

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

**DETERMINACION Y VALORACION BIOQUIMICA DEL ACIDO ASCORBICO
EN EL FRUTO DE "ketembilla" (Duvyalis hebecarpa)**

**ANTONIO AYALA VILLALTA
GUILLERMO ERNESTO ESPINOZA MARTINEZ**

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA

"CENTRO DE DOCUMENTACION
DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA"
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR



CIUDAD UNIVERSITARIA,

SAN SALVADOR,

SEPTIEMBRE DE 1990

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

"CENTRO DE DOCUMENTACION
DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA"
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

**DETERMINACION Y VALORACION BIOQUIMICA DEL ACIDO ASCORBICO
EN EL FRUTO DE "ketembilla" (Duvyalis hebecarpa)**



**ANTONIO AYALA VILLALTA
GUILLERMO ERNESTO ESPINOZA MARTINEZ**

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
"CENTRO DE DOCUMENTACION
DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA"
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES



CIUDAD UNIVERSITARIA,

SAN SALVADOR,

SEPTIEMBRE DE 1990

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

"CENTRO DE DOCUMENTACION
DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA"
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

DETERMINACION Y VALORACION BIOQUIMICA DEL ACIDO ASCORBICO
EN EL FRUTO DE "ketembilla" (Dovyalis hebecarpa)

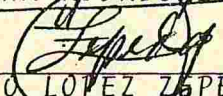
ANTONIO AYALA VILLALTA
GUILLERMO ERNESTO ESPINOZA MARTINEZ

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA
1990

DECANO


CATALINA RODRIGUEZ MACHUCA DE MERINO

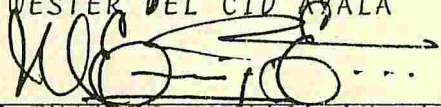
DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO:

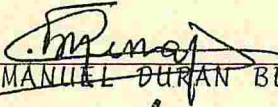

ERNESTO LOPEZ ZEPEDA

ASESOR


JOSE WESTER DEL CID AYALA

JURADO EXAMINADOR


MARIO ENRIQUE ESTRADA AVELAR


VICTOR MANUEL DURAN BELOSO


MARINA ESTELA CONTRERAS DE TOBAR

II

DEDICATORIA

En primer lugar dedico este trabajo a DIOS, por haber permitido los medios para lograrlo.

Seguidamente lo dedico a :

Mis padres : Fernando Villalta Estrada (Q.E.P.D.)

María Genoveva Ayala (Q.E.P.D.)

Mi esposa : Ana Cristina Ramírez de Ayala.

Mis hijos : Evelyn Alcira

Oscar Antonio

Mercedes Cristina (Q.E.P.D.)

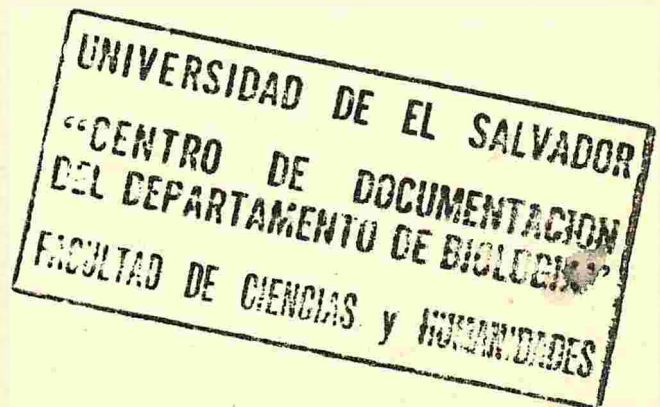
Cristy Jannette

Mis suegros : Félix Ramírez Sánchez

María Isabel González de Ramírez (Q.E.P.D.)

Las Familias : Ayala, Ramírez. González y Castro Alvarado.

A mis amigos y compañeros de trabajo que me estiman.



III

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a :

- DIOS TODO PODEROSO : Por haberme iluminado y permitido
finalizarlo.*
- Mi padre : Salvador Martínez López, en la eter-
nidad, con inmenso amor y reconocimien-
to por sus buenas enseñanzas.*
- Mi madre : Carmen Espinoza vda. de Martínez, por
su inmenso amor, comprensión y cariño.*
- Mi esposa : Mirian Helen Rivera Piche, por su ayu-
da inmensa y comprensión.*
- Mis hijos : Carmen Elena
Guillermo Ernesto
Rafael Ernesto*
- Mis hermanos : María Olivia
Elba
Sofía
Jorge Alberto
Marina Estela*

*Familia Espinoza, Martínez, López y Rivera Piche, y a todas a-
quellas personas que me apoyaron y me animaron.*

IV

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen muchísimo la gustosa colaboración - desinteresada e incondicional que las siguientes personas brindaron para hacer posible este trabajo :

Al Licenciado José Wester Del Cid Ayala por su decidido - asesoramiento de Tesis.

A los Licenciados Mario Enrique Estrada Avelar, Víctor Manuel Durán Belloso y Marina Estela de Tobar, por sus acertadas observaciones a la tesis, como Jurados Examinadores.

A la Doctora Francisca Cañas de Moreno, Jefe del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Agronómicas por habernos permitido el uso del material y equipo de laboratorio para el análisis bromatológico, además de su asesoría en las técnicas y métodos de laboratorio.

Al Doctor Jaime Lozano Rosales, Químico-Farmacéutico, Jefe del Departamento de Investigación y Desarrollo Farmacéutico de los Laboratorios Laínez por los análisis de vitamina "C" en el jugo del fruto de "ketembilla" con fines de comparación.

A José Antonio Campos y Ricardo Imendia, Docentes del Departamento de Bioquímica por su colaboración en el adiestramiento en el uso de material y equipo.

A Martha Lillian de Núñez secretaria del Departamento de Biología, por la acertada mecanografía de este trabajo, y a René Rivera Peñate, por la elaboración de diagramas y esquemas.

A todas aquellas personas que nos colaboraron y animaron para la finalización de la Tesis.

UES BIBLIOTECA FAC.
C.C. N.N. YMM



INVENTARIO: 19200288

v

TABLA DE CONTENIDOS



	Página No.
Resumen VI y VII
Lista de Cuadros VIII
Lista de Figuras IX
Introducción 1
Revisión de Literatura 3
Materiales y Métodos 16
Resultados 27
Discusión 34
Conclusiones 39
Literatura Citada 41
Anexos	

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
"CENTRO DE DOCUMENTACION
DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA"
FACULTAD DE CIENCIAS y HUMANIDADES

VI

RESUMEN

El presente trabajo se realizó con el objetivo de determinar el contenido de vitamina "C" en el fruto verde, sazón y maduro de "ketembilla"; así como también analizar la composición alimenticia de la cáscara, semilla y pulpa de dicho fruto, en los tres estadios.

El desarrollo de la investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Bioquímica del Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias y Humanidades y el de la Facultad de Ciencias Agronómicas, ambos de la Universidad de El Salvador, en el período comprendido de Junio de 1988 a Enero de 1989.

Para determinar el ácido ascórbico se utilizaron dos métodos: el de óxido-reducción con el colorante 2, 6 Dicloro-fenol-indofenol y el que se usa para productos farmacéuticos estabilizados, con base al ácido ascórbico cristalizado de Roche-USP XXI (1985), el cual cuantifica mayor contenido de vitamina "C", puesto que incluye la forma reducida y oxidada del compuesto; mientras que el primer método sólo valora el ácido ascórbico reducido. Los resultados obtenidos demuestran que el jugo del fruto sazón contiene mayor cantidad de vitamina "C".

Para el análisis del contenido alimenticio de las cáscara, semilla y pulpa, se utilizó el sistema proximal de Weende. Los resultados demuestran que el mayor contenido de humedad

se encuentra en la pulpa, mientras que la semilla del fruto maduro presenta las mayores cantidades de proteína cruda, - grasas y carbohidratos.

En cuanto a cenizas, la pulpa contiene mayor cantidad y la fibra cruda se encuentra en mayor proporción en la cáscara del fruto.

Con base a lo anterior, se puede afirmar que el fruto - tiene valor nutritivo, tanto por el contenido del jugo como de las otras partes, especialmente la semilla.

La planta en estudio, también es importante para sombra, ornato y reforestación.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
"CENTRO DE DOCUMENTACION
DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA"
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES

VIII

LISTA DE CUADROS

<u>Cuadro No.</u>		<u>Página</u>
1	Características que determinan el estadio del fruto de "ketembilla".	25
2	Titulaciones para calcular la cantidad de ácido ascórbico en el jugo del fruto de "ketembilla" por el método de <u>óxido-reduc</u> <u>ción</u> .	30
3	Valores del ácido ascórbico en el jugo -- del fruto de "ketembilla" en base al <u>titu</u> <u>lante</u> estandarizado del método de <u>óxido</u> - <u>reducción</u> .	31
4	Valores del ácido ascórbico en el jugo -- del fruto de "ketembilla" según el método farmacéutico de Roche USP XXI.	31
5	Resumen del análisis bromatológico por el sistema proximal de Weende en tres partes del fruto de "ketembilla".	32
6	Pruebas cualitativas para carbohidratos - solubles según el procedimiento de Litwack.	33

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
"CENTRO DE DOCUMENTACION
DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA"
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES

LISTA DE FIGURAS

<u>Figura No.</u>		<u>Página</u>
1	Ubicación de las plantas de "ketembilla" en la Facultad de Ciencias y Humanidades de la Universidad de El Salvador.	24
2	Procedimiento para separar las diferentes partes del fruto de "ketembilla".	26

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
"CENTRO DE DOCUMENTACION
DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA"
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES

INTRODUCCION

Las personas asocian a la vitamina "C" con los frutos cítricos, pero también otros vegetales y muchos animales superiores la sintetizan en sus tejidos, excepto el hombre, mono, cobayo y murciélagos frugívoros (Lehninger, 1984).

El ácido ascórbico o vitamina "C" proporciona al organismo humano una acción antiescorbútica. Actualmente se han hecho investigaciones para aclarar las acciones del ácido ascórbico en las diferentes funciones metabólicas en los tejidos del cuerpo humano.

Dada la importancia de la vitamina "C", en el ser humano, es necesario investigar el contenido del fruto de "ketembilla" que de acuerdo a lo que informa el INCAP (1961); Magaña (1981) posee mayor cantidad que la naranja dulce y los limones.

Uno de los objetivos del trabajo es determinar y cuantificar el ácido ascórbico en el jugo del fruto de "ketembilla" (Dovyalis hebecarpa, Warb.), de la familia Flacourtiaceae, para lo cual, fue necesario investigar primero por análisis cualitativo si el fruto contenía vitamina "C" para luego valorar, en las unidades correspondientes, la cantidad en que se encuentra en cada estadio.

El investigar ese potencial de ácido ascórbico y la composición alimenticia del fruto tiene por objeto incentivar el cultivo y la explotación industrial de esta planta en El Salvador, para tener así otra fuente natural de vitamina "C" de fácil acceso.

Otro de los objetivos fue dar a conocer en nuestro país dicha planta, que según la taxonomía botánica revisada pertenece a Dovyalis hebecarpa de la familia Flacourtiaceae (conocida por "acerola").

Debido a que sus frutos constituyen materia prima para la fabricación de jaleas, conservas, jugos y jarabes para usos diversos, los convierten en un potencial económico y alimenticio; además la planta es importante para el ornato, sombra, reforestación, evitar la erosión y hasta su madera se utiliza como combustible.

Se hicieron ensayos sobre propagación tanto por semilla como por vástagos, las plantas obtenidas fueron distribuidas en Centros Educativos de los Departamentos de San Salvador y Cuscatlán en donde fueron utilizadas para el ornato y consumo alimenticio de sus frutos.

REVISION DE LITERATURA

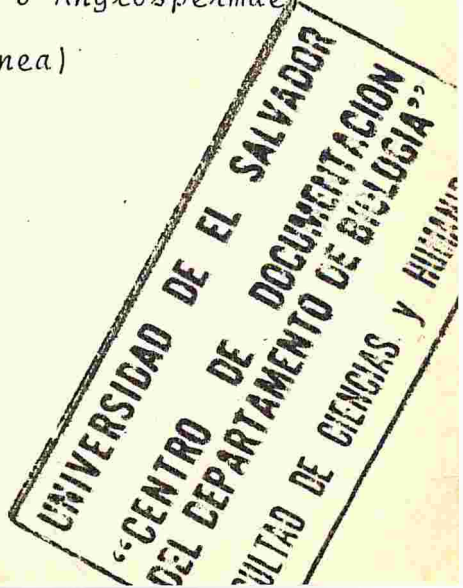
Origen de la planta.

Según reportan Kennard & Harold (1963); León (1968); --
 Mortensen & Bullard (1971); Ochse et al., (1972) Dovyalis --
hebecarpa es comúnmente conocida en nuestro país como "acero --
 la", planta que procede de Ceilán y la India. Otras espe- --
 cies, como D. abyssinica y D. caffra proceden de África y --
 Nueva Zelandia, con la diferencia de que estas variedades --
 son plantas caducifolias y dan frutos más grandes de color a --
 marillo (Parodi, 1959; León, 1968; Ochse et al., 1972).

Clasificación taxonómica de la planta.

Según Strasburger et al., (1971); Fuller et al., (1974); --
 Cronquist (1982); Kennard & Harold (1963); León (1968); --
 Mortensen & Bullard (1971); Ochse et al., (1972) la clasifi- --
 cación taxonómica es la siguiente :

Reino : Plantae
 Sub - Reino : Embriophyta
 División : Anthophyta (Magnoliophyta o Angiospermae)
 Clase : Magnoliopsida (Dicotyledonea)
 Sub - Clase : Arquiclámideas
 Orden : Parietales
 Familia : Flacourtiaceae
 Género : Dovyalis
 Especie : Hebecarpa Warb.
 Sinónimos : Aberia gardneri Clos.
Roumea hebecarpa Gardner.



- Nombres Comunes : = "acerola" (El Salvador)
- = "ketembilla" (Chandler) (Ceilán)
- = "ceylón-gooseberry" (Chandler) -
(Estados Unidos).
- = "kitembilla" (Chandler) (Estados
Unidos).
- = "uva crespada de Ceilán" (Ceilán).
- = "uva espina o grosella de Ceilán
(Ceilán).

Descripción de la planta.

Ochse et al., (1972) la describen como un arbusto de ramas abiertas, que alcanza una altura de 3 a 5 metros; se trata de una planta perenne que tiene ramas delgadas y erectas de las cuales las más viejas poseen espinas largas, agudas y fuertes. Las hojas son alternas, pudiendo ser lanceoladas u ovaladas y miden de 5 a 10 cms de largo, siendo agudas, enteras o ligeramente dentadas, de color verde-claro y aterciopeladas cuando jóvenes. Las flores son pequeñas y perfectas, cuando proceden de semillas pueden ser unisexuales o dioicas. Su posición es axilar y constan de 5 a 7 tépalos de color verde. La floración ocurre varias veces al año. Los frutos son bayas esféricas de 2 a 2.5 cms de diámetro, de color rojo oscuro cuando maduros y cubiertos de una pubescencia aterciopelada, la pulpa es de color rojizo, con abundante jugo de sabor ácido, contiene de 6 a 8 semi--

llas pequeñas aplanadas y blandas. Los aspectos botánicos mencionados también concuerdan con lo reportado por Barret (1930); Parodi (1959); Kennard & Harold (1963); León (1968); Mortensen & Bullard (1971); Ruehle (1953), citado por Ochse et al., (1972). (Anexo I y II).

Propagación de la Planta.

Mortensen & Bullard (1971); Quer (1974) reportan que D. hebecarpa como planta frutícola que prospera en tierras cálidas, siendo sus medios más propicios los trópicos y subtropicos. También resiste el clima litoral mediterráneo, pero en todos los casos el suelo debe de ser seco y drenado.

La mayoría de plantas de "ketembilla" son dioicas o sea que unas sólo tienen flores femeninas y otras sólo masculinas, por lo que Kennard & Harold (1963) recomiendan sembrarlas juntas con la finalidad de asegurar la fecundación y por lo tanto el desarrollo del fruto.

