

“Evaluación del control de la oxidación de la vitamina C en los jugos de los frutos de *Citrus sinensis* (naranja dulce) y *Citrus aurantium* (naranja agria), utilizando como antioxidante natural un extracto de hojas de *Vitis vinífera* L. (vid)”.

Carmen Silvia Klinar Barbuza¹, Jorge Chanllio Lavarello², Pamela Uribe Canales¹ y Artemio Chang Canales³.

1 Facultad de Farmacia y Bioquímica - UNICA

2 Facultad de Medicina Humana - UNICA

3 Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Amazon Ruby SAC. Perú.

RESUMEN

En el Perú, se consume la naranja dulce por su contenido de vitaminas y como antioxidante. Es un fruto que se puede consumir de muchas formas; en postres, zumos, ensaladas, entre otros. La naranja agria, es ampliamente utilizada en la industria de perfumería y como saborizante, gracias a su aceite esencial.

En trabajo previo el antioxidante natural EHV (extracto de hojas de vid) mostró ser eficiente para estabilizar la vitamina C contenida en el jugo de limón.

En el presente trabajo se utilizó antioxidante natural EHV (extracto de hojas de vid) durante 8 semanas, para evaluar la estabilidad de la vitamina C y las características organolépticas en los jugos de naranja dulce (*Citrus sinensis*) y naranja agria (*Citrus aurantium*), se comprueba la estabilización de la vitamina C a las concentraciones de 1.5% y 2% del EHV, sin embargo, a dichas concentraciones se aprecia impacto negativo en las características organolépticas después de 5 semanas.

Palabras clave: *Citrus sinensis*, *Citrus aurantium*, *Vitis vinífera*, Vit C, limón.

1. silviaklinarb@hotmail.com

ABSTRACT

In Peru, sweet orange is consumed for its vitamin content and as an antioxidant. It is a fruit that can be consumed in many ways; in desserts, juices, salads, among others. Sour orange is widely used in the perfume industry and as a flavoring, thanks to its essential oil.

In previous work, the natural antioxidant EHV (vine leaf extract) proved to be efficient in stabilizing the vitamin C contained in lemon juice.

In this work, natural antioxidant EHV (vine leaf extract) was used for 8 weeks, to assess the stability of vitamin C and organoleptic characteristics in sweet orange (*Citrus sinensis*) and sour orange (*Citrus aurantium*) juices, Vitamin C stabilization is checked at concentrations of 1.5% and 2% of EHV, however, at these concentrations a negative impact on organoleptic characteristics is observed after 5 weeks.

Keywords: *Citrus sinensis*, *Citrus aurantium*, *Vitis vinífera*, C Vit, lemon.

1. Introducción

En el Perú, se consume la naranja dulce por su contenido de vitaminas y como antioxidante; juega un papel muy importante en el organismo ya que favorece la formación de colágeno y también es de utilidad en caso de estrés y depresión. Es un fruto que se puede consumir de muchas formas; en postres, zumos, ensaladas, entre otros.

La naranja agria, es ampliamente utilizada en la industria de perfumería y como saborizante, gracias a su aceite esencial. Los frutos, hojas y flores de la naranja agria son ricos en vitamina C, flavonoides y muchos aceites volátiles. Además contienen alcaloides biológicamente activos. Así también tiene capacidad de inhibir el crecimiento de ciertas especies de bacterias y hongos. Diversos compuestos aislados de la naranja agria han demostrado poseer actividad anticancerígena, con reducción significativa en el conteo de células cancerígenas. Esta reducción se asocia directamente con la actividad de compuestos presentes en los extractos provenientes de la naranja agria; señalando una posible aplicación a nivel preventivo.

La vitamina C, contenida en los jugos de naranja dulce y de naranja agria, es una sustancia que se oxida con suma facilidad, por ello el interés de estabilizar estos jugos utilizando un antioxidante natural.

Los productos obtenidos de fuentes naturales (frutas y otros vegetales), conteniendo vitamina C, requieren del uso de estabilizadores que inhiban o prolonguen su tiempo de oxidación. Los estabilizadores sintéticos han mostrado ser eficientes para controlar la oxidación de la vitamina C, sin

embargo hay un impacto negativo del antioxidante en el sabor; el que es proporcional a la concentración del antioxidante.

