadas en sistemas orgánico y convencional provenientes de las mismas huertas del estado de Morelos, durante los años 2008, 2009, así como mensualmente de marzo a diciembre de 2012. Dentro de la caracterización de la calidad se determinó el diámetro polar y ecuatorial, así como los sólidos solubles totales (SST), la acidez titulable (AT), el índice de madurez (IM) expresada como el cociente SST/AT, porcentaje de jugo y cáscara. Los resultados mostraron que el cociente SST/AT siempre mantuvo valores muy por encima de los indicados por las normas de calidad (igual a 7-12), lo cual corresponde con lo observado en el presente estudio.

Cuando los valores de SST/AT son muy altos como los que aquí se encontraron puede ser un indicio de senescencia de las naranjas cultivadas, es decir, que se les está cosechando tardíamente; sin embargo, es posible que las condiciones climatológicas predominantes en la región de Morelos y particularmente en los municipios donde se encuentran las huertas de naranjas (cuyas características se detallan en el cuadro 8) no permitan el desarrollo del cociente indicado en la norma mexicana de calidad, lo cual se confirma con los resultados de diámetro ecuatorial y polar que muestran una tendencia hacia frutos alargados, además de una cáscara gruesa y con textura rugosa, todas las anteriores características de los frutos sometidos a climas áridos con temperaturas demasiado altas (Reuther, 1973).

### **8.3. Color**

#### *8.3.1. Escala de color en flavedo*

La interpretación de los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  y del índice de color de cítricos (**ICC**), se apoyó a través de la elaboración de una escala visual de color del flavedo con 20 naranjas 'Valencia', a las cuales se les agrupó en cuatro categorías (figura 7).



Figura 7. Agrupamiento de naranjas 'Valencia' de acuerdo con el color de flavedo: A= verde, B= amarillo, C= anaranjado ligero, D= anaranjado intenso.

A cada naranja se le determinaron (por triplicado en diferentes puntos) los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  y se calculó el ICC para cada grupo de datos (figura 8).

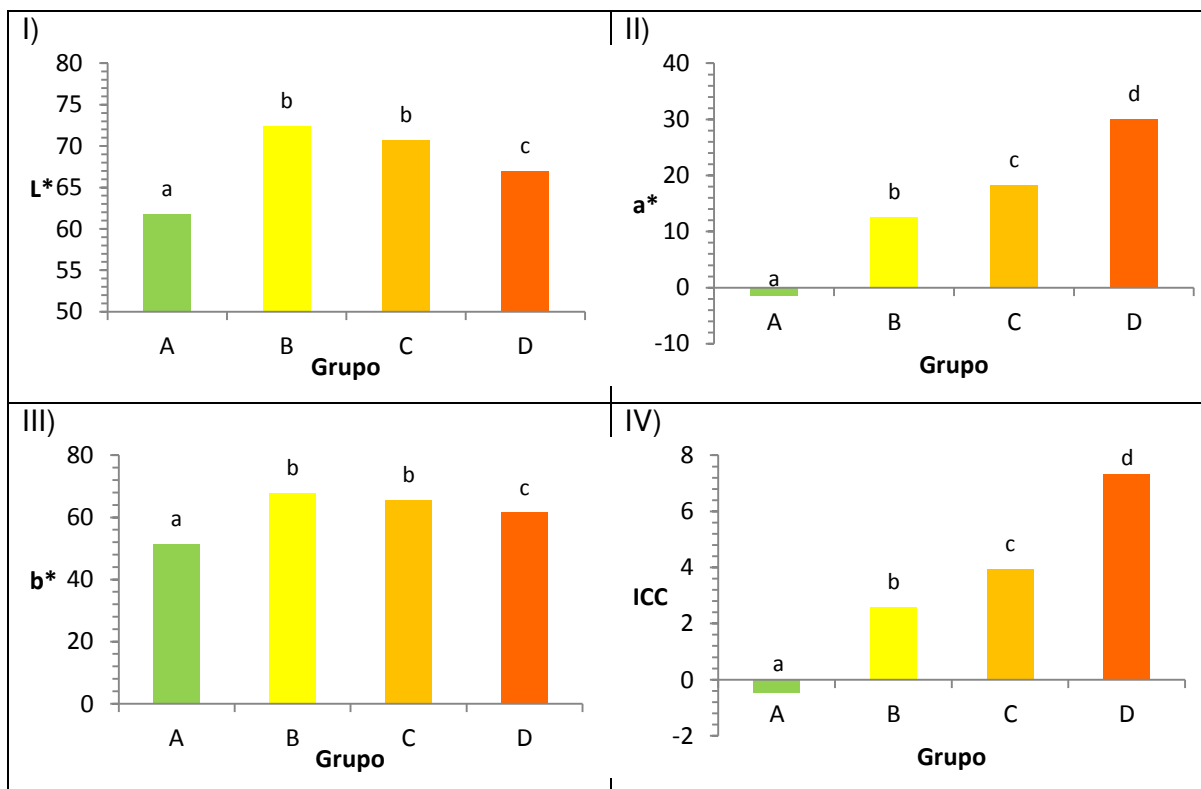


Figura 8. Escala de color en flavedo: A= verde, B= amarillo, C= anaranjado ligero, D= anaranjado intenso. I) Parámetro  $L^*$ ; II) Parámetro  $a^*$ ; III) Parámetro  $b^*$ ; IV) Índice de color de cítricos (ICC). Medias seguidas por la misma letra (minúscula) no tienen diferencias significativas entre grupos ( $\alpha=0.05$ ).

De acuerdo con la escala visual elaborada, tanto el parámetro  $L^*$  (luminosidad: donde cero corresponde al negro y 100 al blanco) como el parámetro  $b^*$  (cuyos valores negativos corresponden a una coloración tendiente al azul y los positivos son tendientes al amarillo) fueron estadísticamente menores en las naranjas verdes (A), se incrementó ( $\alpha=0.05$ ) en las intensamente anaranjadas y alcanzó su valor más alto en las amarillas (B) y en las ligeramente anaranjadas (C) (figuras 8 I y III), con base en estos resultados es evidente que estos parámetros no muestran una tendencia a incrementarse o disminuir de acuerdo con el aumento de coloración anaranjada percibida en cada categoría de la escala visual.

La figura 8(II) muestra los resultados del parámetro  $a^*$  (cuyos valores negativos corresponden al color verde y los valores positivos son rojos) agrupados de acuerdo a la escala visual elaborada, en ella se aprecia que conforme la coloración percibida cambia del verde hasta el anaranjado intenso, el parámetro  $a^*$  aumenta significativamente en relación directa con el cambio de color.

Para estudiar las variaciones de color se han calculado diversos índices que evitan trabajar con tres datos numéricos, los cuales por separado no proporcionan una idea concreta del color de la muestra. Para medir el color del flavedo, el índice de color de cítricos (**ICC**) suele presentar una alta correlación con la apreciación visual del color (Jiménez et al., 1981, citados por Artés et al., 2000).

Los resultados de los tres parámetros anteriores se procesaron para calcular el **ICC** ( $1000 \cdot a^*/L^* \cdot b^*$ ), cuyo comportamiento entre categorías se muestra en la figura 8(IV), donde se visualiza que conforme cambia la coloración desde el verde hasta el anaranjado intenso, el ICC aumenta en relación directa con la percepción visual, lo cual confirma lo aseverado por Jiménez et al. (1981), citados por Artés et al. (2000).

Este índice es importante pues el consumidor asocia la madurez de los frutos con el color de los mismos. Sin embargo, esta consideración es errónea pues la madurez interna de los cítricos es independiente de la coloración del flavedo, esta última siendo afectada principalmente por la temperatura predominante durante su periodo de desarrollo y maduración (Agustí-Fonfría, 2012).

En realidad, en el color externo de los cítricos coexisten tanto clorofilas como carotenoides. Cuando los frutos están verdes, los carotenoides se hallan enmascarados por el verde intenso de las clorofilas y a medida que avanza la maduración, se van degradando las clorofilas y se incrementa la síntesis de carotenoides, estos procesos son simultáneos pero independientes. Precisamente, el ICC fue ideado para evaluar la presencia de ambos tipos de pigmentos en el flavedo desde un punto de vista práctico que refleja la evolución del fruto en el intervalo de colores comprendido entre el verde oscuro y el anaranjado intenso (Agustí-Fonfría, 2012).

### 8.3.2. Escala de color en jugo

Para la interpretación de los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  y del ICC en el jugo se elaboró una escala visual con 15 naranjas 'Valencia', que se agruparon en tres categorías (figura 9).

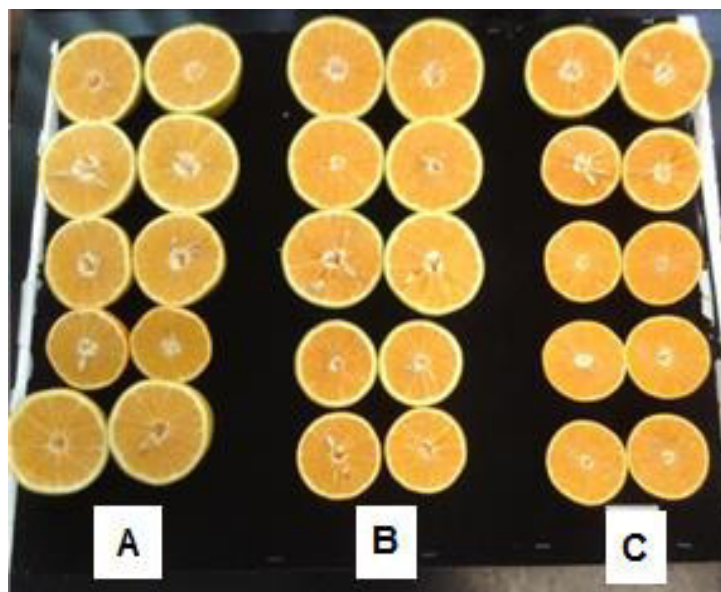


Figura 9. Agrupamiento de naranjas 'Valencia' de acuerdo con el color de la pulpa:  
A= amarillo, B= anaranjado ligero, C=anaranjado intenso.

Posteriormente, se extrajo el jugo de cada naranja y se filtró, éste se depositó en una celda y se realizó una medición (por duplicado) de los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  y se calculó el ICC para cada grupo de datos (figura 10).

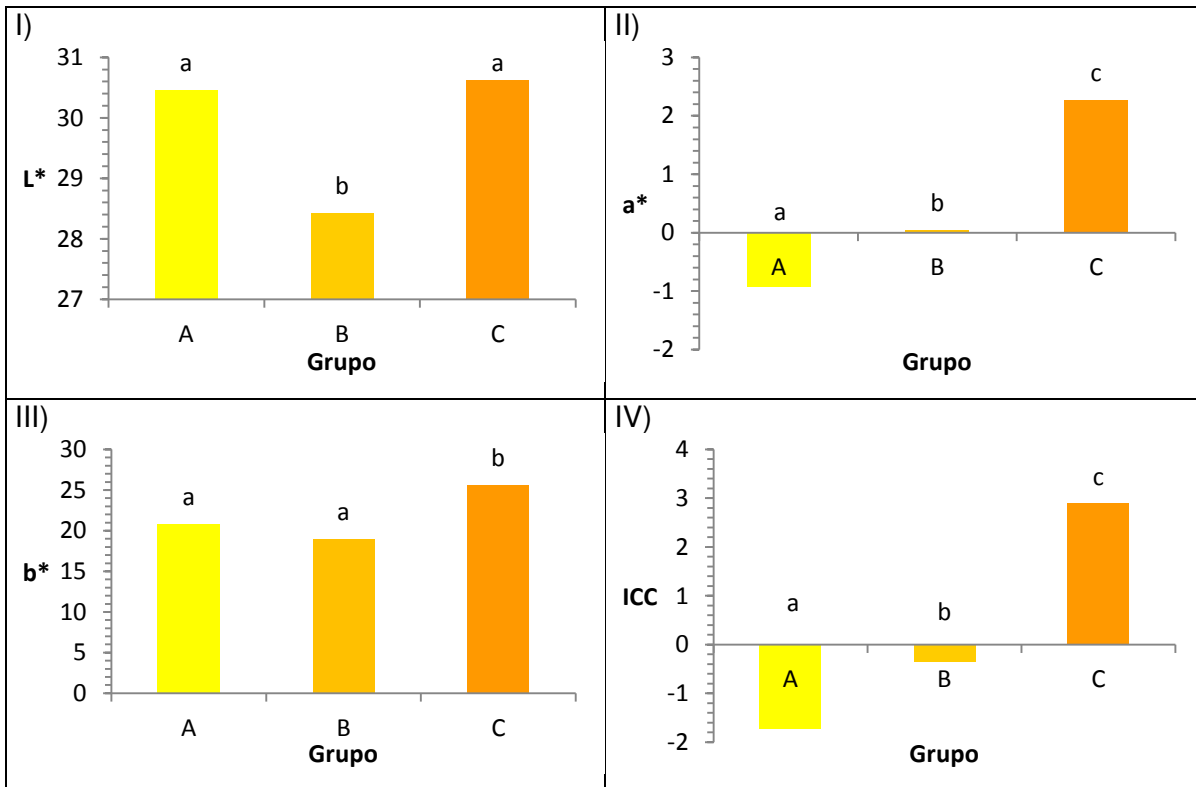


Figura 10. Escala de color en jugo: A= amarillo, B= anaranjado ligero, C=anaranjado intenso. I) Parámetro L\*; II) Parámetro a\*; III) Parámetro b\*; IV) Índice de color de cítricos (ICC). Medias seguidas por la misma letra (minúscula) no tienen diferencias significativas entre grupos ( $\alpha=0.05$ ).

De acuerdo con la escala elaborada, el parámetro L\* no reveló una tendencia definida de acuerdo con el color percibido, pues el jugo amarillo (A) y el anaranjado intenso (B) presentaron los valores más altos ( $\alpha=0.05$ ) y mostraron diferencias significativas con el grupo de color anaranjado ligero (B) (figura 10 I).

El parámetro a\* agrupado de acuerdo a la escala visual elaborada, muestra un aumento significativo cambiando de valores negativos a positivos conforme la coloración percibida en el jugo cambia del amarillo hasta el anaranjado intenso, esto sugiere que en el grupo A se presentaron tonalidades verdes que a simple vista no resultaban tan evidentes (figura 10 II).

Los resultados del parámetro b\* no muestran una tendencia clara respecto al color percibido en cada categoría de la escala visual elaborada, este parámetro alcanza su

valor máximo en el jugo anaranjado intenso (C) y disminuye significativamente en los grupos B (anaranjado ligero) y A (amarillo), que a su vez no muestran diferencias ( $\alpha=0.05$ ) entre ellos (figura 10 III).

Partiendo de la alta correspondencia que se presentó entre el índice de color de cítricos (ICC) y la apreciación visual del color en flavedo comprobada previamente (sección 9.3.1), se investigó también si el color del jugo y este índice guardan alguna relación.

Los resultados de los tres parámetros anteriores se procesaron para calcular el ICC ( $1000 \cdot a^*/L^* \cdot b^*$ ), cuyo comportamiento entre categorías se muestra en la figura 10(IV), donde se visualiza que conforme cambia la coloración desde el amarillo hasta el naranja intenso, el ICC aumenta significativamente en relación directa con la percepción visual, cambiando desde valores negativos, en el primer caso, hasta valores positivos en el segundo.

Como ya se ha mencionado, el ICC evalúa la presencia de clorofilas y carotenoides en el flavedo bajo un punto de vista práctico, sin embargo la maduración interna y externa de los frutos se rigen por mecanismos diferentes y están sujetas a controles distintos (Agustí-Fonfría, 2012). Esto explica que a veces el color del endocarpio sea el deseable de acuerdo a los consumidores, aunque el flavedo de las naranjas tenga coloraciones verdes por efecto de factores geográficos, climáticos y prácticas culturales (Soler-Aznar y Soler-Fayos, 2006).

### *8.3.3. Determinación del color en los frutos*

A continuación se presentan los resultados de las determinaciones de color en flavedo y en jugo de naranjas de cultivo convencional (cuadro 9) y orgánico (cuadro 10) durante su almacenamiento a temperatura ambiente (24°C) y en refrigeración (11°C).



Cuadro 9. Determinaciones de color en flavedo y jugo de las naranjas de cultivo convencional durante el almacenamiento.

Experimento	Temperatura Almacenamiento	Días de Almacenamiento	Color Flavedo				Color Jugo			
			L*	a*	b*	ICC	L*	a*	b*	ICC
1	11°C	0	66.69	3.90	61.02	0.94	-	-	-	-
		8	67.32	7.89	61.73	1.92	-	-	-	-
		15	68.35	12.01*	62.63	2.76*	-	-	-	-
		21	67.39	16.44*	62.06	4.00*	-	-	-	-
		29	68.65	19.19*	67.19*	4.19*	-	-	-	-
	24°C	5	67.03	8.45	60.47	2.00	-	-	-	-
		8	63.56	6.95	55.89	1.93	-	-	-	-
		12	66.33	15.82*	60.84	3.84*	-	-	-	-
		15	68.21	17.04*	63.48	3.94*	-	-	-	
E	24°C	0	76.11	2.48	67.23	0.26	30.78	-2.87	18.14	-5.30
		7	75.07	4.53	67.70	0.81	32.72	-2.53	18.52	-4.19
		12	78.16	5.51	70.18	0.96	31.38	-3.31	15.73	-6.90
2	11°C	0	78.64	15.96	75.43	2.69	31.40	0.74	20.72	1.13
		7	77.69	18.01	71.75*	3.22	31.44	2.12*	22.42	2.96*
		14	78.18	18.17	72.87	3.19	33.46*	1.82	24.01*	2.12
		21	77.16	21.15*	73.27	3.78*	31.49	1.28	23.56*	1.71
	24°C	28	79.85	23.02*	75.07	3.86*	29.93	0.80	22.87	1.10
		7	78.05	14.09	72.03*	2.49	33.42*	1.62	22.25*	2.16
		14	77.83	18.13	72.56	3.19	31.79	0.83	22.02	1.18
		21	78.87	22.00*	75.04	3.72*	30.55*	0.36	21.60	0.50
		28	76.16*	27.15*	72.15	5.01*	29.95*	0.74	22.64*	1.09

Los valores son el promedio de tres réplicas. En cada experimento, los valores seguidos por un asterisco en cada columna presentan diferencias significativas respecto al valor inicial (día 0 de almacenamiento) de acuerdo al método de comparaciones múltiples de Tukey ( $\alpha=0.05$ ).

Abreviaturas: 1= Primer experimento; E= Experimento exploratorio; 2= Segundo experimento.

Cuadro 10. Determinaciones de color en flavedo y jugo de las naranjas de cultivo orgánico durante el almacenamiento.

Experimento	Temperatura Almacenamiento	Días de Almacenamiento	Color Flavedo				Color Jugo			
			L*	a*	b*	ICC	L*	a*	b*	ICC
1	11°C	0	71.28	9.31	68.41	1.86	-	-	-	-
		8	70.76	13.56	68.78	2.75	-	-	-	-
		15	70.02	8.12	64.58	1.75	-	-	-	-
		21	72.78	14.51	70.13	2.82	-	-	-	-
		29	71.83	17.23*	72.07	3.27*	-	-	-	-
	24°C	5	70.54	7.73	66.28	1.53	-	-	-	-
		8	71.66	13.27	68.65	2.62	-	-	-	-
		12	70.63	12.96	68.18	2.63	-	-	-	-
15		70.28	19.11*	68.46	3.96*	-	-	-	-	
E	24°C	0	76.70	-1.12	64.50	-0.27	28.64	-3.91	12.68	-13.64
		7	79.03	2.30*	69.50*	0.38*	32.73*	-2.94	15.26	-6.08
		12	78.69	3.77*	69.46*	0.69*	31.27*	-2.68*	14.58	-6.16

Los valores son el promedio de tres réplicas. En cada experimento, los valores seguidos por un asterisco en cada columna presentan diferencias significativas respecto al valor inicial (día 0 de almacenamiento) de acuerdo al método de comparaciones múltiples de Tukey ( $\alpha=0.05$ ).

Abreviaturas: 1= Primer experimento; E= Experimento exploratorio.

Aunque los resultados de los parámetros L\*, a\* y b\* de flavedo y jugo de naranjas de ambos sistemas de cultivo se presentan en los cuadros 9 y 10, debido a una mayor facilidad en la interpretación de los resultados y a la alta relación que presenta con la apreciación visual, la siguiente discusión se centrará en el comportamiento del parámetro **ICC**.

