

LAS ALTERNANCIAS TÉRMICAS DURANTE LA CONSERVACIÓN FRIGORÍFICA MODIFICAN EL CONTENIDO DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE NARANJAS SANGUINAS

**Valverde, Juan Miguel^{1*}, Espinosa, Alicia¹ Guirao, Alberto¹, Díaz-Mula, Huertas María¹,
Martínez-Romero, Domingo¹**

¹ Instituto CIAGRO-UMH (Instituto de Investigación e Innovación Agroalimentario y Agroambiental)
Universidad Miguel Hernández de Elche
Ctra. Beniel km 3.2 03312 Orihuela, Alicante
e-mail: jm.valverde@umh.es

Resumen: *La naranja sanguina (Citrus sinensis L. Osbeck) cv Sanguinelli forma parte de las variedades con pigmentación roja, tanto en piel como en pulpa debido al contenido de antocianinas, si bien también mantienen una elevada concentración de carotenoides. Durante la maduración se produce la síntesis de antocianinas, las cuales dependen de factores genéticos y climáticos como la temperatura. La bibliografía indica que mayores diferencias de temperatura entre el día y la noche favorecen la acumulación de antocianinas. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del almacenamiento de las naranjas sanguinas en ciclos de 24 horas a 2 °C y a 20 °C (24 h 2°C+24 h 20°C) y compararlo con una conservación control a 8 °C. Además, se estudiaron otros parámetros de calidad postcosecha como la pérdida de peso, la firmeza, los sólidos solubles totales, la acidez y el color. Se observó un aumento de la concentración de carotenoides en los frutos sometidos a los ciclos térmicos, además de una mayor pérdida de peso y una reducción de la firmeza. Por tanto, es preciso optimizar los parámetros tiempo-temperatura de los ciclos para mejorar la composición de compuestos bioactivos, disminuyendo las pérdidas de peso y firmeza durante la conservación frigorífica.*

Palabras clave: Palabras clave: Citrus sinensis, ciclos temperatura, postcosecha, bioactivo, calidad

1. INTRODUCCIÓN

La naranja sanguina (*Citrus sinensis* L. Osbeck) es una de las cuatro especies de naranjas dulces, diferenciándose del resto por la coloración roja que presentan su pulpa y su piel [1]. Dicha pigmentación se asocia a la presencia de antocianinas, compuestos hidrosolubles pertenecientes a la familia de los flavonoides con funciones fisiológicas en las plantas, ya que actúan protegiéndolas contra agentes patógenos y ciertas condiciones de estrés [2]. Así mismo, como el resto de naranjas, presenta un elevado contenido en carotenoides los cuales también son compuestos bioactivos con importante capacidad antioxidante, con un impacto positivo en la salud humana, participando en la prevención de múltiples enfermedades por su efecto antiinflamatorio, antidiabético y anticancerígeno, entre otros [1][3] [4].

La biosíntesis y acumulación de antocianinas en las naranjas sanguinas depende de varios factores como el genotipo, las condiciones climáticas, los factores fisiológicos, las prácticas culturales y la etapa de maduración, entre otros [5]. Además, diversos autores han podido demostrar que la síntesis de antocianinas depende del frío y que, una mayor diferencia de temperatura entre el día y la noche conduce a un mayor contenido de antocianinas en las naranjas sanguinas [6].

Curiosamente, pese a que las naranjas sanguinas, como otros cítricos, presentan un patrón de maduración no climatérico, la exposición a bajas temperaturas puede inducir la síntesis de antocianinas u otros compuestos bioactivos después de la cosecha, aumentando así su concentración durante el almacenamiento [4]. Ya existen trabajos de investigación que muestran una relación entre la síntesis de antocianinas en naranjas sanguinas y una temperatura de almacenamiento entre baja y moderada. Los tratamientos postcosecha para promover la acumulación de antocianinas en naranjas sanguinas son muy estudiados [7] [8]. Sin embargo, no se ha estudiado el efecto de las bajas temperaturas de almacenamiento con alternancia de temperaturas más altas en la síntesis, mantenimiento o degradación de los compuestos bioactivos carotenoides también presentes en la naranja sanguina. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de ciclos de 24 horas a 2 °C más 24 horas a 20 °C durante el almacenamiento postcosecha sobre el contenido de carotenoides y otros parámetros de calidad postcosecha como la pérdida de peso, la firmeza, el color, los sólidos solubles totales y la acidez en naranja Sanguinelli.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal y condiciones de almacenamiento

