

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, VITAMINA C DE ZUMOS CÍTRICOS DE LIMA DULCE (*Citrus limetta*), LIMÓN TAHITÍ (*Citrus latifolia*), LIMÓN RUGOSO (*Citrus jambhiri* Lush) Y MANDARINA CLEOPATRA (*Citrus reshn*) ALMACENADOS EN REFRIGERACIÓN

Edinson Domínguez¹, Elizabeth Ordoñez²

Recepción: 15 de enero de 2014

Aceptado: 16 de noviembre de 2014

Resumen

El presente trabajo de investigación se desarrolló en los laboratorios del CIPNA y Análisis de Alimentos – UNAS. Los objetivos fueron: determinar el pH, acidez y los sólidos solubles totales, cuantificar la vitamina C y evaluar la capacidad antioxidante mediante la inhibición de los radicales libres 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH⁺) y (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolino-6-ácido sulfónico) ABTS⁺ en zumos cítricos almacenados a 5 °C/ 20 días. Las muestras fueron zumos de lima dulce, limón tahití, limón rugoso y mandarina cleopatra; los resultados fueron analizados mediante el diseño completo al azar (DCA) y la prueba de tukey (p≤0,05), utilizando el programa SAS versión 9.0. Los resultados fueron: lima dulce pH 5,80; acidez 0,15 % y 6,80 Brix; limón tahití pH 2,39; acidez 6,70 % y 6,20 Brix; limón rugoso pH 2,13; acidez 7,08 % y 6,0 Brix; mandarina cleopatra pH 2,27, acidez 7,79 % y 6,50 Brix. El coeficiente de inhibición (IC₅₀) frente al radical DPPH⁺ fueron lima dulce 354; limón tahití 457; limón rugoso 420; mandarina cleopatra 482 µg/ml respectivamente; frente al radical ABTS⁺ para lima dulce 371; limón tahití 469; limón rugoso 432; mandarina cleopatra 513 µg/ml respectivamente; mostrando un decrecimiento de la actividad antioxidante de todos los zumos cítricos frente al radical DPPH⁺ y ABTS⁺ a los 5 °C/ 20 días. El contenido de vitamina C fue: lima dulce 50,2; limón tahití 21,1; limón rugoso 27,7 y la mandarina cleopatra 16,1 mg.vit.C/100 ml zumo respectivamente; observándose un decrecimiento de 31, 44, 26, 47 % de la vitamina C a los 5 °C/ 20 días.

Palabras clave: Cítricos, zumos, antioxidante, vitamina C, almacenamiento, refrigeración

Abstract

This research work was developed in the laboratories of CIPNA and Food Analysis at- UNAS. The objectives were to: determine the pH, acidity and total soluble solids; quantify the vitamin C; and evaluate the antioxidant capacity by inhibition of the free radicals 2,2- Diphenyl -1- picrylhydrazyl (DPPH⁺) and (2,2'-azinobis (3- ethylbenzothiazoline -6- sulfonic acid) ABTS⁺ in citrus juices stored at 5 °C/20 days. The Samples were juices of sweet lime, tahiti lemon, rough lemon and cleopatra mandarin. Data were analyzed with a completely randomized design (CRD) and a Tukey test (p ≤ 0,05) using SAS version 9,0 software. The results for pH, acidity and total soluble solids were: sweet lime: pH 5,80, acidity 0,15 % and 6,80 Brix; lemon tahiti: pH 2,39, acidity 6,70 % and 6,20 Brix; rough lemon: pH 2,13, acidity 7,08 % and 6,0 Brix; and cleopatra mandarin: pH 2,27, acidity 7,79 % and 6,50 Brix. The coefficients of inhibition (IC₅₀) against the radical DPPH⁺ were for sweet lime: 354; lemon tahiti: 457; rough lemon: 420; and cleopatra tangerine: 482 µg/ml; against the radical ABTS⁺ for sweet lime: 371; lemon tahiti: 469; rough lemon: 432 and cleopatra tangerine 513 µg / ml; showing a decrease of the antioxidant activity of all citrus juices against DPPH⁺ radical and ABTS⁺ at 5 ° C / 20 days. The concentrations of vitamin C were: sweet lime: 50,2; lemon tahiti: 21,1; rough lemon: 27,7; and cleopatra tangerine: 16,1 mg.vit.C/100 ml, observing a decrease of 31; 44 ; 26 ; 47 % of vitamin C at 5 ° C / 20 days.