De manera general, el **ICC en flavedo** exhibió una tendencia a incrementarse durante el almacenamiento a 24 y 11°C en todos los experimentos tanto para las naranjas orgánicas como para las convencionales (figura 11).

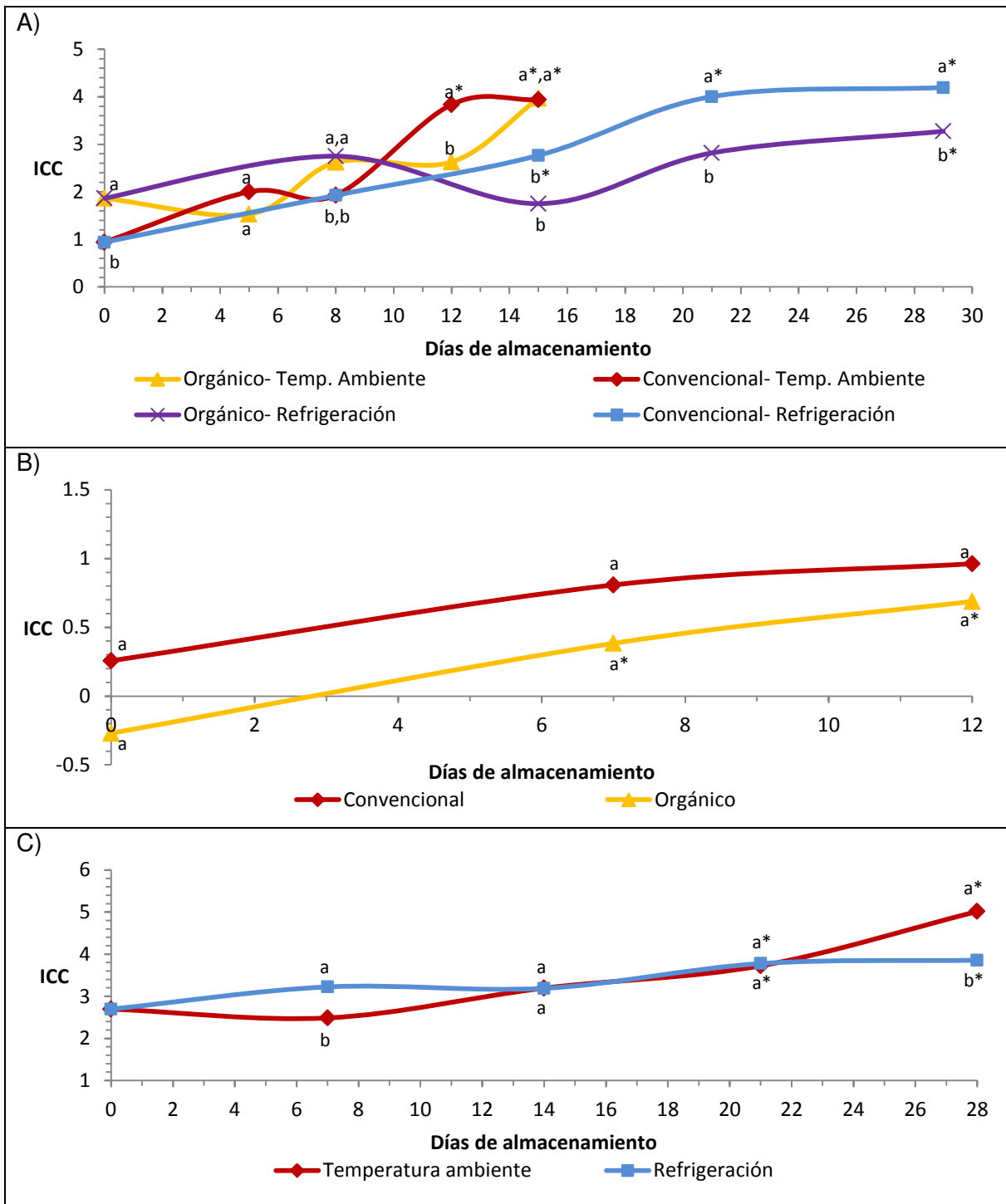


Figura 11. Índice de color de cítricos (ICC) en flavedo de naranjas 'Valencia' durante el almacenamiento en: A) Primer experimento (frutos de dos sistemas de cultivo y almacenados a dos temperaturas); B) Experimento exploratorio (frutos de dos sistemas de cultivo en almacenamiento a temperatura ambiente); C) Segundo experimento (frutos de sistema convencional almacenados a dos temperaturas). Los valores son el promedio de tres réplicas. Medias seguidas por la misma letra no tienen diferencias significativas entre tratamientos por día, medias seguidas por un asterisco presentan diferencias significativas respecto al valor inicial ( $\alpha=0.05$ ).

En el primer experimento, las naranjas convencionales almacenadas a temperatura ambiente mostraron un aumento significativo en el **ICC del flavedo** a los 15, 21 y 29 días, mientras que en refrigeración lo hicieron a los 12 y 15 días respecto a los valores iniciales (cuadro 9). Las naranjas de cultivo orgánico presentaron un comportamiento similar durante su almacenamiento, aumentando significativamente respecto al análisis inicial al día 15 en temperatura ambiente y al día 29 en refrigeración (cuadro 10).

Durante el experimento exploratorio, en el almacenamiento a temperatura ambiente las naranjas orgánicas aumentaron significativamente sus valores de **ICC en el flavedo** a los 7 y 12 días respecto al valor inicial (cuadro 10), mientras que para los frutos de cultivo convencional la tendencia observada no fue significativa (cuadro 9), muy probablemente debido a la alta variabilidad presentada por las muestras.

El segundo experimento presentó un aumento significativo en **ICC del flavedo** hasta los días 21 y 28 de almacenamiento tanto en las naranjas mantenidas a temperatura ambiente como en refrigeración (cuadro 9) al compararlas con el valor inicial.

Los resultados de Roussos (2011) indican que los compuestos carotenoides se acumulan en mayores cantidades en la cáscara de cítricos de cultivo integrado que en los de cultivo orgánico, lo cual podría deberse a diferencias en la estrategia de fertilización. En los resultados del presente estudio no se observaron efectos del sistema de cultivo en el color del flavedo que concuerden con estas observaciones.

Como se observa en los cuadros 9 y 10, al igual que **ICC**, el parámetro  $a^*$  determinado en el **flavedo** de las naranjas muestra una tendencia creciente en los tres experimentos durante el almacenamiento, lo cual confirma la aseveración de que se partió de naranjas con coloraciones más verdes en el **flavedo** y se finaliza con tonos más anaranjados, esto ocurre debido a una mayor concentración de compuestos carotenoides y degradación simultánea de la clorofila a medida que transcurre el almacenamiento (Roussos, 2011), alejándose así de los tonos verdes. Por su parte, los resultados del parámetro  $b^*$  muestran variaciones mínimas a lo largo del tiempo de almacenamiento.

De acuerdo con la normatividad de la Comunidad Valenciana, el **ICC del flavedo** mínimo al momento de la comercialización debe ser superior al valor de +6 para naranjas

(Martínez-Jávega et al., 2004). La escala visual elaborada (figura 8 IV) muestra que valores superiores a +6 presentan coloración anaranjada intensa, mientras que por debajo de este valor y hasta 0, predomina el color amarillo; si el **ICC** es menor a 0 la coloración exhibida es verde.

En los resultados obtenidos, las naranjas no alcanzaron este valor de **ICC** (+6) durante el almacenamiento, con máximos de 5.01 y 3.96 para naranjas convencionales y orgánicas, respectivamente (cuadros 9 y 10). Esto indica que en los máximos colores exhibidos por estos frutos aún predomina el color amarillo. A este respecto la NMX-FF-027-SCFI-2007 no es puntual, ya que sólo indica que “las naranjas deben presentar la coloración característica de su variedad”.

El color define el valor estético de los alimentos y predispone al consumidor respecto a lo que espera del sabor y la calidad del fruto. Durante el almacenamiento de productos vegetales, el color puede alterarse por la acción de luz, temperatura, oxígeno, iones metálicos y enzima endógenas. Además, el color de los frutos y hortalizas varía entre temporadas debido a factores intra- e interespecíficos, características precosecha y tratamientos postcosecha (Valero y Serrano, 2010).

De acuerdo con la figura 12, ninguno de los dos experimentos en que se determinó el **color del jugo** mostró diferencias significativas en **ICC** respecto al valor inicial ni entre tratamientos durante el almacenamiento de los frutos, es decir que ni el sistema de cultivo ni la temperatura de almacenamiento son factores que afecten este índice.

Estos resultados concuerdan con lo observado por Roussos (2011) que encontró que los parámetros de color en la porción comestible de las naranjas fueron similares para el cultivo orgánico e integrado, sugiriendo que esta determinación no es influenciada por el sistema de cultivo.

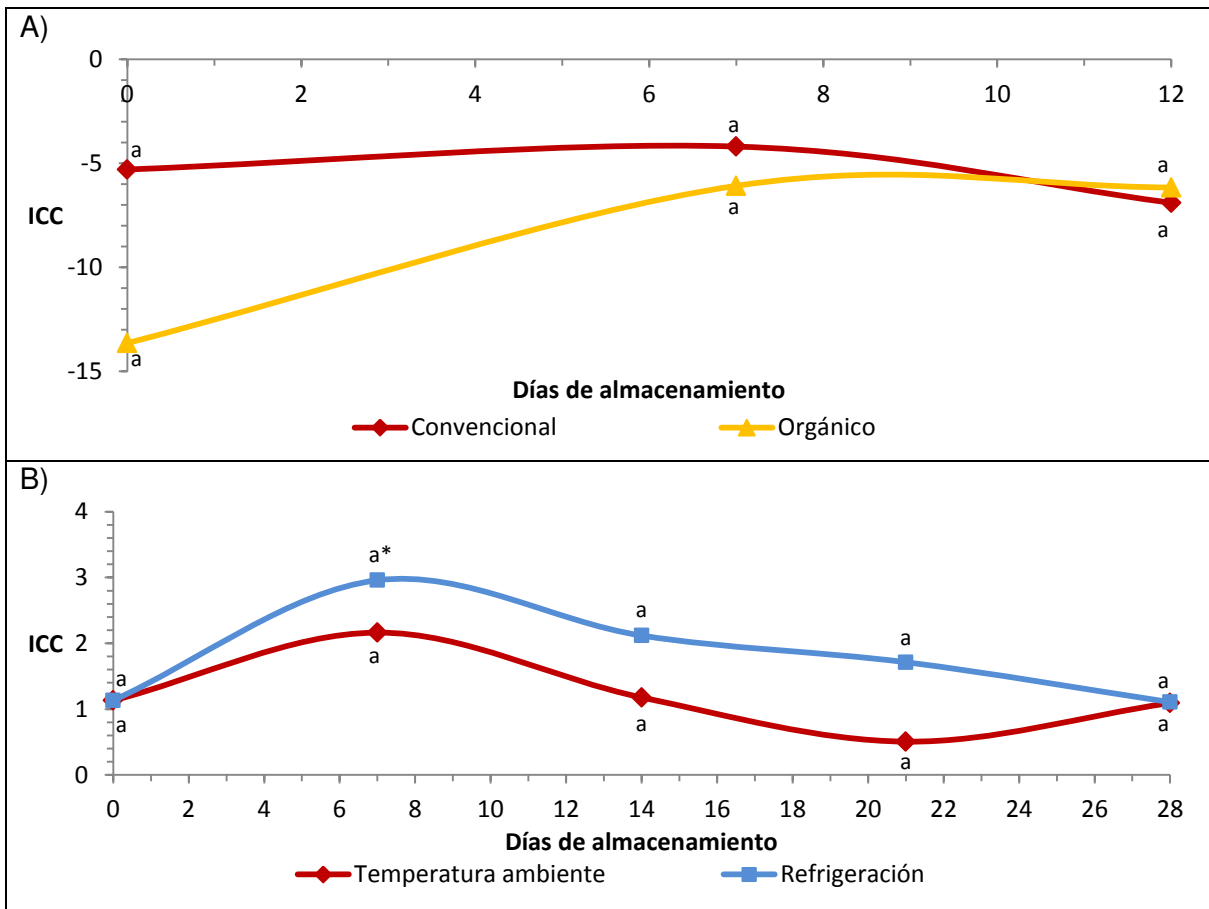


Figura 12. Índice de color de cítricos (ICC) en jugo de naranjas 'Valencia' durante el almacenamiento en: B) Segundo experimento (frutos de sistema convencional almacenados a dos temperaturas). Los valores son el promedio de tres réplicas. Medias seguidas por la misma letra no tienen diferencias significativas entre tratamientos por día, medias seguidas por un asterisco presentan diferencias significativas respecto al valor inicial ( $\alpha=0.05$ ).

Los valores de **ICC de jugo** en las naranjas del experimento exploratorio fueron más bajos que los encontrados en la escala visual elaborada previamente, lo cual señala que estos jugos presentaron coloraciones amarillas con tonalidades verdes (parámetro  $a^*$  negativo) (cuadros 9 y 10).

Por su parte, las naranjas del segundo experimento mostraron un **ICC** entre 0.50 y 2.96 (cuadro 9), estos valores se aproximan al grupo correspondiente a **jugo** de color anaranjado intenso (A) en la escala visual elaborada, lo cual podría sugerir una mayor síntesis de compuestos carotenoides en los frutos del segundo experimento.

Los parámetros  $a^*$  e **ICC en jugo** se comportan de una manera muy similar (cuadros 9 y 10), lo cual también ocurrió en el flavedo y que era lo esperado dada la expresión matemática que representa a **ICC** ( $1000 \cdot a^*/L^* \cdot b^*$ ).

#### 8.4. Prueba de compresión de frutos enteros

La **prueba de compresión** de frutos se empezó a realizar en el experimento exploratorio para establecer si podía considerarse un parámetro informativo sobre la senescencia de los frutos. En este experimento, las naranjas mostraron una tendencia decreciente en la resistencia a la compresión (que se refleja en una menor fuerza requerida para comprimir 5mm los frutos desde el punto de contacto) durante el almacenamiento, aunque estos cambios no fueron significativos debido a la brevedad del mismo y quizás también a la variabilidad de las muestras (figura 13A).

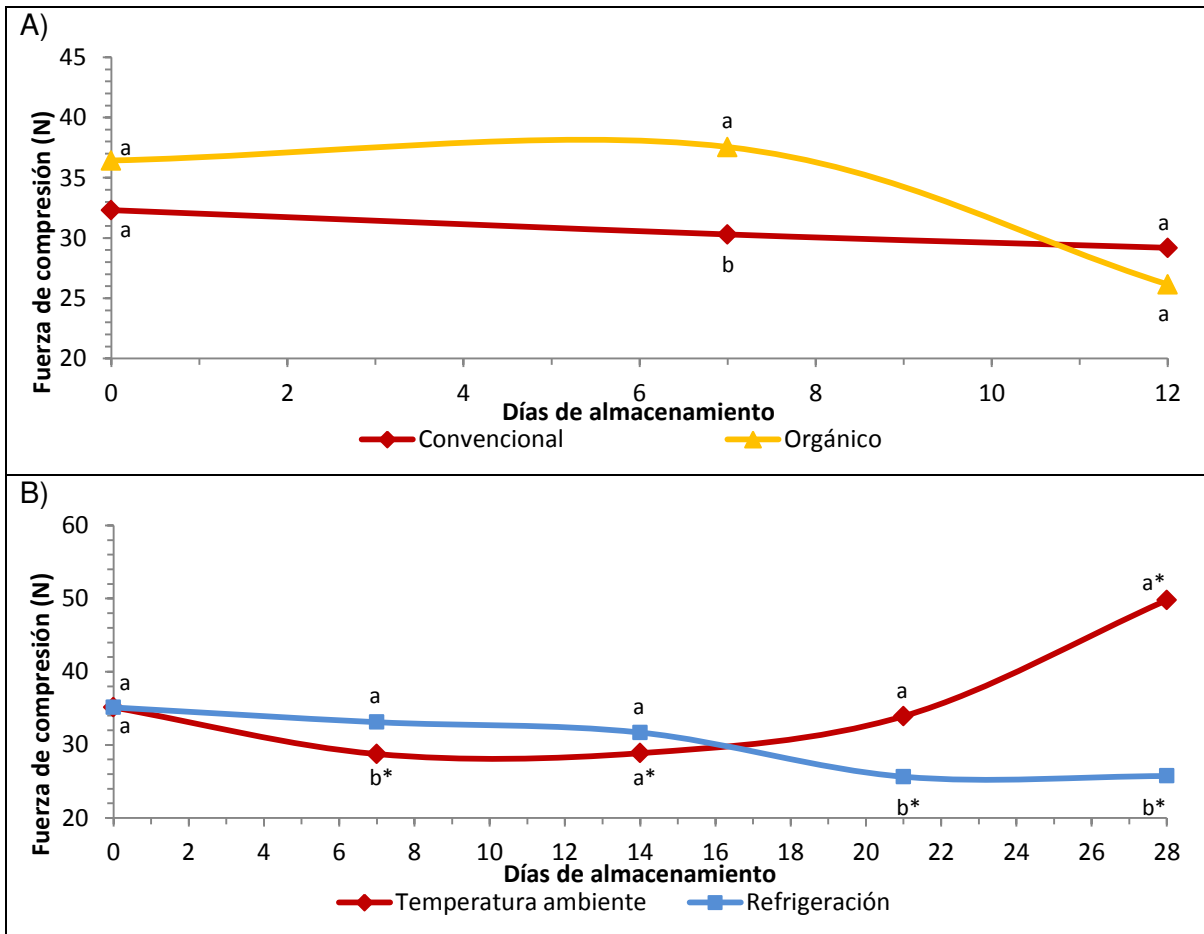


Figura 13. Prueba de compresión de naranjas 'Valencia' enteras durante el almacenamiento en: A) Experimento exploratorio (frutos de dos sistemas de cultivo en almacenamiento a temperatura ambiente); B) Segundo experimento (frutos de sistema convencional almacenados a dos temperaturas). Los valores son el promedio de tres réplicas. Medias seguidas por la misma letra no tienen diferencias significativas entre tratamientos por día, medias seguidas por un asterisco presentan diferencias significativas respecto al valor inicial ( $\alpha=0.05$ ).

Los resultados obtenidos en el segundo experimento (figura 13B) corresponden con lo reportado por Singh y Reddy (2006), observándose que las naranjas almacenadas a temperatura ambiente oponen menor resistencia a la compresión que las refrigeradas los días 7 y 14. Sin embargo, a partir del día 21, mientras la **fuerza de compresión** para estas últimas siguió disminuyendo, la correspondiente a las almacenadas a temperatura ambiente aumentó debido a la deshidratación de la cáscara que incrementó su dureza hasta que impidió la ejecución de la prueba de compresión por el texturómetro al día 28 en la mayoría de las naranjas (el resultado en este día es el promedio de dos naranjas, las únicas que el equipo aun permitió medir).

En los frutos refrigerados, la deshidratación fue retrasada (figura 6C). Al día 14, el %PP fue 10.63% y 4.22% en el almacenamiento a temperatura ambiente y en refrigeración, respectivamente. A los 21 días, el %PP en las naranjas a temperatura ambiente asciende a 16.35% (en este periodo de almacenamiento la dureza de la cáscara aumenta y con ello la fuerza de compresión), mientras que en refrigeración aún se encuentra en 6.75% y a los 29 días en 9.64% que está por debajo de la pérdida de peso que produce endurecimiento de la cáscara y, por ende, aumento de la fuerza requerida para la compresión.

En primera instancia, el ablandamiento de la cáscara se debe al debilitamiento de las paredes celulares por la hidrólisis de compuestos pécticos durante el almacenamiento en refrigeración por periodos prolongados. Sin embargo, en condiciones de almacenamiento con baja humedad relativa, la cáscara se seca rápidamente volviéndose dura y dificultando el intercambio normal de gases (Ladaniya, 2008).

Como ya se ha mencionado, la pérdida de peso por transpiración tiene grandes efectos en los frutos, pues además de su peso, afecta la apariencia y textura de la cáscara. Usualmente, la cáscara pierde agua más rápidamente que la pulpa durante el almacenamiento en condiciones de baja humedad y también se vuelve más delgada (Ladaniya, 2008).

Entonces, a medida que se aumenta el grado de deshidratación de los frutos, lo primero que se observa es una disminución en la fuerza necesaria para su compresión, después



se llega a un punto de inflexión a partir del cual la pérdida de agua de la cáscara ocasiona un endurecimiento de la misma que conduce a un aumento en la fuerza necesaria para la compresión de las naranjas en el último periodo del almacenamiento a temperatura ambiente. La refrigeración retrasa este comportamiento.