La finalidad del presente trabajo es evaluar la acción de un antioxidante natural EHV (extracto de hojas de vid) en el control de la oxidación de la vitamina C presente en los jugos de naranja dulce y de naranja agria, lo que permitiría la conservación de dicho jugo por un tiempo prolongado, manteniendo sus características fisicoquímicas y organolépticas. De esta manera se obtiene un producto que facilita, promociona y amplía su uso.

2. Generalidades

2.1 Breve descripción del material vegetal

***Citrus sinensis* (naranja dulce).**

Es un árbol de tamaño mediano que alcanza una altura aproximada de 7.5 metros. Posee un tronco delgado y de corteza color marrón, con ramas delgadas o ligeramente gruesas y algunas raíces que sobresalen del suelo. Las ramas más jóvenes son verdes, flexibles y cuentan con espinas. Desarrolla hojas color verde, perennes y ovaladas y de 6.5 a 15 centímetros de longitud y hasta 10 centímetros de anchura. Los bordes pueden o no ser dentados.



Las pequeñas flores del naranjo, conocidas como flores de azahar, crecen solas o en grupos de 2 a 6. Cada una tiene 5 sépalos con varios estambres de punta amarilla, y pétalos de color blanco. Son muy aromáticas. A partir de ellas se desarrollan las naranjas, frutos redondos de unos 6.5-9.5 centímetros de diámetro con piel gruesa, cerosa y color que va del verde al anaranjado intenso. Tienen una capa interior blanca, y a continuación, una pulpa compuesta por 10-14 gajos que contienen zumo.

Taxonomía:

Familia: Rutáceas

Género: Citrus

Especie: sinensis

Nombre botánico: *Citrus sinensis* (L) Osbeck

***Citrus aurantium* (naranja agria).**

Este árbol puede alcanzar una altura de 3 a 10 metros. Es perennifolio o “siempreverde”, lo que quiere decir que no pierde sus hojas, que estas se mantienen a lo largo del año. Posee espinas agudas de hasta 8 cm de largo, y hojas simples, alternas y muy aromáticas.



Las flores son de tipo axilar, presentándose de manera individual o en grupos de 2 a 3 flores de color blanco, bisexuales y muy fragantes. Estas flores, son las llamadas flores de azahar. Los frutos de la naranja agria como tal, tienen forma redonda, como de globo, con un diámetro de 5 a 8 cm. Poseen una cáscara que va desde ligeramente lisa hasta muy rugosa. Cuando la fruta se encuentra madura, es de un color amarillo a amarillo/anaranjado, con vetas o parches de color verde. La pulpa es de color naranja claro, muy aromático, muy ácido, y ligeramente amarga. Posee pocas semillas.

Taxonomía:

Familia: Rutáceas

Género: Citrus

Especie: sinensis

Nombre botánico: *Citrus aurantium* L.

2.2 Vitamina C

La vitamina C es una vitamina hidrosoluble. Es necesaria para el crecimiento y desarrollo normales. Las vitaminas hidrosolubles se disuelven en agua. Las cantidades sobrantes de la vitamina salen del cuerpo a través de la orina. Eso quiere decir que la persona necesita un suministro constante de tales vitaminas en la dieta.

El organismo de los humanos no es capaz de producir Vitamina C (casi todos los organismos animales y vegetales, si lo hacen) por lo que debemos ingerirla desde fuentes externas. La vitamina C o Ácido ascórbico, es también llamada la Vitamina antiescorbútica debido a que su descubrimiento estuvo ligado a esta acción; investigaciones posteriores han demostrado que también actúa como antioxidante, además, se le atribuye actividades tales como inmunomodulador, antiinflamatorio, anticancerígeno, antiviral gripal; aunque debemos tener en cuenta que también existen estudios en los que no se encuentran evidencias de dichas actividades; con la finalidad de aceptar o rechazar las propiedades terapéuticas que se le atribuye a la vitamina C, las investigaciones científicas continúan. En general, podemos decir que el consumo de vitamina C es esencial para mantener una buena salud.

