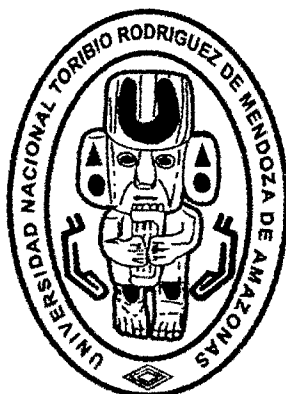


**UNIVERSIDAD NACIONAL
"TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA" DE AMAZONAS**



**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

TESIS

**"EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACION DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN
COCONA (*Solanum sessiliflorum dunna*), POR FOTOMETRÍA"**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

Autor: Bach. LESLIE FERNANDEZ MONTOYA

Asesor. Ing. AUQUIÑIVIN SILVA Erick Aldo

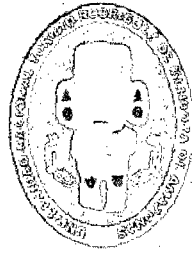


CHACHAPOYAS - PERÚ

2016

18 MAR 2016

UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

“EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACION DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN
COCONA (*Solanum sessiliflorum dunnal*), POR FOTOMETRÍA”

TESIS

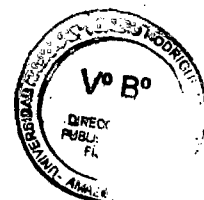
PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL

Autor : Bach. LESLIE FERNANDEZ MONTOYA

Asesor : Ing. AUQUÍNIVIN SILVA Erick Aldo

CHACHAPOYAS-PERU

2016



17 8 MAR 2016

DEDICATORIA

De forma muy especial a mis padres por su apoyo y confianza, a mis Hermanos por creer en mí y a Franklin por su enorme comprensión paciencia y cariño.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por el esfuerzo que han hecho para que se realicen mis sueños por ser siempre la fuente de confianza y formar realmente un núcleo en mi vida.

A mis hermanos porque juntos lo hemos logrado, y a toda mi familia, que han sido parte del proceso.

Al Ing. Erick Aldo Auquiñivin Silva por confiar en mí, apoyándome en todo momento, revisar este documento y ayudarme a darle sentido.

A mi Franklin, por ser la persona más paciente, tierna y amorosa, gracias por estar a mi lado y creer en mí, sabes que las cosas que hago llevan tu esencia.

Mil gracias a mi Universidad y a todas las personas que laboran en ella, porque durante este proceso de aprendizaje han sido los mejores.

Gracias a todos mis profesores de la carrera por todos los conocimientos compartidos.

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO

RODRÍGUEZ DE MENDOZA

Ph.D. Jorge Luis Maicelo Quintana

RECTOR

Dr. Oscar Andrés Gamarra Torres

VICERRECTOR ACADÉMICO

Dra. María Nelly Lujan Espinoza

VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN

Ms. Efraín Manuelito Castro Alayo

DECANO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS

El Docente de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas que suscribe, hace constar que ha asesorado la realización de la tesis titulada “EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACION DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN COCONA (*Solanum sessiliflorum dunnal*), POR FOTOMETRÍA” de la tesista egresada de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de esta Casa Superior de Estudios:

- Bach. Fernández Montoya Leslie

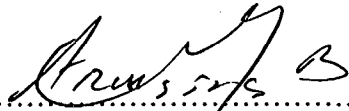
El que suscribe da el visto bueno al informe de la mencionada tesis, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el jurado evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de las observaciones que formulen, para su posterior sustentación.

Chachapoyas, enero del 2016

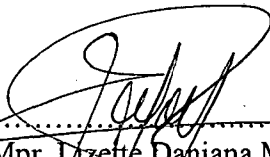


Ing. Erick Aldo Auquiñivin Silva
Asesor

JURADO EVALUADOR



.....
Ing. Mg. Sc. Armstrong Barnard Fernández Jerí
Presidente



.....
Ing. Mpr. Lizette Dania Méndez Fasabi
Secretaria



.....
Ing. Guillermo Idrogo Vázquez
Vocal



UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS

FACULTAD DE: INGENIERIA Y CIENCIAS AGRARIAS

ACTA DE EVALUACIÓN DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En la ciudad de Chachapoyas, el día 29 de ENERO del año 2016, siendo las 12:00 horas, se reunieron los integrantes del Jurado conformado por:

Presidente: ING. Mg. Sc. ARMSTRONG BARNARD FERNÁNDEZ JERS

Secretario: ING. MPR. LIZETTE DANIANA MÉNDEZ FASABI

Vocal: ING. GUILLERMO IDROGO VASQUEZ

para evaluar la sustentación del informe de Tesis presentando por el(la) bachiller,

don(ña) BACH. LESLIE FERNANDEZ MONTOYA

titulado "EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE

Acido ASCÓRBICO EN COCONA (solanum sessiflorum Dunal), POR FOTOMETRÍA"

Después de la Sustentación respectiva el Jurado acuerda la **APROBACIÓN (X)**, **DESAPROBACIÓN ()** por mayoría () por unanimidad (X), en consecuencia, el (la) aspirante puede proseguir con el trámite subsiguiente de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la UNTRM-A.

Siendo las 2:00 pm horas del mismo día, el Jurado concluye el acto de sustentación del informe de Tesis.


SECRETARIO


PRESIDENTE


VOCAL

Form 6-T

ÍNDICE GENERAL	Pág
DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTO.....	III
AUTORIDADES UNIVERSITARIAS.....	IV
VISTO BUENO DEL ACESOR.....	V
JURADO EVALUADOR.....	VI
COPIA ACTA DE SUSTENTACIÓN.....	VII
INDICE GENERAL.....	VIII
INDICE DE FIGURAS.....	IX
INDICE DE FOTOS.....	X
INDICE DE TABLAS.....	XI
RESUMEN.....	XII
ABSTRACT.....	XIII
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. La cocona.....	2
1.2. Ácido ascórbico.....	2
1.3. Clasificación botánica.....	3
1.4. Variedades.....	3
1.5. Los frutos.....	5
1.6. Valor Nutritivo.....	5
1.6.1. Composición Química de los Frutos.....	6
1.6.1.1. Vitaminas.....	8
1.6.2. Espectrofotometría de ultravioleta – visible (UV-VIS).....	14
1.6.2.1. El concepto de absorbancia.....	15
1.6.2.2. Ley de Lambert – Beer.....	17
1.6.2.3. Aplicación de la espectrofotometría.....	19
1.6.3. Factores que influyen sobre la concentración de ácido.....	19
II. MATERIAL Y MÉTODOS.....	20
2.1. Lugar de ejecución.....	20
2.2. Matera prima.....	20
2.3. Métodos.....	20
2.3.1. Análisis fisicoquímico de la materia prima.....	20
2.3.2. Determinación de Ácido ascórbico (Vitamina C) por fotometría.....	22
2.3.2.1. Análisis del producto final.....	28
2.3.3. Análisis Estadístico.....	28
III. RESULTADOS.....	30
3.1. Evaluación de la concentración de ácido ascórbico en dos ecotipos de cocona.....	31
3.1.1. Concentración de ácido ascórbico en función a la temperatura.....	33
3.1.2. Nivel de concentración en función al ecotipo.....	34
3.1.3. Nivel de concentración en función al tiempo.....	35
3.2. Condiciones para la evaluación del contenido de ácido ascórbico de los mejores tratamientos.....	36
3.3. Alcances De La Investigación.....	37
IV. DISCUSIÓN.....	38
V. CONCLUSIONES.....	40
VI. RECOMENDACIONES.....	41
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	42