La prueba de compresión de frutos enteros complementa la información proporcionada por los parámetros de calidad tradicionalmente empleados, pues da una idea precisa de la apariencia externa y de la percepción que ésta genera a la vista y al tacto, ya que el aspecto externo es la primera barrera que un producto debe pasar para ser adquirido por los consumidores.

### **8.5. Rendimiento de aceite esencial**

El **rendimiento de aceite esencial** se calculó en el segundo experimento e inicialmente se utilizó la siguiente ecuación:

$$Rendimiento = \frac{Volumen\ de\ aceite}{Peso\ de\ cáscara} * 100$$

Mediante este cálculo, el **rendimiento de aceite esencial** mostró una tendencia a aumentar al final del almacenamiento en ambas condiciones, sin embargo, el rendimiento expresado mediante esta ecuación es afectado por la pérdida fisiológica de peso en los frutos, particularmente la cáscara, que aumenta la cantidad relativa de aceite respecto al peso de la misma (figura 14A). La tendencia señalada no fue significativa durante el almacenamiento (excepto al día 14, en que las naranjas refrigeradas fueron mayores ( $\alpha=0.05$ ) que las almacenadas a temperatura ambiente).

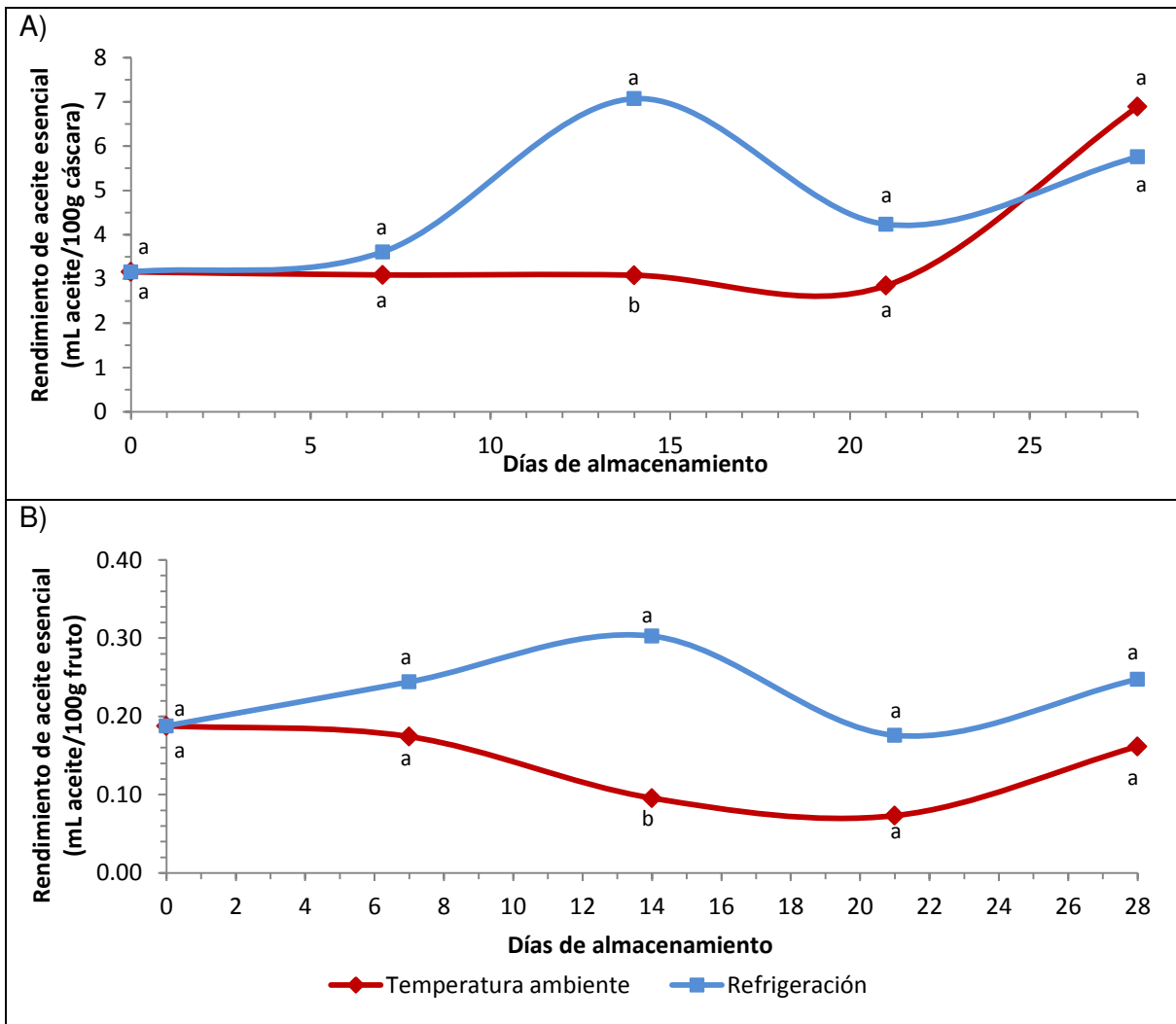


Figura 14. A) Rendimiento de aceite esencial de naranjas 'Valencia' de cultivo convencional durante el almacenamiento a dos temperaturas. B) Rendimiento (corregido) de aceite esencial de naranjas 'Valencia' de cultivo convencional durante el almacenamiento a dos temperaturas. Los valores son el promedio de tres réplicas. Medias seguidas por la misma letra no tienen diferencias significativas entre tratamientos por día, medias seguidas por un asterisco presentan diferencias significativas respecto al valor inicial ( $\alpha=0.05$ ).

El objetivo de esta determinación fue observar cómo se comporta el **rendimiento de aceite esencial** en los frutos durante su almacenamiento en dos temperaturas sin que la pérdida fisiológica de peso influya en el resultado, por lo que el cálculo se realizó corrigiendo el peso de los frutos con el **%PP** correspondiente al día de muestreo, según se detalló en la sección 7.3.8.

El rendimiento corregido de aceite esencial tampoco presentó diferencias significativas durante el almacenamiento (excepto en las naranjas a temperatura ambiente al día 14, el rendimiento corregido es menor al de las refrigeradas, estas últimas alcanzando un valor

máximo) (figura 14B), esto puede atribuirse a una dispersión grande en los resultados obtenidos, debida no sólo a la variabilidad entre unidades experimentales, sino al método manual y a las condiciones no estandarizadas en que se extrajo el aceite esencial en el laboratorio.

En la bibliografía se han reportado valores teóricos de rendimiento de aceite esencial para naranjas 'Valencia' que oscilan entre 2 y 4.5 kg aceite/ton fruta por los métodos de prensado manual – extracción “a la esponja” y mecanizados (Poore, 1932, citado por Braddock, 1999). Cabe destacar que el rendimiento de aceite esencial y la calidad del mismo están influenciados por el método de extracción empleado.

Además, en un trabajo de Bourgou et al. (2012) donde estudiaron los rendimientos de aceite esencial obtenido mediante hidrodestilación a partir de diferentes cítricos cosechados en tres periodos de madurez (inmaduros- frutos verdes, semi-maduros- frutos amarillos y maduros- frutos naranjas, seleccionados en base al color del flavedo) observaron que la cantidad obtenida de aceite esencial varía durante la maduración alcanzando niveles máximos en el periodo medio de madurez (semi-maduro) en mandarinas y naranjas. Por otra parte, se ha observado que los frutos cítricos al alcanzar su madurez y máxima firmeza, presentan el rendimiento más alto de aceite esencial debido a una mayor turgencia de las glándulas de aceite del flavedo (Braddock, 1999).

De acuerdo con lo anterior, el rendimiento de aceite esencial es afectado por las propiedades mecánicas de los frutos en el momento de la extracción; sin embargo, a pesar de los cambios en dichas propiedades observados en este estudio, no se presentaron variaciones en el rendimiento de aceite esencial durante el almacenamiento de las naranjas a temperatura ambiente y en refrigeración.

#### **8.6. Determinación de compuestos del aroma**

Mediante el análisis de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) de algunas muestras de jugo y aceite esencial fue posible comprobar si los compuestos que se planteó monitorear en esta investigación con base en la bibliografía existente sobre aromas de naranja, tanto los típicos de aroma a fresco, como los asociados al olor a viejo, efectivamente se detectaban en las muestras de jugo fresco utilizando esta técnica analítica (cuadro 11). En el **anexo 4** se presentan dos

cromatogramas ilustrativos del análisis de aceite esencial y jugo de naranja a través de CG-EM.

Cuadro 11. Compuestos detectados en jugo y aceite esencial de naranja 'Valencia' mediante cromatografía de gases – espectrometría de masas

Compuesto	Jugo	Aceite Esencial
Octanal		✓
Decanal		✓
Limoneno	✓	✓
Linalool	✓	✓
Butanoato de etilo	✓	
$\alpha$ - terpineol	✓	✓
p - vinilguayacol		

El cuadro 11 muestra que no todos los compuestos volátiles que se monitorearon fueron detectados en jugo y en aceite esencial: butanoato de etilo, solo se detectó en jugo y no en aceite esencial, octanal y decanal se detectaron en aceite esencial pero no en jugo. Asimismo, el p- vinilguayacol no se detectó mediante la técnica empleada ni en jugo ni en aceite esencial.

En el **anexo 1** se presentan las curvas de calibración elaboradas para los compuestos del aroma detectados en jugo de naranja 'Valencia'. En el caso de linalool y  $\alpha$ -terpineol, las curvas sólo presentaron linealidad por encima de 0.01ppm, sin embargo las áreas encontradas en las muestras de jugo en los tratamientos durante el almacenamiento eran menores al intervalo comprendido por la curva de calibración, de tal modo que para estos dos compuestos las concentraciones se reportan como **<0.01ppm**, y para verificar tendencias y hacer comparaciones estadísticas entre tratamientos se trabajó con los resultados expresados como áreas.

De acuerdo con Pérez- Cacho y Rouseff (2008), los niveles de compuestos volátiles presentes en el jugo de naranja 'Valencia' dependen del método de extracción de jugo empleado, reportando para linalool concentraciones de 0.75 y 0.13 $\mu$ g/mL en la extracción mecánica y manual, respectivamente. Para el  $\alpha$ - terpineol, estos autores reportan niveles de 0.19 $\mu$ g/mL en la extracción mecánica y cantidades trazas en el jugo extraído

manualmente. Por su parte, Pérez- López et al. (2006) reportaron en jugo fresco de mandarina niveles entre 0.13 y 0.17mg/L de linalool y 0.001mg/L de  $\alpha$ - terpineol.

Respecto a los niveles de volátiles al final del almacenamiento en el experimento exploratorio, se observó que sólo el limoneno presenta diferencias significativas entre sistemas de cultivo (cuadro 12).

Cuadro 12. Concentraciones de los compuestos detectados en muestras de jugo de naranja al día 14 de almacenamiento a temperatura ambiente.

COMPUESTO	CONVENCIONAL		ORGÁNICA	
	PROMEDIO	D.S.	PROMEDIO	D.S.
Limoneno	222.91*	3.26	274.21*	23.53
Linalool	<0.01		<0.01	
Butanoato de etilo	4.19	0.25	4.17	0.21
$\alpha$ -terpineol	<0.01		<0.01	

Los valores son el promedio de tres repeticiones. Medias seguidas por un asterisco presentan diferencias significativas entre sistemas de cultivo para cada compuesto ( $\alpha=0.05$ ).

Los resultados obtenidos en la cuantificación de los compuestos del aroma de las naranjas 'Valencia' en el segundo experimento se presentan en la figura 15; el butanoato de etilo muestra valores iniciales elevados y después una disminución significativa drástica al día 7, a partir de ahí la disminución es menor en todos los tiempos de muestreo en los frutos almacenados tanto a temperatura ambiente como en refrigeración; los niveles de butanoato de etilo son significativos entre temperaturas a los días 14 y 28, siendo mayores los de la naranjas a temperatura ambiente que las refrigeradas (figura 15A).

En jugo fresco de naranja 'Valencia', Pérez- Cacho y Rouseff (2008) reportaron niveles de butanoato de etilo de 0.83 y 0.84 $\mu$ g/mL para la extracción mecánica y manual, respectivamente. Los niveles de butanoato de etilo encontrados en el presente estudio son superiores, siendo 4.3ppm el contenido del jugo al inicio del experimento.

El limoneno mostró una disminución ( $\alpha=0.05$ ) hasta los días 21 y 28 tanto para los frutos almacenados a temperatura ambiente como en refrigeración. Cabe señalar que sólo al día 7 los niveles de limoneno fueron significativamente diferentes entre temperaturas

(figura 15B). El linalool presentó un aumento significativo al día 7 para ambas temperaturas y después disminuyó ( $\alpha=0.05$ ) en ambos casos. Al día 28 los niveles de linalool fueron mayores en el almacenamiento a temperatura ambiente que en refrigeración (figura 15C).

Respecto al limoneno, se han reportado niveles de 76 y 18  $\mu\text{g/mL}$  en jugo fresco de naranja 'Valencia' extraído de forma mecánica y manual, respectivamente (Pérez- Cacho y Rouseff, 2008); mientras que en el caso de mandarinas, Pérez- López et al. (2006) encontraron concentraciones entre 47.2 y 59.2mg/L.

El R-limoneno es el principal constituyente del aceite de la cáscara de todos los cítricos (Braddock, 1999) pero aquí se observó que también hay abundantes cantidades en el jugo, aun teniendo el cuidado de retirar el flavedo antes de la extracción del jugo.

El  $\alpha$ -terpineol fue el único compuesto asociado al olor a viejo que se monitoreó en este estudio. Durante el almacenamiento a temperatura ambiente se observó una tendencia a aumentar ( $\alpha=0.05$ ) en los días 21 y 28. Las naranjas en refrigeración no mostraron esta tendencia, y sólo presentaron un máximo al día 7 que puede ser atribuible a errores en la determinación. Cabe agregar que en todos los tiempos de almacenamiento se presentaron diferencias significativas entre temperaturas, encontrándose valores más altos a temperatura ambiente (figura 15D).

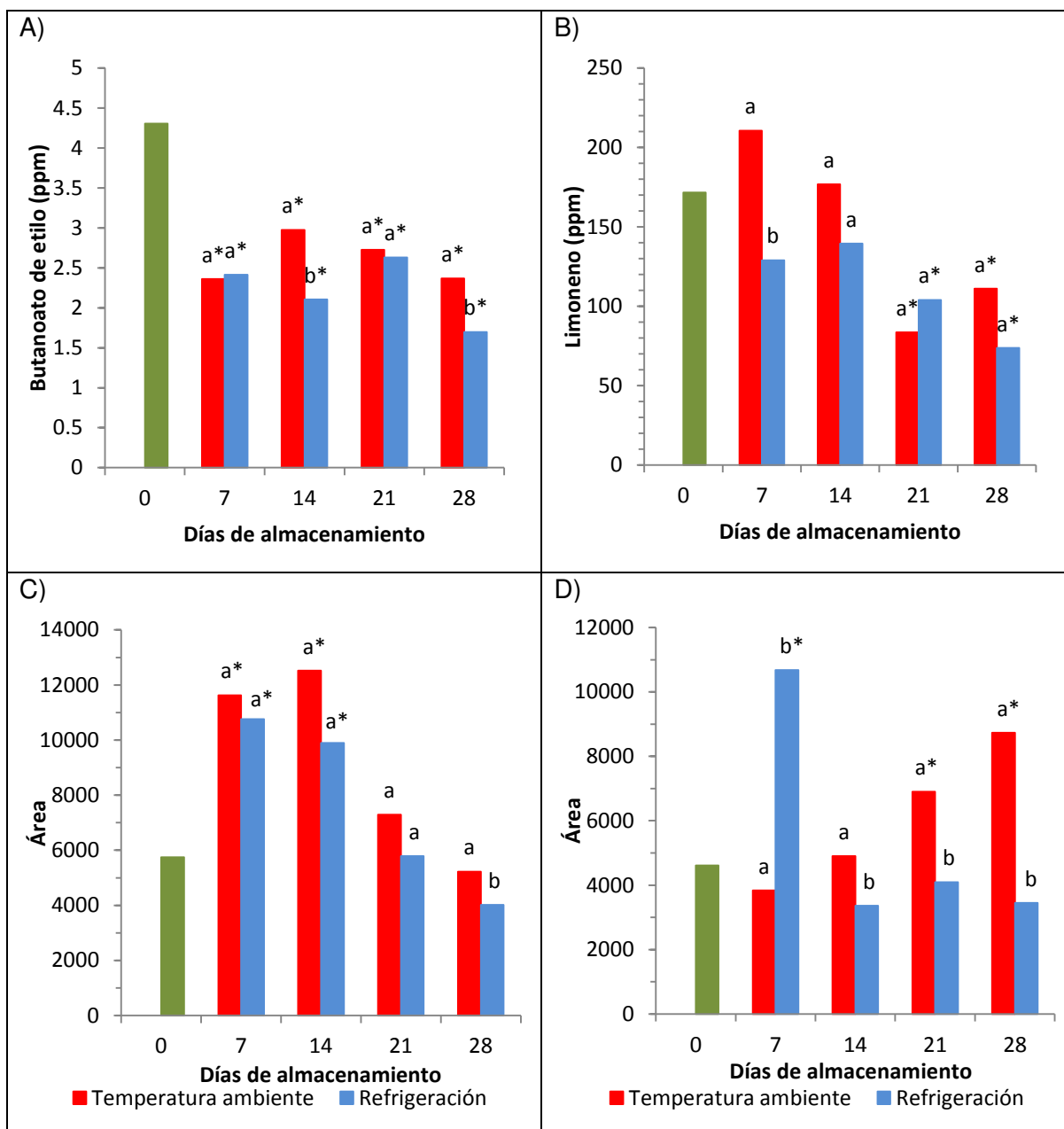


Figura 15. Niveles de compuestos volátiles en jugo de naranjas 'Valencia' de cultivo convencional durante el almacenamiento a dos temperaturas. A) Butanoato de etilo; B) Limoneno; C) Linalool; D)  $\alpha$ -terpineol. Los valores son el promedio de tres réplicas. Medias seguidas por la misma letra no tienen diferencias significativas entre tratamientos por día, medias seguidas por un asterisco presentan diferencias significativas respecto al valor inicial ( $\alpha=0.05$ ).

Los terpenos en los cítricos se forman a partir del ácido mevalónico como precursor, el cual forma linalil pirofosfato que a su vez se transforma en linalool, el terpeno precursor de todos los demás. Evidentemente, los monoterpenos en los jugos de cítricos se encuentran principalmente en la fracción oleosa. El primer paso en la formación de  $\alpha$ -terpineol a partir de linalool y de limoneno es la protonación. La protonación del grupo OH en el linalool es

más rápida que la de la doble ligadura en el limoneno (figura 16) (Haleva-Toledo et al., 1999).

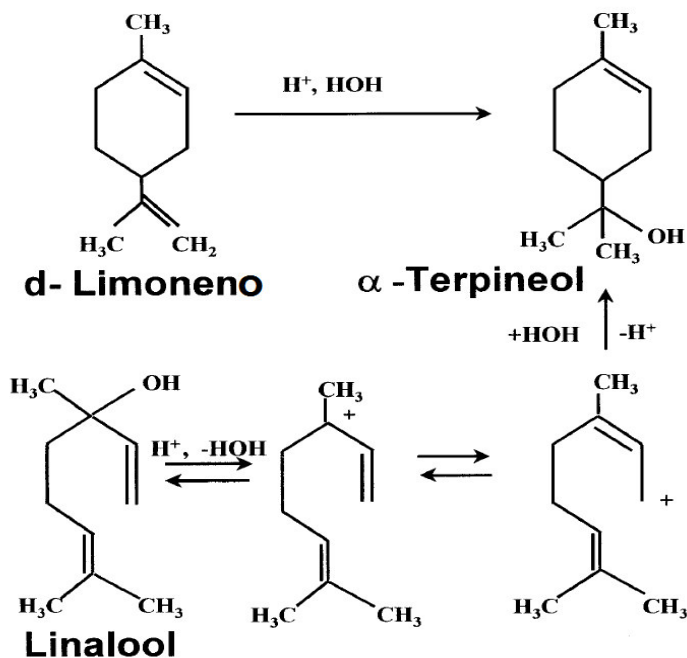


Figura 16. Rutas para la formación de  $\alpha$ -terpineol a partir de linalool y limoneno (Haleva-Toledo et al., 1999).