Se utilizaron naranjas sanguinas (*Citrus sinensis* L. Osbeck), variedad Sanguinelli, provenientes de una parcela comercial en Algorfa (Alicante, España). La recolección se realizó en diciembre de 2022. Se seleccionaron los frutos por uniformidad de tamaño y color, sin lesiones ni defectos. Se realizaron 30 lotes de 4 frutos, 15 lotes se conservaron a 8 °C y los otros 15 lotes fueron sometidos a ciclos de 24 h a 2 °C más 24 h a 20 °C. Los parámetros fisiológicos y de calidad se analizaron los días 0, 3, 8, 11, 15 y 18. Los compuestos bioactivos se analizaron los días 0, 11 y 18. Todos los resultados fueron media ± ES

Parámetros fisiológicos y de calidad

La pérdida de peso se calculó como la relación entre la diferencia de peso de cada lote en el momento de la cosecha respecto al día de muestreo, se expresó como porcentaje de pérdida de peso (%). La firmeza se midió con un texturómetro (TX-XT2i, Reino Unido) provocando una deformación del 5 % del diámetro ecuatorial de la fruta. Se expresó como la relación fuerza-deformación (N mm⁻¹). Los parámetros del espacio de color CIELab (L*, a* y b*) se midieron en tres puntos de la zona ecuatorial externa (piel) y en tres puntos del interior una vez cortado el fruto (pulpa), utilizando un colorímetro (Minolta, Japón). A partir de los valores a* y b* se calculó el croma (C*) mediante la siguiente ecuación (1):

$$C * = \frac{(a*^2 + b*^2)}{2} \quad (1)$$

Se extrajo el zumo, se filtró y se determinó sólidos solubles totales (SST) y acidez titulable (AT) mediante refractometría digital y valorador potenciométrico automático. Los resultados se expresaron como °Brix y g de ácido cítrico 100 mL⁻¹, respectivamente. El índice de madurez se expresó como la relación entre SST y AT.

Contenido de carotenoides

Los carotenoides totales se extrajeron según [9] con ligeras modificaciones. La extracción se llevó a cabo en el zumo y en la piel, a partir de 5 mL de zumo o 2 g de flavedo, respectivamente. En ambos casos se realizó una homogeneización con 20 mL de una disolución etanol:acetona:hexano (1:1:2, v/v/v) que contenía 0,1% BHT, posteriormente se centrifugó durante 5 min, 10000 rpm y 4°C. La absorbancia fue leída a 457 nm y los resultados se expresaron como mg equivalente de β-caroteno por kg⁻¹ de peso fresco.

Análisis estadístico

Los datos experimentales se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías, los resultados se expresaron como media \pm ES y, para el análisis estadístico entre los días de muestreo se aplicó la prueba post hoc de Tukey y entre los tratamientos se realizó una prueba t de Student. Las diferencias significativas fueron definidas como $p < 0,05$.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La pérdida de peso aumentó a lo largo del almacenamiento tanto en los frutos control como en los frutos tratados, si bien en el día 18, los frutos sometidos a los ciclos de temperatura (2 °C - 20 °C) mostraban una pérdida de peso 2,19 veces mayor (Figura 1A) que los frutos control. La pérdida de peso se debe fundamentalmente a la transpiración, y la respiración de los frutos que utilizan las reservas de energía. Como consecuencia del incremento del déficit de vapor de presión de vapor entre el fruto y la atmósfera, así como de las variaciones de humedad relativa y el aumento de temperatura, se da en los frutos el incremento de la transpiración. Además, la apertura de los estomas favorece la difusión de agua a través de la piel [1][10]. La firmeza de los frutos control como de los frutos tratados (Figura 1B) disminuyó, alcanzando así los frutos almacenados en los ciclos de 2 °C - 20 °C (4,78 N mm⁻¹) menores valores de firmeza frente a los frutos almacenados a 8 °C (5,75 N mm⁻¹) respecto al valor en el momento de la cosecha (8,47 N mm⁻¹). Los cambios de firmeza están relacionados con la actividad hidrolítica de las enzimas encargadas de degradar las pectinas, celulosas y hemicelulosas de la pared celular [9]. La pérdida de firmeza conlleva una pérdida de calidad de los frutos por ablandamiento, así como a una menor valoración por parte del consumidor.