ÍNDICE DE FIGURAS		Pág.
Figura 1. Componentes básicos de un espectrofotómetro.....		15
Figura 2. Ilustración de definiciones de I e I_0		16
Figura 3. Diagrama de bloques para la evaluación de ácido ascórbico a partir de cocona.....		26
Figura 4. Secuencia de pruebas experimentales de evaluación de contenido de ácido ascórbico.....		27
Figura 5. Resultados de la evaluación del contenido de ácido ascórbico para los tres tratamientos.....		32
Figura 6. Nivel de concentración vs T° de calentamiento.....		33
Figura 7. Nivel de concentración vs ecotipo.....		34
Figura 8. Porcentaje de pérdida de peso vs concentración.....		35

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS		Pág.
Fotografía 01 : Fruto de Cocona I.....		49
Fotografía 02: FrutoCocona II.....		49
Fotografía 03: Exprimido.....		50
Fotografía04: Filtrado.....		50
Fotografía 05: Filtrado.....		50
Fotografía 06: Filtrado.....		50
Fotografía 07: Filtrado.....		50
Fotografía 08: Calentamiento.....		51
Fotografía 09: Enfriado.....		51
Fotografía 10: Condensación.....		51

ÍNDICE DE TABLAS		Pág.
Tabla 1. Composición química de la cocona (<i>Solanum sessiliflorum dunnal</i>) en 100 g de pulpa integral.....		7
Tabla 2. Composición vitamínica y mineral de la Cocona (<i>Solanum Sessiliflorum dunnal</i>) en 100 g de pulpa integral.....		7
Tabla 3. Cantidades requeridas de vitamina C en mg/día.....		12
Tabla 4. Procedimiento para la condensación de la muestra.....		24
Tabla 5. Condiciones para la evaluación.....		25
Tabla 6. Características fisicoquímicas de la Cocona Ecotipo I.....		30
Tabla 7. Características fisicoquímicas de la Cocona Ecotipo II.....		30
Tabla 8. Resultados de la evaluación del contenido de ácido ascórbico en dos Ecotipos de Cocona.....		31
Tabla 9. Condiciones para la evaluación de la concentración de ácido ascórbico de los mejores tratamientos.....		36
Tabla 10. Análisis de Varianza para nivel de concentración.....		47
Tabla 11. Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para nivel de Concentración con intervalos de confianza del 95,0%.....		47
Tabla 12. Pruebas de Múltiple Rangos para nivel de concentración por ecotipo.....		48

RESUMEN

El ácido ascórbico es una vitamina esencial en la dieta humana, y su determinación por técnicas sensibles y rápidas es importante para evaluar su estabilidad en diferentes alimentos. Actualmente la búsqueda de fuentes naturales de ácido ascórbico, reviste gran interés por las características antioxidantes de la vitamina; la cocona (*solanum sessiliflorum dunnal.*), fruto silvestre de los Andes suramericanos, registra contenidos de 4,5 a 13 mg de ácido ascórbico por cada 100 g de pulpa, siendo así, un cultivo promisorio para incluir en los registros de las fuentes comunes de esta vitamina. El objetivo principal de este estudio, fue encontrar las condiciones óptimas para la extracción, identificación y cuantificación por espectrofotometría del ácido ascórbico presente en la cocona (*Solanum sessiliflorum dunnal.*); para ello se consideraron diferentes factores para el proceso de evaluación. Con una variación de temperatura de 15°C, obteniendo una mayor concentración para el tratamiento 4 a los 35°C el cual tiene un promedio de 3,602 mg/100 ml de zumo para el ecotipo I, y para el ecotipo II el tratamiento 9 a los 35 °C presento un promedio de 3,443 mg/ 100 ml de zumo; a una longitud de máxima absorción: 520 nm. La metodología de cuantificación presentó linealidad, precisión, exactitud y sensibilidad a un nivel de confianza del 95%. La estandarización del método de cuantificación del ácido ascórbico por espectrofotometría ofrece la oportunidad de realizar posteriores investigaciones acerca de la estabilidad de la vitamina en la cocona.

ABSTRACT

Ascorbic acid is an essential vitamin in the human diet, and his sensitive and rapid determination techniques is important to assess their stability in different foods. Currently the search for natural sources of ascorbic acid , is of great interest in the antioxidant properties of vitamin; cocona (*Solanum sessiliflorum dunnal.*), wild fruit from the South American Andes, recorded content from 4.5 to 13 mg ascorbic acid per 100 g of pulp, making it a promising crop for inclusion in the records of the common sources of this vitamin. The main objective of this study was to find the optimal conditions for the extraction, identification and quantification by spectrophotometry ascorbic acid present in the cocona (*Solanum sessiliflorum dunnal.*); different factors for this evaluation process were considered. With a temperature variation of 15 ° C, obtaining a higher concentration treatment for 4 to 35 ° C which has an average of 3.602 mg / 100 ml of juice, for ecotype I and II for treatment ecotype 9 35 ° C I present an average of 3,443 mg / 100 ml of juice; length of maximum absorption: 520 nm. The quantification methodology presented linearity, precision, accuracy and sensitivity to a confidence level of 95%. The standardization of the quantification method ascorbic acid spectrophotometer offers the opportunity to conduct further research on the stability of the vitamin in the cocona.

I. INTRODUCCIÓN

Entre las decenas de árboles o arbustos de frutos autóctonos del Amazonas, la cocona (*Solanum sessiliflorum dunnal*) es el único herbáceo anual que había sido completamente domesticado por los pueblos indígenas nativos de la región antes de la llegada de los europeos. De este modo, la cocona fue pre-adaptada tanto a los sistemas agrícolas tradicionales del Amazonas, como a los sistemas agrícolas modernos (monocultivos de altos insumos destinados a los mercados regionales, nacionales e internacionales).

Como la mayoría de los árboles de frutos autóctonos del Amazonas, la cocona es poco conocida fuera de su región de origen, en este caso en el Amazonas occidental.

Como gran parte de los árboles de frutos autóctonos del Amazonas, la no utilización de la cocona es una falla del mercado, pues reúne muchas características buscadas por los mercados nacionales e internacionales: es exótica, posee sabor característico y agradable, es altamente productiva, que harían posible su industrialización a mayor escala. Por ser anual y bien adaptada a los suelos de las llanuras del Amazonas, es posible producir la cocona con escasos o ningún insumo, permitiendo también su comercialización como alimento orgánico. Es decir, la falla de mercado no es causada por la cocona, sino por la falta de disponibilidad de información que existe sobre la cocona para permitir a la clase empresarial latinoamericana decidir si valdría la pena llevarla o no al mercado.