Considerando el comportamiento de los compuestos monitoreados durante el almacenamiento de las naranjas, parece evidente que el cambio en el aroma empieza a los 21 días de almacenamiento a temperatura ambiente, pues disminuyen los niveles de linalool y de limoneno a la vez que aumenta el de  $\alpha$ -terpineol. En refrigeración, disminuyen tanto limoneno como linalool pero  $\alpha$ -terpineol se mantiene constante lo cual podría deberse a que a esta temperatura se retarda el metabolismo, por lo que este último no se empieza a sintetizar tan rápido como lo hace a temperatura ambiente.

Resultados similares se presentaron en experimentos realizados por Pérez-López et al. (2006) con dos variedades de mandarina, cuyo jugo fue procesado térmicamente (98°C, 20s) y almacenado a 2°C durante 20, 40 y 60 días, ellos determinaron que los niveles de linalool y limoneno disminuían significativamente durante el almacenamiento en refrigeración mientras que  $\alpha$ -terpineol y terpinen-4-ol se incrementaron significativamente.



La información disponible sobre la presencia de p-vinilguayacol en jugo de naranja sólo se refiere a los casos en que ha recibido un tratamiento térmico como la pasteurización, en el presente trabajo el jugo estudiado provino de frutas frescas almacenadas en las que este compuesto no fue detectado. El p-vinilguayacol se forma a partir de las reacciones de ácido ferúlico libre generado de las formas enlazadas (glucósidos) en jugo de naranja almacenado (Hiramoto et al, 1999), reacción que no ocurre si el jugo no se somete a tratamientos térmicos.

Respecto a la identificación y cuantificación de compuestos del aroma en los frutos durante el almacenamiento, se observó que p-vinilguayacol, cuya presencia se reporta en la bibliografía en jugos procesados, no se detectó en jugo ni en aceite esencial.

En un experimento sobre estabilidad durante el almacenamiento se encontró que, después de 13 días a 32°C en un envase comercial, el jugo de naranja fue descrito como “viejo” y con sabor a “humedad” debido a la formación de  $\alpha$ -terpineol (Durr et al., 1981). Cuando se agrega a jugos de naranja comerciales, el  $\alpha$ -terpineol imparte un olor a viejo como a humedad con un umbral de detección de 2.5mg/L (Haleva-Toledo et al., 1999).

Los compuestos asociados al aroma de los cítricos se encuentran principalmente en la fracción oleosa del fruto, que se encuentra en las glándulas de aceite esencial del flavedo, sin embargo aunque en menor cantidad, estos compuestos también están presentes dentro de las vesículas de jugo como emulsiones. Cabe agregar que estos compuestos son arrastrados al jugo durante el proceso de extracción.

Uno de los mayores problemas durante el almacenamiento y manejo postcosecha de las frutas es el desarrollo de sabores indeseables y la pérdida del sabor característico. La aparición y percepción de sabores desagradables está directamente asociada con la senescencia y con la acumulación de compuestos volátiles con olor a viejo y productos de fermentación alcohólica como acetaldehído y etanol (Valero y Serrano, 2010).

Por lo tanto, el cambio en el perfil de los compuestos volátiles monitoreados en el jugo (disminución de limoneno y linalool así como el incremento de  $\alpha$ -terpineol) parece ser un parámetro indicativo del inicio de la senescencia en los frutos.

### 8.7. Determinación de metabolitos de fermentación

Para la cuantificación de metabolitos de fermentación (acetaldehído y etanol) y metanol presentes en las muestras de jugo se realizaron las curvas de calibración utilizando estándares comerciales de estas sustancias disueltos en el jugo modelo cuya composición se describió en el apartado 7.3.9. Las curvas y sus respectivas ecuaciones se muestran en el **anexo 2**.

Después de comprobar la tendencia lineal de los puntos de cada curva en el intervalo de interés a través del coeficiente de regresión ( $R^2$ ), se calcularon las concentraciones presentes en las muestras de jugo (figuras 17, 18 y 19).

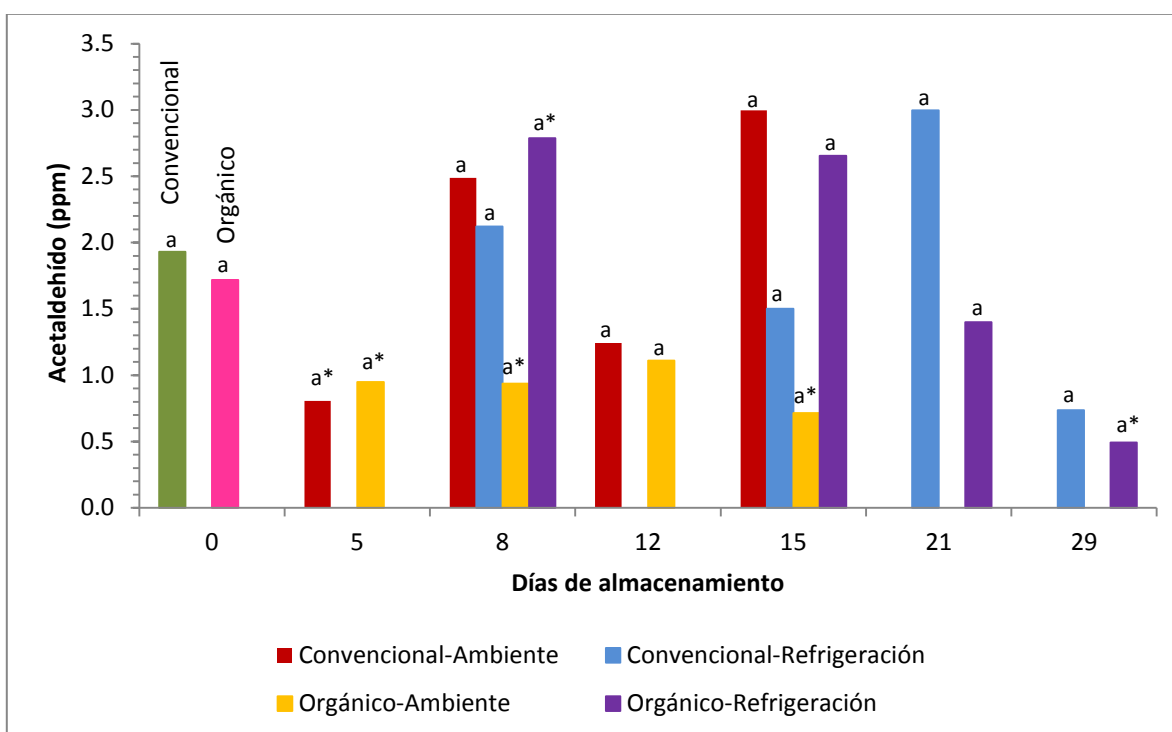


Figura 17. Niveles de acetaldehído en jugo de naranjas 'Valencia' de dos sistemas de cultivo durante el almacenamiento a dos temperaturas (primer experimento). Los valores son el promedio de tres réplicas. Medias seguidas por la misma letra no tienen diferencias significativas entre tratamientos por día, medias seguidas por un asterisco presentan diferencias significativas respecto al valor inicial ( $\alpha=0.05$ ).

Los niveles de acetaldehído no mostraron diferencias significativas entre tratamientos durante el almacenamiento de los frutos debido a la alta variabilidad presentada por las muestras. De acuerdo con Belitz et al. (2009) el umbral de detección del acetaldehído a 20°C es cercana a 100mg/L, que es un nivel mucho mayor al detectado en el jugo de naranja durante el almacenamiento. De manera general, y a excepción de las naranjas

convencionales almacenadas a temperatura ambiente, los niveles de acetaldehído tendieron a disminuir al final del almacenamiento, comportamiento que se puede explicar en función de la conversión de este metabolito a etanol o de la difusión del mismo desde la atmósfera interna de los frutos hacia el ambiente (Shi et al., 2007).

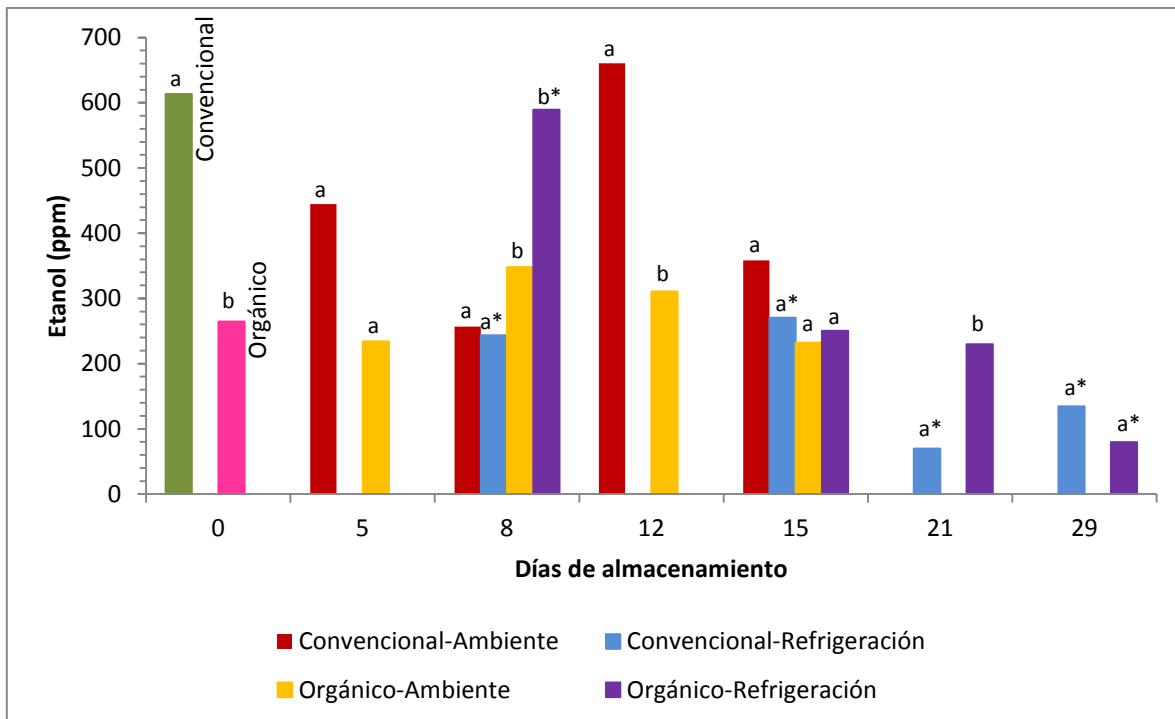


Figura 18. Niveles de etanol en jugo de naranjas ‘Valencia’ de dos sistemas de cultivo durante el almacenamiento a dos temperaturas (primer experimento). Los valores son el promedio de tres réplicas. Medias seguidas por la misma letra no tienen diferencias significativas entre tratamientos por día, medias seguidas por un asterisco presentan diferencias significativas respecto al valor inicial ( $\alpha=0.05$ ).

Las naranjas almacenadas a temperatura ambiente no mostraron diferencias significativas en los niveles de etanol a través del tiempo respecto al análisis inicial para ambos sistemas. Durante el almacenamiento en refrigeración el etanol tendió a disminuir a lo largo del tiempo, hay que notar la excepción del tiempo 8 para el sistema orgánico en refrigeración, que presentó un aumento de más del doble respecto al valor inicial y a partir de entonces los niveles disminuyeron drásticamente hacia el final del almacenamiento (figura 18). Respecto al umbral de percepción, para el etanol corresponde a 100mg/L a 20°C (Belitz et al., 2009), de manera que durante el almacenamiento, el jugo de los frutos presentó niveles superiores a éste valor. En general, se ha observado que a mayores temperaturas de almacenamiento mayor es la producción de acetaldehído y etanol (Valero y Serrano, 2010).

Shi et al. (2007) estudiaron los factores que afectan la síntesis y acumulación de metabolitos de fermentación en mandarinas y toronjas bajo condiciones de anaerobiosis, para lo cual compararon varios aspectos moleculares y bioquímicos de la fermentación alcohólica así como las características anatómicas de mandarinas 'Murcott', que sufren especialmente de acumulación de etanol, y de toronjas 'Star Ruby', que son relativamente más tolerantes a condiciones anaeróbicas.

Está bien establecido que la exposición a condiciones anaeróbicas y a otros tipos de estrés induce la expresión de los genes de piruvato descarboxilasa (PDC) y alcohol deshidrogenasa (ADH) en plantas (Sachs et al., 1996). Shi et al. (2007) encontraron en su estudio que las vesículas de jugo de mandarina contenían niveles basales de ADH mucho mayores que los de toronja. Por lo tanto, bajo un suministro constante de sustratos, las mandarinas tienen una capacidad potencialmente mayor que las toronjas de producir etanol, el producto final de la fermentación alcohólica. Además, se encontró que la cáscara de las mandarinas es menos permeable a los compuestos volátiles, se acumula más etanol y acetaldehído en sus atmósferas internas y pueden desarrollar más rápido sabores desagradables después de la cosecha.

La acumulación de acetaldehído y etanol en el jugo de cítricos puede depender no sólo de la velocidad de biosíntesis, sino también de las velocidades de difusión y/o metabolismo. Los dos productos inmediatos formados a partir de acetaldehído son etanol (después de la actividad de ADH) y acetil coenzima A (reacción catalizada por la enzima aldehído deshidrogenasa (ALDH)). Además, el etanol puede ser posteriormente convertido a ésteres etílicos en tejidos de frutas (Shi et al., 2007).

Cabe señalar que en las muestras de jugo colectadas durante este experimento, se encontraron cantidades muy pequeñas de acetato de etilo, pero sólo en algunas muestras correspondientes a las naranjas convencionales almacenadas a temperatura ambiente, insuficientes para poder ser analizadas estadísticamente y establecer un comportamiento durante el almacenamiento, esta es la razón de que el acetato de etilo fuera omitido de los resultados de metabolitos de fermentación.

Shi et al. (2007) encontraron que en el caso de las mandarinas es más probable que las diferencias en las propiedades de difusión de estos compuestos volátiles, y no sus velocidades de metabolismo, puedan jugar un papel importante regulando su acumulación en las atmósferas internas de los cítricos.

Como se mencionó previamente, el almacenamiento de los frutos a humedades relativas bajas provoca la deshidratación de la cáscara volviéndola dura, lo cual dificulta el intercambio gaseoso; esto causa condiciones anaeróbicas dentro del fruto favoreciendo que se incrementen los niveles de alcohol (Ladaniya, 2008).

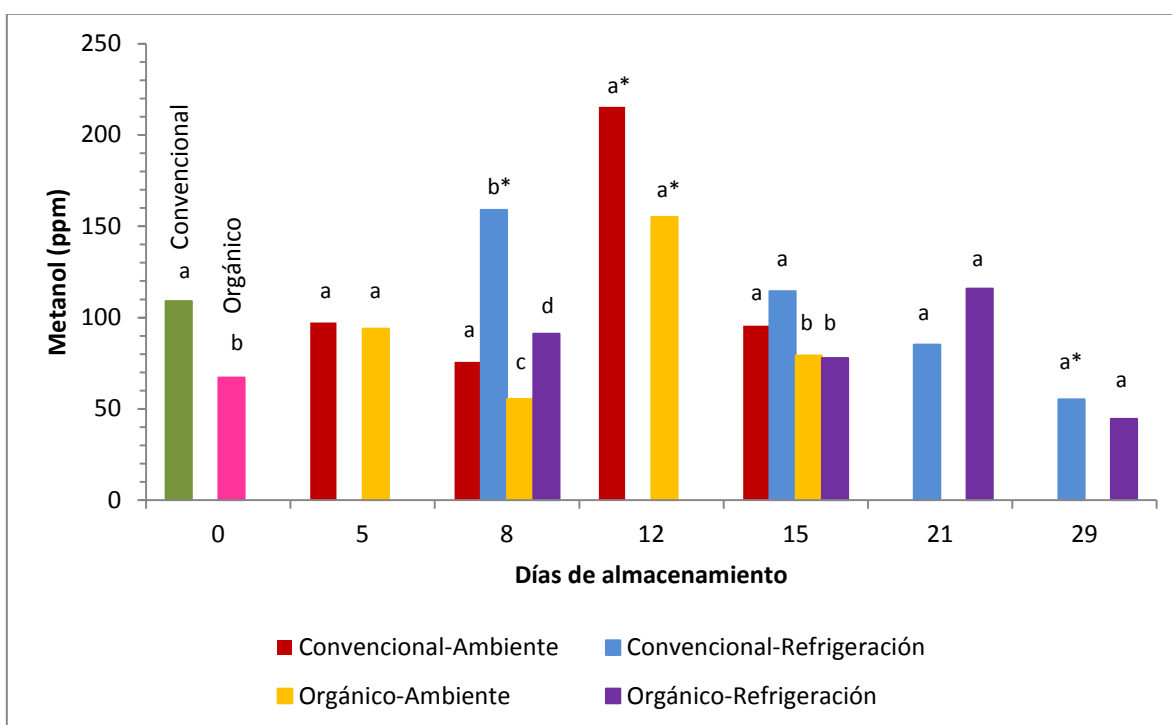


Figura 19. Niveles de metanol en jugo de naranjas ‘Valencia’ de dos sistemas de cultivo durante el almacenamiento a dos temperaturas (primer experimento. Los valores son el promedio de tres réplicas. Medias seguidas por la misma letra no tienen diferencias significativas entre tratamientos por día, medias seguidas por un asterisco presentan diferencias significativas respecto al valor inicial ( $\alpha=0.05$ ).

Por otra parte, mediante el método cromatográfico utilizado fue posible determinar la presencia de metanol, el cual proviene de la hidrólisis de pectina por acción de la enzima pectinesterasa (Kirchner y Miller, 1957). Se observó que en los tratamientos almacenados a temperatura ambiente el metanol no tuvo cambios significativos durante el almacenamiento, excepto al día 12 para ambos sistemas de cultivo, en el cual los frutos alcanzaron un nivel cercano al doble del presentado en los otros días. Las naranjas en

refrigeración también mostraron niveles de metanol con pocas variaciones a lo largo del experimento, con una tendencia a disminuir hacia el final del almacenamiento (figura 19).

### **8.8. Evaluación sensorial**

La percepción que los consumidores tienen de las naranjas 'Valencia' es un indicador importante que se puede relacionar con los cambios físicos y químicos que sufren los frutos durante el tiempo de almacenamiento, es por ello que de manera simultánea a los experimentos (exploratorio y segundo) se efectuó un análisis sensorial que evaluó la evolución de dichos frutos con respecto a la percepción y nivel de agrado de los consumidores.

Los descriptores de los atributos (apariencia, sabor, olor y frescura) de los frutos generados por los consumidores en el experimento exploratorio se muestran en el cuadro 13.

Cuadro 13. Características comunes mencionadas por los consumidores de acuerdo a la percepción de las muestras en el experimento exploratorio.

	Atributo	Días de almacenamiento			
		1	8	12	14
Cultivo convencional	Apariencia	Lisa, poco porosa, fresca, forma uniforme, color verde, color verde-amarillo, con brillo, textura suave, parecen jugosas	Grandes, color pálido, color verde-amarillento, homogénea, cáscara humectada, textura lisa, brillosas, color uniforme, olor intenso, buena consistencia	Olor intenso, consistencia suave, cáscara lisa, color verde-amarillo, inmaduras, blanda	
	Sabor	Dulce, insípida, jugosa, ácida, fresca	Dulce, natural, jugosa, agria, ácida, dulce	Ácida, dulce, amarga, rico, jugosa	Fresco, poco dulce, agradable, característico a naranja, ácida, jugosa
	Olor	Dulce, agradable, fresca, agridulce, cítrico, olor intenso	Fresco, natural, aroma intenso, cítrico, apetecible, dulce	Olor intenso, agradable, cítrico, rico dulce, característico a naranja	Fresco, muy dulce, agradable, característico a naranja, agradable, poco ácido
Cultivo orgánico	Apariencia	Porosa, rugosa, color amarillo, tamaño mediano, cáscara dura, inmaduras, color medio verde, manchas	Rugosas, tamaño mediano, deformes, color verde, dañadas, color amarillento, porosas	Grandes, porosas, olor agrio, color verde, con manchas, dura, opaca, seca, cáscara rugosa	
	Sabor	Insípida, poco dulce, ácida, amarga	Ácido, agridulce, poco dulce, poco agria, insípida	Dulce, agridulce, simple	Amargo, insípida, dulce, ligeramente ácida
	Olor	Aroma suave, dulce, ácido, característica a naranja	Agradable, dulce, ácido, cítrico, poco intenso, poco fresco	Poco intenso, agridulce, dulce, agrio	Amargo, poco intenso, cítrico, ligeramente dulce, fresco
<b>Frescura basada en:</b>		Sabor, dulzor, textura, cantidad de jugo, color de la cáscara, olor	Color, jugosidad, apariencia, olor, sabor, brillo	Olor, cantidad de jugo, sabor, color, acidez, consistencia	Aroma cítrico, equilibrio dulzor/acidez, color interior, sabor, consistencia, apariencia de cáscara

Los resultados de la evaluación de los atributos en el experimento exploratorio se muestran en el cuadro 14.