Key words: Citrus, juice, antioxidant, vitamin C, storage, cooling.

¹ Tesista de la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias - UNAS, Tingo María – Perú

² Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agrarias de la Selva (UNAS), Tingo María - Perú.

Introducción

Los cítricos ocupan un lugar singular en el reino vegetal, su anatomía presenta características únicas y ocupan una posición privilegiada en la dieta humana, la industrialización de los cítricos no se limita a la extracción de zumos sino que permite la obtención de una gran variedad de subproductos, actualmente, la interacción alimentos-medicina está siendo considerada por parte de la comunidad científica como de vital importancia para la salud, estudios epidemiológicos *in vitro* y clínicos indican que una dieta a base de vegetales (frutas y verduras), puede reducir a la mitad el riesgo de enfermedades crónicas, especialmente del cáncer, conforme lo demuestra la revisión de 200 estudios epidemiológicos.

Cabe resaltar, que en nuestra amazonía como en los valles costeros de nuestro país hay una gran producción de cítricos como la lima dulce, limón tahití, limón rugoso y mandarina cleopatra y no es aprovechado en su potencialidad como fuente de alimentos, materias primas e inclusive como medicamentos. Los efectos beneficiosos del consumo de frutos cítricos sobre la salud humana están basados en sus propiedades antioxidantes y anti-radical de los componentes de los frutos cítricos como el ácido ascórbico, los flavonoides, carotenoides, antocianinas, los derivados del ácido cinámico, entre otros (1). Resulta interesante demostrar si estas propiedades benéficas se pierden o se mantienen durante el envasado de los zumos en la que se conservan sus propiedades nutricionales y antioxidantes para fines de comercialización. Los cítricos son una buena fuente de vitamina C, siendo recomendable una ingesta diaria de 90 mg/día, otros metabolitos con actividad biológica presentes en el género *Citrus* son los compuestos fenólicos, dentro de ellos los flavonoides como la naringina, hesperidina, rutina y diosmina (2). La estabilidad de la vitamina C o ácido ascórbico es afectada por la luz, el oxígeno, la actividad de agua, la temperatura, el pH, el azúcar, las enzimas, los catalizadores metálicos, la concentración inicial del ácido y la relación ácido ascórbico – ácido dehidroascórbico, siendo así la vitamina más inestable y lábil por lo que algunos investigadores han propuesto usar su contenido residual en los alimentos como un índice de retención de nutrientes (3). Los antioxidantes son sustancias que reaccionan con los radicales libres para formar compuestos estables no reactivos, proceso conocido como “atrapamiento (captura)”, siendo en la actualidad un parámetro interesante para valorar la calidad dietética del producto, existiendo los antioxidantes de origen endógeno (sintetizados por el organismo) como la enzimas y exógenos provenientes de los alimentos naturales, entre estos están las vitaminas A, E y C, los β -carotenos, luteína, flavonoides, licopenos, el ácido

lipoico, los cofactores (cobre, zinc, manganeso, hierro y selenio) (4). Los radicales libres son moléculas del metabolismo muy inestables que presentan electrones desapareados, siendo las especies reactivas de oxígeno (ERO) las más importantes como el oxígeno molecular (O_2), el ozono (O_3) y el oxígeno singlete (O_2^1), además de metales de transición (Fe, Mn, Co, Ni y Cu) y radicales de nitrógeno (NO, NO_2), el desbalance entre radicales libres y antioxidantes, produce un fenómeno llamado estrés oxidativo, lo cual ha sido asociado a la patogénesis de muchas enfermedades humanas (5). En base a este marco para la presente investigación se han planteado los siguientes objetivos: Caracterizar por métodos fisicoquímicos el pH, acidez y los sólidos solubles totales, evaluar la capacidad antioxidante (DPPH⁺ y ABTS⁺) y cuantificar la vitamina C en los zumos cítricos almacenados a 5°C.