La cocona *Solanum sessiliflorum dunnal*, es un cultivo que se incluye dentro de las especies que se encuentran en estado semisilvestre en la Amazonía peruana, con un acervo genético potencial de incalculable valor y con diversas características cualitativas fácilmente observables; existiendo amplio campo para su mejoramiento genético todavía no explotado.

Este cultivo presenta una gran variedad de ecotipos; los cuales no han tenido un estudio específico en cuanto a caracterización, fenología, rendimiento, densidad de siembra y calidad de fruto, datos importantes que nos sirven para seleccionar los mejores ecotipos y tecnificar el cultivo.

1.1. La cocona.

Es una especie nativa de ceja de selva y selva alta de América Tropical, se distribuye naturalmente entre los 200 y 1,000 m. de altitud en Brasil, Colombia, Perú, Ecuador y Venezuela (Carbajal y Balcázar, 2001).

En la selva peruana se cultivan en pequeña escala en los departamentos de Loreto, San Martín, Ucayali, Huánuco, Junín, Pasco, Ayacucho, Madre de Dios y Amazonas (Carbajal y Balcázar, 2001).

Gracias a sus propiedades sensoriales, nutritivas y funcionales, la cocona presenta un alto potencial para el desarrollo de nuevos productos (Cardona, 2011). No obstante su industrialización está limitada a la elaboración de ciertos alimentos tradicionales tales como zumos, dulces, mermeladas, compotas, salsas y ensaladas; debido principalmente a que su cultivo aún no se encuentra tecnificado, además de su baja relación °Brix/acidez que limita su consumo en fresco y que, por tanto, impide el aprovechamiento de todas sus propiedades. En este sentido es necesario evaluar métodos alternativos para su transformación que garanticen no solo su conservación en el tiempo, sino la estabilidad de sus componentes (Carbajal y Balcázar 2001).

La cocona es muy variable en cuanto a tamaño, forma, peso, contenido químico, etc. Estas variaciones son plenamente reconocidas en las localidades donde existe en el Amazonas. Los indios del río Cenepa, en el Departamento Amazonas, Perú, usan cuatro etnovarietades tan distintas que pueden ser consideradas como especies diferentes, pero fueron reconocidas como *Solanum sessiliflorum* (Silva Filho, 1998).

1.2. Ácido ascórbico

La vitamina C es una vitamina hidrosoluble, sensible al calor. Es un cofactor enzimático implicado en diversas reacciones fisiológicas (hidroxidación). Es necesario para la síntesis del colágeno y de los glóbulos rojos, y contribuye al buen funcionamiento del sistema inmunitario. También juega un papel en el metabolismo del hierro (Carbajal y Balcázar 2001).

El ácido ascórbico es un azúcar con propiedades antioxidantes. Su aspecto es de polvo o cristales de color blanco-amarillento. El nombre “ascórbico” procede del prefijo a (que significa “no”) y de la palabra latina scorbutus (escorbuto), una enfermedad causada por la deficiencia de vitamina C, que es necesaria para la síntesis correcta del colágeno en los seres humanos. Fibras de colágeno que permiten mantener la estructura de los tejidos. Los primates, incluido el ser humano, han perdido la capacidad de sintetizar el ácido ascórbico y deben obtenerlo de la comida (Carbajal y Balcázar 2001).

La vitamina C o ácido ascórbico es una de las sustancias de mayor importancia en la industria alimentaria, ya que se emplea como antioxidante bajo los códigos E300 a E304 como ácido o sus sales. Es muy habitual adicionarlo a bebidas refrescantes y zumos. Sin duda alguna sus propiedades para la salud son de una enorme importancia (Carbajal y Balcázar 2001).

1.3. Clasificación botánica

Reyno	:	Vegetal
División	:	Espermatofita
Sub-división	:	Angiospermas
Clase	:	Dicotiledónea
Sub-clase	:	Simpétala
Orden	:	Tubiflorales
Familia	:	Solanácea
Género	:	Solanum
Especie	:	<i>Solanum sessiliflorum dunal</i>
Nombre común	:	“cocona”, “topiro” (Español), “cubui” (Portugués).

1.4. Variedades.

Todos los tipos de cocona que fueron recolectados por institutos oficiales en las distintas regiones del Amazonas brasileño, peruano y colombiano provienen de poblaciones encontradas en los campos y parcelas de los indios y mestizos, o de ferias y mercados donde son comercializados por personas de estas mismas etnias. En el Amazonas occidental, es posible encontrar etnovariedades que van desde el tipo silvestre al más avanzado en el proceso de domesticación, que es especialmente visible

en el tamaño y formato de los frutos. La existencia de esta amplia variedad es compatible con las afirmaciones de que dicen que la mayor variabilidad genética entre y dentro de las especies vegetales cultivadas ocurre muy próximo a su centro de diversidad (Silva Filho, 1998).

Los frutos de cocona redonda (Ecotipo I):

- Presentan un peso promedio de 40,8 g (entre 36,5 y 45,1 g),
- Una longitud promedio de 4,2 cm. (entre 4,03 y 4,36 cm.) y
- Un diámetro promedio de 4,37 cm. (entre 4,22 y 4,52 cm.).
- Estos frutos son achatados en los polos y su color varía de amarillo a marrón oscuro, tenemos:
 - La cáscara es lisa, sin pilosidades y representa el 18% del peso total del fruto;
 - La pulpa es de color crema, sabor ácido, aroma similar al del tomate de árbol y constituye el 67,2% del peso total;
 - Las semillas son glabras, ovaladas, achatadas y componen el 14,6% del peso del fruto.

Los frutos de cocona ovalada (Ecotipo II):

Registran un peso, longitud y diámetro promedio de 75,79 g, 7,48cm y 4,55 cm. Respectivamente.

Los frutos son de forma:

- Ovalada elíptica y su color varía de marrón claro a oscuro.
- La cáscara es lisa, firme, con un espesor de 0,6-0,8 cm., de sabor ácido y representa el 75,72% del peso total del fruto,
- Las semillas son abovadas, planas, glabras y constituyen el 10,94% del peso del fruto.

La cocona gigante (Ecotipo III):

- Muestra un peso promedio de 290,03 g.
- Una longitud de 7,48 cm.
- Un diámetro de 4,55 cm.
- El color externo del fruto varía desde amarillo quemado hasta marrón oscuro.

- La baya es abovada, achatado en los polos y hundida en el punto de inserción del pedúnculo.
- La cáscara es lisa, delgada y compone el 9,68% del peso total del fruto; la pulpa es gruesa (de hasta 2 cm. de espesor), de color amarillo cremoso, firme y constituye el 82,44% del peso del fruto.
- Las semillas son glabras idénticas a las de los otros dos materiales, pero están dispuestas en 4 de los 6 lóbulos de acuerdo con el tamaño del fruto, y su proporción es del 7,92% del peso total del fruto.