2.2.1 Estabilidad de la Vitamina C

La vitamina C o ácido L-ascórbico es muy susceptible a la oxidación por la temperatura, luz, agua, pH, metales (Cu y Fe). Inicialmente en la oxidación pasa de ascorbato a dehidroascorbato, en una reacción que es reversible, por lo que el dehidroascorbato mantiene en principio el valor como vitamina C. Sin embargo, el dehidroascorbato es mucho menos estable y se degrada con gran facilidad. Los productos de la degradación no tienen actividad como vitamina C. La reacción de oxidación puede ser catalizada por la enzima ascorbato

oxidasa, abundante en algunos vegetales. Los productos obtenidos de fuentes naturales (frutas y otros vegetales), conteniendo vitamina C, requieren del uso de estabilizadores que inhiban o prolonguen su tiempo de oxidación.

2.3 Antecedentes de la Investigación

Los estudios de estabilidad de la vitamina C en frutos se han dado principalmente en el caso del camu camu, considerada la fruta con el mayor contenido de vitamina C en el mundo, esta fruta tiene su origen en la Amazonía Peruana.

En el 2002 Ramos, Z. y colaboradores evaluaron los factores que reducen el contenido de vitamina C en la pulpa de camu camu durante el proceso y conservación.

Silva, M. y colaboradores, en el 2004 determinaron la estabilidad de la vitamina C en frutos caju-do-cerrado refrigerados y congelados.

Nobuyuki, R. et al, en el 2007 determinaron la estabilidad de vitamina C y antocianinas en néctar de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh).

En el 2009. Chang, A. patentó un método para estabilizar la vitamina C en frutos y sus extractos sólidos, líquidos y semisólidos.

En el 2017 Klinar et al, evaluaron la estabilidad de la vitamina C en el jugo de limón, con un antioxidante natural.

2.4 Antioxidantes alimentarios.-

Los antioxidantes alimentarios son un tipo de aditivos que se añaden a los alimentos para que estos no pierdan, con el tiempo, su sabor y color.

Los alimentos, tras cosecharlos o cocinarlos, tienden a oxidarse debido a su contacto con el oxígeno, con el calor o con la luz de sol.

Con los antioxidantes alimentarios también conseguimos que las vitaminas, aminoácidos y otros nutrientes se mantengan más tiempo sin degradarse o perder propiedades. El color también durará más tiempo sin empezar a cambiar.

3. Metodología y Parte experimental

3.1 Muestras

- Jugo del fruto de naranja dulce (*Citrus sinensis*)
- Jugo del fruto de naranja agria (*Citrus aurantium*)
- EHV (Extracto de hojas de vid).-Extracto secado a partir de un extracto hidroalcohólico obtenido de hojas frescas de la vid. El rendimiento de extracto seco es aproximadamente de 10% del material vegetal de partida.

3.2 Preparación de la muestras

El jugo de naranja dulce (*Citrus sinensis*) se divide en 5 muestras de la siguiente manera:

- M1 = Jugo de naranja dulce (Blanco)
- M2 = Jugo de naranja dulce + 0.5% de EHV
- M3 = Jugo de naranja dulce + 1.0% de EHV
- M4 = Jugo de naranja dulce + 1.5% de EHV
- M5 = Jugo de naranja dulce + 2.0% de EHV

El jugo de naranja agria (*Citrus aurantium*) se divide en 5 muestras de la siguiente manera:

- M1 = Jugo de naranja agria (Blanco)
- M2 = Jugo de naranja agria + 0.5% de EHV
- M3 = Jugo de naranja agria + 1.0% de EHV
- M4 = Jugo de naranja agria + 1.5% de EHV
- M5 = Jugo de naranja agria + 2.0% de EHV

Las muestras se conservan en refrigeración durante 8 semanas. Cada 7 días se realizan las medidas cuantitativas de vitamina C y la evaluación de cambios organolépticos, en cada una de las muestras.

