

CALIDAD FÍSICOQUÍMICA, SENSORIAL Y NUTRICIONAL DE NARANJAS CV. VALENCIA RECUBIERTAS CON QUITOSANO

PHYSICO-CHEMICAL, SENSORY AND NUTRITIONAL QUALITY OF ORANGES CV. VALENCIA COATED WITH CHITOSAN

Adriana Contreras-Oliva^{1,2*}, M. Bernardita Pérez-Gago^{1,3}, Alejandra Salvador¹, Almudena Bermejo⁴, Cristina Rojas-Argudo¹

¹Centro de Tecnología Poscosecha, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. 46113 Moncada (Valencia), España (adricon@colpos.mx). ²Campus Córdoba. Colegio de Postgraduados. 94946. Carretera Federal Córdoba-Veracruz Km 348. Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. ³Agroalimed, 46113 Moncada, España. ⁴Centro de Citricultura y Producción Vegetal, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. 46113 Moncada (Valencia), España.

RESUMEN

La aplicación en cítricos de ceras y recubrimientos naturales, como el quitosano, permite prolongar su vida útil postcosecha. Aunque los recubrimientos inducen cambios en la atmósfera interna, no hay información de su efecto en los compuestos nutricionales de cítricos. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del quitosano en la fisiología y calidad de naranjas (*Citrus sinensis*) 'Valencia'. El quitosano se aplicó con tres proporciones de contenido de sólidos (CS) (0.6, 1.2 ó 1.8 %). Los resultados se compararon con un grupo recubierto con cera comercial (CC) de polietileno/goma laca al 10 % de CS y un testigo, sin recubrir. Después de 5, 9 y 16 semanas a 5 °C, seguidas de 1 semana a 20 °C se evaluó la calidad fisicoquímica, sensorial y nutricional de las naranjas. Tras cinco semanas de frigoconservación, la CC y el quitosano al 0.6 % redujeron 10 % la pérdida de peso respecto al testigo. Al prolongar el almacenamiento, el quitosano al 0.6 % fue menos eficaz que la CC en la reducción de la pérdida de peso pero mantuvo los niveles de CO₂ y O₂ internos cercanos a los de las naranjas sin recubrir, a diferencia de la CC que restringió significativamente el intercambio gaseoso, aumentó el CO₂ y disminuyó el O₂ interno, respecto de los frutos no recubiertos. El quitosano al 1.2 y 1.8 % modificó la atmósfera interna con niveles de CO₂ y O₂ similares a los de las naranjas recubiertas con CC. No obstante, los recubrimientos más restrictivos al intercambio gaseoso no produjeron deterioro del sabor de los frutos. La aplicación de los recubrimientos no afectó la calidad nutricional de los frutos y los flavonoides aumentaron durante el almacenamiento.

ABSTRACT

Applying waxes and natural coatings, such as chitosan, to citrus fruits lengthens their post-harvest shelf life. Although coating induces changes in the internal atmosphere, there is no information regarding the effects on their nutritional compounds. The objective of this study was to evaluate the effect of chitosan on the physiology and quality of 'Valencia' oranges (*Citrus sinensis*). Chitosan was applied in three proportions of solid content (CS) (0.6, 1.2 or 1.8 %). The results with chitosan were compared with those obtained with a commercial wax (CC) made of 10 % CS polyethylene/shellac and a control without coating. After 5, 9 and 16 weeks of refrigeration at 5 °C followed by one week at 20 °C, physico-chemical, sensory and nutritional quality of the oranges was assessed. After five weeks under refrigeration, CC and 0.6 % chitosan reduced weight loss by 10 % with respect to the control. When storage was prolonged, 0.6 % chitosan was less effective than CC in reducing weight loss, but maintained internal CO₂ and O₂ levels close to those of uncoated oranges, unlike CC, which restricted gaseous exchange, increased internal CO₂ and decreased internal O₂ significantly with respect to uncoated fruits. Chitosan at 1.2 and 1.8 % CS modified the internal atmosphere with levels of CO₂ and O₂ similar to those of oranges coated with CC. Nevertheless, the coating that most restricted gaseous exchange did not deteriorate the flavor of the fruits. Application of the coatings did not affect nutritional quality of the fruits, and flavonoids increased during storage.

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: julio, 2011. Aprobado: mayo, 2012.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 46: 441-453. 2012.

Key words: postharvest, *Citrus sinensis*, storage, internal atmosphere, bioactive compounds.

Palabras clave: postcosecha, *Citrus sinensis*, almacenamiento, atmósfera interna, compuestos bioactivos.

INTRODUCCIÓN

El quitosano (polímero de β -1, 4-glucosamina) es un componente de la pared celular de los crustáceos, forma películas semipermeables a gases y ha recibido atención en los últimos años por su potencial como recubrimiento comestible. Su aplicación como recubrimiento disminuye la pérdida de peso y mejora la calidad de frutos y hortalizas. Específicamente, su aplicación en cítricos ha mostrado resultados positivos sobre pérdida de peso y firmeza (Chien *et al.*, 2007). Asimismo, hay un efecto antifúngico del quitosano y derivados en fresa, mango y melocotón (Li y Yu, 2001; Srinivasa *et al.*, 2002; Vargas *et al.*, 2006).

Hay interés creciente en el estudio del efecto de los tratamientos postcosecha sobre los componentes funcionales de frutas y hortalizas (Cano *et al.*, 2003). A los cítricos se atribuye propiedades beneficiosas, asociadas sobre todo a su contenido alto de vitamina C (40 a 60 mg 100 mL⁻¹) y otros compuestos funcionales, como flavonoides (Sánchez-Moreno *et al.*, 2003). El efecto de los recubrimientos de quitosano en la calidad físico-química de frutas y hortalizas depende del peso molecular y del grado de desacetilación (Bautista-Baños *et al.*, 2006). Además, la barrera a la humedad y a los gases que ejercen los recubrimientos comestibles depende del contenido de sólidos (CS) y de la viscosidad de las formulaciones (Cisneros-Zevallos y Krochta, 2003).

España ocupa la quinta posición en la producción mundial de cítricos y es el primer exportador para el consumo fresco. La naranja Valencia es una de las principales variedades cultivadas, con una superficie de 31 318 ha en 2009 y aproximadamente 20 % del cultivo de naranja (MARM, 2010). Además, con este cultivar finaliza la estación citrícola española, por lo que existe interés en prolongar su conservación con recubrimientos apropiados que controlen la pérdida de peso, mejoren la apariencia de la fruta y no afecten negativamente su calidad interna.

Dado que varios factores pueden modificar la calidad de un fruto recubierto, es necesario establecer el efecto global del quitosano en la calidad de los cítricos, especialmente en variables de calidad no estudiadas tradicionalmente, como las propiedades sensoriales y

INTRODUCTION

Chitosan (polymer of β -1, 4-glucosamine) is a component of the cell wall of crustaceans; it forms films that are semipermeable to gases and has received attention in recent years for its potential as a food coating. Its application as a coating reduce weight loss and improve the quality of fruits and vegetables. Specifically, its application on citrus fruits has shown positive effects on weight loss and firmness (Chien *et al.*, 2007). Moreover, chitosan and derivatives have an antifungal effect on strawberries, mango, and peaches (Li and Yu, 2001; Srinivasa *et al.*, 2002; Vargas *et al.*, 2006).