Cuadro 14. Evaluación de los atributos de las muestras del experimento exploratorio durante el almacenamiento.

Atributos	Días almacenamiento					
	1		8		12	
	Muestra naranja		Muestra naranja		Muestra naranja	
	Orgánica	Convencional	Orgánica	Convencional	Orgánica	Convencional
Apariencia entera	4	5*	4	5	4	5*
Olor	5	6	5	6*	5	6*
Sabor	5	6*	5	5	5	5
Frescura degustar	3	4*	3	3	3	3

Los resultados (media) se basan en pruebas bilaterales que asumen varianzas iguales con un nivel de significancia 0.05. Los resultados seguidos por un asterisco presentan diferencias significativas entre sistemas de cultivo en el mismo día de almacenamiento para cada atributo.

Utilizando la corrección de Bonferroni, se han ajustado las pruebas para todas las comparaciones por pares dentro de una fila.

Desde el primer día de evaluación la muestra de naranja convencional fue calificada con agrado mayor significativamente en los atributos de apariencia, sabor y frescura, en comparación con la muestra orgánica. Una semana después, respecto al olor, la muestra convencional fue significativamente mejor calificada en comparación a la muestra de naranja orgánica. Al día final de almacenamiento la muestra convencional fue mejor calificada por los consumidores como más agradable por su apariencia y olor (cuadro 14).



Cuadro15. Frecuencias en el nivel de agrado de las naranjas del experimento exploratorio reportado por los consumidores durante el almacenamiento.

		Días almacenamiento					
		1		8		12	
		Muestra naranja		Muestra naranja		Muestra naranja	
		Orgánica	Convencional	Orgánica	Convencional	Orgánica	Convencional
Puntos escala*	% Frecuencia	% Frecuencia	% Frecuencia	% Frecuencia	% Frecuencia	% Frecuencia	
Apariencia entera	1	0	0	0	0	0	0
	2	0	3	2	2	2	0
	3	<b>41*</b>	9	18	16	<b>36*</b>	9
	4	31	13	<b>47*</b>	24	27	11
	5	13	<b>47*</b>	20	36	27	44
	6	6	<b>25*</b>	7	18	9	<b>27*</b>
	7	9	3	7	4	0	9
Olor	1	0	0	0	0	0	0
	2	0	3	0	0	0	0
	3	13	0	9	4	9	2
	4	13	9	24	11	<b>31*</b>	7
	5	47	38	38	33	24	<b>44*</b>
	6	13	28	20	36	27	29
	7	16	22	9	16	9	18
Sabor	1	0	0	0	0	0	2
	2	3	0	0	9	2	4
	3	19	6	7	20	9	13
	4	13	0	20	13	22	11
	5	31	44	33	27	29	22
	6	19	31	<b>31*</b>	9	24	27
	7	16	19	9	22	13	20
Frescura degustar	1	6	3	0	9	0	2
	2	29	13	11	18	20	11
	3	35	38	42	49	40	44
	4	23	28	<b>38*</b>	9	33	27
	5	6	19	9	16	7	16

**Escala hedónica: 1= Me desagrada muchísimo; 2= Me desagrada mucho; 3= me desagrada; 4= Ni me agrada ni me desagrada; 5= Me agrada; 6= Me agrada mucho; 7= Me agrada muchísimo.**  
**Escala JAR: 1= Mucho menos de lo que esperaba; 2= Menos de lo que esperaba; 3= Justo como lo esperaba; 4= Más de lo que esperaba; 5= Mucho más de lo que esperaba.**

**Los resultados se basan en pruebas bilaterales con un nivel de significancia de 0.05. Los resultados seguidos de un asterisco presentan diferencias significativas entre sistemas de cultivo en el mismo día de almacenamiento para cada atributo.**

La apariencia es un atributo importante para los consumidores, en el primer día de la evaluación la muestra convencional agradó a un porcentaje significativo de consumidores. En el último día del experimento, a un porcentaje significativo de consumidores les desagradó la apariencia de la naranja de sistema de cultivo orgánico, en tanto que la apariencia de la muestra convencional siguió siendo agradable hasta el final del almacenamiento (cuadro 15).

En el caso del olor, los consumidores siguieron mostrando agrado al final del almacenamiento de las muestras de cultivo convencional, mientras que el olor de la orgánica no les agradó pero tampoco les desagradó. Respecto al sabor y frescura de ambas muestras, no hay alguna diferencia significativa en la preferencia de los consumidores (cuadro 15).

En el segundo experimento se formuló un nuevo cuestionario tomando los atributos mencionados más destacados del experimento exploratorio acerca de la percepción de olor, sabor y apariencia de las naranjas 'Valencia' por parte de los consumidores.

A los 7 y 14 días de almacenamiento los atributos fueron evaluados positivamente por los consumidores para ambas temperaturas. En las evaluaciones al día 21 de almacenamiento la apariencia y el olor de la muestra en refrigeración agradaron significativamente. La apreciación de las muestras de ambas temperaturas respecto al color de la cascara no presentó alguna diferencia significativa, por los consumidores (cuadro 16).

Cuadro 16. Evaluación de los atributos de las muestras del segundo experimento durante el almacenamiento.

ATRIBUTOS	Días almacenamiento					
	7		14		21	
	Muestra		Muestra		Muestra	
	Refrigeración	Temperatura ambiente	Refrigeración	Temperatura ambiente	Refrigeración	Temperatura ambiente
<b>Apariencia entera</b>	5	5	<b>5*</b>	4	<b>5*</b>	4
<b>Olor general</b>	4	5	5	4	<b>5*</b>	4
<b>Color cascara</b>	5	5	5	5	5	4
<b>Firmeza</b>	3	3	3	<b>4*</b>	<b>3*</b>	2
<b>Sabor</b>	<b>6*</b>	5	<b>6*</b>	5	<b>5*</b>	4
<b>Intensidad dulzor</b>	3	3	3	3	3	3
<b>Intensidad de acidez</b>	3	3	3	3	<b>3*</b>	2
<b>Cantidad de jugo</b>	3	3	3	3	<b>3*</b>	2
Los resultados (media) se basan en pruebas bilaterales que asumen varianzas iguales con un nivel de significación 0.05. Los resultados seguidos por un asterisco presentan diferencias significativas entre temperaturas en el mismo día de almacenamiento para cada atributo.						
a. Utilizando la corrección de Bonferroni, se han ajustado las pruebas para todas las comparaciones por pares dentro de una fila.						

De acuerdo con Valero y Serrano (2010) las propiedades de textura de los frutos tienen un papel preponderante en la aceptación por parte de los consumidores. La firmeza es un indicador importante percibido durante la senescencia de los frutos cítricos. Se les preguntó a los consumidores cómo apreciaban la firmeza de las muestras de naranja (en una escala de 5 puntos donde 1 correspondió a ‘mucho más dura de lo que me gusta’ y 5 a ‘mucho más aguada de lo que me gusta’); las muestras en refrigeración se distinguieron por los consumidores como firmes durante el almacenamiento, al día 14, las muestras en almacenamiento a temperatura ambiente se calificaron como ‘más aguada de lo que me gusta’. En el día 21 las muestras a temperatura ambiente ya fueron calificadas como ‘más dura de lo que me gusta’, estos resultados coinciden con lo observado en la prueba de compresión de frutos, en la que se presentó un incremento abrupto en la fuerza requerida para la compresión al día 21 en el almacenamiento a temperatura ambiente aumentando aún más al día 28 (cuadro 16).

Durante el almacenamiento, el sabor de la muestra de naranja convencional sometida a temperatura de refrigeración agradó más a los consumidores ( $\alpha=0.05$ ). Respecto a la intensidad de dulzor no existe alguna diferencia entre las muestras, es siempre “justo como me gusta”, lo cual indica que en la percepción del sabor de las naranjas no sólo está involucrado el nivel de dulzor y que éste último por sí sólo no determina el nivel de agrado de los consumidores. La intensidad de acidez fue percibida como ‘justo como me gusta’ durante el almacenamiento de los frutos a las dos temperaturas, excepto al día 21, en que las naranjas a temperatura ambiente se calificaron como ‘menos de lo que esperaba’.

La evaluación sensorial mostró que la cantidad de jugo percibida por los consumidores es la misma para las dos temperaturas durante el almacenamiento excepto al día 21, en que las muestras de naranja a temperatura ambiente gustaron menos en comparación con las muestras en refrigeración.

Cuadro 17. Frecuencias en el nivel de agrado de las naranjas del segundo experimento reportado por los consumidores durante el almacenamiento.

		Días almacenamiento					
		7		14		21	
		Muestra		Muestra		Muestra	
		Refrigeración	Temp. ambiente	Refrigeración	Temp. ambiente	Refrigeración	Temp. ambiente
Puntos escala*	% Frecuencia	% Frecuencia	% Frecuencia	% Frecuencia	% Frecuencia	% Frecuencia	
Apariencia entera	1	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	11
	3	7	7	0	18	9	<b>31*</b>
	4	22	31	29	44	22	36
	5	33	33	<b>49*</b>	22	<b>44*</b>	11
	6	27	24	20	11	16	9
	7	11	4	2	4	9	2
Olor general	1	0	0	0	0	0	0
	2	2	2	0	0	0	4
	3	4	2	4	16	2	<b>20*</b>
	4	62	49	51	49	40	51
	5	27	36	29	20	<b>40*</b>	20
	6	4	11	13	11	<b>16*</b>	2
	7	0	0	2	4	2	2

Cuadro 17 (Continuación). Frecuencias en el nivel de agrado de las naranjas del segundo experimento reportado por los consumidores durante el almacenamiento.

Color cáscara	1	0	0	0	0	0	0
	2	0	2	0	0	0	7
	3	13	16	13	16	11	22
	4	27	29	24	33	27	24
	5	36	24	51	33	40	24
	6	11	24	9	11	18	20
	7	13	4	2	7	4	2
Firmeza	1	0	2	0	0	0	42
	2	13	9	11	7	2	49*
	3	58	53	64*	18	73*	2
	4	24	33	20	62*	22*	7
	5	4	2	4	13	2	0
Sabor	1	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	2	0	0	0
	3	0	7	0	11	4	22*
	4	7	18	13	40*	11	16
	5	36	38	33	29	36	33
	6	27	27	36*	11	36	24
	7	31*	11	16	9	13	4
Intensidad dulzor	1	2	2	4	9	4	4
	2	33	44	29	38	42	44
	3	53	47	44	36	49	38
	4	4	4	16	11	2	13*
	5	7	2	7	6	2	0
Intensidad de acidez	1	0	7	0	2	0	0
	2	18	20	16	29	11	40*
	3	67	56	73*	31	51	49
	4	16	18	11	31*	36*	11
	5	0	0	0	7	2	0
Cantidad de jugo	1	2	9	0	7	0	9
	2	24	20	16	36*	20	42*
	3	58	60	64*	38	67*	40
	4	13	11	16	13	11	9
	5	2	0	4	7	2	0
<p>Escala hedónica: 1= Me desagrada muchísimo; 2= Me desagrada mucho; 3= me desagrada; 4= Ni me agrada ni me desagrada; 5= Me agrada; 6= Me agrada mucho; 7= Me agrada muchísimo.</p> <p>Escala JAR: 1= Mucho menos de lo que me gusta; 2= Menos de lo que me gusta; 3= Justo como me gusta; 4= Más de lo que me gusta; 5= Mucho más de lo que me gusta.</p> <p>Los resultados se basan en pruebas bilaterales con un nivel de significancia de 0.05. Los resultados seguidos por un asterisco presentan diferencias significativas entre temperaturas en el mismo día de almacenamiento para cada atributo.</p>							

Durante los días de almacenamiento, la apariencia de los frutos refrigerados fue evaluada significativamente como agradable a los días 14 y 21, mientras que los frutos a temperatura ambiente al día 21 se calificaron como desagradables por 31% de los consumidores. El olor de las muestras no se percibió diferente respecto a las temperaturas de almacenamiento excepto al día 21, en el que las muestras refrigeradas agradaron significativamente a los consumidores y las almacenadas a temperatura ambiente les desagradaron (cuadro 17).

En el color de la cáscara los consumidores no observaron diferencias significativas entre temperaturas durante el almacenamiento. Respecto a la firmeza percibida, al día 7 no mostraron diferencias significativas entre temperaturas, mientras que al día 14, las naranjas en refrigeración fueron evaluadas significativamente (64%) como firmes, mientras que a las almacenadas a temperatura ambiente 62% de los consumidores las evaluaron como “más aguada de lo que me gusta”. Al día 21, las naranjas refrigeradas fueron percibidas como “firmes, ni aguadas ni duras” (73%) seguido por “más aguadas de lo que me gusta” (22%), mientras que los frutos a temperatura ambiente fueron evaluados como “más dura de lo que me gusta” (49%) (cuadro 17).

Respecto al sabor, las muestras en refrigeración agradaron más durante el periodo de almacenamiento que las almacenadas a temperatura ambiente, en las cuales al día 21, un 22% de los consumidores las evaluaron como desagradables. En general, la percepción de la intensidad de dulzor no mostró cambios significativos durante el almacenamiento en las dos temperaturas utilizadas. Por otra parte, la intensidad de acidez fue percibida “justo como me gusta” por 73% de los consumidores al día 14 en las naranjas en refrigeración (que también coincidió con la percepción de “me agrada mucho” en el sabor de esas mismas muestras), y como “más de lo que me gusta” (31%) en el almacenamiento a temperatura ambiente. Al día 21 en refrigeración, la intensidad de acidez se percibió por un 40% de los consumidores como “menos de lo que me gusta” (la percepción del sabor para esas naranjas fue significativamente evaluada como “Me desagrada”). Estas percepciones no se correlacionan con los resultados fisicoquímicos al día 21, en donde no se presentaron diferencias significativas.

La cantidad de jugo se evaluó significativamente “justo como me gusta” a los 14 y 21 días en las naranjas refrigeradas, mientras que en esos mismos días en almacenamiento a temperatura ambiente los jueces las consideraron “menos jugosas de lo que me gusta” (cuadro 17).

En el segundo experimento se observó que las muestras fueron rechazadas por los consumidores al día 21 de almacenamiento a temperatura ambiente con base en el atributo de firmeza, que fue cuando los frutos empezaron a oponer mayor resistencia a la compresión, es decir que su cáscara era más dura.

La apariencia es un factor vital para los consumidores al tomar la decisión de comprar un producto fresco y está determinada por la uniformidad en el tamaño, forma y color, además de otras características visuales como brillo, ausencia de defectos en la forma o en la cáscara y la ausencia de enfermedades y fisiopatías. De estos componentes, el color contribuye más a la evaluación de la calidad que cualquier otro factor de apariencia (Valero y Serrano, 2010).

### **8.9. Determinación de actividad secuestradora del ion radical ABTS**

En este trabajo se han expuesto diferentes parámetros fisicoquímicos que han respaldado la afirmación de que las naranjas provenientes del estado de Morelos, por estar sometidas a condiciones ambientales más estresantes que otras zonas tradicionalmente cítricas, no concuerdan con los límites establecidos por las normas de calidad actuales, lo cual estaría asociado a que estas naranjas están adaptadas al clima caluroso y seco de esta región. Es por ello que se estudió como se encontraba la respuesta en jugo y cáscara de naranja convencional para enfrentar dicho estrés, de manera general se determinó la **capacidad antioxidante** de los frutos (mediante un ensayo de la actividad secuestradora del ion radical ABTS) por ser éste, uno de los mecanismos metabólicos que podría estar implicado en la adaptación al entorno.

Los resultados mostraron que la **capacidad antioxidante** en la cáscara fue mayor que en el jugo ( $\alpha=0.05$ ) durante el todo el tiempo de almacenamiento. En las naranjas almacenadas a temperatura ambiente la **capacidad antioxidante** de la cascara aumentó significativamente con el tiempo, mientras que en las naranjas refrigeradas sólo se observó un aumento ( $\alpha=0.05$ ) en el día 28 (figura 21). Asimismo, la **capacidad**

**antioxidante** en cáscara de las naranjas almacenadas a temperatura ambiente fue significativamente mayor que la observada en las refrigeradas durante todo el periodo de almacenamiento, excepto para el día 7 (figura 21B).

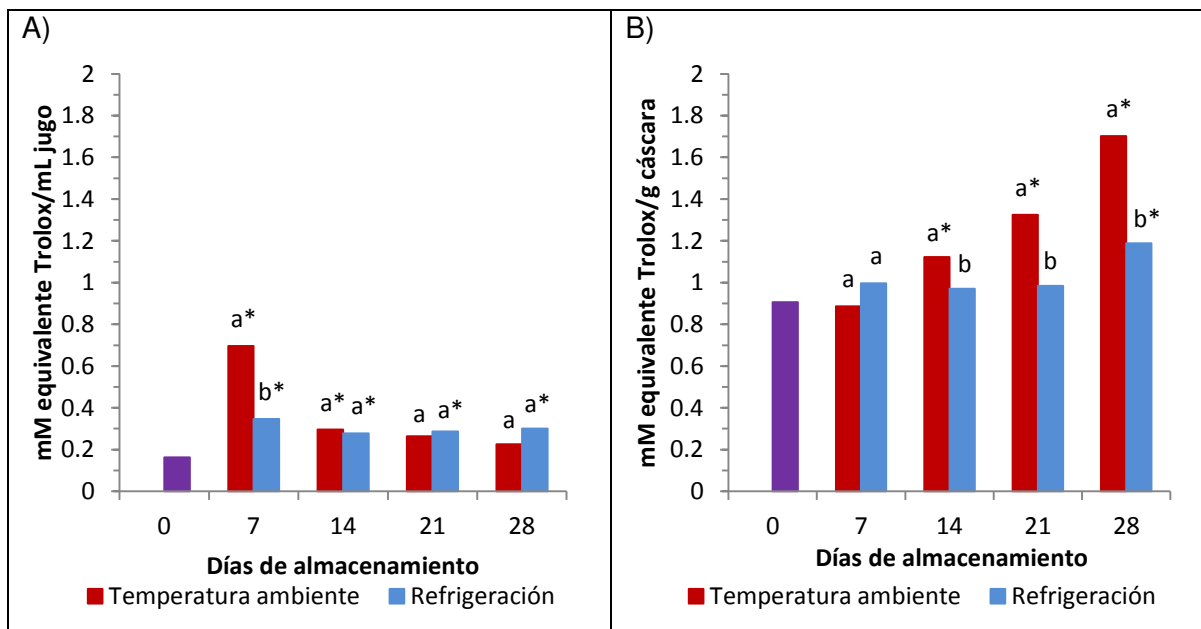


Figura 21. Capacidad antioxidante presente en A) jugo y B) cáscara de naranjas ‘Valencia’ de sistema convencional durante el almacenamiento a dos temperaturas. Los valores son el promedio de tres réplicas. Medias seguidas por la misma letra no tienen diferencias significativas entre tratamientos por día, medias seguidas por un asterisco presentan diferencias significativas respecto al valor inicial ( $\alpha=0.05$ ).

En el caso del jugo, la **capacidad antioxidante** no mostró diferencias significativas entre temperaturas de almacenamiento en cada día de muestreo, excepto para el día 7, en que el tratamiento a temperatura ambiente fue mayor ( $\alpha=0.05$ ) que el observado en refrigeración. Además, en el almacenamiento en refrigeración se observó que al día 7 hubo un aumento significativo respecto al valor inicial y a partir de ahí los valores siguieron significativos respecto al inicial pero sin seguir aumentando, mientras que para el almacenamiento a temperatura ambiente se presentó un aumento significativo respecto al valor inicial a los 7 y 14 días, a tiempos posteriores (21 y 28 días) los valores no mostraron diferencias significativas respecto al inicial (figura 21A).