Las formas de propagación es por semillas, las que germinan entre 10 y 15 días, así como también por injertos de yemas y por estacas o vástagos (Kennard & Harold, 1963; Mortensen & Bullard, 1971; Ochse et al., 1972).

Con relación al distanciamiento Mortensen & Bullard (1971) recomiendan sembrarlas a una distancia de 5 a 6 metros, tal como se hace en los cultivos de cítricos.

Usos de la planta.

La planta puede ser utilizada en las siguientes formas: como alimento, por el contenido de su fruto que incluye la vitamina "C", para reforestar y evitar la erosión, como combustible por su madera que es fuerte y seca rápidamente, como ornamental (Mortensen & Bullard, 1971; Ochse et al., 1972).

Generalidades a cerca de la vitamina "C".

De acuerdo a Lehniger (1972); Lehniger (1984) la vitamina "C" fue aislada por primera vez en forma pura y cristalizada a partir del jugo de limón por los bioquímicos estadounidenses C.G. King y W.A. Waugh en 1932. Actualmente se conoce que la mayor parte de los vegetales y animales superiores pueden sintetizar el ácido ascórbico a partir de la glucosa y otros precursores sencillos. En el laboratorio se puede sintetizar a partir de la glucosa, pues la vitamina "C" es un monosacárido derivado, es un azúcar-ácido, derivado de la gamma lactona del ácido gulónico.

Winton & Barber (1975); Manzur & Hashmi (1972); USP XIX (1975) reportan que el ácido ascórbico extraído y aislado se presenta en cristales o en polvo de color blanco o ligeramente amarillento, pero expuesto a la luz se va oscureciendo, es soluble en agua y muy poco en el etanol. Es estable al aire seco, pero en solución es rápidamente oxidado hacia ácido dehidroascórbico. Su temperatura de fusión --

oscila entre 190 y 192°C.

Con respecto a la estructura molecular del ácido ascórbico, los grupos enol están localizados en los carbonos 2 y 3 y según Marks, s.a. citado por Avilés (1979) estos grupos son sensibles a la oxidación y pueden convertirse fácilmente en grupos cetónicos (Anexo III).

También Cantarow & Schepartz (1969); Burton (1969); Magaña (1981); Lehninger (1984) confirman que la vitamina es fácilmente destruida por oxidación, por los álcalis y especialmente por temperaturas elevadas durante la cocción de los alimentos. Manzur & Hashmi (1972); USP XIX (1975) complementan que el ácido ascórbico al oxidarse se transforma en ácido dehidroascórbico y éste solo es estable a pH menor de 4.

La vitamina "C" natural es el ácido L-ascórbico, el cual es una enodiol-lactona de un ácido de configuración semejante a la L-glucosa. Es un ácido más fuerte que el acético. Las formas D-ascórbico son inactivas contra el escorbuto (Cantarow & Schepartz, 1969). La estructura también se puede describir como la forma enólica del 3-oxo-1-gulonofuranolactona (Clark, 1960, citado por Avilés, 1979). Su fórmula global es $C_6H_8O_6$ y su peso molecular igual a 176.13, este ácido tiene la misma actividad biológica que el ácido dehidroascórbico, con el cual forma un sistema redox (Marks, s.a. citado por Avilés, 1979; AOAC, 1980; Plum-

mer, 1981; Bevan, 1982). (Anexo III).

Cantarow & Schepartz (1969) afirman que el ácido dehidroascórbico también se vuelve inactivo por hidrólisis en soluciones alcalinas, neutras o ligeramente ácidas, por arriba de pH 5, rompiéndose el anillo de lactona y formándose el ácido dicetogulónico, biológicamente inactivo. Esta reacción es irreversible en la célula viva a no ser que se encuentren compuestos con el grupo HS-como el glutatión. Puede invertirse en el tubo de ensayo por acción del HI o del H₂S. El ácido dicetogulónico formado en esa hidrólisis experimenta oxidación irreversible ulterior convirtiéndose en ácido oxálico y ácido L-treónico. Este tiene importancia en los alimentos elaborados. Este metabolismo del ácido ascórbico se explica en el Anexo IV.

Funciones de la vitamina "C".

La deficiencia de vitamina "C" en el humano conduce al escorbuto, que se manifiesta con la aparición de pequeñas hemorragias debajo de la piel y folículos pilosos, luego aparecen hematomas espontáneos; las encías se vuelven blandas, inflamadas y sangrientas, finalmente los dientes se aflojan y se caen. En el escorbuto infantil también están afectados los huesos de crecimiento rápido, se suprime el crecimiento ordenado y la calcificación normal de la matriz cartilaginosa. La vitamina "C" al parecer es un factor "antiestrés", -

contribuye a la actividad metabólica de las glándulas suprarrenales, tiene acción antiinfecciosa como ante la tuberculosis. También previene el resfrío común. (Cantarow, 1969; - Loeb-Cecil, 1972, citado por Avilés, 1979).

La vitamina "C" de origen endógeno en los vegetales, es un regulador metabólico, ejerciendo una notable actividad en la aceleración de la germinación del polen (Miller, 1967).

En el hombre, la vitamina "C" es de origen exógeno, se considera que potencializa a los glóbulos blancos (Bates, -- 1981). Los glóbulos blancos se consideran células de almacenamiento de la vitamina "C" (Toporek, 1984); regula las funciones de las glándulas suprarrenales y del hígado (Productos Roche de Centroamérica, 1981); influye en el adecuado funcionamiento del cerebro (Hughes, 1981); se considera que hay una estrecha relación entre el estatus de vitamina "C" con los niveles de colesterol en la sangre, lo que repercute en enfermedades cardíacas (Fratow & Simmonds, 1959; Cantarow & Schepartz, 1969; Ginter, 1981; Cabezas de Allwood, 1984).

Las formas activas de la vitamina "C" son el ácido L-ascórbico y el ácido L-dehidroascórbico. Es fácilmente oxidado y reducido, lo que permite su participación en múltiples procesos metabólicos del organismo, por ejemplo, el ácido ascórbico participa en el metabolismo de los aminoácidos - particularmente en la oxidación final de la fenil-alanina y la tirosina; facilita la conversión del ácido fólico en aci

do folínico; favorece la absorción del hierro en el intestino; interviene en la síntesis del colágeno; ayuda a la formación del tejido conectivo, siendo estas dos últimas sus funciones principales (Bender, 1972, citado por Avilés, 1979; Cabezas de Allwood, 1984). Algunos órganos donde se concentra ácido ascórbico en el humano son: hipófisis, cuerpo amarillo, corteza suprarrenal, timo en los jóvenes, hígado, cerebro, gónadas, bazo, tiroides, páncreas, glándulas salivales, pulmones, riñones, pared intestinal, corazón, músculo esquelético y sangre. Durante el embarazo, la sangre del cordón umbilical presenta mayor concentración de vitamina "C" que la sangre de la madre (Cantarow & Schapartz, 1969).

Se cree que la vitamina "C" en dosis elevadas tiene actividad anti-cáncer, inhibiendo la formación de la nitrosamina que es un compuesto de potente acción carcinógena, si esto se comprobara el ácido ascórbico sería un potente inhibidor natural (Ohshima, 1981).

No está comprobado que la administración de dosis altas de vitamina "C" sean perjudiciales para el hombre. En la rata, dosis altas de ácido dehidroascórbico le producen diabetes permanente, idéntica a la causada por la aloxana (destrucción de las células beta de los islotes de Langerhan). Si los tejidos poseen cantidades suficientes de ácido ascórbico, esto es, si están "saturados" por la vitamina, se excretará por la orina en una proporción determinada por la dosis de --

prueba (Cantarow & Schepartz, 1969).

El requerimiento diario de vitamina "C" en el ser humano según lo recomiendan Cantarow & Schepartz (1969); Bevan (1982); cabezas de Allwood (1984); Lehninger (1984) es el siguiente: De 70-80 mg para un adulto normal; 30 mg en el lactante; de 40-80 mg para niños menores de 12 años y 100 mg para la embarazada y mujer que amamanta.

Fuentes de Vitamina "C".

Los frutos constituyen la fuente principal de esta vitamina, particularmente las especies tropicales (Burton, 1969; Magaña, 1981).

De acuerdo a Cantarow & Schepartz (1969) el ácido ascórbico alcanza mayor concentración en las hojas y las flores, especialmente en partes de crecimiento rápido. No se descubre en las semillas desecadas, pero aparece inmediatamente al germinar. En la mayor parte de tejidos el ácido L-ascórbico está en equilibrio con el ácido L-dehidroascórbico. Existen mecanismos para mantener una proporción adecuada de la vitamina en la forma reducida, por ejemplo por la presencia de agentes reductores como los compuestos que llevan el grupo HS- que se presentan en todas las células. En el hombre no hay síntesis del ácido ascórbico, quizá por la incapacidad de transformar la cetogulonolactona en ácido ascórbico.

"Ketembilla" (Dovyalis hebecarpa) contiene vitamina "C" por lo que la planta tiene valor económico en la elaboración de jaleas, conservas, etc. Normalmente se producen enormes cosechas de este fruto al norte del Ecuador (Mortensen & Bullard, 1971).

Mertz (1971) establece que entre otras fuentes alimenticias con vitamina "C" están: las verduras, frijoles, pimientos, patatas, nabos, tomates rojos, cítricos y otros. Entre los que contienen más vitamina "C" por 100 g de porción comestible están: pimiento verde, 120 mg; mostaza verde, 102 mg; coliflor, 69 mg; fresas, 60 mg; espinacas, 59 mg.

Por cada 100 ml de muestra de jugo se conocen contenidos de vitamina "C" en los siguientes frutos: naranja, 42.4160 mg; limón 33.2640 mg; papaya, 24.7940 mg; piña, 11.2640 mg; sandía, 5.8960 mg y mango, 5.2360 mg (Magaña, 1981).

Ensayo y Valoración del Acido Ascórbico.

Según Cantarow & Schepartz (1969), se pueden hacer estimaciones del ácido ascórbico por métodos biológicos o químicos. Aunque los primeros son más específicos y exactos, por motivos prácticos han sido sustituidos por procedimientos químicos.

Ensayo Biológico.

Se administra a los animales en experimentación, una die

ta sin vitamina "C", tal como el cobayo que es muy susceptible a la falta de vitamina "C", presentando el escorbuto en término de dos a tres semanas. Conociendo esto, existen procedimientos que estiman la dosis mínima de ácido ascórbico - de ensayo necesario para curar y proteger contra el escorbuto e impedir las alteraciones escorbúticas características - del tejido dentario. La unidad internacional de vitamina - "C" (Unidad U.S.P.) se define como el equivalente de 0.05 mg de ácido ascórbico puro; por ello, 1 mg de ácido ascórbico - es igual a 20 unidades U.S.P. (Cantarow & Schepartz, 1969).

Métodos químicos.

Los de uso más corriente para cuantificar el ácido ascórbico son métodos que generalmente se basan en procesos de óxido-reducción, por reacciones colorimétricas características o por formación de compuestos fluorescentes (Avilés, - 1979).

Winton & Barber (1957); Strohecker (1967); Montes (1969); Granados de Velásquez (1972); Manzur & Hashmi (1972); AOAC (1980); Magaña (1981); Plummer (1981) practicaron el método de óxido - reducción para jugos de frutas, el más usado es el llamado - método químico de Strohecker o método 2, 6 diclorofenol - indofenol. El fundamento de este método es el siguiente : el ácido ascórbico de una muestra es oxidado por el colorante 2, 6 diclorofenol-indofenol a ácido dehidroascórbico. Al

mismo tiempo el colorante se reduce a un compuesto incoloro - que permite visualizar el punto final de la reacción.

Agregando un buffer a la solución problema se evita la auto-oxidación del ácido ascórbico a un pH elevado. En el punto final de la titulación, un ligero exceso de colorante no reducido por el ácido ascórbico es rosado en solución ácida (AOAC, 1980; Plummer, 1981) (Anexo V).

Stahl (1969), plantea que el límite de detección de vitamina "C" con el reactivo 2, 6 diclorofenol-indofenol es de + 0.1 μ g; utilizando el reactivo indoplatinato puede visualizarse cantidades de 3-5 μ g de ácido ascórbico. Este se oxida a ácido dehidroascórbico, que tiene la misma actividad vitamínica, la forma combinada de ambos se llama ascorbígeno.

Otros métodos de valoración del ácido ascórbico son los llamados colorimétricos, siendo los más utilizados los siguientes :

- a) Estimación del complejo coloreado que se forma al unirse ácido dehidroascórbico con 2, 4 dinitrofenilhidracina más ácido sulfúrico concentrado (Strohecker, 1967; Cantarow & Schepartz, 1969).
- b) Ensayo fotométrico con 2-nitroanilina por procedimiento de Morth (Maynard, 1970; Granados de Velásquez, 1972).
- c) Determinación espectrofotométrica con 4-diazo-2-metoxi-nitroanilina (Higuchi & Brochmann-Hanssen, 1961; Granados de Velásquez, 1972).

CENTRO DE DOCUMENTACION
DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

También se utiliza el ensayo microfluorométrico, método aplicable a productos naturales y farmacéuticos, por el cual se detectan cantidades sumamente pequeñas y cuantifica vitamina "C" en forma total (Manzur & Hashmi, 1972; AOAC, 1980).

Otro método para valorar el ácido ascórbico es por cromatografía de papel o método de Strohecker, Heiman y Matt (Granados de Velásquez, 1972; Domínguez, 1975).

Composición Química Alimenticia.

El Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá INCAP y el Comité Interdepartamental de Nutrición para la Defensa Nacional ICNND (1961), informan haber analizado dos veces la composición química alimenticia del fruto de "abería" o "re-tembilla" por medio del método proximal. Los resultados obtenidos por cada 100 gramos de porción comestible del fruto se resumen en la tabla de Composición de Alimentos para uso en América Latina (Anexo VI).

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
"CENTRO DE DOCUMENTACION
DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA"
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES

MATERIALES Y METODOS

Descripción del área de estudio.

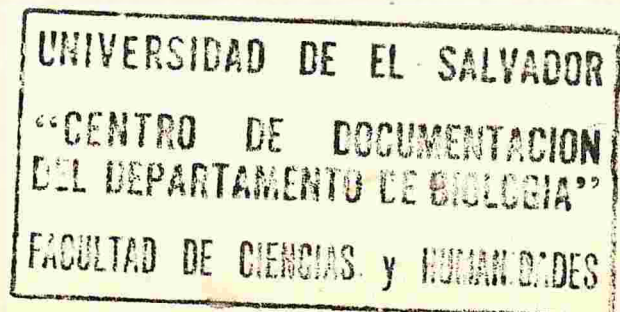
El área de estudio consistió de 80 plantas de "ketembí--lla" (Dovyalis hebecarpa) utilizadas para el ornato y sombra en los predios del sector poniente de la Facultad de Ciencias y Humanidades de la Universidad de El Salvador (Figura 1) cuya ubicación esta entre 600 y 700 metros sobre el nivel del mar; la humedad relativa promedio es de 76% con una precipitación pluvial normal de 1779 mm anuales (MAG, 1983). Según Koeppen (1948), el clima es tropical caliente de sabana.

El suelo corresponde a los tipos andosoles y regosoles originado de cenizas volcánicas, cuya textura media o mediana gruesa van del tipo franco a franco arenoso fino y es plano pero con buen drenaje (MOP, 1979).

Trabajo de campo.

Los frutos en sus tres estadios, fueron colectados en el mes de Junio aprovechando una de las cosechas de la época -- lluviosa. La colecta se hizo al azar y los frutos se colocaron en bolsas plásticas para ser trasladadas al laboratorio.

Los parámetros que se tomaron en cuenta al momento de la colecta fueron el color y el tamaño, pero a nivel de laboratorio se tomaron en cuenta otras características para lograr su clasificación.



Trabajo de laboratorio.