1.5.Los frutos

Los frutos son bayas de forma variable desde esferoide, amarañado, cilíndrico, ovalada, oblata, redondeada, hasta cilíndrica - cónica; el tamaño y peso varía de acuerdo al ecotipo. Los frutos maduros son de color amarillo pálido, anaranjado manchado o rojo; la pulpa es acuosa, con una firmeza intermedia y blanda de color amarillo a amarillo blancuzco, de agradable aroma, ligeramente ácida. El epicarpio es una capa delgada lisa, suave y cubierta según variedad por pubescencia fina purulenta, que presenta coloraciones diferentes a la madurez, con maduración uniforme y algunas veces pobre. Las cavidades de las semillas presentan una forma irregular en algunos ecotipos mientras que en otros en forma regular y redonda. Los frutos presentan longitudes de entre 52,18 mm. y 83,97 mm. y su diámetro con 49,94 mm. y 77,85 mm, el número de lóbulos de 4 a 5, el grosor de pulpa oscila entre 4,94 mm. y 12,12 mm. el peso de pulpa en los frutos presenta rangos entre 33,60 g. y 184,73 g. (Carbajal y Balcázar 2001).

1.6.Valor nutritivo

Tiene un valor nutritivo aprovechable en la alimentación humana. La cocona es rica en hierro y vitamina B5 (Niacina); el volumen de jugo es de hasta 36 cm³/fruto y el grado Brix de 4 - 6. A continuación se da el análisis completo de la composición química de la pulpa (Carbajal y Balcázar 2001).

1.6.1. Composición química de los frutos

Con relación al contenido de humedad de la cocona, que varía de 88 a 93%, se puede considerar como un fruto succulento. La acidez elevada contribuye al sabor del fruto y permite un factor de dilución elevado en la formulación de jugos y, consecuentemente, en su rendimiento industrial para esta finalidad. El contenido de sólidos solubles (°Brix) varía de 5 a 8 y está constituido, en su mayoría, por azúcares reductores. La relación Brix/Acidez es baja, lo que confirma su reducido grado de dulzura y explica la poca preferencia al consumo del fruto in natura, a la vez explica la preferencia de usarlo como adorno y complemento en bebidas alcohólicas. La concentración de compuestos fenólicos es baja, lo cual explica el bajo grado de astringencia (Silva Filho, 1998).

Un detalle muy importante observado en el valor nutritivo de la cocona es que ésta puede ser considerada un fruto altamente dietético, debido a su bajo aporte calórico y contenidos significativos de fibra alimenticia (Silva Filho, 1998).

La composición química de diversas poblaciones de la cocona existente en el Amazonas ha sido analizada (Tabla 1), como también su contenido de vitaminas y minerales (Tabla 2).

Tabla 1. Composición química de la cocona (*Solanum sessiliflorum dunna*) en 100 g de pulpa integral

Componente	Villachica	Pahlen	Andrade	Yuyama
Humedad (g)	89	91	93	90
Energía (Kcal)	41	33	31	45
Proteína (g)	0,9	0,6	-	0,9
Lípidos (g)	-	1,4	-	1,9
Extracto libre de N (g)	-	5,7	-	4,7
Fibra (g)	0,2	0,4	-	1,6
Cenizas (g)	0,7	0,9	-	0,9
Azúcares totales (%)	-	-	4,6	-
Azúcares reductores (%)	-	-	3,9	1
Azúcares no reductores (%)	-	-	1,8	1
Sólidos solubles (° Brix) %	-	5,0	8,0	-
Ácido Cítrico %	-	-	0,8	-
°Brix/Acidez	-	-	5,93	-
Compuestos fenólicos (mg)	-	-	14,4	-
Tanino (mg)	-	-	142	-

Fuente: (Silva Filho, 1998).

Tabla 2. Composición vitamínica y mineral de la cocona (*Solanum sessiliflorum*) en 100 g. de pulpa integral.

Componente	Villachica	Pahlen	Yuyama	Andrade	%NCR
Ácido ascórbico (mg)	4,5	-	13,9	-	15,3
Niacina (mg)	2,3	2,5	-	-	14,1
Caroteno (mg)	0,2	0,2	-	-	-
Tiamina (mg)	0,1	0,3	-	-	15,4
Riboflavina (mg)	0,1	-	-	-	6,6
Calcio (mg)	16	12	-	-	1,2
Magnesio (mg)	-	-	-	23,7	7,5
Fosforo (mg)	30	14	-	-	1,8
Potasio (mg)	-	-	-	385,4	19,3
Sodio (ug)	-	-	-	371	74,2
Cobre (ug)	-	-	-	329	14,6
Fierro (ug)	-	-	-	324	2,6
Zinc (ug)	-	-	-	157	1,1
Manganeso (ug)	-	-	-	97	2,8

Fuente: (Silva Filho, 1998).

1.6.1.1. Vitaminas

Las vitaminas son sustancias químicas no sintetizables por el organismo, presentes en pequeñas cantidades en los alimentos y son indispensables para la vida, la salud, la actividad física y cotidiana (Licata, 1999).

Las vitaminas no producen energía y por tanto no implican calorías. Intervienen como catalizador en las reacciones bioquímicas provocando la liberación de energía. En otras palabras, la función de las vitaminas es la de facilitar la transformación que siguen los sustratos a través de las vías metabólicas (Licata, 1999).

Identificar las vitaminas ha llevado a que hoy se reconozca, por ejemplo, que en el caso de los deportistas haya una mayor demanda vitamínica por el incremento en el esfuerzo físico, probándose también que su exceso puede influir negativamente en el rendimiento (Licata, 1999).

Conociendo la relación entre el aporte de nutrientes y el aporte energético, para asegurar el estado vitamínico correcto, es siempre más seguro privilegiar los alimentos de fuerte densidad nutricional (legumbres, cereales y frutas) por sobre los alimentos meramente calóricos (Licata, 1999).

Ácido ascórbico o vitamina antiescorbútica

El ácido ascórbico tiene una estructura de lactosa. La acidez no se debe a un grupo carboxílico, sino a la posibilidad de que se iónice el hidroxilo situado sobre el carbono 3, formando un anión que queda estabilizado por resonancia (Duran, M.H. 2000).

Se sabe que es un compuesto polar con gran masa molecular 140 000, que le impide atravesar la membrana celular por simple difusión (Duran, M.H. 2000).

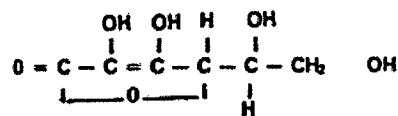
Las propiedades del ácido ascórbico, que junto a las vitaminas B pertenecen al grupo de hidrosolubles, son variadas y complejas, pues los investigadores informan, desde su descubrimiento en 1936, casi periódicamente sobre nuevas aplicaciones del ácido ascórbico, un alimento funcional, porque más allá de nutrir

tienen efectos benéficos para la salud, tales como, su utilidad en la prevención de la formación de cataratas y en el riesgo de desarrollar degeneración macular en personas mayores o ancianas, al servir de coadyuvante en la fecundidad masculina, al apuntalar al sistema inmune contra los efectos del resfriado, asma, tabaco y contaminantes aéreos, también suprime la aparición de células leucémicas y el crecimiento del tumor rectal y cáncer de cérvix; en los diabéticos potencia la acción de la insulina y en el metabolismo de los carbohidratos y acelera la curación de los heridas, ayuda en la formación de colágenos, puede reducir edemas, por su efecto de estimulación de la diuresis, es un potente neutralizador de venenos (mercurio, arsénico y toxinas bacterianos) y retarda el envejecimiento de la piel (Duran, M.H. 2000).