3.3 Diseño a utilizar en el estudio

- Deductivo - Experimental – inductivo

3.4 Métodos y técnicas de investigación

- **Deductivo.**- revisión y análisis de la información científica, referente al tema.

- **Experimental.**-

- . Preparación de las muestras
- . Preparación de jugo más antioxidante
- . Medida del contenido de vitamina C
- . Evaluación de cambios organolépticos.

- **Inductivo.**- interpretación y discusión de resultados. Conclusiones.

3.5 Técnicas de experimentales

3.5.1 Determinación cuantitativa de vitamina C por el método iodométrico.

Técnica. -

Preparación del Valorante

1.4 g de Yodo metálico se disuelven en una solución que contiene 3.6 g de IK, en 10 mL de agua destilada, se agrega 3 gotas de HCl y luego se completa a 100 mL en una fiola.

Preparación del estándar

Pesar aproximadamente 50 mg de Vit C USP, agregar 10 mL de agua destilada y 2.5 mL de ácido sulfúrico o fosfórico 2N.

Valoración del estándar

Al estándar preparado se le agregan 0.5 mL de solución de almidón 5%, y se procede a valorar con el valorante hasta el punto final (aparición de color azul, permanente). Anotar los mL de valorante consumidos (mLE)

Preparación de la muestra

Pesar de 2 a 3 mL de la muestra, diluir con 10 mL de agua destilada y 2.5 mL de ácido sulfúrico o fosfórico 2N

Determinación cuantitativa

A la muestra preparada se le agregan 0.5 mL de solución de almidón 5%, y se procede a valorar con el valorante hasta el punto final (aparición de color azul, permanente)

Cálculos: Se aplica la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Vitamina C} = \frac{\text{mLM} \times \text{mg Vit. C} \times 100}{\text{mLE} \times \text{mg M}}$$

Donde:

mL **M** = mL de valorante consumidos en la muestra

mg Vit. C = cantidad de vitamina C estándar en mg.

mL **E** = mL de valorante consumidos en el estándar (Vitamina C)

mg **M** = Cantidad de muestra, en mg.

3.5.2 Medida de características organolépticas.

Prueba sensorial del sabor

Prueba sensorial del color

Prueba sensorial del olor

4. Resultados

Los resultados del análisis cuantitativo de Vitamina C y la evaluación de cambios organolépticos, se muestran en los cuadros siguientes.

Los resultados del análisis cuantitativo de Vitamina C son los promedios de tres medidas en cada muestra.

4.1 Cuadro 1.- Resultados del análisis de vitamina C en los jugos sin estabilizar.

Cuadro 1.- Resultados del analisis de vitamina C en los jugos sin estabilizar									
Jugo de naranja dulce (<i>Citrus sinensis</i>)									
Dias=	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Vit C mg/100 mL=	39	12	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Jugo de naranja agria (<i>Citrus aurantium</i>)									
Dias=	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Vit C mg/100 mL=	41	16	6	0	NR	NR	NR	NR	NR
NR= no realizado									

4.2 Cuadro 2.- Resultados de la evaluación de cambios organolépticos en el jugo de limón sin estabilizar.

Cuadro 2.- Resultados de la evaluación de cambios organolépticos en los jugos sin estabilizar									
Jugo de naranja dulce (<i>Citrus sinensis</i>)									
Dias=	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Apreciación de cambios organolépticos									
	5	1	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Jugo de naranja agria (<i>Citrus aurantium</i>)									
Dias=	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Apreciación de cambios organolépticos									
VitC mg/100mL	5	1	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
5 = óptimo 4 = bueno 3 = regular 2 = malo 1 = muy malo NR= no realizado									

4.3 Cuadro 3.- Resultados del análisis de vitamina C en los jugos, utilizando diferentes concentraciones de EHV (extracto de hojas de vid) como antioxidante.