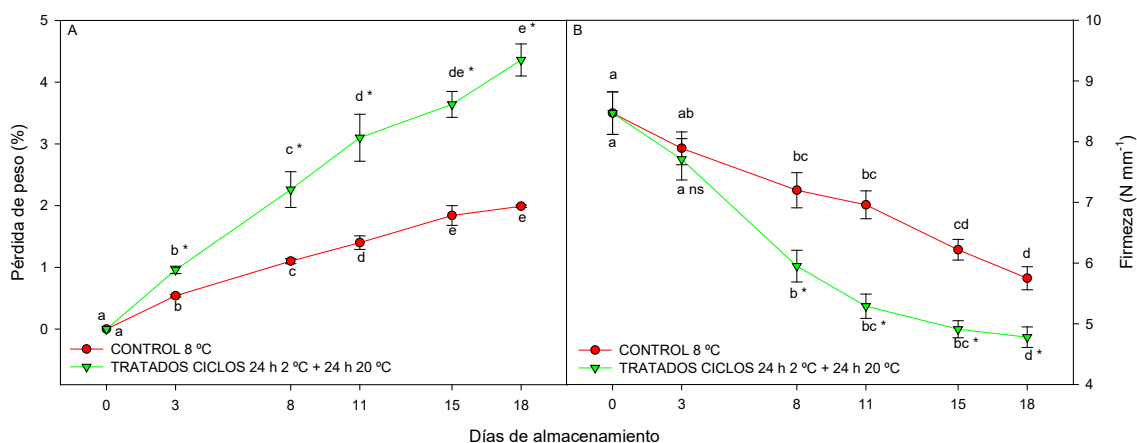


Figura 1. Evolución de la pérdida de peso (A) y la firmeza (B) de las naranjas sanguíneas almacenadas constantemente a 8 °C y en ciclos de 24 h a 2 °C más 24 h a 20 °C. Los datos son la media \pm ES. Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre días de muestreo. (*) indica diferencias significativas entre tratamiento y control para un mismo día de muestreo ($p < 0,05$).

El color es uno de los parámetros más valorado por los consumidores y se utiliza generalmente como criterio de selección. Se puede observar en las figuras 2A y 3A, la luminosidad de la piel y de la pulpa disminuye a lo largo del almacenamiento en los frutos control y tratados, mostrando diferencias significativas entre los tratamientos en la pulpa de las naranjas sanguíneas. Tal y como se puede observar en las figuras 2B y 3B, el croma C* o índice de saturación del color de piel y pulpa se reducen en el almacenamiento en los frutos tratados y en los frutos control, al igual que en el estudio realizado por [11].

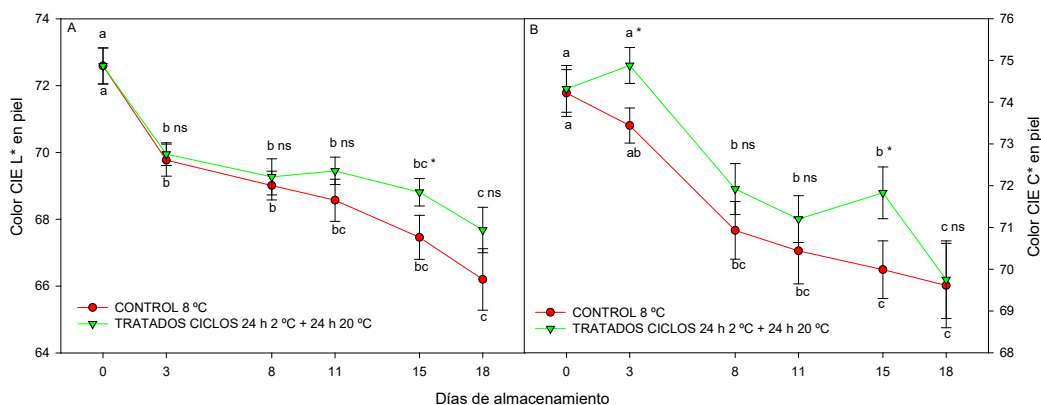


Figura 2. Evolución de los parámetros de color CIE L* (A) y C* (B) de la piel de las naranjas sanguíneas almacenadas constantemente a 8 °C y en ciclos de 24 h a 2 °C más 24 h a 20 °C. Los datos son la media ± ES. Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre días de muestreo. (*) indica diferencias significativas entre tratamiento y control para un mismo día de muestreo ($p < 0,05$).