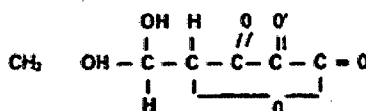
Formas de presentación y su relación con la actividad vitamínica C

La vitamina C se encuentra principalmente en alimentos de origen vegetal y puede presentarse en dos formas químicas interconvertibles:

- a) **Ácido L-ascórbico (forma reducida):** que es el de más clara actividad antiescorbútica. El aspecto es de cristales blancos, con sabor ácido, propiedades fuertemente reductoras, sensible a la luz y a ciertos metales pesados y soluble a la luz (Duran, M.H. 2000).

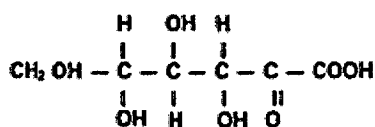


- b) **Ácido dehidroascórbico (forma oxidada):** También con actividad antiescorbútica. Por reducción se transforma en ácido ascórbico. Si el ácido dehidroascórbico es hidratado se transforma en ácido dicetogulónico, no activo biológicamente, siendo esta transformación irreversible. Esta hidratación ocurre espontáneamente en disolución neutra o alcalina. Se presenta en forma de cristales blancos, soluble en agua (Duran, M.H. 2000).



Siendo ambas formas funcionales biológicamente y manteniéndose en equilibrio fisiológico.

- c) **De ácido 2-ceto-L-gulónico:** Es un precursor del ácido ascórbico. No tiene actividad antiescorbútica. Se presenta en forma de cristales blancos (Duran, M.H. 2000).



Distribución de vitamina C en los alimentos

La vitamina C o ácido ascórbico se encuentran en las frutas cítricas en mayor porcentaje y vegetales como las hortalizas y legumbres (Duran, M.H. 2000).

Importancia de vitamina C en la dieta

La importancia de la vitamina C o ácido ascórbico es tal que la mayoría de los mamíferos son capaces de sintetizarla, pero algunas especies, entre ellas el hombre, dependen de fuentes exógenas para obtenerla. El humano adquiere, de forma natural, vitamina C de los alimentos, el organismo no lo almacena, por tanto

la biodisponibilidad sérica del ácido ascórbico este ceñida por la interacción entre absorción intestinal y excreción renal (Duran, M.H. 2000).

Las propiedades del ácido ascórbico son variados y complejos referidos la mayoría de ellas al papel como antioxidante de las especies de oxígeno reactivos que se generan durante la respiración mitocondrial, que afecta irremediablemente al sistema inmunitario, circulatorio y respiratorio, visión, metabolismo, piel y a todos los células del organismo. De la complejidad funcional de la vitamina C deriva la necesidad de mantener al día lo que se conoce de este nutriente (Duran, M.H. 2000).

Dosis diaria recomendada de vitamina C

En saturación, el contenido de ácido ascórbico en el cuerpo de un humano adulto, es aproximadamente 20 mg/Kg o 500 mg. Los signos clínicos de escorbuto aparecerán cuando el contenido de escorbato total del cuerpo cae por debajo de 300-400 mg, y los últimos signos desaparecen cuando el cuerpo alcanza 1000 mg. Estudios en humanos, han establecido también que el ácido ascórbico en todo el cuerpo es catalizado en una tasa aproximada de 3% por día (Cardona, 2011).

Diariamente, un adulto necesita 90 mg máximo para un hombre y 75 mg máximo para una mujer. Estas dosis pueden variar de acuerdo a otros condicionantes o necesidades especiales. Así las mujeres deben aumentar las dosis de consumo de esta vitamina durante el embarazo y la lactancia (INCAP, 2002).

Durante el embarazo hay una moderada necesidad de aumentar la dosis diaria de vitamina C, particularmente durante el último trimestre. 8 mg/día de vitamina C son suficientes para prevenir signos de escorbuto en infantes de 4 a 17 meses de edad; de allí que se necesite aumentar 10mg/día durante el embarazo para el desarrollo del feto en el último trimestre. Durante la lactancia, 20 mg/día de vitamina C son secretados en la leche. Para una absorción asumida de 85%, las necesidades maternas requerirán un extra de 25 mg/día, es por tanto recomendable que la dosis debe ser de 70 mg/día para cumplir con las necesidades de la madre y del infante (Cervera P., 2011).

En la tabla 3, se reporta la cantidad requerida para saturar la mitad de los tejidos humanos con vitamina C en el 97.5% de la población.

Tabla 3. Cantidades requeridas de vitamina C en mg/día

INFANTES Y NIÑOS	mg/día
0 - 6 meses	25
7 - 12 meses	30
1 - 3 años	30
4 - 6 años	30
7 - 9 años	35
ADOLESCENTES	mg/día
10 - 18 años	40
ADULTOS	mg/día
19 - 65 años	90
65 a mas	90
Mujeres embarazadas	100
Mujeres lactantes	120

Fuente: Vitamin and Mineral Requirements in Human Nutrition

Según la FDA (Food and Drug Administration), para que la Vitamina C provea una protección antioxidante, la dosis dietética recomendada (Recommended Dietary Allowance), RDA, es de 90 mg/día para adultos hombres y de 75mg/día para mujeres adultas, considerando una mínima excreción de ascorbato por medio de la orina. Sin embargo, fumar, implica un aumento diario de aproximadamente 35mg/día (Cervera P. 2011).

El nivel superior de consumo de Vitamina C es de 2g/día, concentración a la cual, los efectos adversos son la diarrea osmótica y disturbios gastrointestinales (Cardona, 2011).

Deficiencias de ácido ascórbico

Desde el siglo XV, el escorbuto se presentó en exploradores forzados a subsistir durante meses con una dieta de carne y bizcochos. El escorbuto fue descrito por primera vez en la época de las cruzadas (Norman P. 1998).

En adultos, uno de los signos iniciales (debido a que es una patología relacionada con el colágeno), es el retardo en la curación de las heridas. La deficiencia de vitamina C puede ser detectada por medio de signos clínicos tempranos como hiperqueratosis folicular, hemorragias petequiales, inflamación y hemorragia de las encías, dolor de articulaciones, o bajas concentraciones de ascorbato en el plasma, sangre o leucocitos (Norman P. 1998).

El colágeno sin hidroxilar es inestable y no puede proceder a la reparación normal de los tejidos. Esto se traduce en una fragilidad capilar con procesos hemorrágicos, retrasos en la cicatrización de heridas y anomalías óseas (Stetman B. 2001).

Exceso de Ácido Ascórbico

La vitamina C hace que el aluminio se absorba mejor. El aluminio puede ser tóxico. Por esta razón no se deben ingerir grandes cantidades de vitamina C conjuntamente con medicamentos (como por ejemplo, antiácidos) que contienen aluminio (Goodman & Gilman, 2002).