Los frutos frescos colectados fueron llevados al laboratorio de Bioquímica del Departamento de Biología, en donde se separaron los tres estadios atendiendo las características que se resumen en el Cuadro No. 1. Una vez seleccionados los frutos se procedió a eliminar el epicarpo o cáscara con el auxilio de una hoja de afeitar, se colocaron en bolsas de papel - bond y luego en estufa a 40 C°. Posteriormente se les trituró suavemente en un mortero con el cual se logró extraer sólo una parte del jugo. Para extraer el resto se envolvió lo macerado en una porción de tela de lino y se presionó varias veces para lograr recoger el jugo en un beaker. Todo el jugo extraído fue filtrado haciendo uso de papel filtro No. 1. Una parte de este jugo se utilizó para el análisis de vitamina "C" el cual se hizo en forma inmediata y la otra parte se almacenó en frascos ámbar y se refrigeró a una temperatura de 4 C°, para evitar la alteración de la vitamina por el efecto de la luz y el calor.

Del residuo retenido en la tela de lino se separó la pulpa y las semillas, utilizando para ello una pequeña navaja. Posteriormente se colocaron en cajas de Petri y se refrigeraron a 4 C° durante 8 días. El procedimiento descrito se ilustra en la figura 2.

El análisis cuantitativo de vitamina "C" se hizo por triplicado. A la cáscara, pulpa, semilla y jugo se le hizo el análisis cualitativo de Litwack (1967), detallado en el anexo VII y el análisis bromatológico cuantitativo según el sistema proxi

mal de Weende que se detalla en el anexo VIII y IX, sin tomar en cuenta el jugo.

Determinación y valoración del ácido ascórbico en el jugo del fruto.

Debido a que la vitamina "C" es hidrosoluble se determinó y valoró en el jugo, practicando dos métodos: el de óxido-reducción que utiliza como titulante el 2, 6 diclorofenos-indofenol propuesto por la AOAC (1980) y Plummer (1981) y el método para productos farmacéuticos estabilizados según la Roche USP XXI (1985).

Con base al método de óxido-reducción se procedió a realizar la titulación de tres soluciones que según el método se necesitan para valorar la cantidad de ácido ascórbico. Las tres soluciones tituladas con el colorante 2, 6 diclorofenol-indofenol fueron: el jugo del fruto (solución problema), el ácido ascórbico patrón y la solución denominada blanco. Los reactivos y las técnicas utilizadas se explican en el anexo X.

Las soluciones problemas fueron los jugos de los frutos verde, sazón y maduro. Cada estadio se tituló por triplicado, lo que permitió sacar el promedio en cada caso; de igual manera el promedio de las titulaciones de la solución blanco y del ácido ascórbico patrón, que sirvieron para calcular la cantidad de vitamina "C" y la desviación estándar (S), que es indicador de los valores con respecto a la media, utilizando la fórmula estadística para tres muestras al azar o más que propone Reyes (1983).

Fueron necesarias las cantidades en mililitros de 2, 6 diclorofenol-indofenol para aplicar el método matemático y poder valorar así la cantidad de vitamina "C" en el jugo del fruto.

Los promedios indicados anteriormente se aplicaron a la fórmula matemática de valoración según Plummer (1981), calculando así la cantidad de ácido ascórbico para el jugo de los frutos verde, sazón y maduro (anexo X), después de estandarizar al titulante 2, 6 diclorofenol-indofenol se procedió a calcular los mg de vitamina "C" por cada 100 ml de jugo.

El otro método aplicado es el que se usa para los productos farmacéuticos estabilizados con base a ácido ascórbico - cristalizado de Roche USP XXI (1985), el cual se realizó en los laboratorios y Droguería Laínez. Estos resultados fueron utilizados con la finalidad de comparar con los que se obtuvieron por el método de óxido-reducción del 2, 6 diclorofenol-indofenol.

Análisis bromatológico por el sistema proximal de Weende.

La marcha y los procedimientos aplicados son los descritos en los manuales analíticos de Bateman (1970) y la AOAC (1980). Este trabajo se realizó en los laboratorios de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador. Se utilizaron las muestras homogenizadas de aquella recolección al azar y determinando por dupli-

cado para encontrar el margen de % error por medio de la fórmula :

$$\% \text{ Error} = \frac{\text{Mayor valor} - \bar{X}}{2} \times 100$$

Determinación de la humedad.

Para el análisis bromatológico, primero se determinó la humedad en la cáscara, semilla y pulpa frescas y recién colectadas. Los demás aspectos que comprende las secuencias del sistema proximal de Weende continúan con muestras secas (Anexo VIII y IX).

La humedad parcial se determinó colocando las muestras en cajas de aluminio en una estufa "Treciterm" de aire caliente en circulación entre 70-80°C durante 24 horas. En cambio la humedad total se le practicó a las mismas muestras de la humedad parcial utilizando una estufa al vacío a 105°C durante 5 horas. El porcentaje de humedad parcial se combinó matemáticamente con el porcentaje de humedad total para determinar el porcentaje de la humedad total verdadera.

Determinación de nitrógeno y proteína cruda.

Las muestras secas fueron pulverizadas en un molino de -aspas estándar, modelo No. 3, Wilf y Mill, luego se valoró el porcentaje de nitrógeno en el aparato de Kjeldahl por el método del mismo nombre (Bateman, 1970; AOAC, 1980). El por

centaje obtenido se multiplicó por el factor de conversión - 6.25, para calcular así el porcentaje de proteína cruda (Anexo IX).

Determinación de cenizas.

Las muestras molidas de cáscara, semilla y pulpa de cada uno de los estadios se calcinaron a una temperatura de 600°C durante 1 hora en un horno-mufla "warning" Sybron/Thermolina, hasta oxidar toda la materia orgánica y que el residuo o ceniza quedara de color blanco (Anexo IX).

Determinación de extracto etéreo.

Se utilizó un extractor de grasa "Bagnomaria" Modelo B.E.I. en donde los lípidos solubles en éter de petróleo fueron extraídos por arrastres sucesivos. Los beakers calentados al Baño María contenían el éter, el cual se evaporó y al condensarse en la zona fría del aparato pasó por la muestra extrayendo las sustancias solubles que se recibían en los mismos beakers. Este ciclo se repitió varias veces y cuando el proceso se completó se retiraron las muestras sin grasa para luego recuperar el éter por destilación. Los beakers con el extracto graso se trasladaron a una estufa a 80°C para eliminar el residuo de éter, luego se procedió a pesar los beakers con la grasa y éstos datos permitieron la cuantificación (Anexo IX).

Determinación de fibra cruda.

Después de determinar el extracto etéreo, las muestras sin grasas fueron sometidas a la determinación de fibra cruda, lo que se logró con un aparato "VELP SCIENTIFICA". Se aplicó el procedimiento de Van-Soest que se detalla en el Anexo IX. El fundamento de éste consistió en digerir las muestras con ácido sulfúrico y con hidróxido de potasio, después se lavaron con agua destilada y con acetona. El residuo insoluble en ácido y en hidróxido se conoce como "fibra cruda", la cual se cuantificó al encontrar la diferencia entre el peso de la muestra antes de ser calcinada y el peso de la muestra calcinada.

Determinación cuantitativa de carbohidratos solubles.

En la determinación cuantitativa de carbohidratos solubles en la cáscara, semilla y pulpa de cada estadio del fruto, se utilizó el método de diferencia, que consiste en restar de 100 la sumatoria de porcentajes de cada parte del fruto en los aspectos de humedad, proteína cruda, cenizas, extracto etéreo y fibra cruda (Bateman, 1970; MAG, 1979, citado por Cardona, 1983; AOAC, 1980) (Anexo IX).

Prueba cualitativa de carbohidratos solubles.

Para conocer los carbohidratos solubles presentes en cada parte del fruto (cáscara, jugo, pulpa y semilla verde, sa

zón y maduro) se realizó el análisis cualitativo siguiendo el procedimiento propuesto por Litwack (1967) (Anexo VII).

En la determinación antes descrita no se aplicaron estadísticos específicos porque los frutos fueron colectados al azar en diferentes plantas que ya se encontraban en la edad de producción, también las partes del fruto que sirvieron de muestras fueron homogenizadas para cada estadio, por tal razón solamente se utilizaron fórmulas estadísticas para encontrar con los promedios de los triplicados o duplicados la desviación estándar muestral (S) o margen de error de la media, (+).

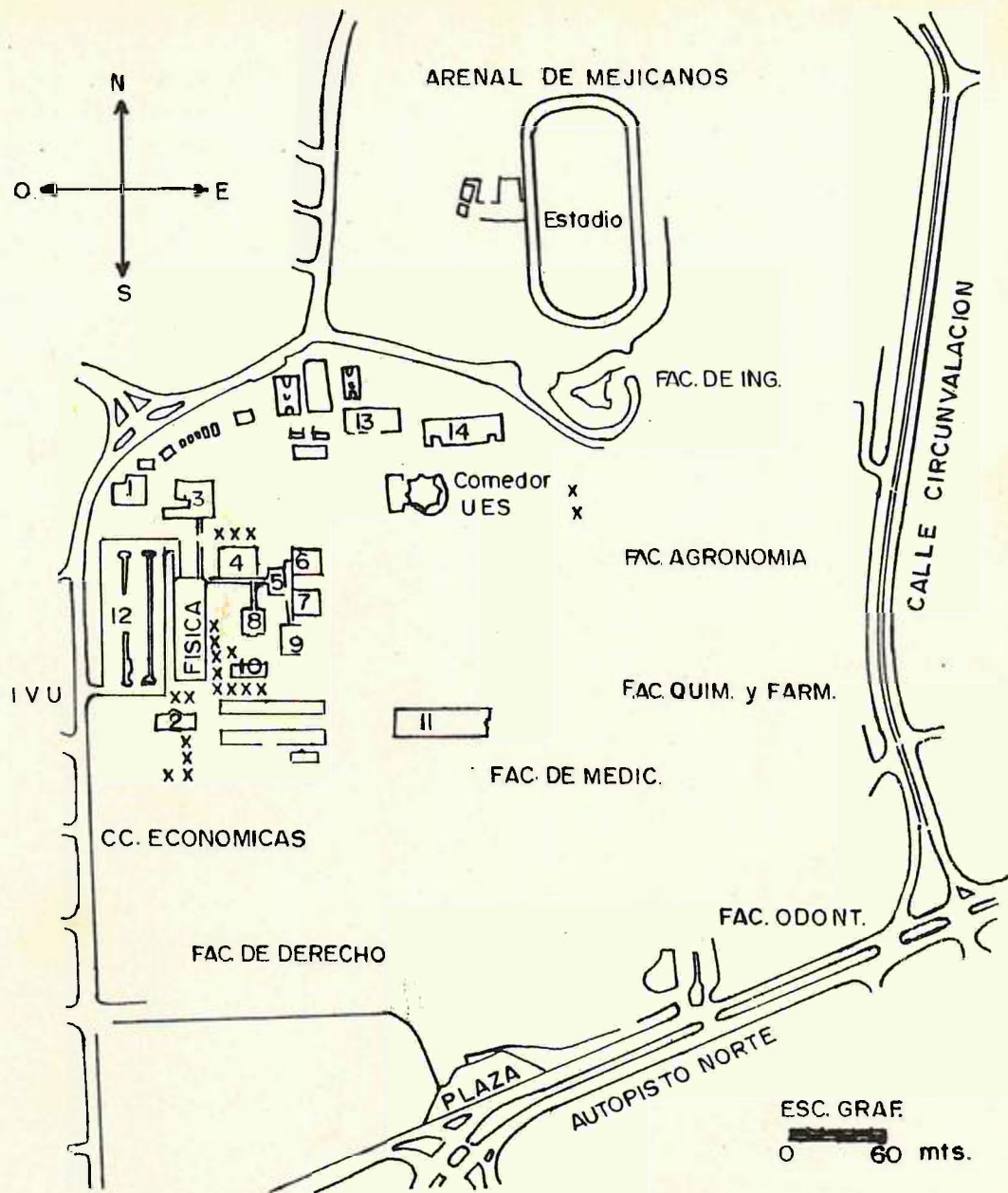


FIG. Nº. 1 UBICACION DE LAS PLANTAS DE " ketembilla " EN LA FACULTAD DE CC y HH DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.

XXXX PLANTAS DE " ketembilla "

- | | |
|-------------------------------|---------------------------------|
| 1 GIMNASIO | 8 AUD. 2 DE CC. HH. |
| 2 DECANATO DE CC. y HH. | 9 AUD. 3 DE CC. y HH. |
| 3 DEPTO. DE BIOLOGIA | 10 CABANA "C" DE CC. y HH. |
| 4 PREDIO DEPTO. SOCIOLOGIA | 11 DEPTO. EDUCACION |
| 5 ALMACEN DE BIOLOGIA | 12 ESTACIONAMIENTO DE CC. Y HH. |
| 6 LABORATORIO "A" DE BIOLOGIA | 13 DEPTO. DE FILOSOFIA |
| 7 LABORATORIO "B" DE BIOLOGIA | 14 DEPTO. DE PERIODISMO |

CARACTERISTICAS QUE DETERMINAN EL ESTADIO DEL FRUTO DE "KETEMBILLA"

ESTADIO DEL FRUTO	C A R A C T E R I S T I C A S						
	COLOR	TAMANO	SABOR	SEMILLA	JUGO	PULPA	CASCARA
Verde <i>Corteza</i>	Verde	Menor de 2 cms - de diá- metro.	Muy ácido	Verdes y blan- das.	Inco- loro, poco abun- dante	Esca- sa y verde.	Delga- da y verde.
Sazón <i>pulpa</i>	anaran- jado.	2 cms de diá- metro	agri- dul- ce.	amari- llas y resis- ten- tes.	Ana- ran- jado, abun- dan- te.	Abun- dante y ana- ranja- do.	Resis- tente anaran- jada.
Maduro	Rojo vio- leta	De 2 a 2.5 cms de diá- me- tro.	Más dul- ce que áci- do.	Rojo- viole- ta, y re- sis- tentes	Rojo- viole- ta, - muy abun- dan- te.	Abun- dante y ro- jo- vio- leta.	Resis- tente rojo- viole- ta.