Materiales y métodos

El presente trabajo se realizó en el Centro de Investigaciones de Productos Naturales de la Amazonía (CIPNA) y laboratorio de Análisis de Alimentos de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), ubicado en la ciudad de Tingo María, Provincia de Leoncio Prado, Departamento de Huánuco.

Materia prima

La lima dulce (**T₁**) (*Citrus limetta*), limón tahití (**T₂**) (*Citrus latifolia*), limón rugoso (**T₃**) (*Citrus jambhiri* Lush) y mandarina cleopatra (**T₄**) (*Citrus reshni*) fueron adquiridas de la parcela “Bella Durmiente” de propiedad del Sr. José Jara Estrada y del fundo “El Triunfo” de la Señora Próspera Córdova ubicado en Angashyacu distrito de José Crespo y Castillo Aucayacu en la provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco, las frutas fueron cosechadas en estado maduro para luego inmediatamente ser trasladadas a los laboratorios para la preparación de las muestras y su posterior análisis.

Reactivos

L(+) ácido ascórbico puro, DPPH⁺(2,2-Difenil-1-picrilhidrazil), 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolino-6-ácido sulfónico) (ABTS⁺); 2,6 diclorofenolindofenol.

Equipos de laboratorio

Balanza analítica, Espectrofotómetro uv/vis, Estufa, Micropipetas, Desionizador de agua, Vortex, Microondas, Refrigerador, Centrifuga, Brixómetro, pH - Meter.

Métodos de análisis

Caracterización fisicoquímica: Sólidos solubles (6), pH (7), y acidez (8). Método para la cuantificación de vitamina C (9). Inhibición del radical (2,2-Difenil-1-picrilhidrazil), método de inhibición del radical

DPPH⁺ (10). Método para medir la capacidad de inhibir el catión 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolino-6-ácido sulfónico) ABTS⁺ (11).

Metodología experimental. Para la cuantificación del pH, acidez y sólidos solubles totales se procedió por los métodos potenciométrico, titulación ácido – base y refractometría respectivamente. La vitamina C se determinó a 520 nm y los resultados fueron expresados en mg vit. C/100 ml zumo. Para la evaluación del radical DPPH⁺ se hizo reaccionar 25 µl de muestra con 975 µl de DPPH⁺ y las lecturas se realizaron a 515 nm. Para la evaluación del radical ABTS⁺ se hizo reaccionar 10 µl de muestra con 990 µl de ABTS⁺ y las lecturas se realizaron a 735 nm, los resultados para ambos radicales se expresaron en IC₅₀ (µg/ml). Todos los resultados fueron analizados mediante el modelo estadístico Diseño Completo al Azar (DCA), sometidos al programa estadístico SAS 9.0 y la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados y discusión

Cuantificación de pH y acidez

Los resultados en el zumo de lima dulce el pH fue 5,80 y acidez 0,15, en zumo de limón tahití el pH fue 2,39 y acidez 6,70 %, en el limón rugoso el pH fue de 2,13 y la acidez fue 7,08 % y en la mandarina cleopatra el pH fue de 2,27 y la acidez de 7,79 % de ácido cítrico respectivamente, podemos indicar que todos los resultados presentan diferencia estadística significativa al cabo de los 20 días de análisis, para el caso del pH este tiende a aumentar en todos los casos a medida que pasa el tiempo dándose un incremento de 15 % para la lima dulce, 7 % para el limón tahití, 7 % para el limón rugoso y 11 % para la mandarina cleopatra, sin embargo la acidez tuvo un comportamiento inverso observándose un decrecimiento de 40 % para la lima dulce, 11 % para el limón tahití, 13 % para el limón rugoso y 13 % para la mandarina cleopatra, al respecto en limón tahití pH 2,51 y acidez de 4,9 %, lima dulce pH 5,55 y acidez 0,12 % (12) encontrándose dentro del rango, asimismo el crecimiento anaerobio de levaduras en zumos de frutas se caracterizan por la producción de CO₂ y alcohol etílico, originados por la fermentación de los azúcares, siendo capaces de degradar los ácidos orgánicos (elevando el pH) y formando acetaldehído (13).