Today, there is growing interest in studying the effect of postharvest treatments on functional components of fruits and vegetables (Cano *et al.*, 2003). Citrus fruits are attributed with beneficial properties associated especially with their high vitamin C content (40 a 60 mg 100 mL⁻¹) and other functional compounds such as flavonoids (Sánchez-Moreno *et al.*, 2003). The effect of chitosan coatings on the physico-chemical quality of different fruits and vegetables depends on molecular weight and the degree of de-acetylation (Bautista-Baños *et al.*, 2006). Moreover, the barrier against moisture and gases that edible coatings form depends on solid content (CS) and formulation viscosity (Cisneros-Zevallos and Krochta, 2003).

Spain is fifth in world production of citrus fruits and first in export of fresh citrus fruits. Valencia orange is one of the main varieties cultivated; with an area of 31 318 ha in 2009, it accounts for approximately 20 % of the orange production (MARM, 2010). This cultivar is the last of the Spanish citrus season, and thus there is interest in prolonging its shelf life using appropriate coatings that control weight loss and improve appearance of the fruit but do not negatively affect its internal quality.

Given that several factors can modify the quality of a coated fruit, it is necessary to establish the overall effect of chitosan on citrus quality, especially those quality variables that are not conventionally studied, such as sensorial and nutritional properties. In this sense, the objective of this study was to determine the effect of a commercial chitosan on physiology and nutritional and sensorial quality of Valencia oranges (*Citrus sinensis*).

las nutricionales. En este sentido, el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de un quitosano comercial en la fisiología, calidad nutricional y sensorial de naranjas (*Citrus sinensis*) Valencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Las naranjas Valencia, procedentes de la zona de Valencia (España), se cosecharon manualmente con madurez comercial (IM=9.6) y transportadas directamente a la planta piloto del Centro de Tecnología Postcosecha del IVIA. Los frutos se lavaron con cortina de espuma (ESSASOL al 10 %, Citrosol, S.A., España) y secaron en línea con aire a temperatura ambiente. Después los frutos se distribuyeron aleatoriamente en cinco grupos de 80 frutos sanos para cada tratamiento.

Preparación y aplicación del recubrimiento

Los recubrimientos se prepararon con quitosano comercial (peso molecular intermedio de 4.15×10^5 g mol⁻¹) al 1.8 % de CS en ácido acético (Biorend®, Idebio, S.L., Salamanca). Para facilitar la adhesión del recubrimiento se añadió 0.1 % de Tween 80 (Panreac Química SA, Barcelona, España). Se prepararon tres formulaciones de quitosano (Q): 0.6, 1.2 y 1.88 % de CS (tratamientos 0.6 % Q, 1.2 % Q y 1.8 % Q). La aplicación de cada formulación de quitosano fue por inmersión durante 15 s. En otro lote de frutas se aplicó una cera comercial (CC) de polietileno al 10 % de CS (Waterwax-C® DV; Fomesa FruitTech S. L., Valencia, España). Un grupo de frutos sin recubrir constituyó el tratamiento testigo. Los frutos de los tratamientos fueron almacenados a 5 °C durante 5, 9 o 16 semanas más 1 semana a 20 °C. Al término de cada periodo de almacenamiento se realizaron los ensayos físico-químicos, sensoriales y nutricionales.

Calidad físicoquímica

La pérdida de peso se cuantificó en 30 frutos por tratamiento. El resultado se expresó como porcentaje de pérdida de peso respecto al peso inicial según la siguiente ecuación:

$$\text{Pérdida de peso} = (P_i - P_f) / P_i * 100$$

donde P_i es el peso inicial y P_f es el peso final del fruto.

El contenido de CO₂ y O₂ interno se determinó por cromatografía de gases, en 10 frutos por tratamiento. Se extrajo 1 mL del gas de la cavidad interna de las naranjas y se inyectó en un cromatógrafo de gases (Thermo mod. Trace, Thermo Fisher Inc.,

MATERIALS AND METHODS

Plant material

Valencia oranges from the area of Valencia, Spain, were harvested manually when commercially ripe (IM=9.6) and transported directly to the pilot plant of the Postharvest Technological Center of the IVIA. The fruits were washed with a foam (10 % ESSASOL, Citrosol, S.A., Spain) and air dried at room temperature. The fruits were then distributed randomly in five groups of 80 healthy fruits for each treatment.

Preparation and application of coating

The coatings were prepared from commercial chitosan (intermediate molecular weight 4.15×10^5 g mol⁻¹) at 1.8 % CS in acetic acid (Biorend®, Idebio, S.L., Salamanca). To facilitate adhesion of the coating, 0.1% Tween 80 (PanreacQuímica SA, Barcelona, Spain) was added. Three formulas of chitosan were prepared: 0.6, 1.2 and 1.88 % CS (treatments 0.6 % Q, 1.2 % Q and 1.8 % Q). Application of each chitosan solution was done by immersion for 15 s. In another lot of fruits, a 10% polyethylene commercial wax (CC) was applied (Waterwax-C® DV; Fomesa Fruit Tech S. L., Valencia, Spain). One group of uncoated fruits was the control treatment. The fruits of the treatments were stored at 5 °C for 5, 9, or 16 weeks, plus one week at 20 °C. At the end of each storage period physico-chemical, sensorial and nutritional tests were conducted.

Physico-chemical quality

Weight loss was quantified in 30 fruits per treatment. The result was expressed as percentage of weight loss relative to initial weight, using the following equation

$$\text{Weight loss} = (P_i - P_f) / P_i * 100$$

Where P_i is initial weight and P_f is final weight.

Internal CO₂ and O₂ contents were determined with gas chromatography in 10 fruits per treatment. From the internal cavity of the oranges 1 mL of gas was extracted and injected into a gas chromatograph (Thermo mod. Trace, Thermo Fisher Inc., Waltham, MA, U.S.A.) equipped with a thermoconductivity detector (TCD), QS 80/100 Poropak columns 1.2 m × 0.32 cm) and a molecular mesh 5 Å 45/60 (1.2 m × 0.32 cm). Chromatograph temperatures were 125, 35 and 180 °C for injector, oven, and detector, and carrier gas flow (He) was 22 mL min⁻¹. The result was expressed in percentage of internal CO₂ and O₂, calculated

Waltham, MA, EE.UU.) equipado con un detector de termo-conductividad (TCD) y columnas Poropak QS 80/100 (1.2 m × 0.32 cm) y tamiz molecular, 5 Å 45/60 (1.2 m × 0.32 cm). Las temperaturas del cromatógrafo fueron 125, 35 y 180 °C para inyector, horno y detector, y el caudal del gas portador (He) fue 22 mL min⁻¹. El resultado se expresó en porcentaje de CO₂ y O₂ interno, calculados mediante comparación de los tiempos de retención y áreas de una mezcla estándar de concentraciones conocidas.

De tres lotes de 10 frutos por tratamiento se obtuvo jugo del cual se colocaron muestras de 5 mL en viales de 10 mL sellados con tapón de TFE/silicona, y se almacenaron a -18 °C hasta su análisis. Las muestras se descongelaron a 20 °C y los viales se incubaron 12 min a 30 °C, se inyectó 1 mL de gas del espacio de cabeza del vial en un cromatógrafo de gases (Mod. Trace; Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, EE.UU.) equipado con muestreador automático (Modelo HS 2000), detector de ionización de llama (FID) y columna Poropak QS 80/100 (1.2 m × 0.32 cm). Las temperaturas de trabajo del cromatógrafo fueron 175, 150 y 200 °C para inyector, horno y detector, y el caudal de gas portador (He) fue 28 mL min⁻¹. Los análisis se realizaron por triplicado, el etanol de las muestras se identificó y cuantificó con patrones externos de etanol. Los resultados se expresaron en mg de etanol por 100 mL de jugo.