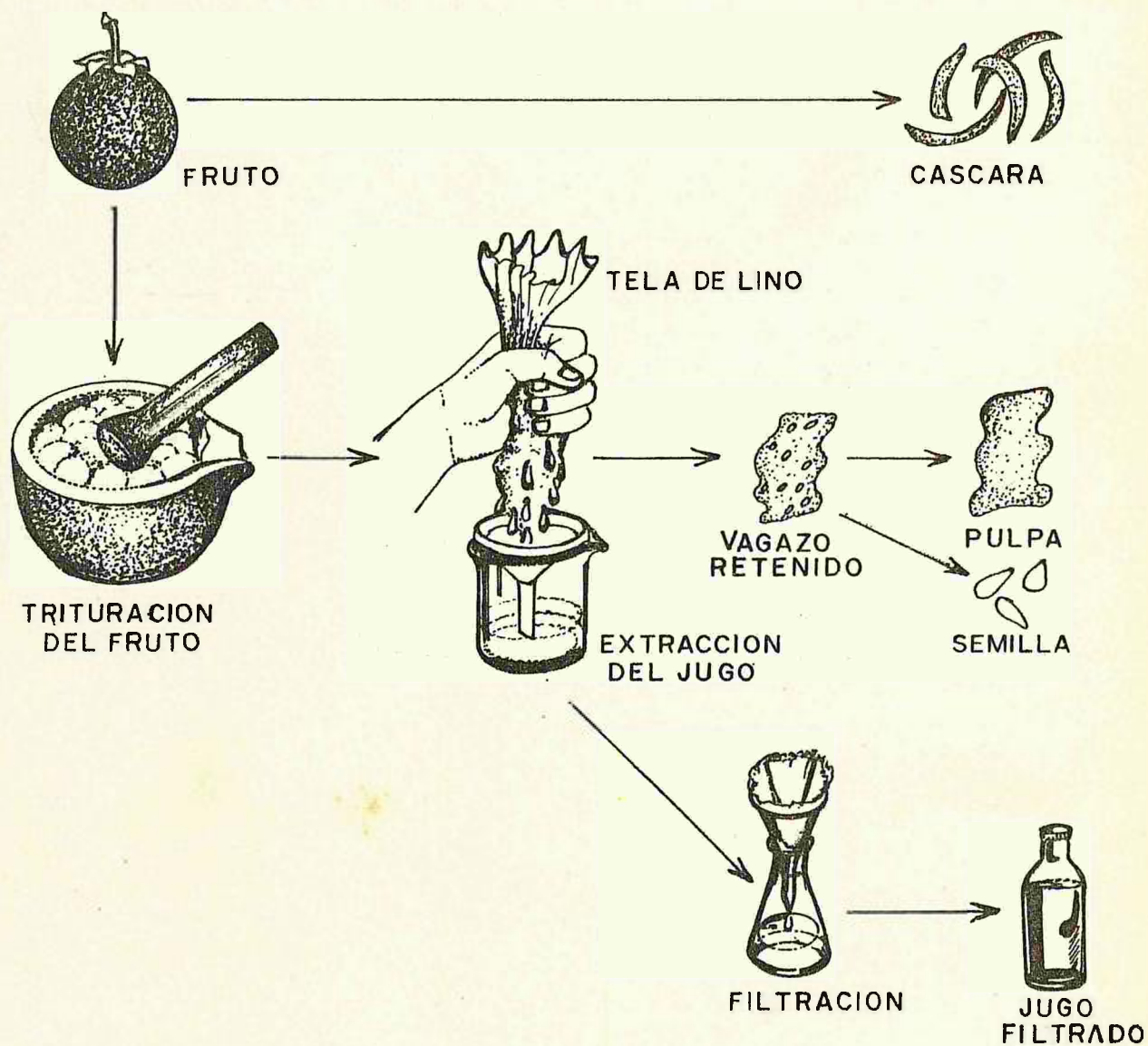


FIG. N°2 -PROCEDIMIENTO PARA SEPARAR LAS DIFERENTES PARTES DEL FRUTO DE "Ket embilla".-

RESULTADOS



Después de determinar y valorar bioquímicamente la cantidad de ácido ascórbico y otras sustancias que contienen el fruto de "ketembilla" en los estados verdes, sazón y maduro, se obtuvieron los resultados que a continuación se detallan:

La prueba cualitativa para ácido ascórbico por medio del titulante 2,6 diclorofenol-indofenol resultó positiva en el jugo de los frutos verde, sazón y maduro, ya que se obtuvo el color rosado estable que especifica el método aplicado.

La cantidad de ácido ascórbico se calculó tomando como base las titulaciones que se resumen en el cuadro No. 2, en donde se muestran que el jugo del fruto verde contiene un promedio de 0.2901 mg/ml, el sazón un promedio de 0.4062 mg/ml y el maduro un promedio de 0.2321 mg/ml. Los miligramos de vitamina "C" por cada 100 ml de jugo fueron: 29.01 en el fruto verde, 40.62 en el sazón y 23.21 en el maduro (cuadro No. 3), en donde puede observarse que la mayor cantidad se determinó en el fruto sazón.

El otro método que permitió valorar la vitamina "C" en el jugo del fruto, con base en ácido ascórbico cristalizado de Roche USP XXI (1985) y que se aplicó con fines de comparación, dió los valores que se encuentran en el cuadro No.4; encontrándose que el fruto en estado sazón contiene también la mayor cantidad de vitamina "C".

Los resultados del análisis bromatológico de la cáscara, semilla y pulpa del fruto se resumen en el cuadro No. 5, en el cual se puede observar que la humedad tiene sus mayores porcentajes en la pulpa del fruto en sus tres estadios y el menor porcentaje lo tiene la semilla del fruto maduro.

En cuanto a la proteína cruda se encontró porcentajes elevados en la semilla de los tres estadios del fruto, mientras que en la pulpa del estado sazón se determinó el porcentaje menor.

Las cenizas se encontraron con los mayores porcentajes en la pulpa del fruto en sus tres estadios y los menores corresponden a las semillas del fruto siempre en sus tres estadios.

En relación con el extracto etéreo, se encontró que los porcentajes de grasa más elevados corresponden a las semillas de los tres estadios del fruto y los bajos a la cáscara y pulpa del fruto maduro.

Se determinó que la fibra cruda tiene los porcentajes más altos en la cáscara del fruto en sus tres estadios, mientras que la pulpa del fruto contiene los porcentajes menores.

Con respecto a los valores obtenidos para carbohidratos solubles se comprobó, que se encuentran en mayor cantidad en las semillas del fruto maduro y sazón, en cambio hay menor cantidad en la pulpa del fruto.

En el cuadro No. 6, se detallan los resultados del análisis de los carbohidratos solubles que se identificaron cualitativamente en las cuatro partes del fruto que se establecen, siendo estos : glucosa, fructosa, sacarosa y una pentosa no determinada. Se encontró que los mayores contenidos de estos azúcares están en el jugo, pulpa y semilla del fruto maduro.

La prueba del lugol resultó negativa en todos los casos, lo que indica la ausencia de almidón.

CUADRO No. 2

TITULACIONES PARA CALCULAR LA CANTIDAD DE ACIDO
ASCORBICO EN EL JUGO DEL FRUTO DE "KETEMBILLA"
POR EL METODO DE OXIDO-REDUCCION.

ESTADIO DEL FRUTO	NUMERO DE LA MUESTRA	*TITULANTE UTILIZADO PARA EL - JUGO	*TITULANTE UTILIZADO PARA EL - BLANCO	*TITULANTE UTILIZADO PARA ASCOR BICO PATRON	ACIDO ASCORBICO CALCULADO mg/ml JUGO
V E R D E	1	0.50 ml	0.10 ml	46.10 ml	0.3478
	2	0.40 ml	0.10 ml	46.00 ml	0.2614
	3	0.40 ml	0.10 ml	46.05 ml	0.2611
	\bar{X}	0.4333 ml	0.10 ml	46.05 ml	0.2901
	S	0.0577	0.00	0.05	0.049
S A Z O N	1	0.60 ml	0.10 ml	46.10 ml	0.4347
	2	0.60 ml	0.10 ml	46.00 ml	0.4357
	3	0.50 ml	0.10 ml	46.05 ml	0.3482
	\bar{X}	0.5666 ml	0.10 ml	46.05 ml	0.4062**
	S	0.0577	0.00	0.05	0.0502
M A D U R O	1	0.30 ml	0.10 ml	46.10 ml	0.1739
	2	0.40 ml	0.10 ml	46.00 ml	0.2614
	3	0.40 ml	0.10 ml	46.05 ml	0.2611
	\bar{X}	0.3666 ml	0.10 ml	46.05 ml	0.2321
	S	0.0577	0.00	0.05	0.0504

* : Titulante utilizado 2,6 diclorofenol-indofenol.

** : Mayor contenido de vitamina "C".

\bar{X} : Promedios

S : Desviación estándar.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
"CENTRO DE DOCUMENTACION
DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA"
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES

CUADRO No. 3

VALORES DE ACIDO ASCORBICO EN EL JUGO DEL FRUTO DE "KETEMBILLA" EN BASE AL TITULANTE ESTANDARIZADO DEL METODO DE OXIDO-REDUCCION. *

	ACIDO ASCORBICO EN mg/100 ml DE JUGO		
	Jugo de fruto verde	Jugo de fruto sazón	Jugo de fruto maduro
\bar{X}	29.01 mg/100 ml	40.62 mg/100 ml **	23.21 mg/100 ml
S	0.0499	0.0502	0.0504

* = Titulante 2,6 diclorofenol-indofenol estandarizado (Anexo X).

** = Mayor contenido de vitamina "C".

\bar{X} = Promedios

S = Desviación estándar.

CUADRO No. 4

VALORES DE ACIDO ASCORBICO EN EL JUGO DEL FRUTO DE "KETEMBILLA" SEGUN EL METODO FARMACEUTICO DE ROCHE USP XXI*

No. DE LA MUESTRA	ACIDO ASCORBICO EN mg/100 ml DE JUGO		
	Jugo de fruto verde	Jugo de fruto sazón	Jugo de fruto maduro
1	53.0	69.0	57.0
2	59.8	76.3	70.0
3	61.7	79.2	72.3
\bar{X}	58.16	74.83**	66.43
S	4.57	5.25	8.25

* : En base a ácido ascórbico cristalizado

** : Mayor contenido de vitamina "C".

\bar{X} : Promedios

S : Desviación estándar.

CUADRO No. 5

RESUMEN DEL ANALISIS BROMATOLOGICO POR EL SISTEMA PROXIMAL
DE WEENDE EN TRES PARTES DEL FRUTO DE "KETEMBILLA".

COMPONENTE ANALIZADO	COMPOSICION POR CADA 100 g DE MUESTRA			
	PARTE DEL FRUTO	FRUTO VERDE	FRUTO SAZON	FRUTO MADURO
% HUMEDAD	Cáscara	70.61 ± 0.53	69.86 ± 0.48	76.20 ± 3.33
	Semilla	68.52 ± 1.10	65.29 ± 0.99	45.17 ± 0.61
	Pulpa *	81.96 ± 0.05	80.90 ± 0.05	79.35 ± 0.01
% PROTEINA CRUDA (% N x 6.25).	Cáscara	1.73 ± 0.07	1.74 ± 0.05	1.31 ± 0.20
	Semilla*	2.47 ± 0.15	1.89 ± 0.005	1.91 ± 0.11
	Pulpa	1.53 ± 0.02	0.67 ± 0.11	0.98 ± 0.04
% CENIZAS	Cáscara	1.27 ± 0.09	1.41 ± 0.13	1.16 ± 0.09
	Semilla	0.77 ± 0.07	0.68 ± 0.10	0.56 ± 0.11
	Pulpa *	3.56 ± 0.10	1.78 ± 0.15	3.10 ± 0.05
% EXTRACTO ETEREO (GRASAS)	Cáscara	1.62 ± 0.01	1.21 ± 0.05	1.08 ± 0.06
	Semilla *	8.55 ± 0.20	7.43 ± 0.03	6.24 ± 0.06
	Pulpa	1.31 ± 0.17	1.29 ± 0.04	0.97 ± 0.02
% FIBRA CRUDA	Cáscara*	4.93 ± 0.13	4.57 ± 0.69	3.90 ± 0.01
	Semilla	3.01 ± 0.37	3.31 ± 0.06	3.53 ± 0.01
	Pulpa	1.22 ± 0.03	1.26 ± 0.01	1.31 ± 0.02
% CARBOHI- DRATOS **	Cáscara	19.84 ± 0.65	21.21 ± 0.08	16.35 ± 3.37
	Semilla*	16.68 ± 1.05	21.40 ± 0.87*	42.59 ± 0.69*
	Pulpa	10.42 ± 0.34	14.10 ± 0.04	14.29 ± 0.04

* : Con los mayores contenidos del componente analizado.

** : 100- SUMATORIA DE (Humedad + proteína cruda + cenizas + extracto etéreo + fibra cruda) DE CADA PARTE DEL FRUTO.

CUADRO No. 6

PRUEBAS CUALITATIVAS PARA CARBOHIDRATOS -
SOLUBLES SEGUN EL PROCEDIMIENTO DE LITWACK.

PARTES DEL FRUTO		MOLISH	LUGOL	BAR-FOED	ORCINOL HCL DE BIAL	SELIWA-NOFF.	FLURO-GLUCINOL TOLLENS	FENILHIDRACINA PARA OSAZON AS.
V E R D E	Cáscara	+	-	-	-	-	-	-
	Jugo	+	-	Disacárido.	-	-	-	Glucosazona (sacaro- sa*)
	Pulpa	+	-	Disacárido.	-	-	-	Glucosazona (sacaro- sa*)
	Semilla	+	-	Monosácarido	Hexosa	Fructosa, glu- cosa *	Pentosa	Glucosazona (sacaro- sa).
S A Z O N	Cáscara	+	-	-	-	-	-	-
	Jugo	+	-	Disacárido.	-	Glucosa **	-	Glucosazona (sacaro- sa) **
	Pulpa	+	-	Disacárido.	-	-	-	Glucosazona (sacaro- sa) **
	Semilla	+	-	Monosácarido.	Hexosa	Fruct. Glucosa **	Pentosa	Glucosazona (gluco- sa).
M A D U R O	Cáscara	+	-	-	-	-	-	-
	Jugo	+	-	Disacárido.	-	Glucosa ***	-	Glucosazona (sacaro- sa) ***
	Pulpa	+	-	Disacárido	-	-	-	Glucosazona (sacaro- sa) ***
	Semilla	+	-	Monosácarido.	Hexosa	Fruct. glucosa ***	Pentosa	Glucosazona (sacaro- sa) ***

*** : Mayores contenidos de carbohidratos

+ : Reacción positiva

- : Reacción negativa

DISCUSION

Se comprobó la presencia del ácido ascórbico o vitamina "C" en el jugo de los frutos verdes, sazones y maduros de "ketembilla" debido a que el punto final de las titulaciones se obtuvo el color rosado estable que especifica el método de oxidación-reducción, tal como lo establece Winton & Barber (1956); Strohecker (1967); Montes (1969); Stahl (1969); Granados de Velásquez (1972); Manzur & Hashmi (1972); AOAC (1980); Magaña (1981); Plummer (1981). El resultado concuerda también con lo reportado por Mortensen & Bullard (1971) quienes comprobaron la presencia de vitamina "C" en el fruto de "ketembilla", sin determinar las cantidades.

Al comparar los resultados del método 2, 6 diclorofenol-indofenol con el de productos farmacéuticos estabilizados de Roche, se encontró que hay variación, debido a que el primero determinó 40.62 mg/100 ml de jugo y el segundo 74.83 mg/100 ml de jugo, ambos del fruto sazón, lo cual se debió a que el primer método valora sólo la forma reducida del ácido ascórbico, en cambio el segundo método valora la forma oxidada y reducida de ese compuesto (forma total).

La biosíntesis del ácido ascórbico a partir de la glucosa que describen Cantarow & Schepartz (1969), explica que este ácido pierde su equilibrio con el ácido L-dehidroascórbico -- cuando faltan agentes reductores con el grupo HS- , entonces

la glucosa en su vía hacia ácido ascórbico se detiene en forma de ácido L-gulónico, el cual es oxidado por el NAD para formar ácido 3-ceto-L-gulónico que se traduce en L-xilulosa, la cual siguiendo la vía del fosfato de pentosa regenera a la D-glucosa. Este ciclo descrito podría explicar el por qué el fruto maduro tiene menos vitamina "C" que el fruto sazón.

El INCAP-ICNND (1961), reportan que el contenido de ácido ascórbico en el fruto es de 98 mg/100 g de porción comestible. Este dato es todavía mayor que cualquiera de los valores obtenidos en este trabajo.

Los resultados difieren debido a que el INCAP-ICNND(1961) trabajaron con el contenido en la porción comestible total y además valoraron el ácido ascórbico total que comprende las formas reducida y oxidada de ese compuesto; en cambio los valores que se reportan en este trabajo se refieren sólo al jugo del fruto y la determinación se realizó investigando únicamente la forma reducida del compuesto.

En la tabla de composición de alimentos para uso en América Latina del INCAP-ICNND (1961), se encuentran los resultados del análisis bromatológico del fruto de "abería" o "re-tembilla" (Anexo VI), los cuales al ser comparados con los obtenidos en este trabajo se puede observar que los contenidos son diferentes, lo que probablemente se debe a que en este caso se analizaron las partes del fruto por separado en los tres esta--

dios, en cambio los del INCAP-ICNND (1961) se han obtenido por el análisis total del fruto, tomando como base 100 g de la porción comestible. Sin embargo en forma general, los valores de humedad oscila entre el 45.17% que contiene la semilla del fruto maduro y 81.96% que posee la pulpa del fruto verde, lo que se aproxima al 82.8% que presentan en dicha tabla.