Cuantificación de sólidos solubles totales

En la Figura 1 se presenta el comportamiento de los sólidos solubles totales de los diferentes cítricos almacenados a 5 °C, todos presentaron diferencia estadística significativa comparando los promedios mediante la prueba de tukey ($p \leq 0,05$) durante el tiempo de almacenamiento. Para la lima dulce a cero días fue $6,80 \pm 0,01$ Brix y a 20 días $6,33 \pm 0,03$ Brix; en el limón tahití inicia con $6,20 \pm 0,01$ a

los 20 días fue $5,93 \pm 0,03$ Brix; para el limón rugoso inicia con $6,00 \pm 0,01$ y termina con $5,47 \pm 0,03$ y para la mandarina cleopatra inicia con $6,50 \pm 0,01$ y termina con $6,20 \pm 0,01$.

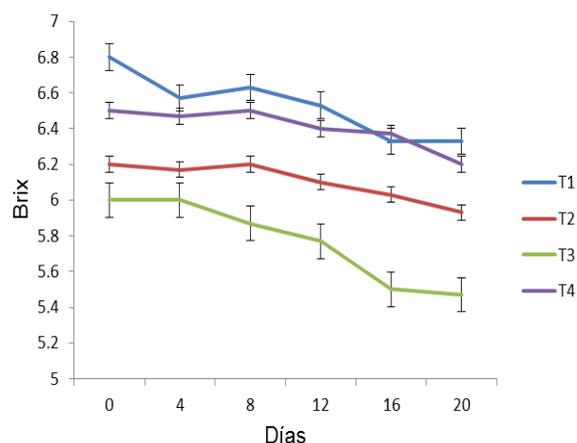


Figura 1. Comportamiento de los sólidos solubles totales durante el almacenamiento de los zumos cítricos.

Como podemos apreciar en todos los resultados los sólidos solubles totales a medida que pasa en tiempo decae tal como vemos en la figura 1; 7,4 para lima dulce y 8,0 para limón tahití (12). Así mismo una humedad relativa muy alta (95 %) de forma permanente parece provocar un descenso significativo en los grados Brix del zumo cítrico probablemente por colapso o necrosis celular (14). El contenido de los sólidos solubles en frutas cítricas varía entre los cultivares y entre los grados de madurez del fruto (15).

Cuantificación de la vitamina C

Para la cuantificación de vitamina C en los zumos cítricos fue necesario establecer una curva patrón y se realizó utilizando ácido ascórbico, las concentraciones estuvieron comprendidas entre 0,01 a 0,05 mg/ml y se estableció una curva patrón de ajuste lineal tal como puede apreciarse en la siguiente Figura 2.

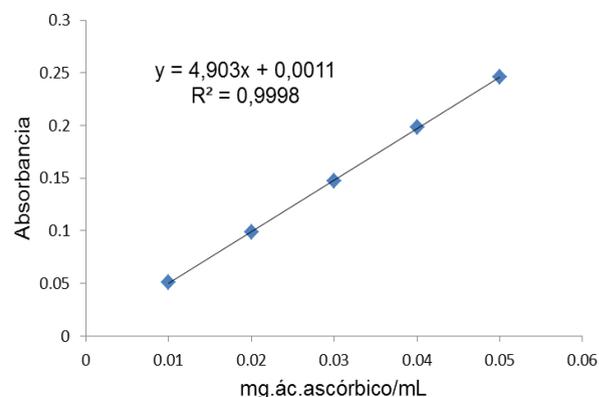


Figura 2: Comportamiento de la curva estándar de ácido ascórbico para cuantificación de vitamina C.