Grandes cantidades de vitamina C pueden alterar los resultados de algunas pruebas de laboratorio. Por ejemplo, las pruebas para azúcar en sangre pueden dar resultados inexactos en personas que están ingiriendo dosis elevadas de esta vitamina (Cardona, 2011). La efectividad de algunos medicamentos contra la diabetes puede verse reducida cuando se ingieren conjuntamente con vitamina C (Norman P. 1998).

Las embarazadas no deben ingerir cantidades superiores a los 5,000 mg diarios ya que el bebé puede hacerse dependiente de esta cantidad de vitamina y desarrollar síntomas de deficiencia luego del nacimiento (Norman P. 1998).

Método de cuantificación de vitamina C

Para determinar la concentración de vitamina C o ácido ascórbico en una muestra que contenga éste se procede a una valoración redox (Cardona, 2011).

El ácido ascórbico en presencia de yodo se oxida, siendo éste el oxidante para este proceso redox, que se obtiene al hacer reaccionar, Iodato de potasio con Ioduro de potasio (Cardona, 2011).

El ácido ascórbico se oxida en presencia del exceso de yodo, produciendo el ácido deshidroascórbico, luego se añade yoduro de potasio para obtener yodo libre. Conocida la cantidad de yodo generada, se procede a valorar el exceso de yodo remanente, luego valorar el ácido ascórbico, con una solución de tiosulfato de sodio es decir se realiza una valoración en retroceso, utilizando indicador de almidón (Cardona, 2011).

1.6.2. Espectrofotometría de ultravioleta – visible (UV-VIS).

Esta técnica involucra el uso de un instrumento de laboratorio que mide el grado de absorción de luz de una muestra. El diseño del instrumento es tal que una longitud de onda monocromática de luz proveniente de una fuente de luz (dentro del instrumento) índice a través de una solución de muestra. La cantidad de luz absorbida por esta solución es medida electrónicamente por un tubo fotomultiplicador y visualizada en un dispositivo de lectura. El analista es capaz de cuantificar un constituyente en la muestra relacionando este grado de absorbancia mostrado por el instrumento en la concentración del constituyente (Kenkel, 1992).

Además de este análisis cuantitativo, también se puede realizar un análisis cualitativo observando el patrón de absorción que una muestra exhibe a lo largo de un rango de longitudes de onda, lo que se conoce como “espectro de absorción molecular”. En teoría los patrones de absorción de dos especies químicas diferentes no son exactamente iguales. Por lo tanto, se podría decir que se tiene una “huella digital” molecular y esto es lo que hace que la identificación o análisis cualitativo sea posible (Kenkel, 1992).

El instrumento moderno es capaz de llevar tanto el análisis cualitativo como el cuantitativo (Kenkel, 1992). En la figura 1 se muestran los componentes básicos de un espectrofotómetro. La fuente de luz (policromática) proporciona la luz que va a ser dirigida a la muestra.

El selector de longitud de onda o monocromador, aísla la longitud de onda que va a ser usada. El compartimiento de la muestra es una “caja” estrecha donde se sostiene la solución de la muestra y los componentes del detector / lector son los módulos electrónicos, los cuales miden y muestran el grado de absorción (Kenkel, 1992).

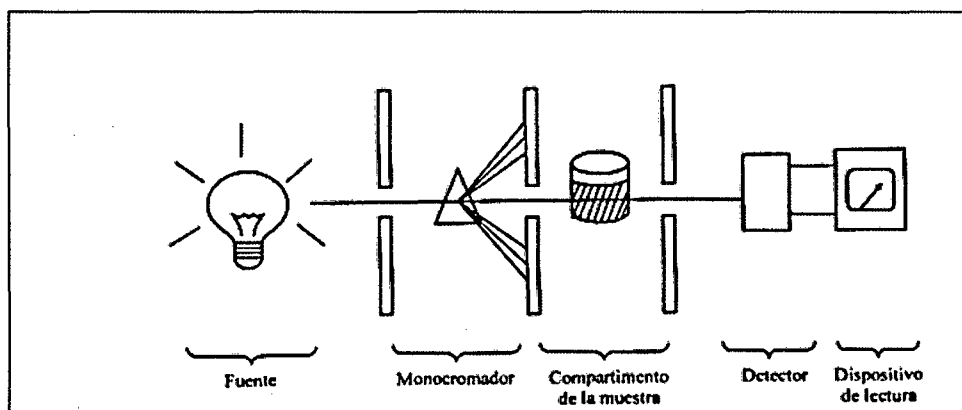


Figura 1. Componentes básicos de un espectrofotómetro
Fuente. (Kenkel, 1992)

1.6.2.1.El concepto de absorbancia

La intensidad de luz que golpea al detector cuando una solución “blanco” está presente en la cubeta se le da el símbolo de “ I_0 ”. El blanco es una solución que contiene todas las especies químicas que estarán presentes en los estándares y en las muestras que será medida (a los mismos niveles de concentración), excepto por la especie analítica (Kenkel, 1992).

Una solución de este tipo no deben mostrar absorción y por lo tanto I_0 representa la intensidad máxima que puede golpear al detector en cualquier momento. Cuando el blanco es reemplazado por una solución del analito, se detectará un haz de luz menos intenso. La intensidad de la luz para esta solución es denotada por

el símbolo I (Figura 2). Por lo tanto la fracción de luz transmitida de I/I_0 . Esta fracción es definida como la “transmitancia” “ T ” (Kenkel, 1992).

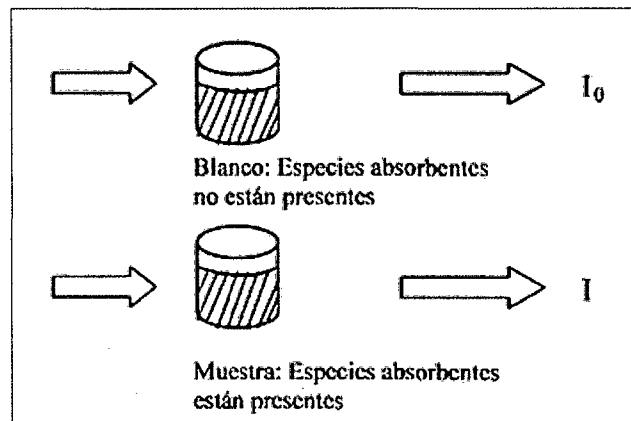


Figura 2. Ilustración de definiciones de I e I_0
Fuente: (Kenkel, 1992).

Entonces: $T = I/I_0$.

El porcentaje de transmitancia es similarmente definido: $\%T = T \times 100$.

El aspecto infortunado de la transmitancia es que no es lineal con la concentración (Kenkel, 1992).

Concentraciones bajas resultan transmitancias altas y concentraciones altas producen bajas transmitancias. Sin embargo, la relación no es lineal sino logarítmica. Debido a que la relación es logarítmica, se espera que el logaritmo de la transmitancia sea lineal. Por lo tanto, se definió el parámetro de “absorbancia” como el logaritmo negativo de la transmitancia y se le dio el símbolo “ A ” (Kenkel, 1992).

$$A = -\log T$$

Entonces la absorbancia es un parámetro que aumenta linealmente con la concentración (Kenkel, 1992).