En relación con los demás componentes alimenticios se determinó que son mayores que los de la tabla citada. Para el caso el porcentaje de proteína cruda se encontró entre 1.89% en las semillas del fruto sazón y 2.47% en las del verde, por lo tanto se determinó que la semilla constituye la principal fuente; esto concuerda con lo establecido por Devlin (1975) quien reportó la existencia de proteínas de reserva en los cotiledones o en el endosperma, los cuales sufren una lisis masiva durante la germinación, lo que es paralelo a la rápida síntesis de proteínas que tendrán su sede en el embrión en el cual también se ha detectado acumulación de aminoácidos y amidas.

Las cenizas se encontraron en mayor cantidad en la pulpa, cuyo porcentaje oscila entre 1.78% del fruto sazón al 3.56% en el fruto verde. La pulpa del fruto por contener el mayor porcentaje de cenizas indica mayor contenido de minerales los cuales ya están en función de la materia orgánica y el total de nutrimentos digeribles.

"CENTRO DE DOCUMENTACION
DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA"
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

Con respecto al contenido de grasa del extracto etéreo se encontró que predomina en las semillas. Sus valores oscilan entre 6.24% en el fruto sazón y 8.55% en el fruto verde. El mayor porcentaje de grasa se esperaba encontrarlo en la semilla del fruto maduro, por estar relacionado con la fuente secundaria de energía del embrión; sin embargo el mayor valor fue para la semilla verde, posiblemente debido al margen de error en el análisis.

La fibra cruda se encontró con mayor contenido en la cáscara del fruto que van del 3.90% en el maduro al 4.93% en el verde. De acuerdo a Bateman (1970) el alto contenido en la cáscara del fruto está en relación con los componentes estructurales de la misma que contiene celulosa y lignina, que son indigeribles por el humano. Se determinó que la se milla le corresponde el segundo lugar en contenido de fibra cruda debido a que la envoltura de éstas tiene una estructura parecida a la de la cáscara.

Los valores obtenidos para carbohidratos solubles oscilan entre el 10.42% que posee la pulpa del fruto verde, al 42.59% de las semillas del fruto maduro; por lo tanto el 14.6% que reporta el INCAP-ICNND (1961) cae dentro del rango encontrado de este trabajo. Por otra parte, según Bateman (1970), los mayores contenidos de carbohidratos están presentes en la semilla como fuente primaria de energía que viabiliza la germinación, reportando además que en la cáscara del fruto -

no hay carbohidratos solubles por estar constituida de celulosa y lignina.

En el presente trabajo tampoco fue evidente la presencia de almidón en ninguna de las partes del fruto posiblemente - por la carencia de las enzimas que polimerizan a la glucosa.

Cantarow & Schepartz (1969); Lehninger (1984), reportan que la mayor parte de vegetales y algunos animales superiores sintetizan el ácido ascórbico a partir de la glucosa. Esto - podría explicar por qué en el jugo del fruto sazón la glucosa se transforma fácilmente en ácido ascórbico, pero en el jugo del fruto maduro esa vía metabólica se detiene por la falta - de agentes reductores con grupos HS- y entonces la glucosa se regenera por la vía del fosfato de pentosa. Lo cual podría - explicar el por qué hay más glucosa en el jugo del fruto maduro.

Los análisis cualitativos y cuantitativos de carbohidra--tos solubles realizados en este trabajo coinciden en cuanto a que detectan mayores cantidades en las partes del fruto maduro, especialmente la semilla, Esto con base a lo observado al microscopio, se encontró mayor número de cristales caracterís--ticos de fructosa, glucosa y sacarosa. En relación con el aspectos cuantitativo, lo explica el mayor porcentaje encontrado en las semillas maduras que fue de 42.59%.

CONCLUSIONES

Los valores obtenidos en la determinación del ácido ascórbico con los métodos empleados en este trabajo, indican claramente que el mayor contenido corresponde al fruto sazón, por lo tanto sería recomendable su consumo en este estadio, como fuente de dicha vitamina.

La composición química proximal del fruto en base seca se distribuye en forma siguiente: 45.17% a 81.96% de humedad - en la pulpa del fruto, 6.24% a 8.55% de grasas en la semilla, 10.42% a 42.59% de carbohidratos solubles en la semilla. Con base a los resultados obtenidos es recomendable que los frutos se coman frescos, para mantener la estabilidad de la vitamina "C" y aprovechar su valor nutritivo.

Es importante hacer investigaciones sobre las formas de cultivo y propagación que conduzcan a la obtención de grandes producciones, lo mismo que de técnicas de fitomejoramiento que permitan desarrollar frutos de mejor calidad con el objeto de utilizarlos para diferentes fines: industria de conservas, jaleas, jugos y jarabes.

La planta de "ketembilla" (Dovyalis hebecarpa) es importante como recurso de uso múltiple: alimenticio, médico-preventivo, ornamental y apropiado para reforestación; por lo que se recomienda introducirla a los huertos escolares y caseros.

Con base en los resultados de este trabajo se cree necesari-

40

no realizar mayor número de análisis, utilizando el método oficial de la AOAC, con el fin de detectar mayores niveles de vitamina "C".

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
"CENTRO DE DOCUMENTACION
DEL DEPARTAMENTO DE BILIBIOTA"
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES

LITERATURA CITADA

- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. 1980. *Official Methods of the AOAC. 17th. Edition.* AOAC. Washington, - D.C. 1018 pp.
- AVILES, D. M. J. 1979. *Influencia del calor en la estabilidad del ácido ascórbico en el tomate (Lycopersicum esculentum) y guisquil (Sechium edule). Cuantificación por fluorometría.* Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. Tesis de Licenciatura. 68 pp.
- BARRET, O. W. 1930. *Los Cultivos Tropicales.* Editorial Cultural, S.A. La Habana. 525 pp.
- BATEMAN, J. V. 1970. *Nutrición Animal, Manual de Métodos Analíticos.* Editorial Herrero Hermanos Sucesores, S.A. México. 468 pp.
- BATES, J. C. 1981. *Simposio sobre la vitamina "C", Resumen de Ponencias.* Universidad de Warwick, Coventry, Inglaterra. 7 pp.
- BEVAN, J. A. 1982. *Fundamentos de Farmacología. 2a. Edición.* Editorial Harla. México. 825 pp.
- BURTON, B. T. 1969. *Nutrición Humana. 2a. Edición.* Organización Panamericana de Salud. Washington D.C. 520 pp.
- CABEZAS DE ALLWOOD, A. 1984. *Manual de Farmacología Clínica.* Editorial EPACTA. San Salvador, El Salvador. 619 pp.

- CANTAROW, A. & B. SCHEPARTZ. 1969. *Bioquímica*. 4a. Edición Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V. México, D.F. 874 pp.
- CARDONA E., L. I. 1983. Estudio exploratorio sobre el potencial químico y económico del "barillo" (Calophyllum brasiliense). Departamento de Biología. Facultad de Ciencias y Humanidades, Universidad de El Salvador. Tesis de Licenciatura. 60 pp.
- CASTRO, R. J.; M. HANDEL & G. B. RIVOLTA. 1981. Actualizaciones en Biología. Editorial Universitaria de Buenos Aires. 179 pp.
- CRONQUIST, A. 1982. *Introducción a la Botánica*. Segunda Edición. Editorial Continental, S.A. de C.V. México. 848 pp.
- DEVLIN, R. M. 1975. *Fisiología Vegetal*. Segunda Edición. Editorial Pueblo y Educación, Plaza de la Revolución. Ciudad de La Habana. 468 pp.
- DOMINGUEZ, X. A. 1973. *Métodos de Investigación Fitoquímica*. Editorial Limusa, S. A. México, D. F. 281 pp.
- _____. 1975. *Cromatografía en papel y en capa delgada*. Monografía No. 16 Editora Eva V. Chesneau. Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey - N. L. México. 78 pp.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
"CENTRO DE DOCUMENTACION
DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA"
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES

- FRATOW, J. S. & S. SIMMONDS. 1959. *General Biochemistry - Second Edition*. Editora John Wiley & Sons Inc. New - - York. 1077 pp.
- FULLER, H. J.; Z. B. CAROTHERS; W. W. PAYNE & M. K. BALBACH. 1974. *Botánica. Quinta Edición*. Nueva Editorial Interamericana, S. A. de C. V. México, D. F. 512 pp.
- GRANADOS DE VELASQUEZ, M. E. 1972. *Métodos de valoración de vitamina "C"*. Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. Tesis Doctoral. 78 pp.
- GINTER, E. 1981. *Símpoio sobre vitamina "C"*. Resumen de Ponencias. Universidad de Warwick, Coventry, Inglaterra. 7 pp.
- HIGUCHI, T. & E. BRÖCHMANN-HANSEN. 1961. *Pharmaceutical - Analysis* Interscience Publishers. 228 pp.
- HUGHES, R. E. 1981. *Símpoio sobre vitamina "C"*. Resumen - de Ponencias. Universidad de Warwick, Coventry. Inglaterra. 7 pp.
- INSTITUTO DE NUTRICION DE CENTRO AMERICA Y PANAMA (INCAP) Y - COMITE INTERDEPARTAMENTAL DE NUTRICION PARA LA DEFENSA NACIONAL (ICNND). 1961. *Tabla de Composición de Alimentos para Uso en América Latina*. Edición del INCAP-ICNND. Ciudad de Guatemala, Guatemala, C. A. 158 pp.
- KENNARD, W. C. & F. W. HAROLD. 1963. *Frutos y Nueces para el Trópico*. Centro Regional de Ayuda Técnica, Agencia para el Desarrollo -- (AID). Editorial Limusa-Wiley, S.A. México, D. F. 177 pp.

- KOEPPEL, W. 1948. *Climatología. Fondo de la Cultura Económica. México, D.F. 248 pp.*
- LEHNINGER, A. L. 1972. *Bioquímica. Ediciones Omega, S.A. Barcelona. 887 pp.*
- _____. 1984. *Bioquímica. Las Bases Moleculares de la Estructura y Función Celular. 2a. Edición. Ediciones Omega, S.A. Barcelona. 1117 pp.*
- LEON, J. 1968. *Fundamentos Botánicos de los Cultivos Tropicales. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la O.E.A. San José, Costa Rica. 487 pp.*
- LITWACK, G. 1967. *Bioquímica Experimental, un Manual de Laboratorio. Ediciones Omega, S.A. Barcelona, España. 343 pp.*
- MAGANA, T. H. 1981. *Estudio de la Utilización Industrial de las Frutas Tropicales en El Salvador. Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería y Arquitectura. Universidad de El Salvador. Licenciatura en Nutrición. -- 149 pp.*
- MANZUR, U. L. & H. HASHMI. 1972. *Assay of Vitamins in Pharmaceutical Preparation. London. John Willey & Sons. 418 pp.*
- MAYNARD, A. H. 1970. *Methods in Food Analysis Physical, Chemical and Instrumental Methods of Analysis College of Agricultural Sciences, Second Edition. Department of Nutritional Sciences, University of California. 538 pp.*
- MERTZ, E. T. 1971. *Bioquímica. Publicaciones Cultural, S.A. México, D.F. 352 pp.*

- MILLER, E.C. 1967. *Fisiología Vegetal*. Unión Tipográfica. Editorial Hispanoamericana (UTEHA). México. 415 pp.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA (MAG). 1983. *Almanaque Salvadoreño*. Centro de Desarrollo de los Recursos - Naturales. División de Meteorología e Hidrología. Servicio Meteorológico, Soyapango, El Salvador. 96 pp.
- MINISTERIO DE OBRAS PUBLICAS (MOP). 1979. *Atlas de El Salvador*. Tercera Edición. Instituto Geográfico Nacional "Ing. Pablo Arnoldo Guzmán". San Salvador. 89 pp.
- MONTES, A. L. 1969. *Bromatología*. Tomo II. Editorial de Buenos Aires. 568 pp.
- MORTENSEN, E. & E. BULLARD. 1971. *Horticultura Tropical y Sub-Tropical*. 2a. Edición. Centro Regional de Ayuda - Técnica (AID). México-Buenos Aires. 182 pp.
- OCHSE, J. J.; M. J. SOULE; M. J. DIJKMAN & C. WEHLBURG. 1972. *Cultivo y Mejoramiento de Plantas Tropicales y Subtropicales*. Editorial Limusa-Wiley, S.A. México D.F. Tomo - I. 828 pp.
- OHSHIMA, H. 1981. *Símpoio sobre vitamina "C"*. Resumen de Ponencias. Universidad de Warwick, Coventry, Inglaterra. 7 pp.
- PARODI, L. R. 1959. *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*. Editorial Acme S.A. C.I. Buenos Aires.- Volumen I. 931 pp.

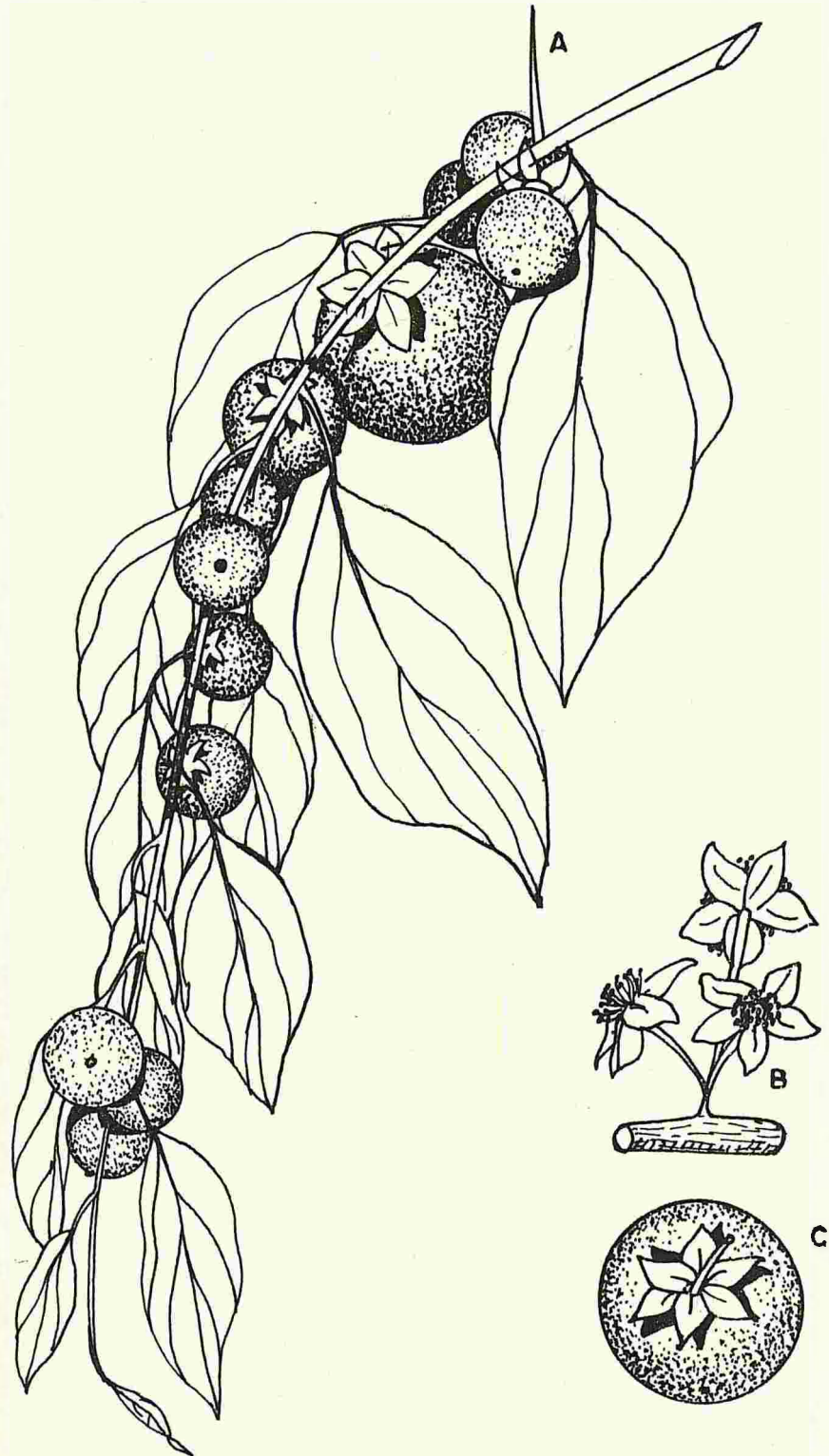
- PLUMMER, D. T. 1981. *Introducción a la Bioquímica Práctica*. 2a. Edición. Editorial Mc-Graw-Hill Latinoamericana, -- S.A. Bogotá, Colombia. 386 pp.
- PRODUCTOS ROCHE DE CENTROAMERICA, S.A. 1981. *Servicio de Información de la División de Vitaminas*. Editora Productos Roche, Sucursal Guatemala, Guatemala. 13 pp.
- QUER, F. 1974. *Botánica Pintoresca*. Editorial Ramón Sopena, S.A. Barcelona, España. 719 pp.
- REYES, C., P. 1983. *Bioestadística Aplicada*. Agronomía. Biología. Química. Editorial Trillas, S.A. de C. V. México, D. F. 216 pp.
- STAHL, E. 1969. *Thin-Layer Chromatography a Laboratory Handbook*. Second Edition. Springer-Verlag Berlín. Heidelberg. New York. 1041 pp.
- STRASBURGER, E.; F. NOLL; H. SCHENCK. & A. F. W. SCHIMPER. 1971. *Tratado de Botánica*. Quinta Edición Española. Editorial Marín, S. A., Barcelona, España. 651 pp.
- STROHECKER, H. H. M. 1967. *Análisis de Vitaminas, Métodos - Comprobados*. Editorial Paz Montalvo. 932 pp.
- THE UNITES STATES PHARMACOPEIA (USP). 1975. *Nineteenth Revision*. Editorial Twinbreck Parway Inc. 1118 pp.
-
1985. *Twenty Firsth - Revision*. Editorial Twinbreck Parway Inc. 1210 pp.
- TOPOREK, M. 1984. *Bioquímica*. 3a. Edición. Nueva Editorial - Interamericana, S.A. de C.V. México, D. F. 523 pp.