En el cuadro 1 se presenta los resultados de la cuantificación de la vitamina C en el zumo de diferentes cítricos almacenados a 5 °C por 20 días, el contenido de vitamina C fue: lima dulce 50,2 ± 0,9; limón tahití 21,1 ± 0,5; limón rugoso 27,7 ± 0,2 y la mandarina cleopatra 16,1 ± 0,4 mg.vit.C/100 ml zumo, observándose un decrecimiento de la vitamina C de 31 % para lima dulce, 44 % para el limón tahití, 26 % para el limón rugoso y 47 % para la mandarina cleopatra, en todos los resultados se encontró diferencia estadística significativa, comparando los promedios mediante la prueba de tukey (p≤0,05)

Cuadro 1. Determinación de la vitamina C durante el almacenamiento de los zumos cítricos (mg.vit.C/100 ml)

Día	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
0	50,2 ± 0,9 ^a	21,1 ± 0,5 ^a	27,7 ± 0,2 ^a	16,1 ± 0,4 ^a
4	48,4 ± 0,8 ^{ab}	19,6 ± 0,4 ^{ab}	26,1 ± 0,8 ^{ab}	15,4 ± 0,3 ^{ab}
8	45,5 ± 0,9 ^{bc}	17,8 ± 0,4 ^{bc}	26,3 ± 0,5 ^{ab}	13,3 ± 0,6 ^b
12	44,0 ± 0,8 ^c	15,7 ± 0,9 ^{cd}	23,7 ± 0,5 ^{abc}	9,8 ± 0,7 ^c
16	35,5 ± 0,9 ^d	14,9 ± 0,5 ^{de}	23,5 ± 0,6 ^{bc}	9,5 ± 0,3 ^c
20	34,6 ± 0,1 ^d	12,2 ± 0,6 ^e	20,5 ± 1,7 ^c	8,6 ± 0,7 ^c

Los valores representan (Promedio ± SEM) datos provienen del experimento (n=3) valores de la misma columna con superíndices diferentes son significativos (p ≤ 0,05).

El contenido total de vitamina C es variable según la especie en limones esta entre 20 y 60, en limas entre 15 y 45, y en mandarinas entre 15 y 60 mg/100ml respectivamente (1), asimismo observaron una disminución en el contenido de ácido ascórbico de 75 a 62 mg/100g (17,33 %) en mangos frescos almacenados a 5 °C por 9 días (16), el contenido de vitamina C en el limón es de 24,8 mg/100 ml de zumo (17) y para lima dulce (*Citrus limetta*) 33,35 ± 2,26 mg/100ml (18); tiempos prolongados de almacenamiento refrigerado favorecen la pérdida del contenido de ácido ascórbico en limón, principalmente por oxidación del ácido ascórbico hasta ácido dehidroascórbico (19), la oxidación de la vitamina C tiene lugar en presencia de oxígeno por la ascorbinasa esto puede suceder incluso en condiciones totalmente anaeróbicas e incluso después de la inactivación completa de la enzima, esto indica que el ácido ascórbico se auto-oxida lentamente (20).

Determinación del Coeficiente de Inhibición (IC₅₀) radical (2,2-Difenil-1-picrilhidrazil) DPPH⁺

El DPPH⁺ es usualmente usado como un reactivo para evaluar la captura de radicales libres y determinar así la actividad antioxidante, en el cuadro 2 se presentan los resultados de la determinación y el comportamiento del coeficiente

de inhibición (IC₅₀) de los diferentes zumos cítricos almacenados a 5 °C por 20 días en refrigeración, la actividad antioxidante frente al radical DPPH⁺ fue para lima dulce IC₅₀ 354 ± 1,1; limón tahití 457 ± 0,4; limón rugoso IC₅₀ 420 ± 0,6 y menor fue mandarina cleopatra IC₅₀ 482 ± 0,9 µg/ml respectivamente, como podemos apreciar en el cuadro 2 existió un decrecimiento del coeficiente de inhibición de 31 % para la lima dulce, 14 % para el limón tahití, 14 % para el limón rugoso y 15 % para la mandarina cleopatra, además durante el tiempo de almacenamiento existió diferencia estadística significativa (p≤ 0,05), comparando los promedios mediante la prueba de tukey, en lima dulce se encontró IC₅₀ 354 ± 1,1 µg/ml, reportan en lima dulce (*Citrus limetta*) IC₅₀ 279,43 ± 8,95 µg/ml (18), IC₅₀ por el método del DPPH⁺ para la naranja dulce de 290 µg/ml y para la mandarina 800 µg/ml (21), estas diferencias pueden ser por que otros componentes distintos a la vitamina C son más importantes en la aportación de las propiedades antioxidantes al zumo (compuestos fenólicos) (22). El ácido ascórbico es un antioxidante soluble en agua, mientras que algunos otros antioxidantes pueden ser hidrófobo, incluyendo limonoides y flavonoides (23). Asimismo la disponibilidad de la vitamina C y su actividad antioxidante es reducida significativamente durante el procesamiento y almacenamiento de las frutas y hortalizas, por acción de la temperatura, el oxígeno, la luz, la presión, los iones metálicos, los azúcares reductores y el pH (3).