Los resultados obtenidos mostraron una mayor **capacidad antioxidante** en cáscara que en jugo, pues es una barrera inmediata a factores estresantes del medio ambiente. Además, en la figura 21 se aprecia que mientras la **capacidad antioxidante** en cáscara aumenta durante el almacenamiento a temperatura ambiente, en refrigeración es menor



este incremento. Durante el almacenamiento a temperatura ambiente, los frutos presentaron un mayor grado de deshidratación, además, el inicio del proceso de senescencia se produce más rápidamente a esta temperatura que en refrigeración; este proceso involucra un aumento en el estrés oxidativo de los vegetales, los cuales deben incrementar la síntesis de compuestos con actividad antioxidante para evitar daños en las células (Lester y Hodges, 2008).

Durante la respiración aeróbica, dentro de las células se generan constantemente especies reactivas de oxígeno (ERO); asimismo, diferentes tipos de estrés conducen a la formación de ERO en plantas, éstas son altamente tóxicas y reactivas por lo que causan daños a proteínas, lípidos, carbohidratos y ADN, dando como resultado un estrés oxidativo en las células. Las plantas poseen sistemas enzimáticos y no enzimáticos de defensa que trabajan en conjunto secuestrando ERO y así controlan las cascadas de oxidación descontrolada y protegen a las células vegetales del daño oxidativo (Gill y Tuteja, 2010).

En diversos estudios donde se han realizado análisis de correlación entre la capacidad antioxidante y los antioxidantes del jugo de cítricos, se ha encontrado un papel significativo de los compuestos fenólicos (Roussos, 2011), así como de la contribución de compuestos fenólicos con vitamina C (Xu et al., 2008; Barros et al., 2012).

Se sabe que la vitamina C y los carotenoides son abundantes en algunos cítricos. En años recientes se ha enfatizado la atención en los compuestos fenólicos de los cítricos y algunas publicaciones han sugerido que podrían jugar un papel importante en la capacidad antioxidante de los mismos (Xu et al., 2008).

Entre los principales compuestos fenólicos de los cítricos se encuentran los flavonoides y los ácidos fenólicos. Generalmente, los glucósidos de flavanona dominan en los flavonoides de los cítricos y de ellos, la narirutina, hesperidina, naringina y neohesperidina son los principales glucósidos de flavanona. Por otra parte, los ácidos fenólicos existen ampliamente en los cítricos como formas enlazadas, principalmente como ácidos hidroxicinámicos como cafeico, *p*-cumárico, ferúlico y sinápico (Xu et al., 2008).

En general se ha observado que el ensayo FRAP (reacción antioxidante con un complejo de Fe (III)) muestra buena correlación con la cantidad de compuestos fenólicos totales en jugos de cítricos (Xu et al., 2008; Barros et al., 2012). Sin embargo, en un estudio previo realizado por Ramful et al. (2010) trabajaron con extractos metanólicos de flavedo de cítricos, encontrando que el ensayo de la actividad secuestradora del ion radical ABTS presenta una alta correlación con los compuestos fenólicos totales, que están presentes en cantidades importantes en los cítricos.

## **9. CONCLUSIONES**

A través del desarrollo de los tres experimentos se llegó a resultados puntuales que revelan nuevas herramientas que complementan el estudio del comportamiento de las naranjas 'Valencia' en el almacenamiento a temperatura ambiente y en refrigeración.

Respecto a los parámetros de calidad, el porcentaje de pérdida de peso por transpiración (%PP) de los frutos fue afectado por las condiciones de almacenamiento (temperatura y humedad relativa) y no por el tipo de cultivo del cual provenían, de manera que a temperatura ambiente se presentaron pérdidas mayores que en refrigeración, las cuales además de provocar mermas económicas, afectan la apariencia y las propiedades mecánicas de la cáscara de los frutos. Estas pérdidas pueden minimizarse mediante la operación postcosecha del encerado. Los resultados sugieren que las estructuras a través de las cuales ocurre el intercambio gaseoso tales como las lenticelas y los estomas, así como la composición química de la capa cerosa no se ven afectados por el sistema de cultivo.

El índice de madurez (SST/AT), que debe ser mayor a 7 según la especificación de la norma NMX-FF-027-SCFI-2007 y hasta 12 según normas de calidad internacionales, presentó valores muy por arriba del intervalo especificado durante el tiempo de almacenamiento. Esto puede deberse a las condiciones particulares de clima y suelo que tienden a producir frutos con menor acidez que no alcanzan los valores recomendados para este índice en la norma de calidad, por lo que habría que establecer una norma particular para estas zonas cítricas del Estado de Morelos o adaptar la actual que es de carácter nacional a estas regiones productoras.

De manera general, durante el almacenamiento las naranjas conservaron un volumen de jugo igual o mayor al especificado en la NMX-FF-027-SCFI-2007 correspondiente al 40% p/p.

El parámetro de color  $a^*$  y el ICC mostraron relación con la coloración percibida en las escalas de color de flavedo y jugo elaboradas en el laboratorio. De tal manera que en el caso del flavedo, conforme el color de las naranjas cambia del verde al naranja intenso, tanto  $a^*$  como ICC se incrementan en relación directa. Para el jugo se aprecia que conforme la coloración percibida cambia del amarillo al anaranjado intenso, tanto el parámetro  $a^*$  como el ICC aumentan desde valores negativos hasta positivos. Los parámetros  $L^*$  y  $b^*$  no mostraron una tendencia de acuerdo con el color percibido en la escala visual elaborada tanto en flavedo como en jugo.

El ICC del flavedo, al igual que el parámetro  $a^*$ , presentó una tendencia a aumentar en todos tratamientos a lo largo de los experimentos, lo cual indica que los frutos desarrollaron coloraciones más anaranjadas durante el almacenamiento. El ICC en el jugo no mostró diferencias durante el almacenamiento de los frutos a las dos temperaturas.

La prueba de compresión de frutos enteros parece ser un parámetro informativo del grado de senescencia durante el almacenamiento. En el segundo experimento se observó que la fuerza requerida para la compresión de los frutos está relacionada con la deshidratación de los mismos, de manera que durante el almacenamiento a temperatura ambiente las naranjas mostraron un descenso en la fuerza de compresión en los primeros días, pero a partir del día 21 ésta aumentó debido al endurecimiento de la cáscara provocado por su deshidratación. En los frutos refrigerados, se presentó un menor grado de deshidratación, por lo que no se observó endurecimiento de la cáscara durante el almacenamiento.

Respecto al rendimiento de aceite esencial, no se observaron diferencias significativas durante el almacenamiento de las naranjas en ambas temperaturas debido a que el procedimiento de extracción de aceite requiere de una estandarización para hacerlo más eficiente y disminuir la dispersión de los resultados.

Se formuló una disolución modelo de jugo de naranja para la elaboración de las curvas de calibración, cuya finalidad es que la matriz sea lo más parecida al jugo de naranja, ya que la liberación de volátiles puede ser afectada por los demás componentes presentes en un alimento dependiendo de la afinidad y retención que ejerzan sobre los compuestos volátiles. De esta manera se buscó no incurrir en estimaciones erróneas de las concentraciones de volátiles liberados al espacio de cabeza.

Respecto a los compuestos volátiles del aroma se observó que p-vinilguayacol, cuya presencia se reporta en la bibliografía como uno de los componentes asociados al olor a viejo en jugos procesados, no se detectó en jugo ni en aceite esencial. Respecto a los compuestos de aroma a fresco, butanoato de etilo, solo se detectó en jugo y no en aceite esencial; octanal y decanal se detectaron en aceite esencial pero no en jugo, mientras que limoneno, linalool y  $\alpha$ -terpineol se detectaron en ambas matrices.

Durante el almacenamiento se observó un cambio significativo en el perfil de volátiles al día 21 a temperatura ambiente, ya que disminuyeron los niveles de linalool y limoneno, compuestos asociados al aroma a fresco en naranjas, y aumentó el nivel de  $\alpha$ -terpineol, asociado al olor a viejo. En el almacenamiento en refrigeración se observó una tendencia similar, sólo que con disminuciones menores de linalool y limoneno y un retraso en la aparición del  $\alpha$ -terpineol. Los niveles de butanoato de etilo también presentaron disminuciones significativas al final del almacenamiento. Estos cambios parecen constituir un parámetro indicativo de que los frutos han entrado en la etapa de la senescencia.

Respecto a los metabolitos de fermentación, se determinaron y cuantificaron acetaldehído y etanol, el primero presentó una tendencia a disminuir al final del almacenamiento de las naranjas de los dos sistemas de cultivo a las dos temperaturas, mientras que el segundo no mostró diferencias significativas respecto al análisis inicial en el almacenamiento a temperatura ambiente y en refrigeración disminuyó al final del almacenamiento de las naranjas de los dos sistemas de cultivo. Además se detectó la presencia de metanol, producto de la degradación de pectinas, que en general no mostró diferencias significativas durante el almacenamiento de los frutos a las dos temperaturas.

El análisis sensorial mostró que en general, los frutos fueron calificados de manera positiva por los consumidores en casi todos los atributos, excepto al día 21 a temperatura

ambiente, en que las naranjas se evaluaron con desagrado en los atributos de intensidad de acidez, cantidad de jugo y firmeza del fruto, este último confirmado instrumentalmente a través de la prueba de compresión de frutos, que indicó que al día 21 éstos se tornaron duros.

Se obtuvieron valores de capacidad antioxidante mayores en la cáscara que en el jugo, asimismo, en la cáscara se incrementaron los valores durante el almacenamiento a temperatura ambiente.

## **10. PERSPECTIVAS**

Es recomendable la generación de una norma específica para los frutos de naranja 'Valencia' cultivados en el Estado de Morelos o adaptar la actual que es de carácter nacional a estas regiones productoras.

De acuerdo con los resultados obtenidos en el segundo experimento, para disminuir el efecto de la variabilidad inherente al material de origen biológico es recomendable que en experimentos futuros se aumente el número de frutos por unidad experimental además de realizar una selección rigurosa de los mismos, considerando los índices de cosecha y aspectos culturales como la inclinación del suelo, cantidad de agua e incluso la posición de los frutos dentro del árbol.

Es conveniente efectuar determinaciones con mayor frecuencia para poder establecer una cinética de cambio más precisa tanto en el perfil de compuestos volátiles como en la prueba de compresión de frutos y relacionarlas con evaluaciones sensoriales para utilizarlas como un parámetro para predecir la vida útil de los frutos.

Analizar cuantitativamente los volátiles presentes en el aceite esencial de naranja para ver su aporte al cambio de aroma durante su almacenamiento y senescencia.

Se sugiere investigar sobre los mecanismos de defensa utilizados por las naranjas provenientes del estado de Morelos para adaptarse y sobrevivir bajo condiciones estresantes; determinando la capacidad antioxidante mediante otros métodos como FRAP y DPPH, así como la actividad de enzimas como la catalasa, superóxido dismutasa y

enzimas pertenecientes al ciclo glutatión-ácido ascórbico y la presencia de compuestos antioxidantes (ácido ascórbico, carotenoides, compuestos fenólicos).

En estudios previos se ha observado que el compuesto fenólico más abundante en la naranja es la hesperidina, seguida por la narirutina. El cociente narirutina: hesperidina se ha propuesto como un control de calidad y autenticidad de los jugos de naranja (Roussos, 2011), por lo que sería interesante ver si la presencia de estos compuestos se relaciona con cambios en la concentración de compuestos volátiles del aroma de la naranja.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

AGUSTÍ- FONFRÍA, M. 2012. Citricultura. Segunda edición. Mundi- Prensa Libros. Madrid, España.

AHMED, E. M., Dennison, R. A., Dougherty, R. H., Shaw, P. E. 1978. "Flavor and odor thresholds in water of selected orange juice components". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 26, 187–191.

ARPAIA, M. L., Kader, A. A. 2012. Naranja: recomendaciones para mantener la calidad postcosecha. [En línea]. California: Centro de Información e Investigación en Tecnología Postcosecha de la Universidad de California, <<http://postharvest.ucdavis.edu/frutasymelones/Naranja/>>

ARTÉS, F., Marín, J. G., Porras, I., Martínez, J. A. 2000. "Evolución de la calidad del limón, pomelo y naranja durante la desverdización". *Revista Iberoamericana de tecnología postcosecha*. 1, 71–79.

AZAR, P. A., Nekoei, M., Larijani, K., Bahraminasab, S. 2011. "Chemical composition of the essential oils of *Citrus sinensis* cv. *Valencia* and a quantitative structure- retention relationship study for the prediction of retention índices by multiple linear regression". *Journal of Serbian Chemical Society*. 76, 1627–1637.

BALDWIN, E. A., Bai, J., Plotto, A., Cameron, R., Luzio, G., Narciso, J., Manthey, J, Widmer, W., Ford, B. L. 2012. "Effect of extraction method on quality of orange juice: hand – squeezed, commercial – fresh squeezed and processed". *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 92, 2029–2042.

BARROS, H. R. M., Ferreira, T. A. P. C., Genovese, M. I. 2012. "Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil". *Food Chemistry*. 134, 1892–1898.

BARTHOLOMEW, E. T., Sinclair, W. B. 1946. "Factors influencing the volatile oil content of the peel of immature and mature oranges". *Plant Physiology*. 21, 319–331.

BATCHELOR, L. D., Sinclair, W. B. 2012. "World production of important commercial varieties of oranges". En W. B. Sinclair (ed). *The orange, its biochemistry and physiology* (pp. 1–24). Literary Licensing, California, USA.

BELITZ, H. D., Grosch, W., Schieberle, P. 2009. *Food Chemistry*. Cuarta edición. Springer. Berlín, Alemania.

BOURGOU, S., Rahali, F. Z., Ourghemmi, I., Tounsi, M. S. 2012. "Changes of peel essential oil composition of four Tunisian citrus during fruit maturation". *The Scientific World Journal*.

BOURN, D., Prescott, J. P. 2002. "A comparison of the nutritional value, sensory qualities and food safety of organically and conventionally produced foods". *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 42, 1–34.

BRADDOCK, R. J. 1999. *Handbook of citrus by – products and processing technology*. Primera Edición. Wiley- Interscience Publication, New York, USA.

BRADDOCK, R. J., Kesterson, J. W. 1976. "Quantitative analysis of aldehydes, esters, alcohols and acids from citrus oils". *Journal of Food Science*. 41, 1007–1010.

BRANDT, K., Molgaard, J. P. 2001. "Organic agriculture: does it enhance or reduce the nutritional value of plant foods?". *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 81, 924–931.

CABRAL, L. M. C., Bravo, A., Freire Jr., M., Bizzo, H. R., Matta, V. M. 2010. "Citrus fruits and oranges". En Y. H. Hui (ed). *Handbook of fruit and vegetable flavors* (pp. 265–275). Primera edición. Wiley, New Jersey, USA.

CERDÁN-CALERO, M., Sendra, J.M., Sentandreu, E. 2012. "Gas chromatography coupled to mass spectrometry analysis of volatiles, sugars, organic acids and aminoacids in Valencia Late orange

juice and reliability of the Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System for their automatic identification and quantification”. *Journal of Chromatography A*. 1241, 84–95.

COLEMAN, R. L., Shaw, P. E. 1971. “Analysis of Valencia orange essence and aroma oils”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 19, 520–523.

CONFERENCIA DE LAS NACIONES UNIDAS SOBRE COMERCIO Y DESARROLLO (UNCTAD). 2013. Agricultural products: citrus fruit, market and production. [En línea]. Estados Unidos de América: Conferencia de las Naciones Unidas sobre comercio y desarrollo. <[http://www.unctad.info/en/Infocomm/Agricultural\\_Products/Citrus-fruit/market/Production/](http://www.unctad.info/en/Infocomm/Agricultural_Products/Citrus-fruit/market/Production/)>

DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA DE ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA (USDA). 2014. Citrus: World markets and trade. [En línea]. Estados Unidos de América: Departamento de Agricultura de Estados Unidos de América. <<apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/citrus.pdf>>

DU, X., Quian, M. 2008. “Quantification of 2, 5 – dimethyl – 4 – hydroxyl – 3(2H) – furanone using solid – phase extraction and direct microvial insert thermal desorption gas chromatography – mass spectrometry”. *Journal of Chromatography A*. 1208, 197–201.

DURR, P., Schobinger, U., Waldvogel, R. 1981. “Aroma quality of orange juice after filling and storage in soft packages and glass bottles”. *Alimenta Journal*. 20, 91–93.

GILL, S. S., Tuteja, N. 2010. “Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants”. *Plant Physiology and Biochemistry*. 48, 909–930.

GLOVER, J. D., Reganold, J. P., Andrews, P. K. 2000. “Systematic method for rating soil quality of conventional, organic, and integrated apple orchards in Washington State”. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 80, 29–45.

GOULAS, V., Manganaris, G. A. 2012. “Exploring the phytochemical content and the antioxidant potential of *Citrus* fruits grown in Cyprus”. *Food Chemistry*. 131, 39–47.

HAGENMAIER, R.D. 2002. “The flavor of mandarine hybrids with different coatings”. *Postharvest Biology and Technology*. 24, 79–87.



HALEVA – TOLEDO, E., Naim, M., Zehavi, U., Rouseff, R.L. 1997. "4- Hydroxy- 2,5- dimethyl- 3(2H)- furanone formation in buffers and model solutions of citrus juice". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45, 1314–1319.

HALEVA – TOLEDO, E., Naim, M., Zehavi, U., Rouseff, R.L. 1999. "Formation of  $\alpha$  – terpineol in Citrus Juices, Model and Buffer Solutions". *Journal of Food Science*. 64, 838–841.

HINTERHOLZER, A., Schieberle, P. 1998. "Identification of the most odour – active volatiles in fresh, hand – extracted juice of Valencia late oranges by odour dilution techniques". *Flavour and Fragrance Journal*. 13, 49–55.

HIRAMOTO, T., Tokoro, K., Kanisawa, T. 1999. "Instability of citrus flavors and recent attempts at their stabilization". En R. Teranishi [et al.] (eds). *Flavor chemistry: thirty years of progress* (pp. 107–115). Primera edición. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, USA.

HOEFKENS, C., Sioen, I., Baert, K., De Meulenaer, B., De Henauw, S., Vandekinderen, I., Devlieghere F., Opsomer, A., Verbeke, W., Van Camp, J. 2010. "Consuming organic versus conventional vegetables: The effect on nutrient and contaminant intakes". *Food and Chemical Toxicology*. 48, 3058–3066.

JORDAN, M. J., Tillman, T. N., Mucci, B., Laencina, J. 2001. "Using HS-SPME to determine the effects of reducing insoluble solids on aromatic composition of orange juice". *LTW- Food Science and Technology*. 34, 244–250.

KE, D., Kader, A. A. 1990. "Tolerance of 'Valencia' oranges to controlled atmospheres, as determined by physiological responses and quality attributes". *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 115, 779–783.

KIMMERER, T. W., Kozlowski, T. T. 1982. "Ethylene, ethane, acetaldehyde and ethanol production by plants under stress". *Plant Physiology*. 69, 840–847.

KIRCHNER, J. G., Miller, J. M. 1957. "Volatile water- soluble and oil constituents of Valencia orange juice". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 5, 283–291.

LA ROSA, A.D., Siracusa, G., Cavallaro, R. 2008. "Emergy evaluation of Sicilian red orange production. A comparison between organic and conventional farming". *Journal of Cleaner Production*. 16, 1907–1914.

LADANIYA, M. S. 2008. Citrus Fruit: Biology, Technology and Evaluation. Primera edición. Academic Press, San Diego, USA.

LESTER, G. E., Hodges, D. M. 2008. "Antioxidants associated with fruit senescence and human health: Novel orange-fleshed non-netted honey dew melon genotype comparisons following different seasonal productions and cold storage durations". *Postharvest Biology and Technology*. 48, 347–354.

MARIN, A. B., Acree, T. E., Hotchkiss, J. H., Nagy, S. 1992. "Gas chromatography- olfactometry of orange juice to assess the effects of plastic polymers on aroma character". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40, 650–654.

MARTÍNEZ-JÁVEGA, J. M., Cuquerella, J., Salvador, A., Monterde, A., Navarro, P. 2004. "Tratamientos postcosecha en mandarinas y naranjas". *Vida Rural*. 197, 60–64.

MOSHONAS, M. G., Shaw, P. E. 1989. "Changes in composition of volatile component in aseptically packaged orange juice during storage". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 37, 157–161.

NORMAN, S. M. 1977. "The role of volatiles in storage of citrus fruits". *Proceedings of International Society of Citriculture*. 1, 238–242.