- WINTON, A. L. & K. BARBER WINTON. 1957. *Análisis de Alimentos*. Editorial Continental, S.A. México, D. F. 420 pp.
- WOOD, R. C. 1961. *Agricultura Tropical*. Centro Regional de Ayuda Técnica. Admón. de Cooperación Internacional (ICA), México. 296 pp.

"CENTRO DE DOCUMENTACION
DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA"
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

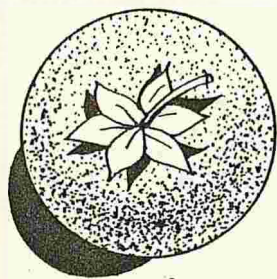
ANEXO I

ESQUEMA DE UNA RAMA DE "KETEMBILLA" TAMAÑO NATURAL
A) ESPINAS, B) FLORES AUMENTADA DOS VECES, C) FRUTO TAMAÑO
NATURAL.

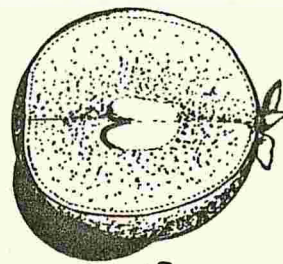


ANEXO II

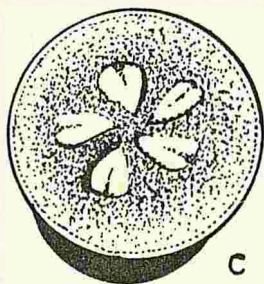
ESQUEMAS DEL FRUTO DE " KETEMBILLA; A) FRUTO ENTERO TAMAÑO NATURAL, B) CORTE LONGITUDINAL, C) CORTE TRANSVERSAL, D) SEMILLA AUMENTADA TRE VECES.-



A

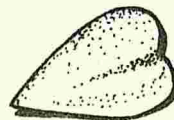


B



C

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
CENTRO DE DOCUMENTACION
L.L. DEPARTAMENTO DE BIOLGIA
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES

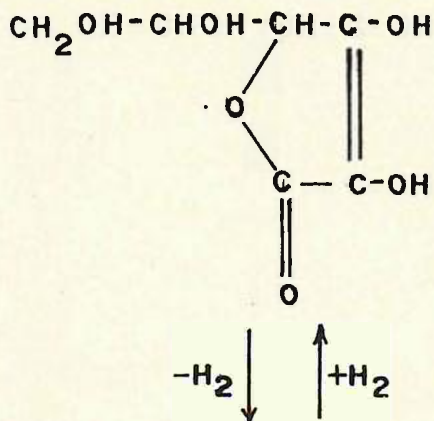


D

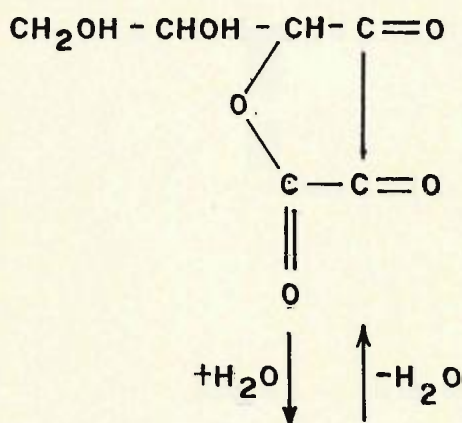
ANEXO IV

METABOLISMO DEL ACIDO ASCORBICO
SEGUN CANTAROW & SCHEPARTZ (1969).

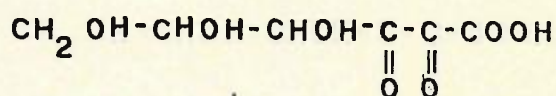
Acido L-ascórbico



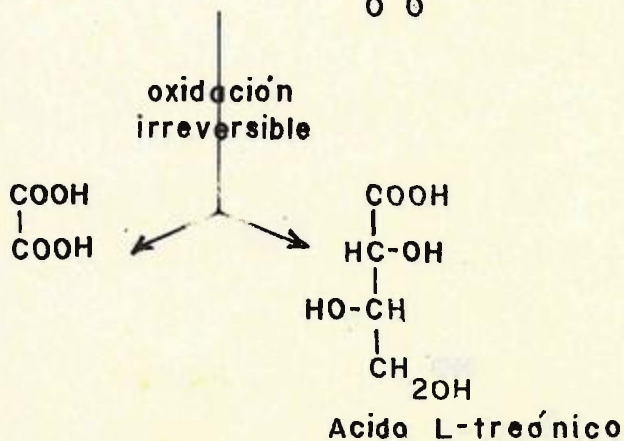
Acido dehidroascórbico



Acido dicetogulónico

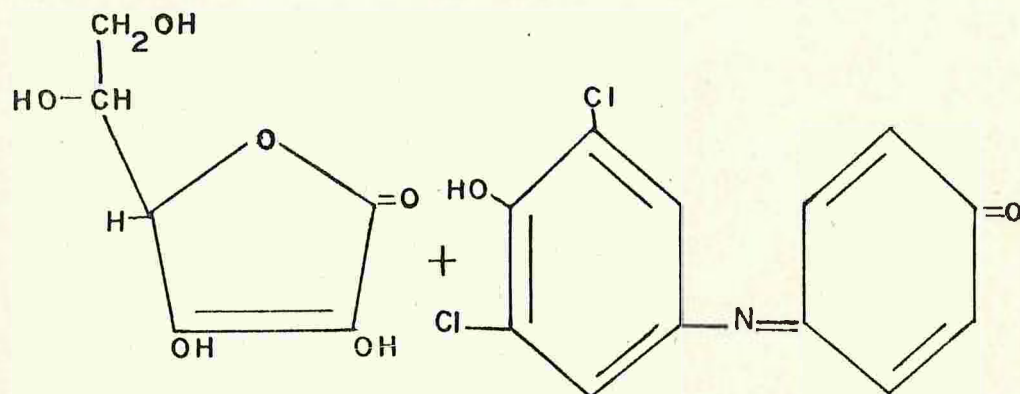


Acido oxálico



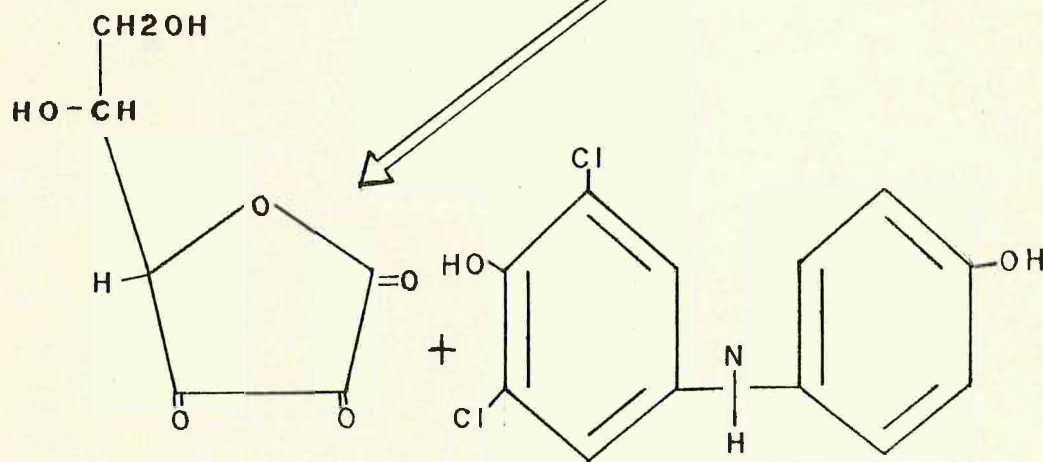
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
 CENTRO DE DOCUMENTACION
 DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
 FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES

POSIBLE REACCION RED-^{OX} UTILIZADA EN LA TITULACION DEL
ACIDO L-ASCORBICO. (PLUMMER, 1981).



Acido L-ascórbico
(REDUCIDO)

2,6 diclorofenol-indofenol
(AZUL)



Acido dehidroascórbico
(OXIDADO)

2,6 diclorofenol-indofenol
(REDUCIDO - INCOLORO)

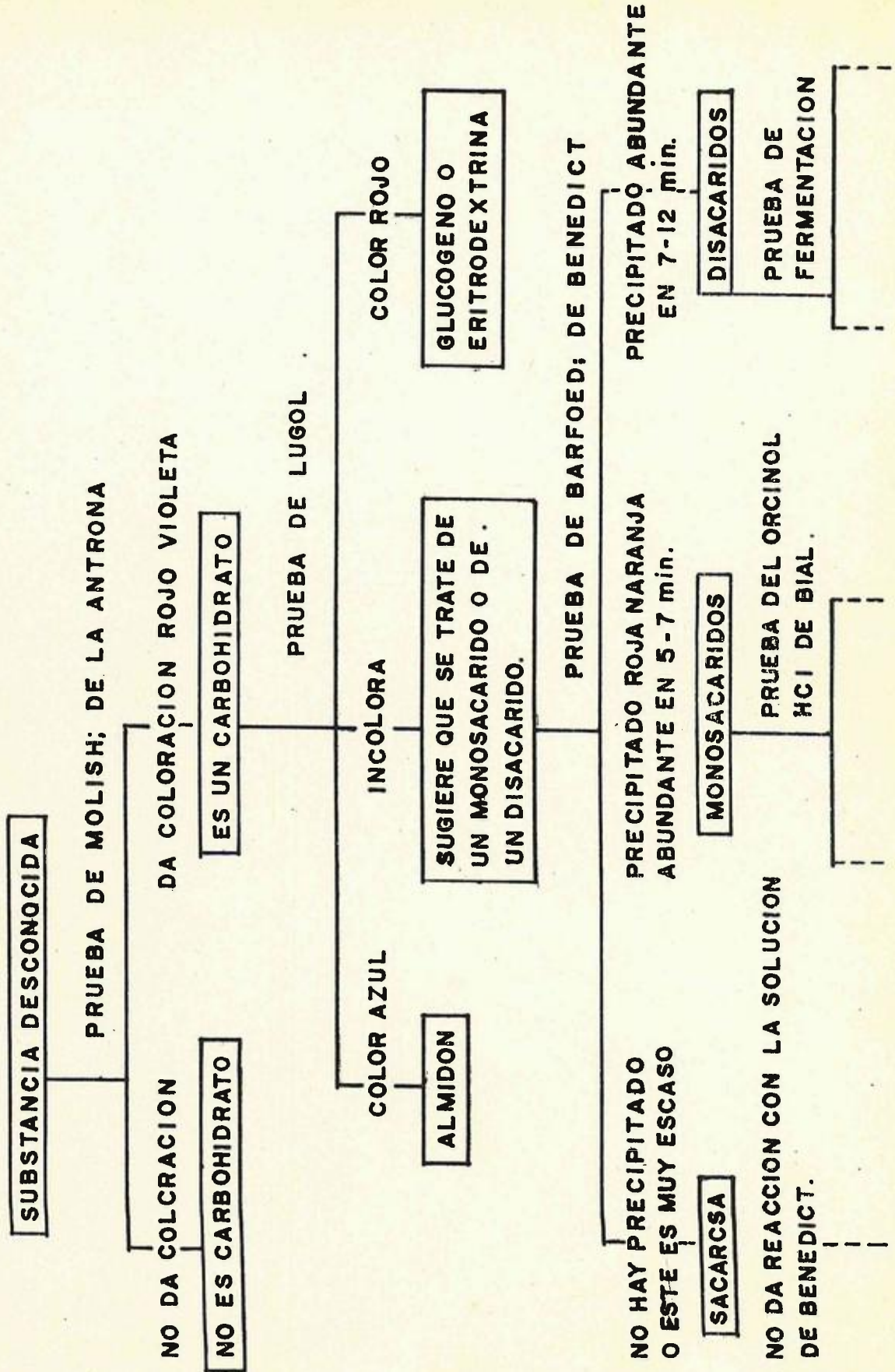
ANEXO VI

RÉSULTADOS DEL ANALISIS BROMATOLOGICO DEL FRUTO DE
 "aberia" O "ketembilla" (INCAP-ICNND, 1961)