Cuadro 2. Determinación del coeficiente de inhibición DPPH⁺ durante el almacenamiento de los zumos cítricos

Día	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
0	354 ± 1,1 ^f	457 ± 0,4 ^f	420 ± 0,6 ^f	482 ± 0,9 ^f
4	390 ± 0,6 ^e	473 ± 0,5 ^e	434 ± 0,8 ^e	495 ± 0,7 ^e
8	411 ± 0,5 ^d	487 ± 0,6 ^d	458 ± 0,8 ^d	514 ± 1,8 ^d
12	432 ± 0,6 ^c	493 ± 0,7 ^c	469 ± 0,6 ^c	525 ± 0,6 ^c
16	455 ± 0,8 ^b	513 ± 1,2 ^b	476 ± 1,1 ^b	541 ± 0,5 ^b
20	467 ± 0,7 ^a	524 ± 0,6 ^a	481 ± 0,9 ^a	552 ± 1,3 ^a

Los valores representan (Promedio ± SEM) datos provienen del experimento (n=3) valores de la misma columna con superíndices diferentes son significativos (p ≤ 0,05).

Determinación del Coeficiente de Inhibición (IC₅₀) del radical 2,2-azino bis (3-etilbenzotiazolino – 6 ácido sulfónico) ABTS⁰⁺

En el cuadro 3 se presentan los resultados de la determinación y el comportamiento del coeficiente de inhibición (IC₅₀) frente al radical ABTS⁺ durante el almacenamiento del zumo de diferentes cítricos almacenados a 5 °C por 20 días.

Cuadro 3. Determinación del coeficiente de inhibición ABTS⁺ durante el almacenamiento de los zumos cítricos

Día	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
0	371 ± 0,6 ^f	469 ± 0,5 ^f	432 ± 0,7 ^f	513 ± 0,4 ^f
4	396 ± 0,4 ^e	480 ± 0,6 ^e	459 ± 0,7 ^e	531 ± 0,6 ^e
8	422 ± 0,7 ^d	493 ± 0,9 ^d	476 ± 0,5 ^d	545 ± 0,7 ^d
12	453 ± 0,4 ^c	521 ± 0,6 ^c	484 ± 0,6 ^c	558 ± 0,5 ^c
16	465 ± 0,7 ^b	540 ± 0,6 ^b	497 ± 0,7 ^b	563 ± 0,8 ^b
20	476 ± 0,5 ^a	564 ± 0,6 ^a	512 ± 0,6 ^a	583 ± 0,7 ^a

Los valores representan (Promedio ± SEM) datos provienen del experimento (n=3) valores de la misma columna con superíndices diferentes son significativos (p ≤ 0,05).

La capacidad antioxidante total de una muestra viene determinada por interacciones sinérgicas entre diferentes compuestos, así como por el modo de acción concreto de cada uno de ellos, por ello es necesario combinar más de un método para evaluar de manera correcta la capacidad antioxidante de una muestra, la actividad antioxidante frente al radical ABTS⁺ fue para lima dulce IC₅₀ 371 ± 0,6; limón tahití 469 ± 0,5; limón rugoso 432 ± 0,7 y mandarina cleopatra IC₅₀ 513 ± 0,4 µg/ml respectivamente, mostrando un decrecimiento de la actividad antioxidante de todos los zumos cítricos frente al radical ABTS⁺ a lo largo del almacenamiento, como podemos apreciar en el cuadro 3, para la lima dulce pierde eficiencia en un 28 %, para el limón tahití 20 %, para el limón rugoso 18 % y para la mandarina cleopatra 14 % existiendo diferencia estadística significativa (p ≤ 0,05), comparando los promedios mediante la prueba de tukey. A los 90 días de almacenamiento la capacidad antioxidante disminuyó en un 28 % en pulpa de camu camu tratada con ultrasonido debido a la degradación de los principales componentes bioactivos (22), los cítricos también contienen cantidades considerables de ácidos fenólicos y flavonoides (25). Los cambios en el contenido de fitocompuestos pueden variar debido a la maduración, genotipo, condiciones climáticas y almacenamiento del fruto (26).