La entidad colorida debe obedecer a la Ley de Lambert y Beer tan fielmente como sea posible en un rango de concentraciones de trabajo de modo que se pueda

obtener una curva de calibración reproducible de absorbancia contra concentración. El desarrollo del color debe ser rápido. El máximo color formado debe ser estable y sin cambio por un periodo lo suficientemente largo que permita una medición precisa (Kenkel, 1992).

La espectrofotometría describe la interacción entre la radiación, principalmente la electromagnética, y la materia. Toda radiación electromagnética viene caracterizada por la longitud de onda (λ), una frecuencia (ν) o una energía (E); la relación existente entre ellas está dada por la ecuación de Planck:

$$E = h\nu = hc/\lambda$$

Donde:

E = Energía transportada por cuanto de radiación o fotón (j fotón)

h = Constante de Planck ($6,6256 \times 10^{-34} \text{ Js fotón}$)

c = Velocidad de la luz ($2,9979 \times 10^8 \text{ m s}^{-1}$)

λ = Longitud de onda [m]

ν = frecuencia de la radiación [s^{-1}]

1.6.2.2. Ley de Lambert – Beer

Kenkel, 1992 menciona que la base de la espectrofotometría de absorción UV – Vis y su uso en el análisis cuantitativo están dados por la relación conocida como ley de Lambert – Beer, que establece que la absorbancia de una solución es directamente proporcional a la concentración del analito en esa solución. Por lo tanto puede emplearse para determinar la concentración de un compuesto en una solución. La longitud de onda λ de la absorción de la luz es específica de cada cromoforo (Kenkel, 1992).

Cuando un haz de radiación UV-Vis atraviesa una solución que contiene un analito absorbente, la intensidad (I) que atraviesa la muestra es menor que la del haz incidente (I_0). La fracción de radiación que ha traspasado la muestra se denomina

transmitancia ($T = \frac{I}{I_0}$). La transmitancia está relacionada con la absorbancia (A) de acuerdo con la siguiente expresión:

$$A = -\log T = -\log\left(\frac{I}{I_0}\right)$$

Por aspectos prácticos, para las mediciones se usa la absorbancia (A) en lugar de la transmitancia (T), debido a que, de acuerdo a la ley de Lambert – Beer, A esta linealmente relacionada con la concentración del analito absorbente a una determinada longitud de onda:

$$A = -\log_{10}\left(\frac{I}{I_0}\right) = \epsilon cl$$

Donde:

A = Absorbancia medida

I = Intensidad de la luz transmitida

I_0 = Intensidad de la luz incidente

ϵ = Coeficiente de absorción molar, característico de cada sustancia
Absorbente a cada longitud de onda.

l = longitud del campo óptico (distancia que atraviesa la luz dentro de la muestra).

c = Concentración de la sustancia absorbente ($mol L^{-1}$).

1.6.2.3. Aplicación de la espectrofotometría.

La espectrofotometría UV-Vis se emplea generalmente en la determinación cuantitativa de la concentración en soluciones de especies químicas como iones metálicos de transición y compuestos orgánicos muy conjugados. Muchas de las determinaciones incluyen un paso de reacción entre la especie y un compuesto que origine un derivado coloreado o absorbente en el UV-Vis (Kenkel, 1992).

1.6.3. Factores que influyen sobre la concentración de ácido.

- A. Lugar de procedencia
- B. Ecotipo
- C. Temperatura
- D. tiempo

En la presente tesis se logró los siguientes objetivos:

Objetivo general

- Evaluar la concentración de ácido ascórbico en Cocona (*Solanum sessiliflorum dunnal*), para dos cultivares.

Objetivos específicos

- Determinar la temperatura y tiempo ideal para la extracción del ácido ascórbico de la fruta, minimizando cambios en color y sabor; así como la pérdida de aromas.
- Establecer las condiciones óptimas para la mayor obtención de la vitamina C.
- Realizar la caracterización fisicoquímica de la cocona (*Solanum Sessiliflorum dunnal*).

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Lugar de ejecución

La presente investigación se realizó en los ambientes de los Laboratorios de Tecnología Agroindustrial, de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.

2.2. Materia prima

Se utilizó dos ecotipos de cocona (*Solanum Sessiliflorum Dunnal.*), ecotipo I y ecotipo II. Obtenido el ecotipo I de la Provincia de Rodríguez de Mendoza y el ecotipo II de la ciudad de Tarapoto, previamente seleccionado, con madurez fisiológica, libre de daños físicos, mecánicos, enzimáticos y microbiológicos; se trabajó con la pulpa de la cual se obtuvo el jugo para la realización de los análisis necesarios.

2.3. Métodos

2.3.1. Análisis fisicoquímico de la materia prima

Se determinó las características fisicoquímicas de la cocona (sólidos solubles, acidez titulable, azúcares reductores, sólidos totales, índice de madurez, pH, ácido ascórbico, cálculo del título de fehling).

Sólidos totales

Representa el porcentaje de sólidos totales obtenidos por desecación preferiblemente a 70 °C en estufa al vacío, ó a presión atmosférica a 105°C.

El método de secado para conocer la cantidad de humedad o agua contenida en la muestra se realizó de la siguiente manera:

- En una cápsula de porcelana previamente pesada, añadir 10 gramos de jugo.
- Pesar nuevamente la cápsula con el jugo. Anotar el peso.
- Colocar en la estufa a 105°C hasta sequedad.
- Enfriar y pesar nuevamente.

Sólidos solubles totales

Se refiere a los sólidos solubles en agua, como azúcares y ácidos orgánicos. Se determinan en un refractómetro con una escala calibrada en grados Brix (% en peso de sacarosa), un grado Brix equivale comercialmente a una concentración en sólidos solubles de 1g/100ml.

- Abrir el doble prisma del refractómetro y esparcir una gota de la muestra, sobre la cara inferior.
- Cerrar los prismas firmemente y dejar un minuto para que la temperatura del jugo y del instrumento sea la misma.
- Buscar en el campo del visor la franja que indica reflexión total; ajustar dicha franja en el punto de intersección de la cruz del visor, rotando el tornillo compensador si la línea no fuera nítida y presentara coloración.
- Hacer la lectura del % de sólidos solubles directamente en la escala específica que para dicha medida tiene el refractómetro. Anotar la temperatura de la medición.

Acidez titulable

Se determina la acidez total por titulación con un álcali normalizado, con fenolftaleína como indicador. Los resultados se expresan en mililitros de NaOH 0.1N, o como gramos por 100mL del ácido predominante.

Pesos equivalentes:

- Ácido cítrico 64
 - Acido málico 67
 - Acido tartárico 75
 - Ácido acético 41
 - Ácido ascórbico 88
- En un Erlenmeyer de 250 ml colocar una alícuota de 10 ml del jugo.
 - Adicionar unos 40 ml de agua destilada, mezclar muy bien y agregar dos o tres gotas de fenolftaleína.
 - Titular con solución estándar de NaOH 0.1N hasta el viraje de la fenolftaleína rosado leve.
 - Repetir la titulación con otra muestra y promediar los resultados.

pH

Se determinó empleando un potenciómetro, para ello se colocó el bulbo del pHmetro sobre una muestra del jugo y se procedió a su lectura. Teniendo las consideraciones siguientes

- Calibrar el medidor de pH con los buffer indicados.
- Medir directamente el valor del pH de la muestra de jugo. Si el equipo no posee compensación automática de temperatura aclimatar la muestra a 20 C y reportar el valor obtenido

Azúcares reductores

Son los responsables del sabor dulce de las frutas maduras y de los vegetales frescos. Abundan principalmente la sacarosa y los azúcares reductores glucosa y fructosa.