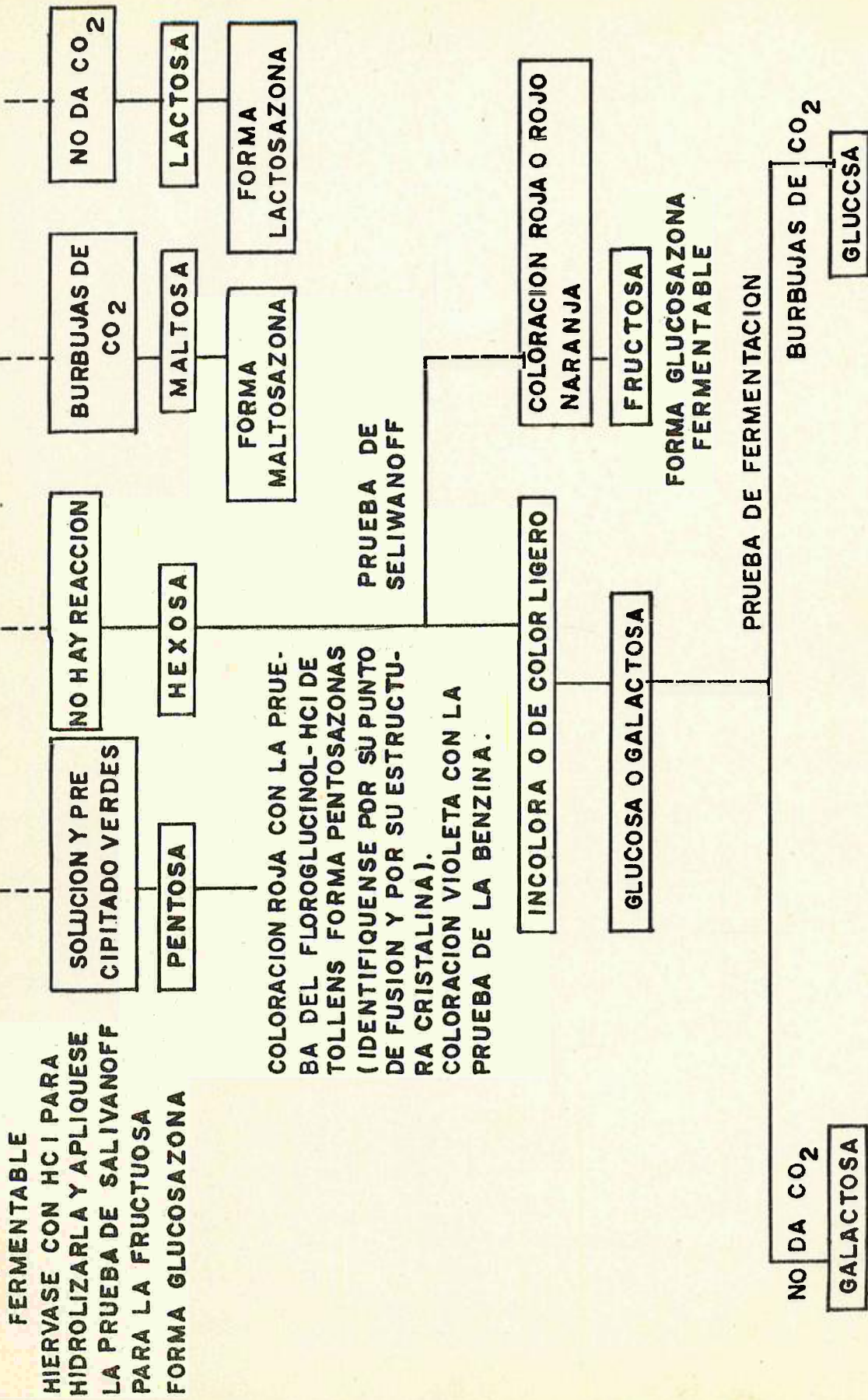
COMPOSICION QUIMICA POR CADA 100 g. DE PORCION COMESTIBLE			
DETERMINACION		VITAMINAS	OTROS
HUMEDAD	82.8 %	ACIDO ASCORBICO O VITAMINA "C" 98 mg	VALOR ENERGE- TICO 63 Cal.
PROTEINA	1.2 g	VITAMINA "A" 105 mcg	Ca 13 mg
GRASA	0.8 g	TIAMINA 0.02 mg	P 26 mg
CENIZA	0.6 g	RIBOFLAVINA 0.04 mg	Fe 1.2 mg
FIBRA	1.8 g	NIACINA 0.3 mg	- -
CARBOHIDRATOS	14.6 g		

ANEXO VII

PRUEBAS CUALITATIVAS PARA LA IDENTIFICACION DE CARBOHIDRATOS SEGUN LITWACK

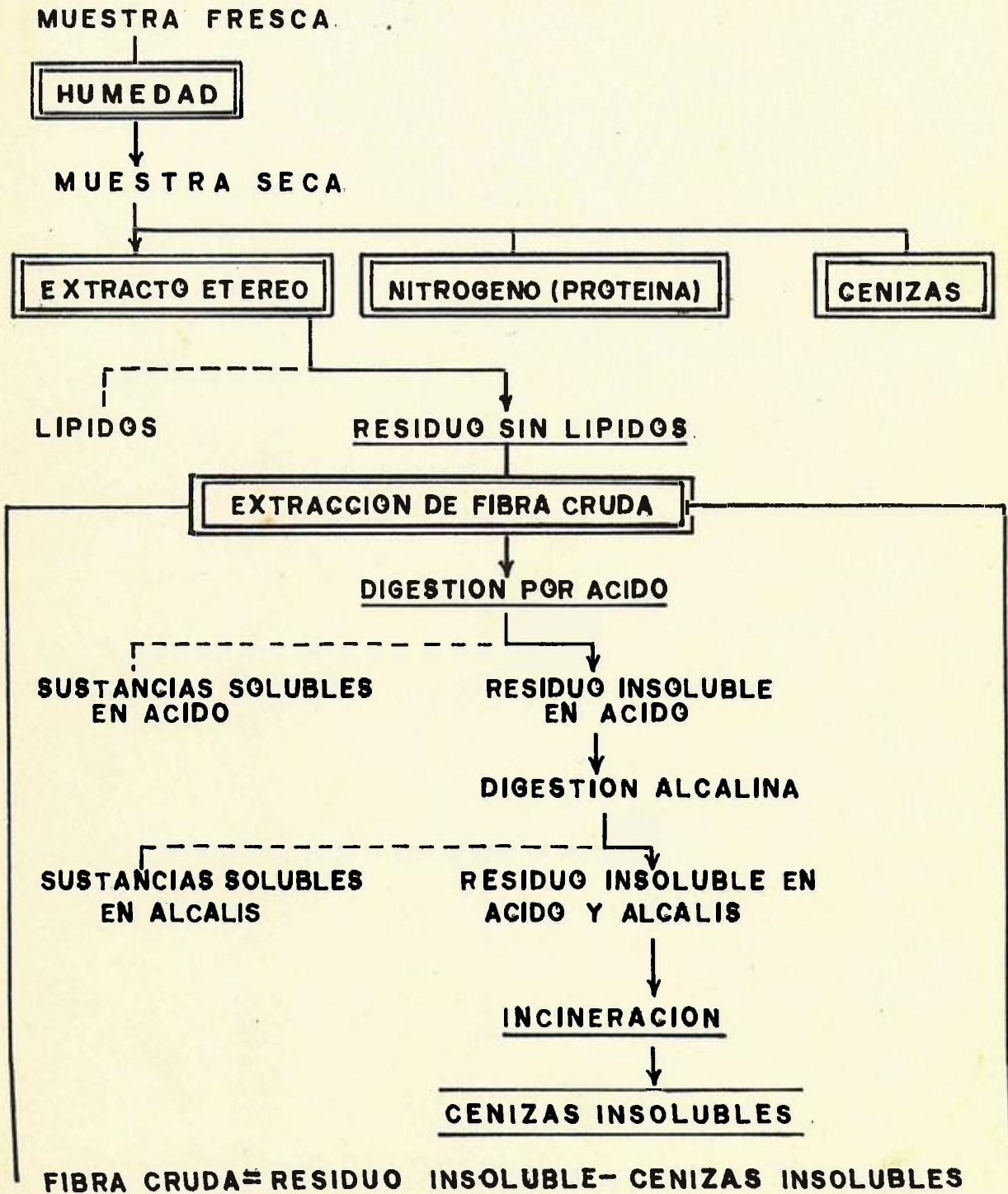


CONTINUACION



ANEXO VIII

ANALISIS BROMATOLOGICO POR EL SISTEMA PROXIMAL DE WEENDE



ANEXO IX

ANALISIS BROMATOLOGICO POR EL SISTEMA PROXIMAL DE WEENDE DETERMINACION DE LA HUMEDAD.

HUMEDAD PARCIAL:

A las fracciones del ^{Cladodio} ~~fruto~~, cáscara, ~~semilla~~ y pulpa en estado fresco se les trató así: en una balanza analítica - se pesaron previamente las cajas de aluminio vacías y secas, se pesaron las cajas con cada muestra antes de calentar en - estufa, se calculó el peso de la muestra antes de meterlas a la estufa, después de mantenerlas en la estufa "Treci-term" de aire caliente en circulación durante 24 horas entre 70-80°C se trasladaron utilizando pinzas, al desecador de gabinete - para enfriarlos para luego pesar cada caja con la muestra ca si seca. Con los datos anteriores se procedió a calcular la pérdida de peso de cada muestra y luego el porcentaje de la humedad parcial.

CALCULO (DE EJEMPLO.)

HUMEDAD PARCIAL PARA CÁSCARA VERDE.

$$\% \text{ de humedad parcial} = \frac{\text{Pérdida de peso} \times 100}{\text{Peso de muestra}}$$

$$\text{Muestra 1} = \frac{17.362 \text{ g} \times 100}{25.7342 \text{ g}} = 67.4666\%$$

$$\text{Muestra 2} = \frac{19.3864 \text{ g} \times 100}{27.7494 \text{ g}} = 69.8624\%$$

$$\text{X} \text{ Humedad parcial para cáscara verde} = \underline{68.70\%}$$

Nota: Las muestras se usaron en duplicado y su promedio (\bar{X}) se combinó con el \bar{X} de humedad total para calcular la humedad total verdadera.

"CENTRO DE DOCUMENTACION
DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA"
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

HUMEDAD TOTAL.

Para completar hasta humedad total se ^{tomó} tomaron las mismas muestras casi secas de la humedad parcial ^{para el estado ver-} de, ^{de sazón y (maduro)} pero se ^{homogenizaron} homogenizaron previamente utilizando un molino de aspas standard, modelo No. 3 "Wilf y Mill" después se aplicaron los siguientes pasos: se secaron previamente 9 cajas de aluminio vacías a 105°C en una estufa, durante dos horas, se ^{enfrió} enfriaron en el desecador y se anotó el peso; se agregaron 20 g de muestra a ^{una} cada caja y se ^{pesó} pesaron las cajas con su muestra antes de meterlas a la estufa al vacío; se ^{coloco} colocaron las cajas destapadas con la muestra en una estufa al vacío "Precisión Thelco" modelo 10, se introdujeron -- cuando la estufa marcaba 105°C y se ^{mantuvo} mantuvieron durante 5 horas; a las cajas para enfriarlas en un desecador y luego se le anotó su nuevo peso. Con los datos obtenidos se calculó la pérdida de peso y este dato se incorporó a la fórmula matemática para calcular el % de humedad total.

CALCULO DE EJEMPLO

HUMEDAD TOTAL PARA CASCARA VERDE

$$\% \text{ Humedad total} = \frac{\text{Pérdida de peso} \times 100}{\text{Peso de muestra}}$$

$$\text{(Muestra 1)} = \frac{1.2627 \text{ g} \times 100}{19.96 \text{ g}} = 6.32\%$$

$$Muestra 2 = \frac{1.1827 \text{ g} \times 100}{19.96 \text{ g}} = 5.92\%$$

\bar{X} Humedad total para cáscara verde = 6.12%

NOTA : La ~~muestra~~ ^{uso} se ~~usaron~~ en duplicado y su promedio (\bar{X}) se combinó con el \bar{X} de humedad parcial para calcular la humedad total verdadera.

HUMEDAD TOTAL VERDADERA AL COMBINAR% HUMEDAD PARCIAL CON%.

HUMEDAD TOTAL.

de Clodis

Se determinó la humedad parcial a cada fracción del ~~fruto~~ fresco, luego a la ~~misma~~ fracción ~~es~~ casi seca se ~~le~~ determinó la humedad total. Los datos de ambas humedades se combinaron utilizando las fórmulas matemáticas siguientes :

a) $100 - H\% \text{ parcial} = \text{Materia casi seca}$

b) Entonces : $100\% - \text{Materia casi seca}$
 $H\% \text{ total} - X\%$

c) $H\% \text{ Parcial} + X\% = \% \text{ Humedad total verdadera.}$

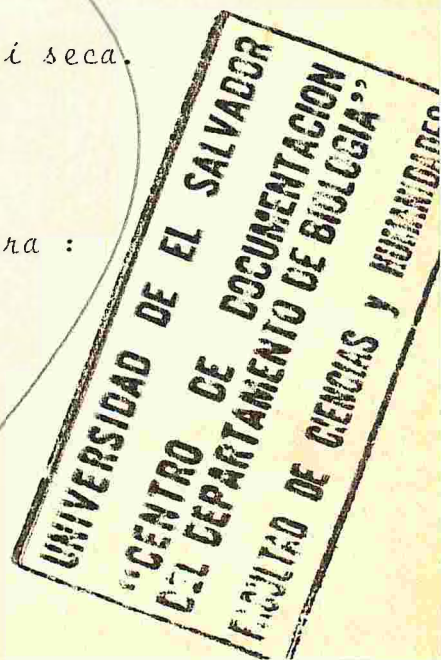
Ejemplo para cáscara verde :

a) $100 - 68.70\% = 31.30\% \text{ Materia casi seca.}$

b) Entonces : $100\% - 31.30\%$
 $6.12\% - X\% \rightarrow 1.91\%$
 $H. \text{ total}$

c) Humedad parcial Humedad total verdadera :
 $68.70\% + 1.91\% = \underline{70.61\%}$

En cáscara verde.



DETERMINACION DE NITROGENO POR METODO KJELDAHL.

Este procedimiento se basa en destrucción de la materia orgánica, la que se deshidrata y carboniza con ácido sulfúrico concentrado y caliente, este ácido con catalizadores especiales digiere el nitrógeno de la muestra convirtiéndolo en sulfato de amonio.

A lo digerido se le agrega un álcali para liberar el amoníaco que por destilación se recoge en un volumen conocido de ácido bórico que lleva como indicador azul de metileno rojo de metilo.

El borato de amonio formado se titula con ácido clorhídrico, con el cual se busca el punto donde se obtiene el color inicial del indicador.

PROCEDIMIENTO:

a) Digestión.

Utilizando los 6 balones de la unidad digestiva del aparato Kjeldahl que contenían cada uno 5 perlas de vidrio se les agregó ~~la muestra~~ ^{Cladonio} de ~~(cada estadio del fruto)~~ lo cual se efectuó por duplicado para ~~(la cáscara, semilla y pulpa)~~ dicho Cladonio

Las cantidades de muestras y reactivos que se utilizaron en cada balón fueron: 1 g de muestra envuelta en papel filtro; 2 g de ácido salicílico; 5.0 g de tiosulfato de sodio; 0.7 g de óxido de mercurio; 15 g de sulfato de sodio

(todo bien mezclado) y 40 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se agitó durante 5 minutos y se conectaron los 6 balones al aparato para destruir toda materia orgánica, se movieron -- constantemente por medio de rotación y la digestión terminó cuando la mezcla se puso completamente clara.

b) Destilación.

Los 6 balones con la mezcla clara se dejaron enfriar, luego se les agregó 175 ml de agua destilada que provoca reacción exotérmica, por lo que se les dejó enfriar.

Se prepararon 6 erlenmeyers con 50 ml de solución de ácido bórico al 4% con 3 gotas del indicador, azul de metileno - rojo de metilo (color violeta inicial) que sirvieron para recibir el destilado.

A cada balón Kjeldahl se le agregaron 25 ml de solución de tiosulfato de sodio al 8%.

Finalmente se le puso a cada balón 100 ml de NaOH al 50% y se conectaron en los condensadores del Kjeldahl inmediatamente para destilar y recibir unos 150 ml en el erlenmeyer con el ácido bórico e indicador violeta. Poco a poco la solución que recibe el destilado se volvió de color verde.

Después de enfriar el destilado de cada erlenmeyer se procedió a titular con ácido clorhídrico al 0.1 N que se le colocó en una bureta de 50 ml. Gota a gota se esperó el punto donde el ácido revirtiera el color violeta inicial -

del indicador.

Los mililitros de HCl gastados en cada título se incorporaron en la fórmula matemática de los cálculos de valoración.

CALCULO ~~(DE EJEMPLO.)~~

DETERMINACION DE NITROGENO Y PROTEINA CRUDA EN CASCARA VERDE.

$$a) \% N = \frac{\text{HCl gastado} \times \text{normalidad del ácido} \times 14 \times 100}{\text{Peso de muestra} \times 1000}$$

$$b) \% \text{ Proteína cruda} = \% N \times \text{Factor de conversión } 6.25$$

$$\text{Muestra 1 \% N} = \frac{1.83 \text{ ml} \times 0.1N \times 14 \times 100}{1 \text{ g} \times 1000} = 0.2562\%$$

$$\% \text{ Proteína cruda de muestra 1} = 0.2562 \times 6.25 = 1.60\%$$

$$\text{Muestra 2 \% N} = \frac{2.13 \text{ ml} \times 0.1N \times 14 \times 100}{1 \times 1000} = 0.2982\%$$

$$\% \text{ Proteína cruda de muestra 2} = 0.2982 \times 6.25 = 1.86\%$$

$$\bar{X} \text{ de \% de proteína cruda para cáscara verde} = 1.73\%$$

DETERMINACION DE CENIZAS.