El contenido de sólidos solubles totales (SST) se midió con un refractómetro digital (Atago, Modelo PR1) y se expresaron en °Brix. Para determinar acidez total (AT), 5 mL de cada jugo se valoraron con NaOH 0.1 N hasta pH 8.1. La AT se expresó en g de ácido cítrico en 100 mL de jugo. El índice de madurez (IM) se calculó como el cociente SST/AT.

Calidad sensorial

La evaluación organoléptica de los frutos la realizó un panel entrenado de 10 a 12 jueces en una sala de análisis sensorial que cumple la norma UNE 87004 (AENOR, 1997). Para la preparación de las muestras se tomaron de cada tratamiento 10 frutos al azar, se pelaron y separaron en gajos. Se escogieron dos gajos por tratamiento y se presentaron a los jueces en recipientes desechables identificados con códigos de tres dígitos al azar. Los jueces se enjuagaron la boca con agua mineral antes y después de evaluar cada muestra. Para evaluar la calidad olfato-gustativa se utilizó una escala del 1 a 9, donde se agruparon los valores en tres niveles de calidad: 1-3 = no aceptable, 4-6 = aceptable y 7-9 = excelente. La evaluación de los sabores indeseables se realizó con una escala de 0 a 5, en la que 0 fue ausencia de malos sabores indeseables y 5 presencia acusada.

by comparing retention times and areas of a standard mixture of known concentrations.

Juice was obtained from three lots of 10 fruits per treatment; 5 mL samples of the juice were placed in 10 mL vials sealed with a TFE/silicone plug and stored at -18 °C until analysis. The samples were thawed at 20 °C and the vials were incubated 12 min at 30 °C; 1 mL of gas from the head space of the vial was injected into a gas chromatograph (Mod. Trace; Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA) equipped with an automatic sampler (Model HS 2000), flame ionization detector FID, and Poropak QS 80/100 column (1.2 m × 0.32 cm). Working chromatograph temperatures were 175, 150, and 200 °C for injector, oven, and detector, and the carrier gas flow (He) was 28 mL min⁻¹. Analyses were done in triplicate; ethanol from the samples was identified and quantified with external ethanol standards. The results expressed in mg ethanol per 100 mL juice.

Content of total soluble solids (SST) was measured with a digital refractometer (Atago, Model PR1) and expressed in °Brix. To determine total acidity (AT), 5 mL of each juice sample was titrated with NaOH 0.1 up to pH 8.1. AT was expressed in g of citric acid in 100 mL of juice. The ripeness index (IM) was calculated as the coefficient SST/AT.

Sensorial quality

Organoleptic evaluation of the fruits was performed by a trained panel of 10 to 12 judges in a sensorial analysis room that complies with the norm UNE 87004 (AENOR, 1997). Samples of 10 fruits from each treatment were taken at random; the fruits were peeled and separated into segments. Two segments per treatment were selected and presented to the judges in disposable containers identified at random with three-digit codes. The judges rinsed their mouths with mineral water before and after evaluating each sample. To grade overall flavor quality, a scale of 1 to 9 was used with which the values were grouped into three quality levels: 1-3 = unacceptable, 4-6 = acceptable, and 7-9 = excellent. The evaluation of off-flavors was done on a 0 to 5 scale in which 0 was absence of bad off-flavor and 5 was marked presence.

Nutritional quality

Total antioxidant capacity (EC₅₀) was determined by the method of free radical scavenging of 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), described by Brand-Williams *et al* (1995); with this method, reduction in absorbance at 515 nm of DPPH[•] solutions is measured when it reacts with antioxidants. A mixture of 2 mL of juice and 4 mL of high precision liquid chromatograph grade methanol (Merck, Germany) was centrifuged for 15 min at 17390 g and 5 °C. The supernatant

Calidad nutricional

La capacidad antioxidante total (EC_{50}) se evaluó mediante el método de captura de radicales libres del 2, 2-difenil-1-picril-hidracilo (DPPH^{*}), descrito por Brand-Williams *et al.* (1995), que mide la reducción de la absorbancia a 515 nm de soluciones de DPPH^{*} al reaccionar con antioxidantes. Se mezclaron 2 mL de jugo y 4 mL de metanol grado cromatografía líquida de alta resolución (Merck, Alemania) y se centrifugó 15 min a 17390 g y a 5 °C. Del sobrenadante se realizaron diluciones con metanol para relacionar la disminución en la absorbancia del DPPH^{*} con la concentración de la muestra; para esto, se mezcló 0.075 mL de cada dilución metanólica de las muestras con 2.925 mL de una solución metanólica de DPPH^{*} (24 mg L⁻¹) (Sigma-Aldrich, Alemania), se dejó reaccionar 40 min en oscuridad y se midió la absorbancia a 515 nm en un espectrofotómetro (Thermo Electron Corporation, UK). La capacidad antioxidante se expresó como EC_{50} , que es la cantidad de muestra necesaria para reducir al 50 % los radicales libres de 1 kg de DPPH^{*} (L jugo kg⁻¹ DPPH^{*}) (Sánchez-Moreno *et al.*, 2003).

Los análisis y cuantificación del ácido ascórbico total (AAT) y glucósidos de flavanonas mayoritarios (narirutina, hesperidina y didimina) se realizaron mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC; Modelo Alliance 2996; Waters, EE.UU.). El equipo tiene un módulo de separación (Modelo 2695), un detector de fotodiodos (Modelo 2996), un horno de columnas termostatzado y un inyector automático. Se utilizó una columna C₁₈ de fase reversa Tracer Excel 5 μ m 120 ODSB (250 mm \times 4.6 mm) (Teknokroma, Barcelona, España), precedida de una precolumna (4 \times 4 mm) con diámetro de partícula 5 μ m (Merck, Alemania), alojadas en el horno de columnas a 25 °C. Para el tratamiento de datos se usó el software Empower 2 (Waters, España). Todos los disolventes utilizados fueron de calidad HPLC, y se utilizó agua ultrapura (Milli-Q).

El AAT se determinó como la suma del ácido ascórbico más el ácido dehidroascórbico, en 1 mL de jugo filtrado reducido químicamente con 200 μ L de 1, 4-ditio-DL-threitol (20 mg mL⁻¹) (Fluka, Barcelona), por 2 h a temperatura ambiente y en oscuridad. Las muestras se filtraron a través de una membrana de nylon de 0.45 μ m y se analizaron por HPLC. La elución se llevó a cabo mediante una fase isocrática binaria de metanol y 0.6 % ácido acético (5:95 v/v). Se utilizó un flujo de 1 mL min⁻¹ y el tiempo total del experimento fue de 10 min. La cuantificación del AAT se realizó mediante calibración externa con patrón de ácido ascórbico (Sigma Aldrich, Barcelona) a una longitud de onda de 245 nm.

Para analizar los glucósidos de flavanonas, 1 mL de jugo se homogeneizó con 5 mL de dimetil sulfoxido:metanol (1:1) (Scharlau, Sentmenat, España) y se centrifugó 15 min a 17390 g

was diluted with methanol to relate the decrease in DPPH absorbance to sample concentration. To this end, 0.075 mL of each methanol dilution of the samples was mixed with 2.925 mL of a methanol solution of DPPH^{*} (24 mg L⁻¹) (Sigma-Aldrich, Germany). This was left to react for 40 min in the dark and absorbance at 515 nm was measured in a spectrophotometer (Thermo Electron Corporation, UK). Antioxidant capacity was expressed as EC_{50} , which is the amount necessary to reduce free radicals of 1 kg of DPPH^{*} by 50 % (L juice kg⁻¹ DPPH^{*}) (Sánchez-Moreno *et al.*, 2003).