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). 2012. Citrus fruit fresh and processed. Annual statistics. [En línea]. Roma: Dirección de Comercio y Mercados de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. < <http://www.fao.org/statistics/es/> >

PELAYO- ZALDÍVAR, C. 2001. "Controlled atmosphere –induced changes in strawberry flavor with emphasis on aroma compounds". Ph. D. Dissertation. University of California- Davis.

PELEG, H., Naim, M., Zehavi, U., Rouseff, R. L., Nagy, S. 1992. "Pathways of 4-vinylguaiacol formation from ferulic acid in model solutions of orange juice". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40, 764–767.

PÉREZ- CACHO, P. R., Rouseff, R. L. 2008. "Fresh squeezed orange juice odor: A review". *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 48, 681–695.

PÉREZ- LÓPEZ, A. J., Saura, D., Lorente, J., Carbonell-Barrachina, A. A. 2006. "Limonene, linalool,  $\alpha$ -terpineol, and terpinen-4-ol as quality control parameters in mandarin juice processing". *European Food Research and Technology*. 222, 281–285.

PESIS, E. 2005. "The role of the anaerobic metabolites, acetaldehyde and ethanol, in fruit ripening, enhancement of fruit quality and fruit deterioration". *Postharvest Biology and Technology*. 37, 1–19.

PETERSON, J.J., Dwyer, J. T., Beecher, G. R., Bhagwat, S. A., Gebhardt, S. E., Haytowitz, D. B., Holden, J. M. 2006. "Flavanones in oranges, tangerines (mandarins), tangors and tangelos: a compilation and review of the data from the analytical literature". *Journal of Food Composition and Analysis*. 19, S66–S73.

PORAT, R., Daus, A., Weiss, B., Cohen, L., Fallik, E., Droby, S. 2000. "Reduction of postharvest decay in organic citrus fruit by a short hot water brushing treatment". *Postharvest Biology and Technology*. 18(2), 151–157.

RAMFUL, D., Bahorun, T., Bourdon, E., Tarnus, E., Aruoma, O. I. 2010. "Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian citrus fruits: Potential prophylactic ingredients for functional foods application". *Toxicology*. 278, 75–87.

RAPISARDA, P., Tomaino, A., Lo Cascio, R., Bonina, F., De Pasquale, A., Saija, A. 1999. "Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47, 4718–4723.

RAVID, U., Putievsky, E., Katzir, I. 1995. "Determination of the enantiomeric composition of  $\alpha$ -terpineol in essential oils". *Flavour and Fragrance Journal*. 10, 281–284.

REUTHER, W. 1973. "Climate and Citrus Behavior". En W. Reuther (ed). *The Citrus Industry Vol. 3* (pp. 280–337). Primera edición. Division of Agricultural Sciences, University of California Press, California, USA.

ROITNER- SCHOBESBERGER, B., Darnhofer, I., Somsook, S., Vogl, C. R. 2008. "Consumer perceptions of organic foods in Bangkok, Thailand". *Food policy*. 33, 112–121.

ROUSSOS, P. A. 2011. "Phytochemicals and antioxidant capacity of orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck cv. Salustiana) juice produced under organic and integrated farming system in Greece". *Scientia Horticulturae*. 129, 253–258.

RYALL, A. L., Pentzer, W. T. 1974. Handling, transportation and storage of fruits and vegetables. Vol 2, Fruits and tree nuts. Segunda edición. AVI Publishing Company, Westport, USA.

RYMAL, K. S., Wolford, R. W., Ahmed, E. M., Dennison, R. A. 1968. "Changes in volatile flavor constituents of canned single- strength orange juice as influenced by storage temperature". *Food Technology*. 22, 1592–1595.

SACHS, M. M., Subbaiah, C. C., Saab, I. N. 1996. "Anaerobic gene expression and flooding tolerance in maize". *Journal of Experimental Botany*. 47, 1–15.

SAFINA, G. 1978. Los derivados de los cítricos. Primera edición. Fideicomiso del limón Nacional Financiera S. A. Distrito Federal, México.

SAMS, C. E. 1999. "Preharvest factors affecting postharvest texture". *Postharvest Biology and Technology*. 15, 249–254.

SANZ, C., Olias, J. M., Pérez, A. G. 1997. "Aroma biochemistry of fruits ad vegetables". En F. A. Tomás-Barberán y R. J. Robins (eds). *Phytochemistry of fruits and vegetables* (pp. 125–155). Primera edición. Oxford University Press, New York, USA.

SASAKI, M., Nunomura, N., Matsudo, T. 1991. "Biosynthesis of 4- Hydroxy- 2(or 5)- ethyl- 5(or 2)- methyl- 3(2H)- furanone by yeasts". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 39, 934–938.

SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y DESARROLLO RURAL. 1997. Delimitación y definición de agrohábittats del estado de Morelos. [En línea]. México, Zacatepec, Morelos: Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. <<http://producirmejor.net>>

SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN. 2012a. *México, entre los líderes en producción de cítricos a nivel mundial*. [En línea]. México: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. <<http://www.sagarpa.gob.mx>>

SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN. 2012b. Naranja. [En línea]. México: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación – Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <<http://www.siap.gob.mx>>

SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN. 2013. Anuario estadístico de la producción agrícola. [En línea]. México: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación – Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <<http://www.siap.gob.mx>>

SECRETARÍA DE COMERCIO Y FOMENTO INDUSTRIAL. NMX-FF-027-SCFI-2007. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano- Fruta fresca - Naranja (*Citrus sinensis* Osbeck) – Especificaciones. [En línea]. México: Dirección General de Normas. <<http://www.economia-nmx.gob.mx/normasmx/detallenorma.nmx?clave=NMX-FF-027-SCFI-2007>>

SHELLIE, K. C., Mangan, R. L., Ingle, S. J. 1997. "Tolerance of grapefruit and Mexican fruit fly larvae to heated controlled atmospheres". *Postharvest Biology and Technology*. 10, 179–186.

SHI, J. X., Goldschmidt, E. E., Goren, R., Porat, R. 2007. "Molecular, biochemical and anatomical factors governing ethanol fermentation metabolism and accumulation of off-flavors in mandarins and grapefruit". *Postharvest Biology and Technology*. 46, 242–251.

SHI, J. X., Chen, S., Gollop, N., Goren, R., Goldschmidt, E. E., Porat, R. 2008. "Effects of anaerobic stress on the proteome of citrus fruit". *Plant Science*. 175, 478–486.

SINGH, K. K., Reddy, B. S. 2006. "Post-harvest physico-mechanical properties of orange peel and fruit". *Journal of Food Engineering*. 73, 112–120.

SOLER- AZNAR, J., Soler- Fayos, G. 2006. Cítricos, variedades y técnicas de cultivo. Primera edición. Mundi- Prensa Libros, Madrid, España.

TAROZZI, A., Hrelia, S., Angeloni, C., Morroni, F., Biagi, P., Guardigli, M., Cantelli- Forti, G., Hrelia, P. 2006. "Antioxidant effectiveness of organically and non- organically grown red oranges in cell culture systems". *European Journal of Nutrition*. 45, 152–158.

TATUM, J. H., Nagy, S., Berry, R. E. 1975. "Degradation products formed in canned single-strength orange juice during storage". *Journal of Food Science*. 40, 707–709.

TING, S.V., Attaway, J. A. 1971. "Citrus fruits". En A. C. Hulme. (ed). *The biochemistry of fruits and their products*, Vol. 2 (pp. 107–161). Academic Press, Londres, Gran Bretaña.

TING, S. V., Newhall, W. F. 1965. "The occurrence of a natural antioxidant in citrus fruit". *Journal of Food Science*. 30, 57–63.

TRANSITO DAMASO, M. G. "Estudio agronómico en naranja 'Valencia' bajo sistema orgánico y convencional". I. Alia Tejacal (dir.). Tesis para obtener el grado de Ingeniero Hortícola. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Mayo, 2013. Cuernavaca, Morelos.

VALERO, D., Serrano, M. 2010. Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality. Primera edición. CRC Press, Boca Raton, USA.

WAKS, J., Chaluts, E., Shiffmann-Nadel, M., Lomeniec, E. 1985. "Relationship among ventilation of citrus storage room, internal atmosphere and fruit quality". *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 110, 398–402.

WOESE, K., Lange, D., Boess, C., Bögl, K. W. 1997. "A comparison of organically and conventionally grown foods- results of a review of the relevant literature". *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 74, 281–293.

WU, P., Kuo, M. C., Hartman, T. G., Rosen, R. T., Ho, C. T. 1991. "Free and glycosidically bound aroma compounds in pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.)". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 39, 170–172.

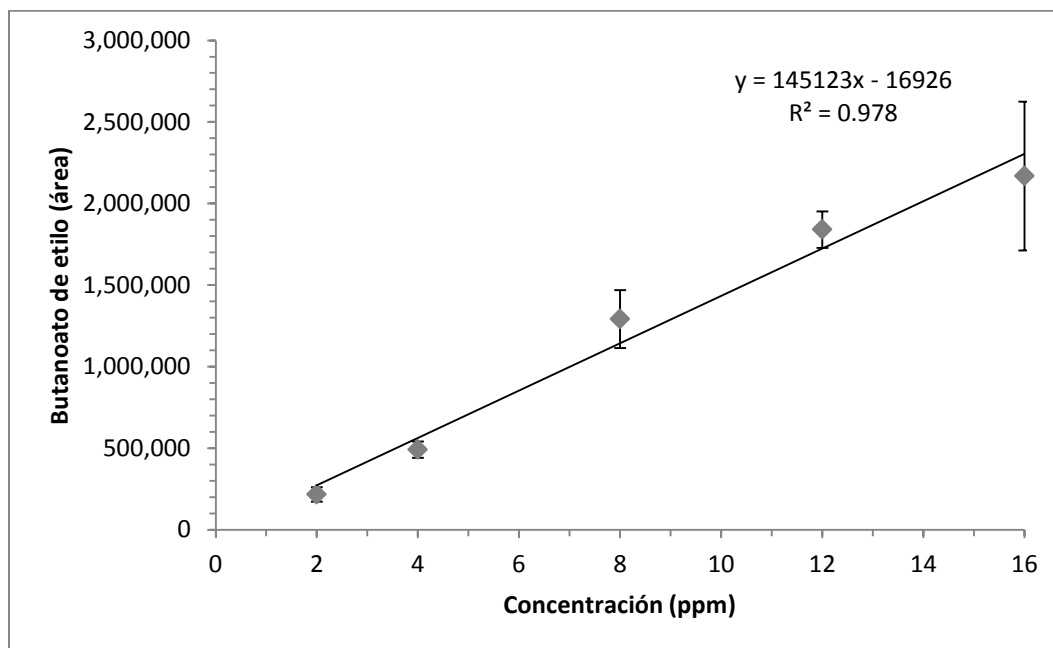
XU, G., Liu, D., Chen, J., Ye, X., Ma, Y., Shi, J. 2008. "Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China". *Food Chemistry*. 106, 545–551.

YÁÑEZ RUEDA, X., Lugo Mancilla, L. L., Parada Parada, D. Y. 2007. "Estudio del aceite esencial de la cáscara de la naranja dulce (*Citrus sinensis* variedad Valenciana) cultivada en Labateca (Norte de Santander, Colombia)". *BISTUA*. 5, 3–8.

# **ANEXOS**

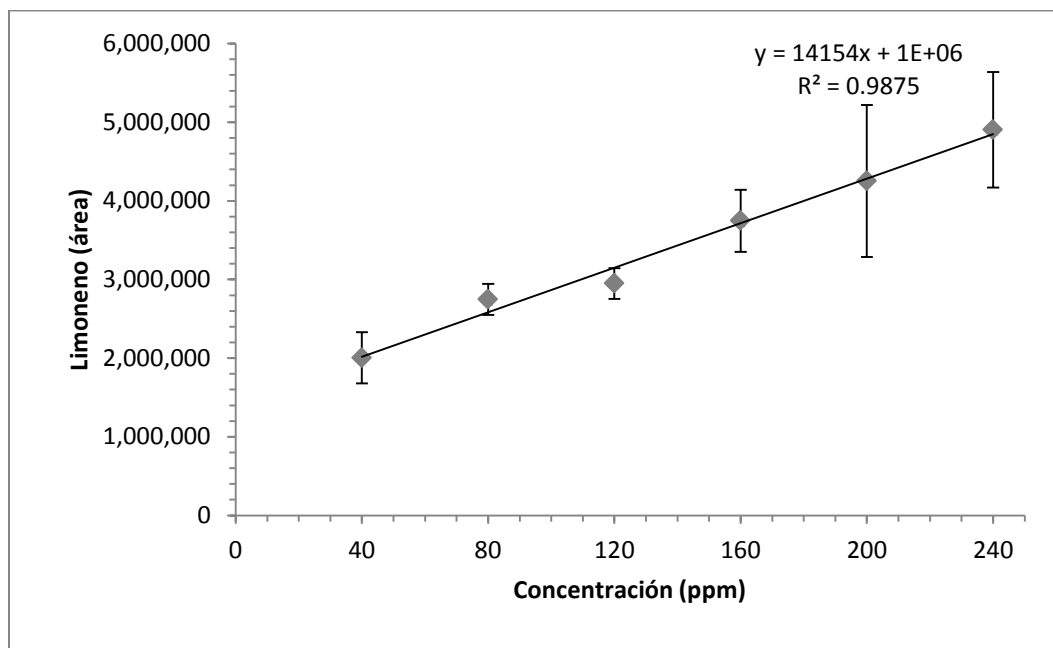
## ANEXO 1. CURVAS DE CALIBRACIÓN DE COMPUESTOS VOLÁTILES

### A. Butanoato de etilo\*



\* Cada valor representa el promedio de tres repeticiones.

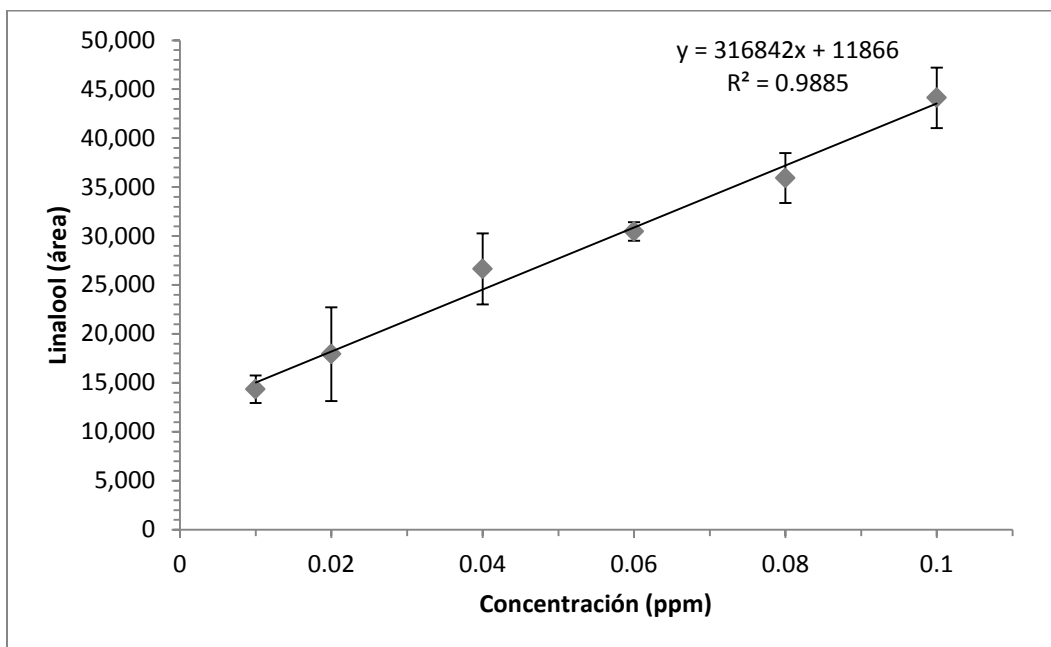
### B. Limoneno\*



\* Cada valor representa el promedio de tres repeticiones.

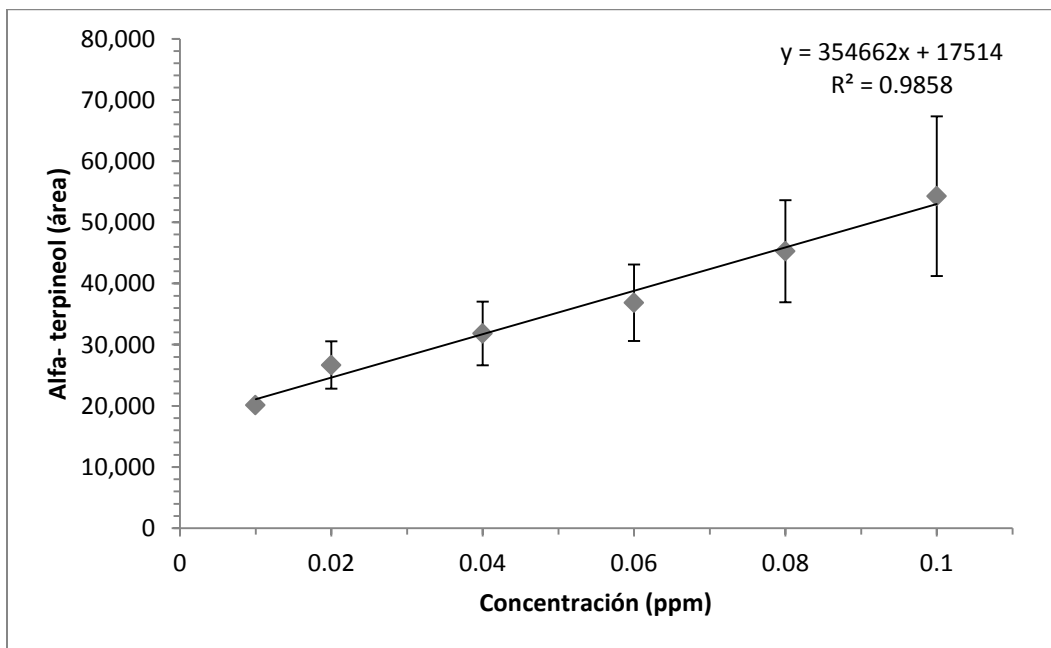


### C. Linalool\*



\* Cada valor representa el promedio de tres repeticiones.

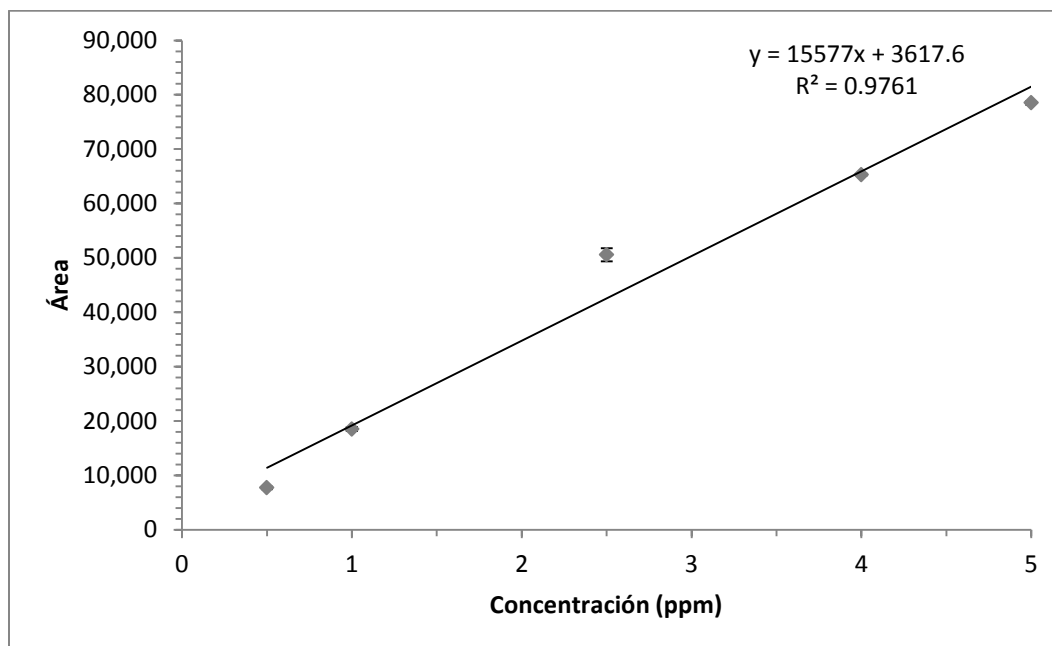
### D. $\alpha$ - terpineol\*



\* Cada valor representa el promedio de tres repeticiones.