Procedimiento: 3

Se utilizaron ~~18~~ crisoles de porcelana (~~6 para cada estado del fruto y establecer duplicados~~) los cuales se colocaron vacíos y limpios en una estufa "Treciterm" a 70-105°C durante una hora, luego se pasaron al desecador utilizando pinzas, y ya enfriados se pesaron los crisoles vacíos; se colocaron 2 g de muestra en cada crisol; crisoles más mues-

0

tras se llevaron al horno ⁰mufla ("Warning") Sybron/Thermoline y se les llevó a la temperatura de 600°C y se le mantuvo por 1 hora; utilizando las pinzas se retiraron los crisoles del horno ⁰mufla y se llevan al desecador durante 20 minutos, luego se procedió a anotar los pesos de cada uno.

CALCULO ~~DE AJEMPAO,~~

DETERMINACION DE CENIZAS ~~(EN LA CASCARA VERDE.~~

a) Peso crisol + muestra - peso crisol vacío = Peso de muestra.

b) Peso crisol + muestra después de incinerado - peso crisol vacío. = Peso de ceniza.

c) % ceniza = $\frac{\text{Peso de ceniza} \times 100}{\text{Peso de muestra}}$

$$\text{Muestra 1} = \frac{0.029125 \text{ g} \times 100}{2 \text{ g}} = 1.45\%$$

$$\text{Muestra 2} = \frac{0.022125 \text{ g} \times 100}{2 \text{ g}} = 1.10\%$$

$$\bar{X} \text{ de \% de cenizas para la cáscara verde} = 1.27\%$$

DETERMINACION DE EXTRACTO ETereo.

Para la extracción de los lípidos de ^{→ cladodis} ~~la cáscara, semilla y pulpa del fruto~~ se utilizó un extractor con baño maría, modelo B.E.I. ISCO. S.r.L. que tenía 6 condensadores por lo que ~~se realizó en duplicado para cada parte del fruto.~~ Se determinó primero en las partes del fruto verde, luego en el sazón y el maduro.

tras se llevaron al horno-mufla "Warning" Sybron/Thermoline y se les llevó a la temperatura de 600°C y se le mantuvo - por 1 hora; utilizando las pinzas se retiraron los crisoles del horno-mufla y se llevan al desecador durante 20 minutos, luego se procedió a anotar los pesos de cada uno.

CALCULO ~~(DE EJEMPLO.)~~

DETERMINACION DE CENIZAS ~~(EN LA CÁSCARA VERDE.)~~

a) Peso crisol + muestra - peso crisol vacío = Peso de muestra.

b) Peso crisol + muestra después de incinerado - peso crisol vacío. = Peso de ceniza.

c) % ceniza = $\frac{\text{Peso de ceniza} \times 100}{\text{Peso de muestra}}$

$$\text{Muestra 1} = \frac{0.029125 \text{ g} \times 100}{2 \text{ g}} = 1.45\%$$

$$\text{Muestra 2} = \frac{0.022125 \text{ g} \times 100}{2 \text{ g}} = 1.10\%$$

$$\bar{X} \text{ de \% de cenizas para la cáscara verde} = \underline{1.27\%}$$

DETERMINACION DE EXTRACTO ETereo.

Para la extracción de los lípidos de la cáscara, semilla y pulpa del fruto se utilizó un extractor con baño maría, modelo B.E.I. ISCo. S.r.L. que tenía 6 condensadores por lo que se realizó en duplicado para cada parte del fruto. Se determinó primero en las partes del fruto verde, luego en el sazón y el maduro.

Procedimiento:

En una balanza analítica se pesaron ² ~~6~~ beakers limpios, secados en estufa y vacíos; también se pesaron 2 g ~~por duplicado~~ ^{de} para cada muestra seca, ~~la~~ ~~cual~~ se envolvieron en el mismo papel filtro utilizado; se introdujeron ~~en~~ ~~las~~ ~~muestras~~ en ^{el dedal} los ~~dedales~~ de extracción de aludum, también limpios y secos; ~~el~~ ~~dedal~~ con su muestra fue colocado en el recipiente para muestras que reciben el éter de petróleo condensado. Las grasas fueron arrastradas sucesivamente por el éter que bajaba intermitentemente del recipiente de muestra hacia cada uno de los beakers. El éter de los beakers se volvió a evaporar por el calor del baño maría y se repite el ciclo de condensación para arrastrar más grasas. Terminado el proceso durante 5 horas se recuperó el éter por mantener la destilación y condensación pero sin los dedales con muestra. Los beakers con el extracto de grasas y un mínimo de éter se sacaron del aparato para llevarlos con pinza hacia una estufa donde a 80°C se eliminó el residuo de éter; luego los beakers se trasladaron con pinzas hacia un desecador para después pesar cada beaker con las grasas.

Los ^{el dedal} ~~dedales~~ con muestras ~~desengrasadas~~ se ^{guardó} guardaron en la estufa y este material sirvió para determinar la fibra cruda.

CALCULO (~~DE EJEMPLO.~~)

DETERMINACION DEL EXTRACTO ETereo (~~EN CASCARA VERDE~~)

a) Peso seco de la muestra = 2 g

b) Peso del beaker con extracto - peso del beaker vacío.

= Peso del extracto étereo

c) % extracto etéreo = $\frac{\text{Peso del extracto}}{\text{Peso seco de muestra}} \times 100$

$$\begin{array}{l} \text{Muestra 1} \\ \text{Muestra 2} \\ \bar{X} \text{ de \% extracto etéreo en la cáscara verde} \end{array} = \begin{array}{l} \frac{0.032125 \text{ g}}{2 \text{ g}} \\ \frac{0.0331 \text{ g}}{2 \text{ g}} \\ \underline{\hspace{1.5cm}} \end{array} \times 100 = \begin{array}{l} 1.60\% \\ 1.65\% \\ \underline{1.62\%} \end{array}$$

DETERMINACION DE FIBRA CRUDA.

El extractor de fibra "VELP Científica" que posee 6 condensadores se instaló para colocar por duplicado las muestras desengrasadas de ^{cladotio} cáscara, semilla y pulpa. El método de Van-Soest aplicado tiene el siguiente procedimiento :

- 1- Pesar 1 g de cada muestra desengrasada y colocarlos en cada crisol.
- 2- Montar los crisoles con las muestras en el aparato extractor (que no hayan fugas).
- 3- Agregar 150 ml de ácido sulfúrico 0.13 M previo calentamiento en cada condensador.

- 4- Hervir durante 30 minutos, controlar niveles agregando a agua destilada (temperatura al máximo).
- 5- Filtrar y lavar por 3 veces con 30 ml de agua destilada caliente que se le están agregando mientras se maneja - perilla de vaciado.
- 6- Agregar 150 ml de KOH caliente 0.23 N y hervir por otros 30 minutos.
- 7- Filtrar y lavar por 3 veces con 30 ml de agua destilada caliente, usando aire y después el vaciado. Una última lavada con agua fría.
- 8- Lavar con 25 ml de acetona, removiendo con aire.
- 9- Secar los crisoles en estufa a 70°C durante 1 hora, luego al desecador para pesar cada crisol con muestra (peso inicial).
- 10- Se llevan los crisoles con muestras a la calcinación o incineración en un horno \odot mufla hasta 500°C.
- 11- Pesar cada muestra (peso final).

CALCULO (~~DE EJEMPLO.~~)

DETERMINACION DE FIBRA CRUDA (~~EN CAS CARA VERDE.~~)

- a) $\text{Peso inicial} - \text{peso final} = \text{pérdida de peso (fibra).}^*$
- b) $\text{Peso de la muestra usada en la determinación del extracto etéreo} = 2 \text{ g.}$
- c) $\% \text{ fibra cruda} = \frac{* \text{Pérdida peso después de calcinado}}{\text{Peso muestra usada en determinación del extracto etéreo.}} \times 100$

$$\text{Muestra 1} = \frac{0.093625 \text{ g}}{2 \text{ g}} \times 100 = 4.68\%$$

$$\text{Muestra 2} = \frac{0.1039 \text{ g}}{2 \text{ g}} \times 100 = 5.19\%$$

$$\bar{X} \text{ de \% de fibra cruda en cáscara verde} = \underline{4.93\%}$$

DETERMINACION CUANTITATIVA DE CARBOHIDRATOS SOLUBLES.

Se cuantificó para cada muestra analizada en los aspectos anteriores restando de 100 la suma de porcentajes de humedad, proteína cruda, cenizas, extracto etéreo y fibra cruda de la misma muestra :

CALCULO (DE EJEMPLO:

DETERMINACION DE CARBOHIDRATOS EN CASCARA VERDE.

$$\% \text{ Carbohidratos} = 100 - \sum 10.61 + 1.73 + 1.27 + 1.62 + 4.93$$

$$\% \text{ Carbohidratos} = 100 - 80.16\%$$

$$\text{Carbohidratos solubles} : \underline{19.84\%}$$

ANEXO X

DETERMINACION Y VALORACION DEL ACIDO ASCORBICO EN EL JUGO DEL FRUTO.

PREPARACION DE REACTIVOS.

SOLUCION DE 2, 6 DICLOROFENOL-INDOFENOL.

Se disolvieron 25 mg de 2, 6 diclorofenol-indofenol en un matr az de 100 ml al que se le agregó 25 ml de agua destilada, luego se le sumaron 21 mg de bicarbonato de sodio (NaHCO_3), se le agitó vigorosamente para luego calentar sobre baño de vapor y con frecuente movimiento rotacional para que desaparecieran las partículas en suspensión, se enfrió la solución y se le agregó más agua destilada hasta aforar a 100 ml, lo que indica que la solución preparada quedaba a una concentración de 0.025%. Se filtró con papel filtro No. 1 y se almacenó en frascos ámbar con tapadera de vidrio, lejos de la luz directa y se conserv  en refrigeración (AOAC, 1980).

SOLUCION BUFFER: ACIDO METAFOSFORICO - ACIDO ACETICO : (HPO_3^- - HOAc).

En un erlenmeyer de 500 ml se colocaron 15 g de ácido metafosfórico (HPO_3), se le agregó 40 ml de ácido acético, diluyendo poco a poco con agua destilada hasta completar un volumen de 500 ml, luego se filtró con papel filtro No. 1 y se colectó en un frasco ámbar con tapadera de vidrio, se mantuvo -

en refrigeración para mantener la solución estable.

SOLUCION ESTANDAR DE ACIDO ASCORBICO (PATRON).

Se preparó a una concentración de 1 mg/1 ml para lo cual se pesaron 25 mg del estándar referido (ácido ascórbico puro cristalizado) que se mantuvo en un desecador lejos de la luz directa. Se transfirió a un erlenmeyer de 50 ml y se diluyó con agua destilada hasta aforar a 25 ml de solución y se -- trasladó a un frasco ámbar. Se preparó inmediatamente antes de usarlo (AOAC, 1980).

SOLUCION BLANCO.

El reactivo llamado blanco se preparó sumando en un beaker 7 ml del buffer $\text{HPO}_3\text{-HOA}_c$ más un volumen de agua destilada equivalente al volumen de la solución de indofenol gastado en la titulación directa del ascórbico estándar o patrón (AOAC, 1980).

TITULACIONES DEL JUGO DEL FRUTO VERDE, SAZON Y MADURO.

Procedimientos:

Titulación del jugo :

- El jugo filtrado se diluyó en la relación $\frac{1}{40}$
- Se colocaron en cada uno de tres tubos de ensayo 2 ml de jugo diluido.

- Se le agregó a cada tubo de ensayo 5 ml de buffer ácido metafosfórico - ácido acético.
- En el caso de fruto maduro al jugo se le agregó 4 ml de éter etílico para formar una fase orgánica y evitar la interferencia del pigmento.
- Se procedió a titular cada tipo de jugo por triplicado utilizando el colorante 2, 6 diclorofenol-indofenol colocado en una bureta de 50 ml hasta obtener gota a gota un color rosado estable ≥ 5 segundos en la fase orgánica si el jugo es pigmentado.
- Se titularon las tres muestras para aplicar su promedio en los cálculos.

TITULACION DEL ACIDO ASCORBICO PATRÓN.

- Se colocaron en cada uno de tres tubos de ensayo 2 ml de ácido ascórbico patrón preparado en el momento.
- Se le agregaron a cada uno 5 ml del buffer preparado.
- Se procedió a titular por triplicado, hasta obtener un color rosado estable ≥ 5 segundos.
- Se titularon tres muestras para aplicar su promedio en los cálculos.

TITULACION DEL BLANCO.

- Se colocaron en cada uno de tres tubos de ensayo 7 ml del -

blanco preparado según la AOAC (1980).

- Se procedió a titular cada una de las tres muestras para aplicar su promedio en los cálculos.

CALCULO DE EJEMPLO.

VALORACION DEL ACIDO ASCORBICO EN EL JUGO DEL FRUTO VERDE DE "KETEMBILLA".

Fórmula matemática para valorar ácido ascórbico o vitamina "C" :

$$\text{Vitamina "C" en mg/ml de jugo} = \frac{T - B1}{Pt - B1} \times 2 \times D.$$

En donde :

T = Volumen de colorante utilizado en la titulación de la muestra de jugo.

B1 = Volumen de colorante utilizado en la titulación del blanco.

Pt = Volumen de colorante utilizado en la titulación de la solución patrón de ácido ascórbico.

D = Factor de dilución del jugo $\frac{1}{40}$ x 2 por haber utilizado 2 ml de jugo = $\frac{1}{20}$

Valores promedios al titular :

$$T = 0.4333 \text{ ml}$$

$$B1 = 0.10 \text{ ml}$$

$$Pt = 46.05 \text{ ml}$$

$$D = 20$$

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
 "CENTRO DE DOCUMENTACION
 EL DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA"
 FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES

$$\frac{T - B1}{Pt - B1} \times 2 \times D$$

Sustituyendo por valores :

$$\frac{0.4333 \text{ ml} - 0.10 \text{ ml}}{46.05 \text{ ml} - 0.10 \text{ ml}} \times 2 \times 20$$

Vitamina "C" en jugo de fruto verde = $\frac{0.2901 \text{ mg/ml}}{\text{Resultado antes de estandarizar.}}$

STANDARIZACION DEL TITULANTE 2, 6 DICLOROFENOL - INDOFENOL.

Datos para ascorbico patrón (Pt) :

- Vitamina "C" pura para Pt = $\frac{1 \text{ mg}}{1 \text{ ml solución}}$
- Volumen de solución Pt titulado : $2 \text{ ml} = \frac{2 \text{ mg}}{2 \text{ ml}}$
- Volumen de titulante utilizado para 2 ml de Pt = 46.05 ml
- Volumen de titulante utilizado para titular el blanco (B1) = 0.10 ml.

Restamos Pt - B1 debido al efecto del buffer :

$$46.05 \text{ ml} - 0.10 \text{ ml} = 45.95 \text{ ml de titulante neto gastado.}$$

Entonces :

Titulante:

45.95 ml - fue para 2 mg de ácido ascorbico Pt.

1 ml - X

Donde X = 0.0435255 mg de vitamina "C" detectados con 1 ml del titulante.

Solución problema : jugo verde.

- 1 ml de jugo puro en 40 ml de solución = $\frac{1}{40}$

- Se titularon 2 ml de jugo diluido, entonces = $\frac{2}{40}$ $\frac{1}{20}$

- 0.4333 ml colorante utilizado al titular jugo verde.

Se resta T - B1 debido al efecto del buffer.

0.4333 ml - 0.10 ml = 0.3333 ml de titulante neto utilizado.

Aplicando el ácido ascórbico patrón estandarizado se tiene :

Si 1.0 ml - 0.0435255 mg vitamina "C"

0.3333 ml - X

De donde X = 0.014507 mg vitamina "C"

Dilución del jugo = $\frac{1}{40}$ x 2 por haber tomado 2 ml de jugo = $\frac{1}{20}$

Entonces :

0.014507 mg x 20 = 0.2901 mg/ml jugo de fruto verde.

Vit. "C" en la muestra = 29.01 mg/100 ml jugo fruto verde.