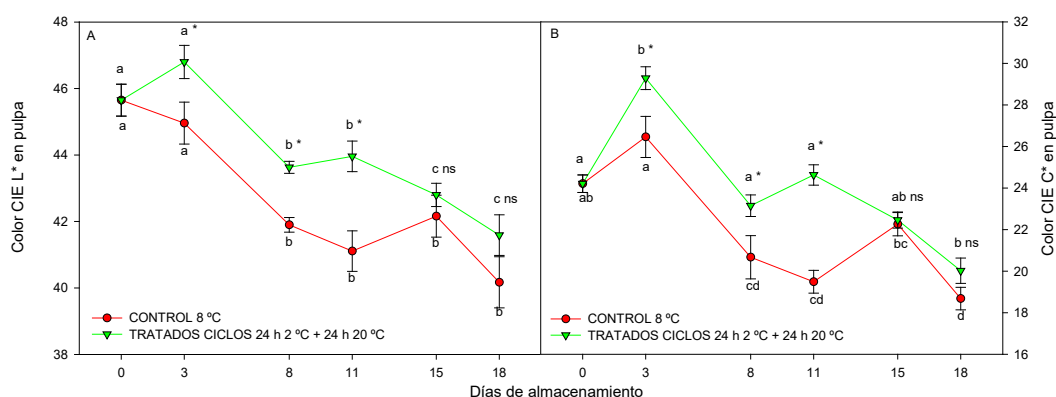


Figura 3. Evolución de los parámetros de color CIE L* (A) y C* (B) de la pulpa de las naranjas sanguíneas almacenadas constantemente a 8 °C y en ciclos de 24 h a 2 °C más 24 h a 20 °C. Los datos son la media ± ES. Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre días de muestreo. (*) indica diferencias significativas entre tratamiento y control para un mismo día de muestreo ($p < 0,05$).

Por otro lado, los sólidos solubles totales, entre los que destacan la sacarosa, la glucosa y la fructosa [4] disminuyeron a lo largo del almacenamiento tanto en las naranjas sanguíneas almacenadas a 8 °C como en las tratadas con ciclos de 2 °C - 20 °C (Tabla 1), ya que estos son utilizados por el fruto para llevar a cabo su actividad metabólica. No hubo diferencias significativas entre tratamientos, los sólidos solubles aumentaron en los frutos almacenados a 8 °C hasta el día 18 (Tabla 1), similar a lo obtenido por [12] en frutos de *Tarocco*, debido a la acumulación de azúcares durante la maduración. En cuanto a la acidez titulable, relacionada estrechamente con los ácidos orgánicos y entre los cuales destaca el ácido cítrico, se mantuvo estable a lo largo del almacenamiento sin mostrar diferencias significativas entre los días de almacenamiento y entre los tratamientos (Tabla 1), al contrario que los resultados obtenidos por [12], que mostró una disminución de acidez total en *Moro* y *Tarocco* almacenados a 8 °C y 22 °C.

Tabla 1. Evolución del contenido de SST, de la acidez y del índice de madurez de las naranjas sanguíneas almacenadas constantemente a 8 °C y en ciclos de 24 h a 2 °C más 24 h a 20 °C. Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre días de muestreo. (*) indica diferencias significativas entre tratamiento y control para un mismo día de muestreo ($p < 0,05$). Los datos son la media ± ES.