Conclusiones

Durante el almacenamiento a 5 °C existe un decrecimiento de la acidez y los sólidos solubles totales y un aumento del pH en el zumo de todos los cítricos en estudio. La actividad antioxidante inicial frente al radical DPPH⁺ fue para lima dulce IC₅₀ 354, limón tahití 457, limón rugoso IC₅₀ 420 y mandarina cleopatra IC₅₀ 482 µg/ml respectivamente; la actividad antioxidante frente al radical ABTS⁺ fue para lima dulce IC₅₀ 371; limón tahití 469; limón rugoso 432 y mandarina cleopatra IC₅₀ 513 µg/ml respectivamente, mostrando un decrecimiento de la actividad antioxidante de todos

los zumos cítricos frente al radical DPPH⁺ y ABTS⁺ a lo largo del almacenamiento a 5 °C. El contenido inicial de vitamina C fue: lima dulce 50,2; limón tahití 21,1; limón rugoso 27,7 y la mandarina cleopatra 16,1 mg.vit.C/100 ml zumo, observándose un decrecimiento de 31; 44; 26; 47 % respectivamente de la vitamina C a lo largo del periodo de almacenamiento a 5 °C en los zumos.

Referencias bibliográficas

- García L, Del Río C, Porras C, Fuster S, Ortuño T. El limón y sus componentes bioactivos. Consejería de agricultura, agua y medio ambiente. Murcia, España; 2003.
- Horst-Dietertscheuschner G, Fundamentos de tecnología de los alimentos. Trad. Fernando Gonzales – Fierro Marcilla. 2 ed. Zaragoza, España. Acibia S.A. 2001; 746 p.
- Ordoñez - Santos L, Yoshioka – Tamayo L. Cinética de degradación térmica de vitamina C en pulpa de mango (*Mangifera indica* L). Vitae, REDALYC, 2012; 19(1):81 – 83.
- Figueroa R, Tamayo J, Gonzales S, Moreno G, Vargas L. Actividad antioxidante de antocianinas presentes en cáscara de pitahaya (*Hylocereus undatus*). Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, REDALYC, 2011; 12(1):44 – 50.
- Cuellar C, Anzola V. Comparación de la capacidad antioxidante del arazá (*Eugenia stipitata* Mc vaugh) durante la maduración. Vitae, REDALYC, 2012; 19(1):385 – 387.
- AOAC. Official Methods of analysis of AOAC (Association of Official Analytical Chemist). International; Agricultural Chemicals, Foods, Contaminants and Drugs. V1 y V2 Arlington: A.O.A.C. Inc. 1997; 2658 p.
- AOAC. Official Methods of analysis of AOAC (Association of Official Analytical Chemist). International; Agricultural Chemicals, Foods, Contaminants and Drugs. ISED Gaithersburg Md. USA AOAC International. 1964; 1141 p.
- AOAC. Official Methods of analysis of AOAC (Association of Official Analytical Chemist). International; Agricultural Chemicals, Foods, Contaminants and Drugs. ISED Gaithersburg Md. USA AOAC International. 1995; 1192 p.
- Hung C, Yen G. Antioxidant activity of phenolic compounds isolated from mesona procumbens hemsl. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2002; 50(10):2993-2997.
- Sandoval M, Okuhama N, Angeles F. Técnicas de Investigación para determinar la actividad antioxidativa y anti-inflamatorio de plantas medicinales de la Amazonía. International work shop. Iquitos – Perú, 2001; 1- 25 p.

11. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.* 1999; 26:1231 – 1237.
12. Acevedo B, Avanza J. Actividad antioxidante de los zumos de lima. Efecto de la temperatura. *Comun. Cient. y tecnológicas, Corrientes, Argentina.* 2004; 12(4): 32 – 45.
13. Garza S, Sanchis V. Principales agentes microbiológicos causantes de alteraciones en zumos, concentrados y cromogenados de frutas. *Rev. Alimentaria, Lleida.* 1998; 5(2): 31 - 35.
14. Pérez – Aparicio J, Zapata – Soberá L, Lafuente-Rosales V, Toledano – Medina M. Almacenamiento de naranjas cv. “Salustiana” y cv. “Valencia” y su influencia en la calidad del zumo. *Rev. Iber. de Tecnología Postcosecha, REDALYC. Ciudad de México, México.* 2008; 9(2): 113 – 120.
15. Dadzie B, Orchard J. Evaluación rutinaria postcosecha de híbridos de bananas y plátanos: Criterios y métodos. *British Overseas Development Administration. Honduras. Guías técnicas Inibap N° 2.* 2006; 73 p.
16. Sogi D, Siddiq M, Roidoung S, Dolan D. Total phenolics, carotenoids, ascorbic acid, and antioxidant properties of fresh – cut mango (*Mangifera indica* L.) as affected by infrared heat treatment. *Journal of Food Science.* 2012; 77(11): 1197 -1202.
17. Yekeler F, Ozyurek H, Tamer C. A functional beverage: lemonade. *International science index, Bursa/Turkey.* 2013; 79(16358): 608 – 611.
18. Ordoñez E, Reátegui D. Determinación de la actividad antioxidante, polifenoles y vitamina C en arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh), Guanabana (*Annona muricata* L.), Guayaba (*Psidium guajava* L.), Maracuya (*Pasiflora edulis*), Papaya (*Carica papaya* L.), Carambola (*Averrhoa carambola* L.), Taperiba (*Spondias bombín* L.) y Lima (*Citrus Limetta*). Artículo científico. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 2009; 27 p.
19. Muñoz A, Saucedo C, Garcia C, Robles M. Evaluación de la calidad y tiempo de almacenamiento del fruto de tres variedades de limón mexicano. *Revista iberoamericana de tecnología poscosecha, estado de México.* 2011; 12(2):156-163.
20. Braverman J. Introducción a la bioquímica de alimentos. Trad. Por Bernabé Sanz Pérez y Justino Burgos Gonzales. 3 ed. Barcelona, España. Omega S.A. 1980; 355 p.
21. Tarrega J. Efecto de la presión de homogeneización sobre la actividad antioxidante del zumo de mandarina (Var.ortanique). Tesis Msc. Ciencia e Ingeniería de Alimentos. Valencia, España. Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo. 2011; 20 p.
22. Cano A, Arnao M. Actividad antioxidante hidrofílica y lipofílica y contenido en vitamina C de zumos de naranja comerciales. *Cienc.Tecnol. Aliment. Murcia, España.* 2004; 4(3): 185 – 189.
23. Puttongsiri T, Haruenkit R. Changes in ascorbic acid, total polyphenol, phenolic acids and antioxidant activity in juice extracted from coated kiew wan tangerine during storage at 4, 12 and 20°C. *J. Nat. Sci.* 2010; 44 (2):280 – 289.
24. Mariñas M. Tratamiento ultrasonido de pulpa de camu camu (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh H.B.K) y estudio de sus componentes bioactivos. Tesis Ing. Industrias Alimentarias. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 2010; 76 p.
25. Sun Y, Qiao L, Shen Y, Jiang P, Chen J, Ye X. Phytochemical prolife and antioxidant activity of physiological drop of citrus fruits. *Journal of Food Science.Institute of Food Technologists.* 2013; 78(1):37-42.
26. Kumar R, Vijay S, Khan N. Comparative nutritional analysis and antioxidant activity of fruit juices of some *Citrus spp.* *Octa. J. Biosci.* Department of Botany, college Kairana. 2013; 1(1): 44 – 53.