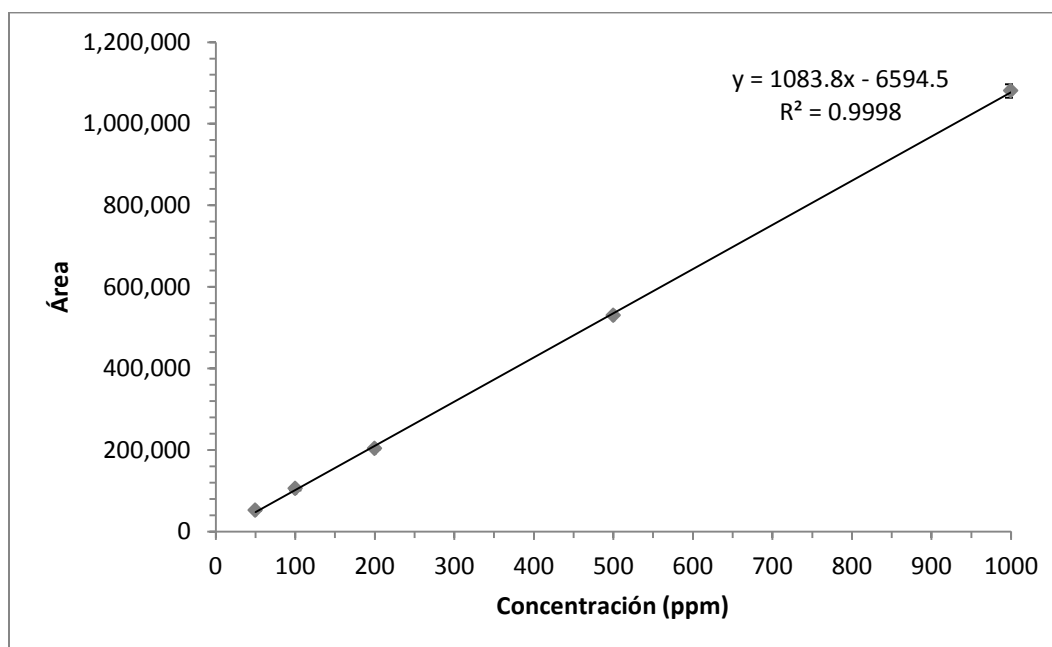
## ANEXO 2. CURVAS DE CALIBRACIÓN DE METABOLITOS DE FERMENTACIÓN

### A. Acetaldehído\*



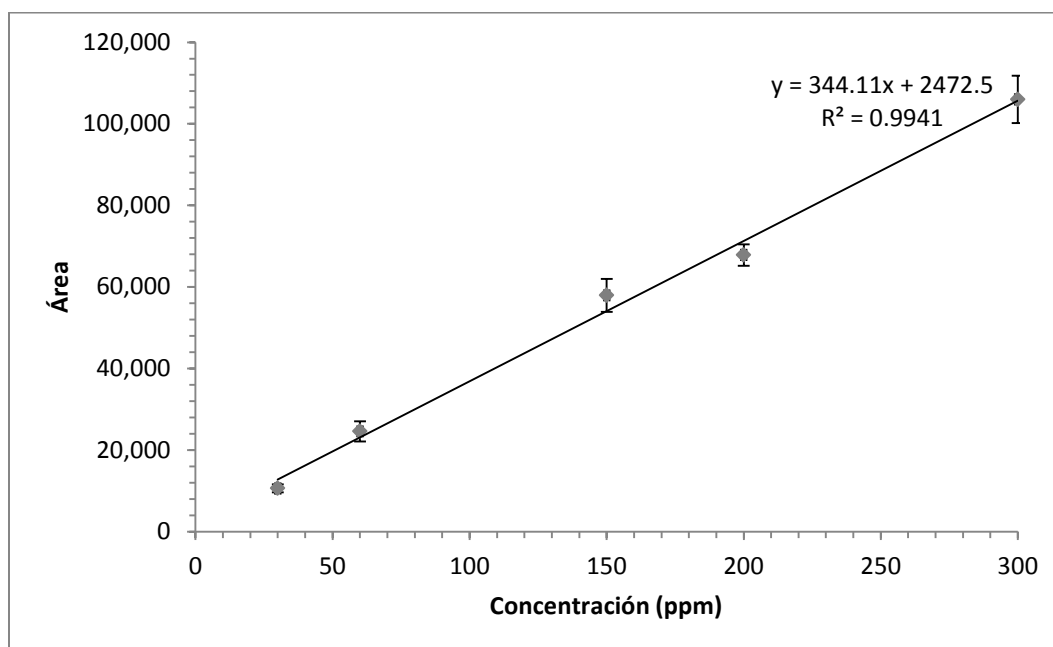
\* Cada valor representa el promedio de tres repeticiones.

### B. Etanol\*



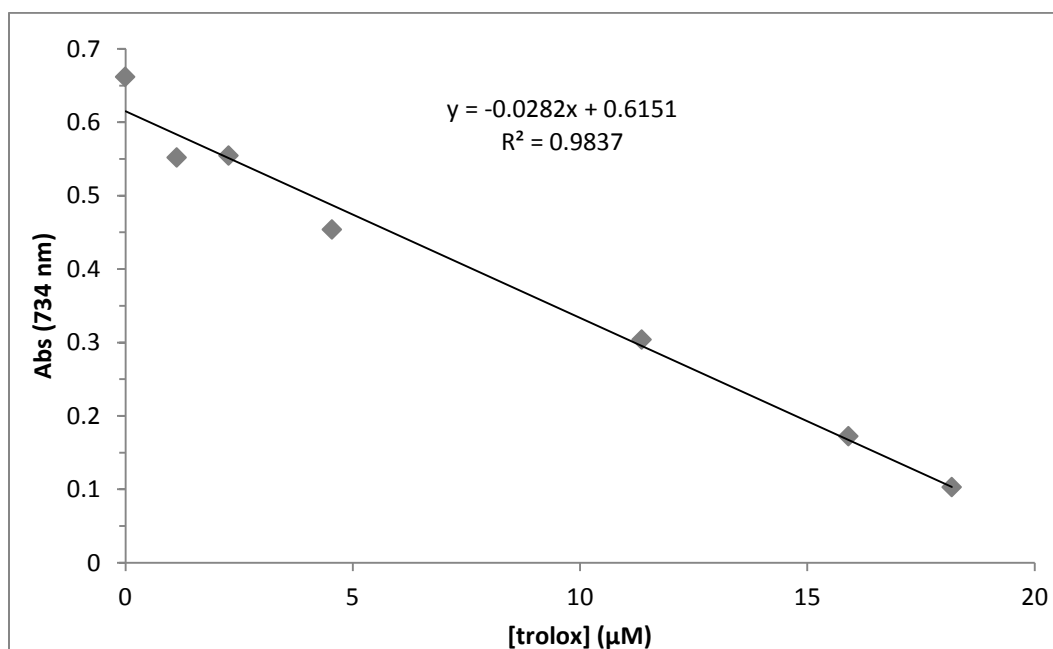
\* Cada valor representa el promedio de tres repeticiones.

### C. Metanol\*



\* Cada valor representa el promedio de tres repeticiones.

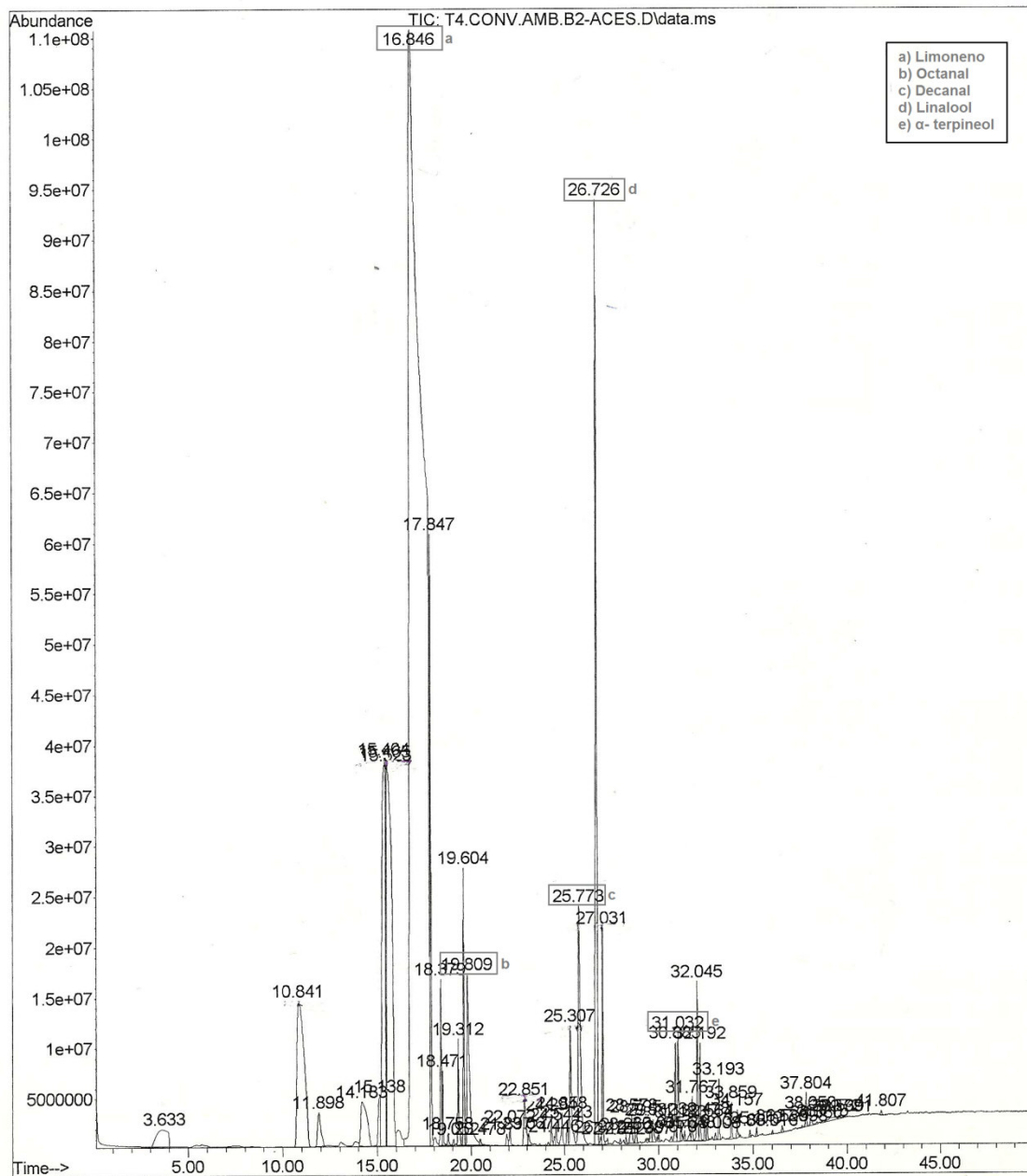
### ANEXO 3. CURVA DE CALIBRACIÓN DE ACTIVIDAD SECUESTRADORA DEL ION RADICAL ABTS



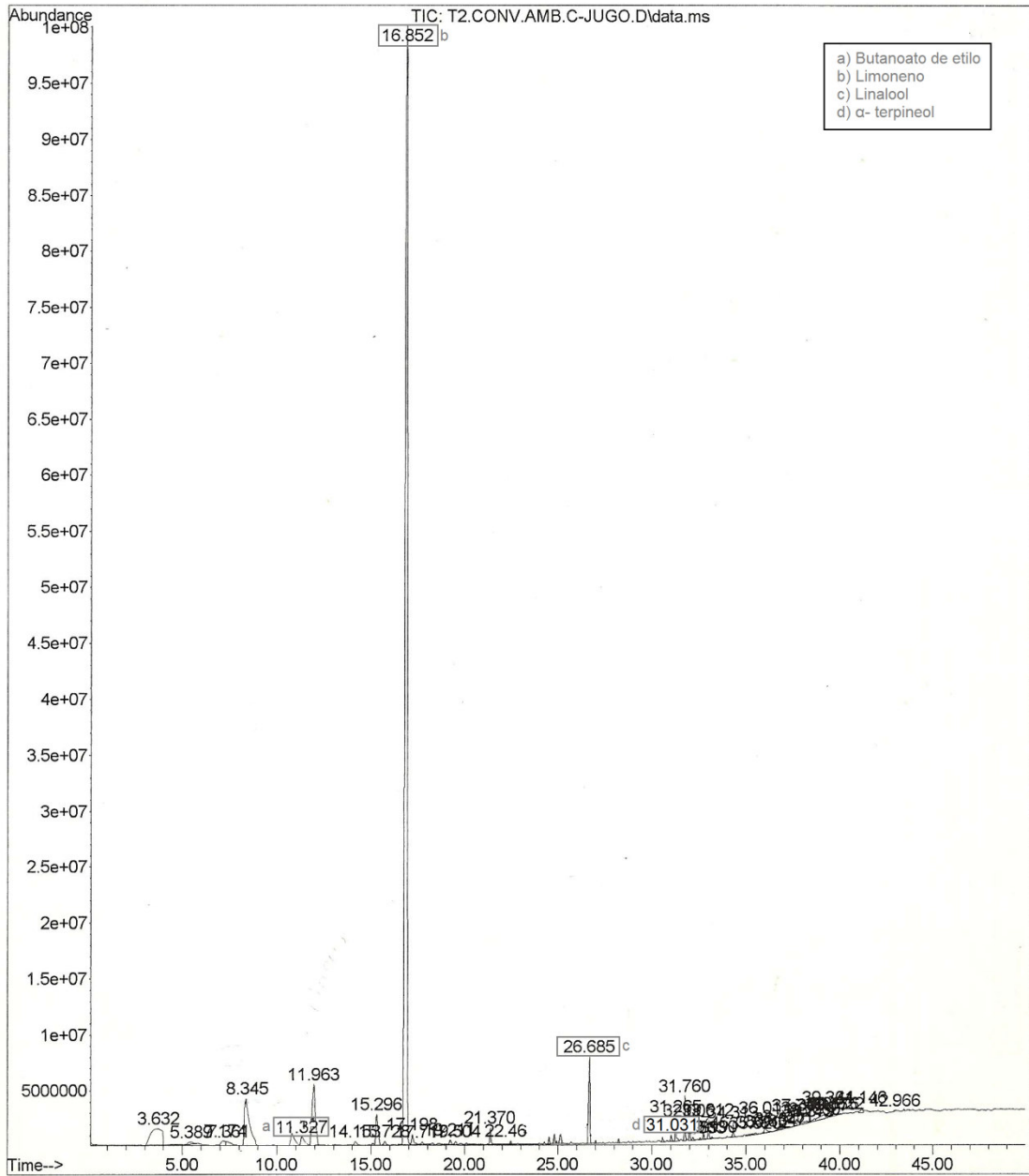
\* Cada valor representa el promedio de tres repeticiones.

# ANEXO 4. CROMATOGRAMAS CORRESPONDIENTES A LA METODOLOGÍA DE CROMATOGRAFÍA DE GASES – ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Sample Name: Aceite esencial 150ul SPME (SIM)  
 Misc Info :



Sample Name: Jugo 3mL SPME (SIM)  
Misc Info :



**ANEXO 5. CUESTIONARIOS APLICADOS A LOS CONSUMIDORES EN LA EVALUACIÓN SENSORIAL**

**A. Experimento exploratorio**

**NOMBRE** \_\_\_\_\_ **EDAD** \_\_\_\_\_

**FECHA** \_\_\_\_\_

**APARIENCIA.**

Hola, frente a ti tienes una naranja, evalúa visualmente y contesta las siguientes preguntas.

1. En general, ¿Qué tanto te agradó la apariencia de la naranja?

Me agrada muchísimo	Me agrada mucho	Me agrada	Ni me agrada ni me desagrada	Me desagrada	Me degrada mucho	Me desagrada muchísimo
7	6	5	4	3	2	1

2. Describe con tus palabras, la apariencia de la naranja.

3. ¿Qué tan fresca percibes la naranja?

Mucho más de lo que esperaba	Más de lo que esperaba	Justo como lo esperaba	Menos de lo que la esperaba	Mucho menos de lo que esperaba
5	4	3	2	1

4. ¿En qué argumentos te basas para evaluar la frescura, según su apariencia?

**OLOR Y SABOR.**

Hola, frente a ti tienes una prueba de naranja, evalúa y contesta las siguientes preguntas.

1. ¿Qué tanto te gustó el sabor de la naranja que acabas de probar?

Me gusta muchísimo	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta ni me disgusta	Me disgusta	Me disgusta mucho	Me disgusta muchísimo
7	6	5	4	3	2	1

2. Describe con tus palabras, el sabor de la naranja.

3. ¿Qué tanto te gustó el olor de la naranja?

Me gusta muchísimo	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta ni me disgusta	Me disgusta	Me disgusta mucho	Me disgusta muchísimo
7	6	5	4	3	2	1

4. Describe con tus palabras, el sabor de la naranja.

5. ¿Qué tan fresca la naranja que acabas de probar?

Mucho más de lo que esperaba	Más de lo que esperaba	Justo como lo esperaba	Menos de lo que la esperaba	Mucho menos de lo que esperaba
5	4	3	2	1

6. ¿En qué argumentos te basas para evaluar la frescura de la naranja que acabas de probar?

## B. Segundo experimento

Hola, frente a ti tienes dos muestra de naranja te pido por favor que contestes las siguientes preguntas para cada una.

1. En general, ¿Qué tanto te gustó la apariencia de cada naranja? (Marca con X)

	Me agrada muchísimo	Me agrada mucho	Me agrada	Ni me agrada ni me desagrada	Me desagrada	Me desagrada mucho	Me desagrada muchísimo
132	7	6	5	4	3	2	1
845	7	6	5	4	3	2	1

2. ¿Qué tanto te agradó el olor? (Marca con X)

	Me agrada muchísimo	Me agrada mucho	Me agrada	Ni me agrada ni me desagrada	Me desagrada	Me desagrada mucho	Me desagrada muchísimo
132	7	6	5	4	3	2	1
845	7	6	5	4	3	2	1

3. ¿Qué tanto te parece el color? (Marca con X)

	Me agrada muchísimo	Me agrada mucho	Me agrada	Ni me agrada ni me desagrada	Me desagrada	Me desagrada mucho	Me desagrada muchísimo
132	7	6	5	4	3	2	1
845	7	6	5	4	3	2	1

4. ¿Qué te parece la firmeza de la naranja? (Marca con X)

	Mucho más aguada de lo que me gusta	Más aguada de lo que me gusta	Firme ni aguada ni dura	Mas dura de lo que me gusta	Mucho mas dura de lo que me gusta
132	5	4	3	2	1
845	5	4	3	2	1

A continuación tienes dos pedacitos de naranjas, prueba cada uno de ellos y contesta las siguientes preguntas.

5. ¿Qué tanto te gusto la muestra que acabas de probar? (Marca con X)

	Me agrada muchísimo	Me agrada mucho	Me agrada	Ni me agrada ni me desagrada	Me desagrada	Me desagrada mucho	Me desagrada muchísimo
301	7	6	5	4	3	2	1
627	7	6	5	4	3	2	1

6. ¿Qué te pareció la intensidad de dulzor? (Marca con X)

	Mucho más de lo que me gusta	Más de lo que me gusta	Justo como me gusta	Menos de lo que me gusta	Mucho menos de lo que me gusta
301	5	4	3	2	1
627	5	4	3	2	1

7. ¿Qué te pareció la intensidad de acidez? (Marca con X)

	Mucho más de lo que me gusta	Más de lo que me gusta	Justo como me gusta	Menos de lo que me gusta	Mucho menos de lo que me gusta
301	5	4	3	2	1
627	5	4	3	2	1

8. ¿Qué te parece la jugosidad de las muestras? (Marca con X)

	Mucho más jugosa de lo que me gusta	Más jugosa de lo que me gusta	Justo como me gusta	Menos jugosa de lo que me gusta	Mucho menos jugosa de lo que me gusta
301	5	4	3	2	1
627	5	4	3	2	1

9. En general, ¿qué tan frescas percibes cada una de las muestras? (Marca con X)

	Mucho más de lo que me gusta	Más de lo que me gusta	Justo como me gusta	Menos de lo que me gusta	Mucho menos de lo que me gusta
301	5	4	3	2	1
627	5	4	3	2	1

10. ¿Cuál de las dos muestras (301 / 627), prefieres?

A) 1° Lugar: \_\_\_\_\_ (gusto más)

2° Lugar: \_\_\_\_\_