Analysis and quantification of total ascorbic acid (AAT) and the major flavanone glycosides (narirutin, hesperidin and didymin) were done in a high precision liquid chromatograph (HPLC; Modelo Alliance 2996; Waters, USA). The equipment has a separating module (Model 2695), a photodiode detector (Model 2996) and thermostatzed column oven, and an automatic injector. A Tracer Excel 5 μ m 120 ODSB (250 mm \times 4.6 mm) (Teknokroma, Barcelona, Spain) C₁₈ reverse phase column was used, preceded by a pre-column (4 \times 4 mm) with a particle diameter of 5 μ m (Merck, Germany), housed in the column oven at 25 °C. The software Empower 2 (Waters, Spain) was used to process data. All of the solvents used were HPLC quality, and ultrapure water (Milli-Q) was used.

Total ascorbic acid was determined as the sum of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in 1 mL of juice filtered and chemically reduced with 200 μ L of 1, 4-dithio-DL-threitol (20 mg mL⁻¹) (Fluka, Barcelona) for 2 h at room temperature in the dark. The samples were filtered through a 0.45 μ m nylon membrane and analyzed in HPLC. Elution was carried out with an isocratic binary phase of methanol and 0.6 % acetic acid (5:95 v/v). A flow of 1 mL min⁻¹ was used and total experimental time was 10 min. Quantification of AAT was done using external calibration with an ascorbic acid standard (Sigma Aldrich, Barcelona) at a wavelength of 245 nm.

To analyze flavanone glycosides, 1 mL of juice was homogenized with 5 mL of dimethyl sulfoxide:metanol (1:1) (Scharlau, Sentmenat, Spain) and centrifuged for 15 min at 17390 g and 4 °C. The samples were filtered through a 0.45 mm nylon membrane and analyzed by HPLC with an injection volume of 10 μ L. Elution of the flavonoids was done with a phase in gradient comprising acetonitrile (Phase A) and 0.6 % acetic acid (Phase B). The conditions were the following: initiating with 10 % A for 2 min; 75 % A in the following 28 min, and return to initial conditions maintaining 10 % a for 5 min, with 35 min total time at a flow rate of 1 mL min⁻¹. The flavanone glycosides were identified and quantified using commercial standards of narirutin (Extrasynthese, Genay, France), hesperidin (Sigma Co., Barcelona, Spain), and didymin (ChromaDex Irvine, CA, USA). Quantification was done at 280 nm.

y a 4 °C. Las muestras se filtraron a través de una membrana de nylon de 0.45 μm y se analizaron por HPLC con un volumen de inyección de 10 μL . La elución de los flavonoides se realizó mediante una fase en gradiente compuesta por acetonitrilo (Fase A) y 0.6 % ácido acético (Fase B). Las condiciones fueron: inicio con 10 % A por 2 min; 75 % A en los siguientes 28 min; y vuelta a las condiciones iniciales manteniendo 10 % A por 5 min, con un tiempo total de 35 min a un flujo de 1 mL min^{-1} . Los glucósidos de flavanonas se identificaron y cuantificaron a partir de estándares comerciales de narirutina (Extrasynthese, Genay, France), hesperidina (Sigma Co., Barcelona, España) y didimina (ChromaDex Irvine, CA, EE.UU.). La cuantificación se realizó a 280 nm.

El análisis de los compuestos fenólicos totales se realizó por el método colorimétrico que utiliza Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965). Para ello se homogenizaron 0.3 mL de jugo de naranja con 1.7 mL de metanol acuoso al 80 %, y después 0.4 mL de la dilución metanólica se mezclaron con 2 mL de Folin-Ciocalteu (diluido con agua 1:10 v/v), se dejó reposar 1 min, y se añadió 1.6 mL de Na_2CO_3 al 7.5 %. La mezcla reposó 1 h a temperatura ambiente (23 ± 1 °C) y se midió la absorbancia en un espectrofotómetro (Thermo UV1, Thermo Electron Corporation, UK) a 765 nm. Los resultados se expresaron con base a una curva patrón de ácido gálico (mg 100 mL⁻¹ jugo) (Sigma-Aldrich Chemie, Alemania).

Las determinaciones de compuestos bioactivos se realizaron por triplicado en el jugo de 10 frutos por tratamiento y mantenidos a -80 °C hasta su análisis.

Análisis estadístico

Para determinar el efecto del tratamiento y del tiempo de almacenamiento sobre los atributos de calidad se realizó el análisis de varianza (ANDEVA) con dos factores: 1) tratamientos: testigo, CC, 0.6 % Q, 1.2 % Q y 1.8 % Q; 2) tiempo de almacenamiento: 5, 9 y 16 semanas a 5 °C; y se usó Statgraphics plus 4.1. Debido a la presencia de interacciones significativas entre tratamientos, se realizó un ANDEVA unifactorial para cada factor. Para determinar diferencias significativas entre las medias se usó DMS ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Calidad fisicoquímica

El tiempo mayor de almacenamiento favoreció la pérdida de peso de las naranjas. Después de 5 semanas de almacenamiento frío más 1 semana a 20 °C la CC controló mejor la pérdida de peso. El 0.6 %

Total phenolic compounds were analyzed with the colorimetric method that uses Folin-Ciocalteu (Singleton and Rossi, 1965): 0.3 mL orange juice was homogenized with 1.7 mL 80 % aqueous methanol and then 0.4 mL of the methanolic dilution were mixed with Folin-Ciocalteu (diluted with water 1:10 v/v). This was left to set for 1 min and 1.6 mL 7.5 % Na_2CO_3 was then added. The mixture was left undisturbed for 1 h at room temperature (23 ± 1 °C) and absorbance was measured in a spectrophotometer (Thermo UV1, Thermo Electron Corporation, UK) at 765 nm. The results expressed were based on a standard curve of gallic acid (mg 100 mL⁻¹ juice) (Sigma-Aldrich Chemie, Germany).

Determinations of bioactive compounds were done in triplicate in juice of 10 fruits per treatment and kept at -80 °C until analysis.

Statistical analysis

To determine the effect of treatments and of storage times on quality attributes, an analysis of variance (ANOVA) was performed with two factors: 1) treatments: control, CC, 0.6 % Q, 1.2 % Q, and 1.8 % Q; 2) storage time: 5, 9, and 16 weeks at 5 °C. Statgraphic plus 4.1 software was used. Due to the presence of significant interactions among treatments, a unifactorial ANOVA was performed for each factor. To determine significant differences between means, DMS ($p \leq 0.05$) was used.

RESULTS AND DISCUSSION

Physico-chemical quality

The longest storage time caused weight loss of oranges. After 5 weeks of cold storage plus 1 week at 20 °C, the CC was better in controlling weight loss. Chitosan was effective at 0.6 %. In longer storage periods, CC reduced weight loss relative to the control (Table 1). In general, the edible coatings made from polysaccharides are not very effective barriers against moisture due to their hydrophilic nature. For this reason, the coatings used with fruits generally incorporate lipids, resulting in polysaccharide-lipid compounds that are capable of controlling fruit weight loss. However, without lipids, chitosan can reduce weight loss in citrus fruits (Chien *et al.*, 2007). This may be related to the nature of Q applied. According to Rege and Block (1999), the properties of Q depend on molecular weight and the degree of deacetylation and of crystallinity. Blair *et al.* (1987) point out that Q film permeability to

Cuadro 1. Pérdida de peso, contenido de dióxido de carbono y oxígeno interno (CO₂, O₂) y contenido de etanol interno de naranjas Valencia sin recubrir y recubiertas con quitosano (Q) a distinto contenido en sólidos y cera comercial (CC).**Table 1. Weight loss, internal oxygen and carbon dioxide (CO₂, O₂) content, internal ethanol content of Valencia oranges, uncoated and coated with chitosan (Q) with different contents of solids, and commercial wax (CC).**