		SST (° Brix)	Acidez (g 100 mL ⁻¹)	Índice de madurez
Día 0		11,42 ± 0,11a	2,18 ± 0,04a	5,24 ± 0,07ab
Día 18	8 °C	10,13 ± 0,06c	2,08 ± 0,05a	4,89 ± 0,09a

2 °C – 20 °C

10,63 ± 0,04b*

2,09 ± 0,06a ns

5,11 ± 0,16b ns

Otras fuentes documentan que los ácidos orgánicos tienden a disminuir durante la maduración por su participación en el ciclo de los ácidos tricarbónicos [13] [4]. Además, estos estudios científicos indicaron que el estrés por frío induce la actividad de las enzimas citrato sintasa y citrato liasa involucradas en el metabolismo de los ácidos orgánicos, disminuyendo así la acidez [4]. No hubo diferencias significativas en el índice de madurez, similar a lo establecido por [5], que no observó cambios en el índice de madurez durante 45 días de almacenamiento en naranjas sanguinas almacenadas a 4 °C y a 9 °C.

En cuanto al contenido de carotenoides, tanto en la piel como en el zumo se redujo en el almacenamiento (Figuras 4A y 4B), a diferencia los resultados obtenidos por [14]. El deterioro de los frutos explicaría la disminución general del contenido de estos compuestos bioactivos. Sin embargo, al final del almacenamiento los frutos almacenados en ciclos de 24 h a 2 °C y 20 °C tuvieron valores más altos que los frutos control, por lo que los ciclos de temperaturas resultaron eficaces en mantener o reducir la degradación de estos compuestos bioactivos.

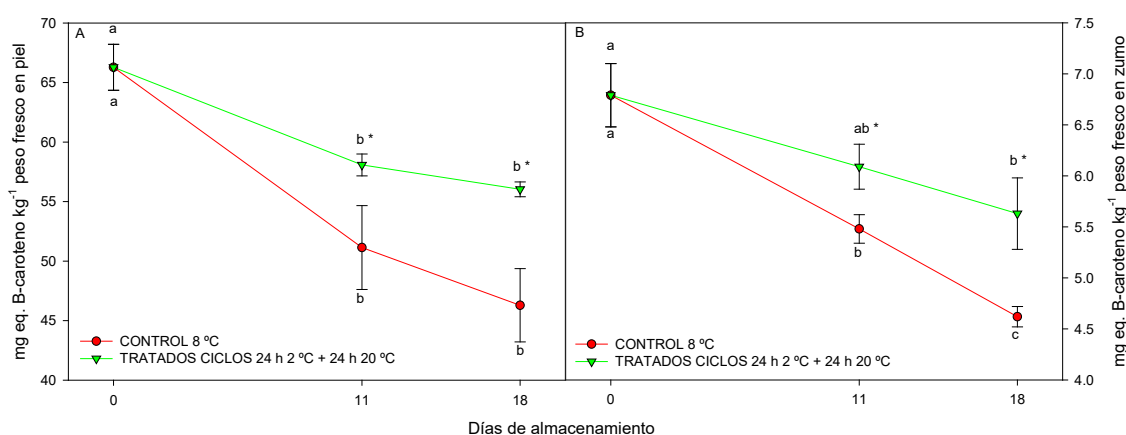


Figura 4. Evolución del contenido de carotenoides en piel (A) y en zumo (B) de las naranjas sanguinas almacenadas constantemente a 8 °C y en ciclos de 24 h a 2 °C más 24 h a 20 °C. Los datos son la media ± ES. Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre días de muestreo. (*) indica diferencias significativas entre tratamiento y control para un mismo día de muestreo ($p < 0,05$).

4. CONCLUSIONES

El estudio ha demostrado que los ciclos de temperaturas de 24 h a 2 °C y 24 h a 20 °C durante el almacenamiento de naranjas sanguinas no resultaron favorables para los parámetros de calidad comercial de la fruta, ya que aumentaron en mayor medida la pérdida de peso y redujeron la firmeza más que en una conservación frigorífica convencional a 8 °C. Sin embargo, estos ciclos de bajas y altas temperaturas consiguieron reducir la pérdida de brillo y color tanto en piel como en pulpa a lo largo del experimento de conservación. Además, se produjo una menor pérdida de carotenoides en los frutos tratados con la alternancia térmica. Estos datos indican que es preciso continuar con la optimización de los parámetros tiempo y temperatura, para minimizar pérdidas de peso y firmeza, y conseguir mantener o aumentar la síntesis de compuestos bioactivos para mejorar la calidad funcional de estas frutas durante la postcosecha.