Cuadro 3.- Resultados del análisis de vitamina C en los jugos a diferentes concentraciones de EHV (extracto de hojas de vid)									
Jugo de naranja dulce (<i>Citrus sinensis</i>)									
Dias=	0	7	14	21	28	35	42	49	56
% de EHV	Vitamina C en 100 mL de jugo								
0%	39	12	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR
0.50%	39	20	7	0	NR	NR	NR	NR	NR
1.00%	39	27	14	6	0	NR	NR	NR	NR
1.50%	39	38	38	37	38	37	36	38	37
2.00%	39	39	39	39	38	38	39	39	39
Jugo de naranja agria (<i>Citrus aurantium</i>)									
Dias=	0	7	14	21	28	35	42	49	56
% de EHV	Vitamina C en 100 mL de jugo								
0%	41	16	6	0	NR	NR	NR	NR	NR
0.50%	41	27	19	11	5	0	NR	NR	NR
1.00%	41	37	26	18	12	8	0	NR	NR
1.50%	41	40	41	41	41	40	40	39	39
2.00%	41	41	41	41	41	41	41	41	41

4.4 Cuadro 4.- Resultados de la evaluación de cambios organolépticos en los jugos, utilizando diferentes concentraciones de EHV (extracto de hojas de vid) como antioxidante.

Cuadro 4.- Resultados de la evaluación de cambios organolépticos en los jugos a diferentes concentraciones de EHV (extracto de hojas de vid)									
Jugo de naranja dulce (Citrus sinensis)									
Días=	0	7	14	21	28	35	42	49	56
% de EHV	Apreciación de cambios organolépticos								
0%	5	1	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
0.50%	5	3	2	2	2	2	2	NR	NR
1.00%	5	4	4	3	3	3	2	2	2
1.50%	5	5	5	4	4	4	3	3	3
2.00%	5	5	5	5	5	5	4	3	3
Jugo de naranja agria (Citrus aurantium)									
Días=	0	7	14	21	28	35	42	49	56
% de EHV	Apreciación de cambios organolépticos								
0%	5	1	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
0.50%	5	3	2	2	2	2	2	NR	NR
1.00%	5	4	4	3	3	3	2	2	2
1.50%	5	5	5	5	4	4	4	3	3
2.00%	5	5	5	5	5	5	4	4	4
5 = óptimo 4 = bueno 3 = regular 2 = malo 1 = muy malo NR= no realizado									

5. Interpretación y Discusión de resultados

- En la comparación de los resultados mostrados en el cuadro 1, referido a la estabilidad de la Vitamina C de los jugos de naranja dulce y naranja agria con el cuadro 3 correspondientes a los mismos jugos, tratado con diferentes concentraciones de EHV (extracto de hojas de vid), resulta evidente el efecto de este antioxidante en la estabilidad relativa del contenido de Vitamina C. Las concentraciones óptimas de estabilización en 8 semanas se observa entre 1.5 y 2 % del estabilizador.
- En cuanto a cambios organolépticos, se observa que el deterioro es evidente aunque en las concentraciones mayores las alteraciones son menores.
- Teniendo en cuenta que no se ha evaluado las características de estabilidad de otros componentes de los jugos de naranja dulce y naranja agria, es de esperar que su descomposición también afecte las características organolépticas. Dado los resultados positivos de este estudio, es pertinente realizar estudios de estabilidad de otros componentes de los jugos.
- La evaluación de la estabilidad de la vitamina C, en el presente trabajo, de ha realizado durante 8 semanas (56 días), habiendo determinado las concentraciones más adecuadas del antioxidante, es conveniente realizar estudios de anaquel durante períodos más largo.
- El presente estudio representa un avance importante en lograr estabilizar los jugos de naranja dulce y naranja agria

6. Conclusiones y recomendaciones

Conclusiones

- El uso del antioxidante natural EHV (extracto de hojas de vid) resulta eficiente para estabilizar la vitamina C contenida en los jugos de naranja dulce y naranja agria durante 8 semanas.
- Las concentraciones de 1.5 y 2.0 % resultaron las más eficientes para estabilizar la vitamina C contenida en el jugo de limón.
- En cuanto a los cambios organolépticos, se nota desmejoramiento de la calidad.
- Menores concentraciones de 1.5 % originan pérdida muy rápida de vitamina C e impacto negativo características organolépticas.