Periodo de almacenamiento	Tratamiento	Pérdida de peso (%)	CO ₂ (%)	O ₂ (%)	Etanol (mg 100 mL ⁻¹ jugo)
Inicial		-	1.72	19.94	40.42
5 semanas 5 °C	Testigo	3.61 a	1.39 b	20.06 a	64.00 a
+	CC	2.90 d	4.16 a	16.69 c	102.51 a
1 semana 20 °C	0.6 % Q	3.01 cd	2.30 b	19.31 a	89.38 a
	1.2 % Q	3.21 bc	4.37 a	17.46 bc	97.98 a
	1.8 % Q	3.32 b	3.50 a	17.91 b	156.85 a
9 semanas 5 °C	Testigo	4.00 a	2.02 c	19.20 a	81.93 c
+	CC	3.55 b	4.21 a	16.79 b	111.37 ab
1 semana 20 °C	0.6 % Q	4.16 a	2.09 c	19.33 a	101.03 bc
	1.2 % Q	4.42 a	3.16 b	18.52 a	89.51 bc
	1.8 % Q	4.35 a	5.09 a	16.34 b	130.24 a
16 semanas 5 °C	Testigo	6.21 a	2.40 c	19.04 a	151.31 b
+	CC	5.17 a	4.64 a	17.35 b	198.76 a
1 semana 20 °C	0.6 % Q	6.27 a	2.79 bc	18.89 a	144.81 b
	1.2 % Q	6.15 a	4.67 a	17.16 b	137.17 b
	1.8 % Q	6.67 a	3.79 ab	17.79 b	215.18 a

En cada periodo de almacenamiento, valores con diferente letra son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$) ♦ In each storage period, values with different letters are significantly different ($p \leq 0.05$).

Q fue efectivo. En periodos mayores de almacenamiento la CC redujo la pérdida de peso respecto del testigo (Cuadro1). En general, los recubrimientos comestibles a base de polisacáridos son una barrera poco efectiva para la humedad, debido a su naturaleza hidrofílica. Por este motivo, generalmente los recubrimientos destinados a frutas incorporan lípidos, lo que da lugar a recubrimientos compuestos de polisacárido y lípido, capaces de controlar la pérdida de peso de la fruta. Sin embargo, recubrimientos con Q sin incorporar lípidos reducen la pérdida de peso de frutos cítricos (Chien *et al.*, 2007), lo cual puede estar relacionado con la naturaleza de Q aplicado. Según Rege y Block (1999), las propiedades de Q dependen del peso molecular, del grado de desacetilación y de la cristalinidad. Blair *et al.* (1987) señalan que la permeabilidad al vapor de agua de películas de Q se reduce significativamente cuando disminuye el grado de desacetilación, y Santos *et al.* (2006) confirmaron este resultado e indicaron que fue independiente del peso molecular.

La aplicación de los recubrimientos modificó la atmósfera en el fruto, aumentó los niveles de CO₂ y disminuyó los de O₂ respecto al testigo sin recubrir (Cuadro 1). Al aumentar el CS de Q, el nivel de

water vapor decreases significantly when the degree of deacetylation is reduced. Santos *et al.* (2006) confirmed this result and pointed out that it was independent of molecular weight.

Application of coatings modified the atmosphere within the fruit, increased the levels of CO₂ and decreased those of O₂ relative to the uncoated control (Table 1). When chitosan CS increased, the level of CO₂ increased and that of O₂ decreased (Table 1). The increase in CS of the coating may have increased coating thickness (Cisneros-Zevalos and Krochta, 2003) and, therefore, the distance these gases must travel to diffuse, increasing the barrier against the two gases formed by the coatings. Fruits treated with 0.6 % chitosan had low CO₂ values (<2.79 %), which were not significantly different from the control (Table 1) in some of the storage periods. Salvador *et al.* (2003) found no significant difference in internal CO₂ content between Fortune tangerines coated with CC and those treated with chitosan (CS=1.2 %). In our study, when CS increased to 1.8 %, the O₂ and CO₂ values were similar to those of oranges coated with CC.

Edible coatings increase volatile compound content in fruits because they form a barrier to gases.

CO₂ se incrementó y el O₂ disminuyó (Cuadro 1). El aumento en el CS de la formulación pudo aumentar el grosor del recubrimiento (Cisneros-Zevallos y Krochta, 2003) y, por tanto, la distancia que los gases CO₂ y O₂ deben recorrer para su difusión lo que aumentó la barrera de los recubrimientos a ambos gases. La fruta tratada con 0.6 % Q mostró valores de CO₂ bajos (<2.79 %), que en algunos periodos de almacenamiento no fueron significativamente diferentes del testigo (Cuadro 1). Salvador *et al.* (2003) no encontraron diferencias significativas en el contenido de CO₂ interno entre mandarinas Fortune recubiertas con CC y las tratadas con quitosano (CS=1.2 %). En el presente estudio, al aumentar el CS a 1.8 % los valores de O₂ y CO₂ fueron similares a los de las naranjas recubiertas con CC.

Los recubrimientos comestibles aumentan el contenido de compuestos volátiles en frutos debido a la barrera que ofrecen a los gases. En el presente estudio incrementó el contenido de etanol al aumentar el tiempo de almacenamiento (Cuadro 1). Además, incrementó el contenido de etanol al aumentar el CS de los recubrimientos de Q; el recubrimiento 1.8 % Q y la CC causó los niveles más altos de etanol al final del periodo de conservación. Estos resultados se relacionan con la mayor modificación de la atmósfera en los frutos con esos recubrimientos (Cuadro 1).

Los niveles de etanol aumentan en los cítricos recubiertos después de un almacenamiento frío prolongado, de acuerdo con el cultivar, tipo de recubrimiento y condiciones de almacenamiento (Navarro-Tarazaga *et al.*, 2008; Rojas-Argudo *et al.*, 2009). Al finalizar el almacenamiento en el presente estudio, la concentración de etanol en el jugo varió de 140 a 215 mg 100 mL⁻¹, y los niveles más altos ocurrieron con CC y el recubrimiento 1.8 % Q. Sin embargo, dichos niveles se consideran bajos e indican que la restricción en el intercambio gaseoso causada por los recubrimientos no fue suficientemente alta para crear condiciones de anaerobiosis en el fruto (Baldwin *et al.*, 1995).

Durante el almacenamiento AT disminuyó y IM aumentó, pero no hubo un efecto de los recubrimientos de Q y de CC en AT, SST o IM (datos no mostrados). El efecto de los recubrimientos comestibles en la calidad interna depende del tipo de recubrimiento, del cultivar y de las condiciones de almacenamiento. Según Baldwin *et al.* (1995) y Obenland *et al.* (2008) los recubrimientos no generaron diferencias en estas

In this study ethanol content increased with storage time (Table 1). Moreover, ethanol content increased when the CS of the chitosan coatings increased. The coating of 1.8 % Q and CC caused higher ethanol levels at the end of storage. These results are related to the fact that these coatings favor greater modification of the fruit atmosphere (Table 1).

Ethanol levels increase in coated citrus fruits after prolonged cold storage, depending on the cultivar, coating type and storage conditions (Navarro-Tarazaga *et al.*, 2008; Rojas-Argudo *et al.*, 2009). At the end of storage in our study, ethanol concentration in juice varied from 140 to 215 mg 100 mL⁻¹, and the highest levels occurred with CC and 1.8 % Q. These levels, however, are considered low and indicate that the coatings did not restrict gaseous exchange enough to create conditions of anaerobiosis in the fruit (Baldwin *et al.*, 1995).