5. REFERENCIAS

- [1] Habibi, F., Ramezani, A., Guillén, F., Castillo, S., Serrano, M., Valero, D. 2020. Changes in bioactive compounds, antioxidant activity, and nutritional quality of blood orange cultivars at different storage temperatures. *Antioxidants*. 9 (10), 1016.
- [2] Carmona, L. Alquézar, B., Tárraga, S., Peña, L. 2019. Protein analysis of moro blood orange pulp

- during storage at low temperatures. *Food Chemistry*. 277, 75-83.
- [3] Habibi, F., Valero, D., Serrano, M., Guillén, F. 2022. Exogenous application of glycine betaine maintains bioactive compounds, antioxidant activity, and physicochemical attributes of blood orange fruit during prolonged cold storage. *Frontiers in Nutrition*. 9.
- [4] Chen, J., Zhang, Y., Liu, F., Chen, J., Wang, W., Wu, D., Ye, X., Liu, D., Cheng, H. 2023. The potential of different ripeness of blood oranges (*Citrus sinensis* L. Osbeck) for sale in advance after low-temperature storage: Anthocyanin enhancements, volatile compounds, and taste attributes. *Food Chemistry*. 417, 135934.
- [5] Carmona, L., Alquézar, B., Marques, V.V., Peña, L. 2017. Anthocyanin biosynthesis and accumulation in blood oranges during postharvest storage at different low temperatures. *Food Chemistry*. 237, 7-14.
- [6] Habibi, F., García-Pastor, M.E., Puente-Moreno, J., Garrido-Auñón, F., Serrano, M., Valero, D. 2022b. Anthocyanin in blood oranges: a review on postharvest approaches for its enhancement and preservation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
- [7] Chen, J., Liu, F., B. Ismail, B., Wang, W., Xu, E., Pan, H., Ye, X., Liu, D., Cheng, H. 2022. Effects of ethephon and low-temperature treatments on blood oranges (*Citrus sinensis* L. Osbeck): Anthocyanin accumulation and volatile profile changes during storage. *Food Chemistry*. 393, 133381.
- [8] Carmona, L., Alquézar, B., Diretto, G., Sevi, F., Malara, T., Lafuente, M.T., Peña, L. 2021. Curing and low-temperature combined post-harvest storage enhances anthocyanin biosynthesis in blood oranges. *Food Chemistry*. 342, 128334.
- [9] Valero, D., Díaz-Mula, H.M., Zapata, P.J., Castillo, S., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Serrano, M. 2011. Postharvest treatments with salicylic acid, acetylsalicylic acid or oxalic acid delayed ripening and enhanced bioactive compounds and antioxidant capacity in sweet cherry. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 59 (10), 5483-5489.
- [10] Habibi, F., Ramezani, A., Guillén, F., Serrano, M., Valero, D. 2020b. Blood oranges maintain bioactive compounds and nutritional quality by postharvest treatments with γ -aminobutyric acid, methyl jasmonate or methyl salicylate during cold storage. *Food Chemistry*. 306, 125634.
- [11] Habibi, F., Guillén, F., Serrano, M., Valero, D. 2021. Physicochemical changes, peel colour, and juice attributes of blood orange cultivars stored at different temperatures. *Horticulturae*. 7 (9), 320.
- [12] Rapisarda, P., Bellomo, S.E., Intelisano, S. 2001. Storage temperature effects on blood orange fruit quality. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 49 (7), 3230-3235.
- [13] Cebadera-Miranda, L., Domínguez, L., Dias, M.I., Barros, L., C.F.R. Ferreira, I., Igual, M., Martínez-Navarrete, N., Fernández-Ruiz, V., Morales, P., Cámara, M. 2019. Sanguinello and Tarocco (*Citrus sinensis* [L.] Osbeck): Bioactive compounds and colour appearance of blood oranges. *Food Chemistry*. 270, 395-402.
- [14] Xie, J., Wang, G., Ren, T., Li, J., Chen, S., Shi, L., Liu, H. 2023. The gradient distribution of pigment metabolites provided insights into the uneven colouration of pulp in cold-stored blood orange. *Postharvest Biology and Technology*. 198, 112234.