Recomendaciones

- Realizar las evaluaciones de la estabilidad de la vitamina C y de cambios organolépticos, durante períodos más largos.
- Realizar las evaluaciones de la estabilidad de la vitamina C y de cambios organolépticos, con concentraciones mayores de EHV (extracto de hojas de vid).
- Realizar el estudio de estabilidad de otros componentes de los jugos de naranja dulce y naranja agria.

7. Referencias bibliográficas

1. Avelar N, A. y Ayala G, G. (2006) Diseño de un sistema de gestión de calidad basado en la seguridad alimentaria para la Industria de jugos naturales (naranja y limón) y agua de coco. Tesis. Fac. Ing. Química. Universidad de El Salvador.
2. Ramos, Zuleyka et al (2002). Evaluación de factores de procesamiento y conservación de pulpa de camu-camu que reducen el contenido de vitamina C. Revista Amazónica de Investigación Alimentaria, v.2 no 2 p. 89 - 99 (2002)
3. Díaz, J. A. (2002). Análisis del mercado internacional de aceites esenciales y aceites vegetales. Instituto Alexander Von Humboldt. Biocomercio Sostenible. Bogotá. Colombia.
4. Silva, Mara Reis et al (2004). Estabilidad de ácido ascórbico em pseudofrutos de caju-do-cerrado refrigerados e congelados. Pesquisa Agropecuária Tropical, 34 (1): 9-14, 2004
5. Acevedo, Belén; Montiel, Mabel y Avanza, Jorge. (2004). Estudio cinético de la degradación de la actividad antioxidante hidrosoluble de jugos cítricos por tratamiento térmico. Laboratorio de Tecnología Química. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (UNNE). Corrientes, Argentina.
6. Rojas, P. (2007) Determinación por HPLC de flavanonas en jugos cítricos de variedades cultivadas en Santander. Scientia et Technica Año XIII, No 33
7. 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. Instituto de Investigación en Producción verde. Universidad de Pamplona (Norte de Santander, Colombia).
8. Cunha, K.; Da Silva, P.; Faria, A. L.; Costa S. y Teodoro, A. (2014) Estabilidad del ácido ascórbico en jugos de frutas frescas bajo diferentes formas de almacenamiento. Universidad Federal de Estado de Rio de Janeiro (UNIRIO). Escuela de Nutrición, Departamento de Tecnología de Alimentos. Rio de Janeiro/RJ-Brasil
9. Maeda, Roberto Nobuyuki et al (2007). Estabilidad de ácido ascórbico e antocianinas em néctar de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh) Cienc. Tecnol. Aliment., Campinas, 27(2): 313-316, abr.-jun. 2007
10. Moo Huchin, Mariela; et al. (2012) X Jornada científica de Biomedicina y Biotecnología molecular. Ixtapa-Zihuatanejo Guerrero, México.
11. Juárez, J.; Castro, A.; Jauregui, J.; Lizano, J.; Carhuampoma, M.; Choquesillo, F.; Félix, L.; Cotillo, P.; Lopez, J.; Jaramillo, M.; Cordova, A.; Ruiz, J. y Ramos, N. (2010) Composición química, actividad antibacteriana del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. (Naranja dulce) y formulación de una forma farmacéutica. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM. Lima. Perú.

12. Klinar, S.; Chanllo, J. y Chang, A. (2016) Evaluación del control de la oxidación de la vitamina C en los jugos de los frutos de limón *Citrus limonium* variedad sutil, utilizando los antioxidante para alimentos: BHA (butilhidroxianisol o E-320) y BHT (butilhidroxitolueno o E-321). Facultad de Farmacia y Bioquímica. U.N. San Luis Gonzaga. Ica. Perú.
13. Klinar, S.; Chanllo, J. y Chang, A. (2017) Evaluación del control de la oxidación de la vitamina C en los jugos de los frutos de limón *Citrus limonium* variedad sutil, utilizando un antioxidante natural (extracto de hojas de *Vitis vinífera* L. Facultad de Farmacia y Bioquímica. U.N. San Luis Gonzaga. Ica. Perú.