During storage, AT decreased and IM increased, but there was no effect of Q or CC coatings on AT, SST or IM (data not shown). The effect of the edible coatings on the internal quality depends on the type of coating, the cultivar and storage conditions. According to Baldwin *et al.* (1995) and Obenland *et al.* (2008), coating does not cause differences in these variables in several citrus cultivars. However, Togrul and Arslan (2004) report a decrease in SST content and loss of AT, relative to uncoated fruits. This is related to a reduction in weight loss and respiration rate. Chien *et al.* (2007) point out that low molecular weight chitosan coating improved the internal quality of Murcott tangerines, maintained high acidity and lower SST content as compared with uncoated fruits, while high molecular weight chitosan coating had no effect on these quality variables.

Sensorial quality

The treatments caused minimal changes in organoleptic characteristics (Table 2), and there were significant differences only after five weeks of storage at 5 °C with 1.8 % Q and CC, with which flavor was poorer than with the other treatments, but stayed within an acceptable interval. Flavor of the oranges diminished with prolonged storage time, but at the end of storage it was acceptable (values of 4 to 6). The coatings used, therefore, maintained good organoleptic quality of Valencia oranges over prolonged storage at 5 °C. According to Salvador *et al.*

variables en diferentes cultivares de cítricos; pero, To-grul y Arslan (2004) muestran una disminución en el contenido de SST y pérdida de AT en comparación con los frutos sin recubrir, lo cual se relacionó con una reducción de la pérdida de peso y la tasa de respiración. Chien *et al.* (2007) señalan que el recubrimiento de quitosano de bajo peso molecular mejoró la calidad interna de mandarinas Murcott, mantuvo alta la acidez y el menor contenido de SST que los frutos sin recubrir, mientras que el recubrimiento de quitosano de alto peso molecular no afectó estas variables de calidad.

Calidad sensorial

Los tratamientos causaron cambios mínimos en las características organolépticas (Cuadro 2), y solamente hubo diferencias significativas a las 5 semanas de almacenamiento a 5 °C con 1.8 % Q y con CC los cuales tuvieron un sabor peor que los demás, aunque se mantuvieron dentro de un intervalo aceptable. El sabor de las naranjas disminuyó al prolongarse el tiempo de almacenamiento, pero al finalizar el almacenamiento el sabor fue aceptable (valores de 4 a 6). Entonces, los recubrimientos empleados permitieron prolongar el almacenamiento a 5 °C de las naranjas Valencia y mantuvieron una buena calidad organoléptica. Según Salvador *et al.* (2003), no hubo diferencias en el análisis organoléptico de mandarinas Fortune tratadas con CC y las tratadas con quitosano al 1.25 % y almacenadas durante 1 y 2 semanas a 20 °C.

(2003), organoleptic analysis of Fortune tangerines treated with CC and stored for 1 and 2 weeks at 20 °C was not different from that of fruits treated with 1.25 % chitosan.

High ethanol content can cause citrus flavor to deteriorate, but the detection limit of undesirable flavors cannot be attributed exclusively to this compound because it is also influenced by the presence of other aromatic compounds and their interaction with pectins and sugars. In Valencia oranges, ethanol levels above 80 and 70 mg 100 mL⁻¹ cause off-flavors (Ke and Kader, 1990; Navarro-Tarazaga *et al.*, 2007), while 120 mg 100 mL⁻¹ generates only slightly perceptible off-flavors (Valencia-Chamorro *et al.*, 2009). In our study the detection threshold for slight perception of these flavors was at ethanol levels around 100 mg 100 mL⁻¹. This threshold remained until the end of the storage period even though the ethanol levels reached values slightly above 200 mg 100 mL⁻¹.

Nutritional quality

Antioxidant capacity, expressed as EC₅₀, is the quantity of juice necessary to reduce DPPH content by 50 %. Therefore, the lower the EC₅₀ value, the greater is the antioxidant capacity of the fruit. Coating did not affect the total antioxidant capacity of samples stored 16 weeks at 5 °C followed by 1 week at 20 °C (Table 3), but there were significant differences among treatments after 5 and 9 weeks

Cuadro 2. Sabor y malos sabores de naranjas Valencia sin recubrir y recubiertas con quitosano (Q) a distinto contenido en sólidos y cera comercial (CC).

Table 2. Flavor and off-flavors of Valencia oranges, uncoated and coated with chitosan (Q) at different contents of solids, and commercial wax (CC).

Tratamientos	Inicial		5 semanas a 5 °C + 1 semana a 20 °C		9 semanas a 5 °C + 1 semana a 20 °C		16 semanas a 5 °C + 1 semana a 20 °C	
	Malos sabores (0-5)	sabor (1-9)	Malos sabores (0-5)	sabor (1-9)	Malos sabores (0-5)	sabor (1-9)	Malos sabores (0-5)	sabor (1-9)
	Testigo	0.35	6.63	0.00 c	6.47 a	1.05 a	5.16 a	1.20 a
CC	0.35	6.63	1.03 ab	5.26 bc	1.53 a	4.79 a	1.13 a	5.33 a
0.6 % Q	0.35	6.63	0.68 b	5.79 ab	1.00 a	5.47 a	1.53 a	4.00 a
1.2 % Q	0.35	6.63	0.79 b	5.84 ab	1.26 a	5.21 a	1.23 a	5.33 a
1.8 % Q	0.35	6.63	1.53 a	4.68 c	1.11 a	5.11 a	1.53 a	5.07 a

En cada periodo de almacenamiento, valores diferente letra son significativamente diferentes (p≤0.05) ♦ In each storage period, values with different letters are significantly different (p≤0.05).

Un contenido alto de etanol puede causar deterioro del sabor de los cítricos, pero el límite de detección de sabores indeseables no puede atribuirse exclusivamente a este compuesto, porque también influye la presencia de otros compuestos aromáticos y la interacción de todos ellos con pectinas y azúcares del fruto. Así, en naranjas Valencia, niveles de etanol superiores a 80 y 70 mg 100 mL⁻¹ causan sabores indeseables (Ke y Kader, 1990; Navarro-Tarazaga *et al.*, 2007), mientras que 120 mg 100 mL⁻¹ generan sabores indeseables muy ligeramente perceptibles (Valencia-Chamorro *et al.*, (2009). En el presente estudio el umbral de detección ligeramente perceptible de esos sabores fue con niveles de etanol en torno a 100 mg 100 mL⁻¹. Ese umbral se mantuvo hasta el final del periodo de almacenamiento, a pesar de que los niveles de etanol alcanzaron valores ligeramente superiores a 200 mg 100 mL⁻¹.

Calidad nutricional

La capacidad antioxidante expresada como EC₅₀ es la cantidad de jugo necesario para reducir 50 % el contenido en DPPH; por tanto, cuanto menor es el valor de EC₅₀ mayor es la capacidad antioxidante de la fruta. El recubrimiento no afectó la capacidad antioxidante total de las muestras almacenadas 16 semanas a 5 °C seguidas de 1 semana a 20 °C (Cuadro 3), mientras que hubo algunas diferencias significativas entre tratamientos a las 5 y 9 semanas de almacenamiento a 5 °C más 1 semana a 20 °C. Sin embargo, no se observaron tendencias en el comportamiento, lo cual dificulta determinar el efecto de la composición del recubrimiento en la capacidad antioxidante de las naranjas Valencia. Así por ejemplo, las naranjas recubiertas con CC presentaron la capacidad antioxidante menor durante el primer periodo de almacenamiento, mientras que a las 9 semanas de almacenamiento la capacidad antioxidante de estas muestras fue mayor que en los demás tratamientos.

El valor inicial de AAT de las naranjas fue 41 mg 100 mL⁻¹ de jugo (Cuadro 3) y, en general, el almacenamiento no afectó el contenido en AAT. La aplicación de CC tampoco afectó el contenido en AAT, excepto después de 5 semanas a 5 °C más 1 semana a 20 °C, cuando se encontraron valores superiores de vitamina C respecto al testigo. Aunque hubo diferencias significativas entre los frutos recubiertos con quitosano en los periodos de almacenamiento, no se

of storage at 5 °C plus 1 week at 20 °C. No trends, however, were observed, making it difficult to determine the effect of the coating composition on the antioxidant capacity of Valencia oranges. Thus, for example, oranges coated with CC had a lower antioxidant capacity during the first period of storage, while after 9 weeks of storage antioxidant capacity of these samples was greater than that of the rest of the treatments.

The initial AAT value of the oranges was 41 mg 100 mL⁻¹ juice (Table 3) and, in general, storage did not affect AAT content, nor did application of CC, except after 5 weeks at 5 °C plus 1 week at 20 °C when higher values of vitamin C, relative to the control, were found. Although there were significant differences among fruits coated with chitosan and stored for different periods of time, no trends in the function of coating CS were found. According to Li and Yu (2001), the content of ascorbic acid in peach was higher in fruits treated with chitosan than in the control after a storage period of 12 d. This was related to modification of fruit internal atmosphere, but chilling injury can accelerate vitamin C loss in fruits that are sensitive to chilling (Miller and Heilman, 1952). In our study, there were no losses of vitamin C after prolonged refrigeration. Moreover, Palma *et al.* (2005) reported that AAT content in Fortune tangerines did not change after 90 d of storage at 5 °C.

The effect of coating on flavanone glycosides was variable and it was difficult to find a trend in this behavior that would enable us to draw conclusions about the effect of chitosan coatings (Table 3). In general, increases in narirutin, hesperidin, and didymin were observed when storage time increased; Palma *et al.* (2005), however, did not find significant differences in the contents of these flavanone glycosides in Fortune tangerine juice over prolonged storage at 5 °C.

Citrus fruits have, together with flavanones, other phenolic compounds such as flavones and hydroxycinnamic acids (represented by ferulic, caffeic, synaptic and *p*-coumaric acids) that, although present in lower concentrations, contribute to total phenol content (Gil-Izquierdo *et al.*, 2002). After the first storage period, total phenol content increased in oranges coated with 1.8 % Q, and this treatment had the highest total phenol content (Table 3). Chitosan acts as an exogenous trigger of different responses,

Cuadro 3. Capacidad antioxidante (EC_{50}), ácido ascórbico total (ATT), glucósidos de flavanonas y compuestos fenólicos totales de naranjas Valencia sin recubrir y recubiertas con quitosano (Q) a distinto contenido en sólidos y cera comercial (CC).

Table 3. Antioxidant capacity (EC_{50}), total ascorbic acid (ATT), flavanone glycosides, and total phenol compounds in Valencia oranges, uncoated and coated with chitosan (Q) at different contents of solids, and commercial wax (CC).

Periodo de almacenamiento	Tratamiento	EC_{50} L jugo kg^{-1} DPPH	mg 100 mL^{-1} jugo					Fenoles totales
			AAT	Nar	Hesp	Did		
	Inicial	232	41.1	5.4	23.4	1.51	77.7	
5 sem. a 5 °C	Testigo	285 ab	40.8 a	6.7 bc	28.8 a	2.04 a	88.8 cd	
	CC	301 a	35.7 c	5.7 d	25.0 c	1.71 bc	86.0 d	
	0.6 % Q	263 bc	38.2 b	5.9 cd	27.1 ab	1.61 c	92.5 ab	
1 sem. a 20 °C	1.2 % Q	259 bc	40.3 a	7.0 ab	26.9 bc	1.63 c	90.3 bc	
	1.8 % Q	239 c	35.5 c	7.7 a	28.4 ab	1.87 ab	95.1 a	
	Testigo	213 a	40.9 a	6.5 a	31.7 a	1.94 a	93.9 ab	
9 sem. a 5 °C	CC	191 b	40.8 a	7.6 a	33.7 a	2.25 a	96.6 a	
	0.6 % Q	218 a	37.7 b	7.1 a	32.2 a	1.95 a	85.9 c	
	1.2 % Q	222 a	36.4 b	6.6 a	31.1 a	1.84 a	89.9 bc	
1 sem. a 20 °C	1.8 % Q	216 a	36.1 b	6.6 a	29.4 a	1.99 a	94.4 a	
	Testigo	229 a	42.4 a	7.4 a	31.4 a	2.06 a	92.9 b	
	CC	262 a	41.7 a	7.1 a	31.6 a	2.01 a	92.9 b	
16 sem. a 5 °C	0.6 % Q	243 a	41.8 a	7.3 a	32.9 a	2.05 a	90.8 b	
	1.2 % Q	238 a	42.9 a	6.8 a	32.3 a	1.99 a	91.6 b	
	1.8 % Q	253 a	36.7 b	7.9 a	33.9 a	2.43 a	99.8 a	

AAT: ácido ascórbico total; Nar: narirutina; Hesp: hesperidina; Did: didimina ♦ AAT: total ascorbic acid; Nar: narirutin; Hes: hesperidin; Did: didymin.

En cada periodo de almacenamiento, valores con diferente letra son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$) ♦ In each storage period, values with different letters are significantly different ($p \leq 0.05$).

encontraron tendencias en función del CS del recubrimiento. Según Li y Yu (2001), el contenido de ácido ascórbico en melocotón fue más alto en frutos tratados con quitosano que en los testigos tras un período de almacenamiento de 12 d. Esto se relacionó con una modificación de la atmósfera interna en el fruto; pero, los daños por frío pueden acelerar la pérdida de vitamina C en frutos sensibles al frío (Miller y Heilman, 1952). En el presente estudio no hubo pérdida de vitamina C tras conservación prolongada con frío. Además, Palma *et al.* (2005) indican que el contenido de AAT en mandarinas Fortune no cambia después de 90 d de almacenamiento a 5 °C.

El efecto de los recubrimientos sobre los glucósidos de flavanonas fue variable y fue difícil encontrar una tendencia en este comportamiento, para concluir acerca del efecto de los recubrimientos con quitosano (Cuadro 3). En general, se observó un aumento del contenido en narirutina, hesperidina y didimina al aumentar el tiempo de almacenamiento; sin embargo,

such as phenolic compound biosynthesis (Meng *et al.*, 2008). Therefore, the increase in total phenols, when chitosan (1.8 % Q) coating CS increases, could be an indication of this activity.

CONCLUSIONS

Application of CC decreased weight loss in oranges, while Q coatings with different CS did not. The coatings restricted gas exchange and modified internal atmosphere of the fruits; the effect was greater when chitosan CS increased, although sensorial quality did not change. In general, application of these coatings did not negatively affect internal quality of bioactive compounds of the oranges.

—End of the English version—

-----*-----

Palma *et al.* (2005), no encontraron diferencias significativas en estos glucósidos de flavanonas en jugo de mandarinas Fortune durante almacenamiento prolongado a 5 °C.

Los cítricos contienen junto a flavanonas otros compuestos fenólicos, como flavonas y ácidos hidroxicinámicos (representados por los ácidos ferúlico, caféico, sinapico y *p*-cumárico) que, aunque presentes en una concentración menor, contribuyen al contenido en fenoles totales (Gil-Izquierdo *et al.*, 2002). Tras el primer periodo de almacenamiento el contenido en fenoles totales aumentó en las naranjas recubiertas con 1.8 % Q, y este tratamiento presentó contenido mayor de fenoles totales (Cuadro 3). El quitosano actúa como un desencadenante exógeno de diferentes respuestas, como la biosíntesis de los compuestos fenólicos (Meng *et al.*, 2008). Por tanto, el incremento de fenoles totales al aumentar CS del recubrimiento de quitosano (1.8 % Q), podría ser una indicación de esa actividad del quitosano.

CONCLUSIONES

La aplicación de CC disminuyó la pérdida de peso de las naranjas, mientras que el recubrimiento de Q con distintos CS no controló la pérdida de peso de las naranjas. Los recubrimientos restringieron el intercambio gaseoso y modificaron la atmósfera interna de los frutos, con un efecto mayor al aumentar el CS del Q aunque la calidad sensorial de las naranjas no cambió. En general, la aplicación de estos recubrimientos no afectó negativamente la calidad interna de las naranjas ni los compuestos bioactivos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la Consellería de Educación de la Generalitat Valenciana a través del proyecto GV/2007/187 y por el Fondo Social Europeo. Los autores agradecen a las empresas Idebio, S. L y a Fontestad, S. A. por el quitosano y la fruta suministrada, respectivamente. También se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) en México la beca otorgada a Adriana Contreras.

LITERATURA CITADA

AENOR (Asociación Española de Normalización y Certificación). 1997. Análisis sensorial. Tomo 1. Alimentación. Recopilación de normas UNE. AENOR, Madrid, España, 253 p.

- Baldwin, E. A., M. O. Nisperos C., P. E. Shaw, and J. K. Burns. 1995. Effect of coatings and prolonged storage-conditions on fresh orange flavor volatiles, degrees brix, and ascorbic-acid levels. *J. Agric. Food Chem.* 43: 1321-1331.
- Bautista-Baños, S., A.N. Hernández-Lauzardo, M.G. Velázquez-del Valle, M. Hernández-López, E. Ait B., E. Bosquez-Molina, and C. L. Wilson. 2006. Chitosan as potential natural compounds to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection* 25: 108-118.
- Blair, H. S., J. Guthrie, T. K. Law, and P. Turkington. 1987. Chitosan and modified chitosan membranes. 1: Preparation and characterization. *J. Appl. Polymer Sci.* 33: 641-656.
- Brand-Williams, W., M. E. Cuvelier, and C. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* 28: 25-30.
- Cano, M. P., L. Plaza, y B. de Ancos. 2003. Factores que intervienen en la pérdida de calidad organoléptica y nutricional de productos de la IV Gama. Productos hortofrutícolas mínimamente procesados. Lobo, G., González, M. Instituto Canario de Investigaciones Agrarias. La Laguna, Santa Cruz de Tenerife, España. pp: 137-153.
- Chien, P. J., F. Sheu, and H. R. Lin. 2007. Coating citrus (*Murcott tangor*) fruit with low molecular weight chitosan increases postharvest quality and shelf life. *Food Chem.* 100: 1160-1164.
- Cisneros-Zevallos, L., and J. M. Krochta. 2003. Dependence of coating thickness on viscosity of coating solution applied to fruits and vegetables by dipping method. *J. Food Sci.* 68: 503-510.
- Gil-Izquierdo, A., M. I. Gil, and F. Ferreres. 2002. Effect of processing techniques at industrial scale on orange juice antioxidant and beneficial health compounds. *J. Agric. Food Chem.* 50: 5107-5114.
- Ke, D., and A. A. Kader. 1990. Tolerance of 'Valencia' oranges to controlled atmospheres as determined by physiological responses and quality attributes. *J. Am. Society Hort. Sci.* 115: 779-783.
- Li, H., and T. Yu. 2001. Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit. *J. Sci. Food Agric.* 81: 269-274.
- MARM, Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, 2010. Anuario de Estadística. Madrid, España.
- Meng, X. H., B. Q. Li, J. Liu, and S. P. Tian. 2008. Physiological responses and quality attributes of table grape fruit to chitosan preharvest spray and postharvest coating during storage. *Food Chem.* 106: 501-508.
- Miller, E. V., and A. S. Heilman. 1952. Ascorbic acid and physiological breakdown in the fruits of the pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.). *Science* 116: 505-506.
- Navarro-Tarazaga, M. L., M. A. del Río, M. John, J. M. Krochta, and M. B. Pérez-Gago. 2008. Fatty acid effect on hydroxypropyl methylcellulose-beeswax edible film properties and postharvest quality of coated 'Ortanique' mandarins. *J. Agric. Food Chem.* 56: 10689-10696.
- Navarro-Tarazaga, M. L., M. B. Pérez-Gago, K. Goodner, and A. Plotto. 2007. A new composite coating containing HPMC, beeswax, and shellac for 'Valencia' oranges and 'Marisol' tangerines. *Proc. Florida State Hort. Soc.* 120: 228-234.
- Obenland, D., S. Collin, J. Sievert, K. Fjeld, J. Doctor, and M. L. Arpaia. 2008. Commercial packing and storage of navel

- oranges alters aroma volatiles and reduces flavor quality. *Postharvest Biol. Technol.* 47: 159-167.
- Palma, A., S. D'Aquino, M. Agabbio, and S. Schirra. 2005. Changes in flavonoids, ascorbic acid, polyphenol content and antioxidant activity in cold-stored 'Fortune' mandarin. *Acta Hort.* 682: 617-622.
- Rege, P. R., and L. H. Block. 1999. Chitosan processing: influence of process parameters during acidic and alkaline hydrolysis and effect of the processing sequence on the resultant chitosan's properties. *Carbohydrate Res.* 321: 235-245.
- Rojas-Argudo, C., M. A. del Río, and M. B. Pérez-Gago. 2009. Development and optimization of locust bean gum (LBG)-based edible coatings for postharvest storage of 'Fortune' mandarins. *Postharvest Biol. Technol.* 52: 227-234.
- Salvador, A., J. Cuquerella, y A. Monterde. 2003. Efecto del quitosano aplicado como recubrimiento en mandarinas 'Fortune'. *Rev. Iberoamericana Tecnol. Postcosecha* 5: 122-127.
- Sánchez-Moreno, C., L. Plaza, B. de Ancos, and M. P. Cano. 2003. Quantitative bioactive compounds assessment and their relative contribution to the antioxidant capacity of commercial orange juice. *J. Sci. Food Agric.* 83: 430-439.
- Santos, C., P. Seabra, B. Veleirinho, I. Delgadillo, and J. A. Lopes da Silva. 2006. Acetylation and molecular mass effects on barrier and mechanical properties of shortfin squid chitosan membranes. *Eur. Polymer J.* 42: 3277-3285.
- Singleton, V. L., and J. A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. and Viticulture* 16: 144-158.
- Srinivasa, P. C., R. Baskaran, M. N. Armes, K. V. Harish Prashanth, and R. N. Tharanathan. 2002. Storage studies of mango packed using biodegradable chitosan film. *Eur. Food Res. Technol.* 215: 504-508.
- Togrul, H., and N. Arslan. 2004. Carboxymethyl cellulose from sugar beet pulp cellulose as a hydrophilic polymer in coating of mandarin. *J. Food Eng.* 62: 271-279.
- Valencia-Chamorro, S. A., M. B. Pérez-Gago, M. A. del Río, and L. Palou. 2009. Effect of antifungal hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)-lipid edible composite coatings on postharvest decay development and quality attributes of cold-stored 'Valencia' oranges. *Postharvest Biol. Technol.* 54: 72-79.
- Vargas, M., A. Albors, A. Chiralt, and C. González-Martínez. 2006. Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan-oleic acid edible coatings. *Postharvest Biol. Technol.* 41: 164-171.