- Pesar 10 g de jugo y aforar a 100 ml con agua destilada. Con esta solución llenar una bureta de 25 ml.
- En un erlenmeyer medir 5 ml de Fehling A y 5 ml de Fehling B, adicionar 50 ml de agua destilada y hacer ebulir. Se inicia la titulación con la solución de la bureta hasta que empiece un viraje en el color, se adicionan 3 gotas de azul de metileno y continuar la titulación sin dejar de ebulir hasta que la solución pase a color rojo.

2.3.2. Determinación de Ácido ascórbico (vitamina C) por fotometría

Durante el desarrollo de la presente tesis, para la determinación del ácido ascórbico se empleó el método descrito en el manual de laboratorio de análisis de alimentos (Severa y López, 2010), cuyo proceso se describe a continuación:

- **Recepción:** la cocona se recepcionó de la localidad de Rodríguez de Mendoza y de la ciudad de Tarapoto.
- **Selección:** Se descartó la fruta con cualquier signo de enfermedad o presencia de daños causados por el transporte.
- **Pesado:** Se realizó para determinar la cantidad con la cual se trabajó, haciendo uso de una balanza comercial de capacidad máxima de 10 Kg. con la finalidad de establecer el rendimiento para el producto final.

- **Lavado:** Se utilizó abundante agua, con la finalidad de eliminar las impurezas antes del procesamiento, para evitar todo tipo de contaminación.
- **Pelado:** Se realizó manualmente, utilizando cuchillos de acero inoxidable.
- **Pesado:** Se pesó nuevamente la fruta y se estableció la cantidad de cáscara que finalmente se eliminó.
- **Troceado:** Se realizó con la ayuda de cuchillos de acero inoxidable, en forma de medias rodajas; con el objeto de facilitar el licuado.
- **Exprimido:** Las medias rodajas de fruta se procedieron a aplastar para obtener el jugo.
- **Colado:** Este proceso se realizó para eliminar las pepas de la fruta.

Preparación de la muestra:

- Medir o pesar una cantidad de muestra cuya cantidad de vitamina C al final de la determinación este comprendida entre 5 y 50 microgramos en 4 ml.
- Si la muestra es sólida agregar ácido oxálico al 5%, homogenizar con varilla de vidrio y llevar a un matraz de 100 ml. (si se requiere se puede hacer pasar por un papel filtro).
- Si la muestra es líquida llevarla a un matraz de 100 ml.
- Completar el volumen con ácido oxálico 5%.

Oxidación:

- Tomar 50 ml de la solución anterior y llevarla a un embudo de separación.
- Añadir 2,6 diclorofenolindofenol hasta oxidación total (la solución se torna rosada).
- Pasados 2 minutos extraer el exceso de 2,6 diclorofenolindofenol con 50 ml de éter etílico.
- Pasar la fase acuosa a un matraz de 100 ml y lavar la fase etérea (en el embudo) dos veces con 10 y 15 ml de ácido oxálico cada vez.
- Adicionar los ml de ácido oxálico empleados para lavar al matraz de 100 ml.
- Completar el volumen con ácido oxálico, si es necesario filtrar.



Preparación de la solución patrón:

- Pesar 0.05 g de ácido ascórbico y llevarlos a un matraz de 500 ml.
- Completar el volumen con ácido oxálico. Concentración 0.1 mg de ácido ascórbico por ml.
- Tomar 10 ml de esta solución y llevarlos a un matraz de 100 ml.
- Completar el volumen con ácido oxálico. Concentración 0.01 mg de ácido ascórbico por ml.
- Tomar 50 ml de esta solución y proceder a oxidar en igual forma que la muestra.

Condensación:

En matraces de 10 ml realizar el siguiente procedimiento:

Tabla 4. Procedimiento para la condensación de la muestra.

Pasos	Muestra A		Muestra B	
	Muestra	Blanco Muestra	Patrón	Patrón Blanco
1. Separación de muestras	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml
2. Adición de Solución Thiourea	2 gotas	2 gotas	2 gotas	2 gotas
3. Adición de Solución DNPH	1 ml agitar	NO	1 ml agitar	NO
4. Adición de calor (muestra y patrón)	Calentar a 37°C por 3 horas	Temperatura ambiente por 3 horas	Calentar a 37°C por 3 horas	Temperatura ambiente por 3 horas
5. Enfriamiento	Enfriar en hielo por 10 min.			
6. Solución DNPH	NO	1 ml agitar	NO	1 ml agitar
7. Adición de ácido	Completar el volumen con H ₂ SO ₄ 85%			

Fuente: elaboración propia

Enfriar a temperatura ambiente y medir la absorbancia de las soluciones en el fotómetro a 520 nm.

Preparación de reactivos

Solución de tiourea: Se disuelven 10 g de tiourea en 10 ml de una mezcla de etanol y agua (1:1).

Solución de 2,6 diclorofenolindofenol: 0.25 g de 2,6 diclorofenolindofenol sódico se disuelven en 100 ml de agua.

Solución de DNPH: Se disuelven 2 g de 2,4 dinitrofenilhidrazina en 100 ml de una mezcla de 3 partes (V/V) de agua y una parte de ácido sulfúrico 95-97%. La disolución se realiza cuando la mezcla esta todavía caliente.

Tabla 5. Condiciones para la evaluación

Nro.				
Trat.	A	B	C	DESCRIPCIÓN
T1	A1	B1	C1	A1= Ecotipo I; B1= 20°C; C1= 2 Horas.
T2	A1	B2	C2	A1= Ecotipo I; B2= 35°C; C2= 3 Horas.
T3	A1	B3	C1	A1= Ecotipo I; B3= 50 °C; C1= 2 Horas.
T4	A1	B1	C2	A1= Ecotipo I; B1= 20 °C; C2= 3 Horas.
T5	A1	B2	C1	A1= Ecotipo I; B2= 35 °C; C1= 2 Horas.
T6	A1	B3	C2	A1= Ecotipo I; B3= 50 °C; C2=3 Horas.
T7	A2	B1	C1	A2= Ecotipo II; B1= 20 °C; C1=2 Horas.
T8	A2	B2	C2	A2= Ecotipo II; B2= 35 °C; C2=3 Horas.
T9	A2	B3	C1	A2= Ecotipo II; B3= 50 °C; C1=2 Horas.
T10	A2	B1	C2	A2= Ecotipo II; B1=20 °C; C2= 3 Horas.
T11	A2	B2	C1	A2= Ecotipo II; B2= 35 °C; C1=2 Horas.
T12	A2	B3	C2	A2= Ecotipo II; B3= 50 °C; C2=3 Horas.

Fuente: Elaboración propia

A: Ecotipo de fruta

B: Temperatura (°C)

C: Tiempo (Horas)

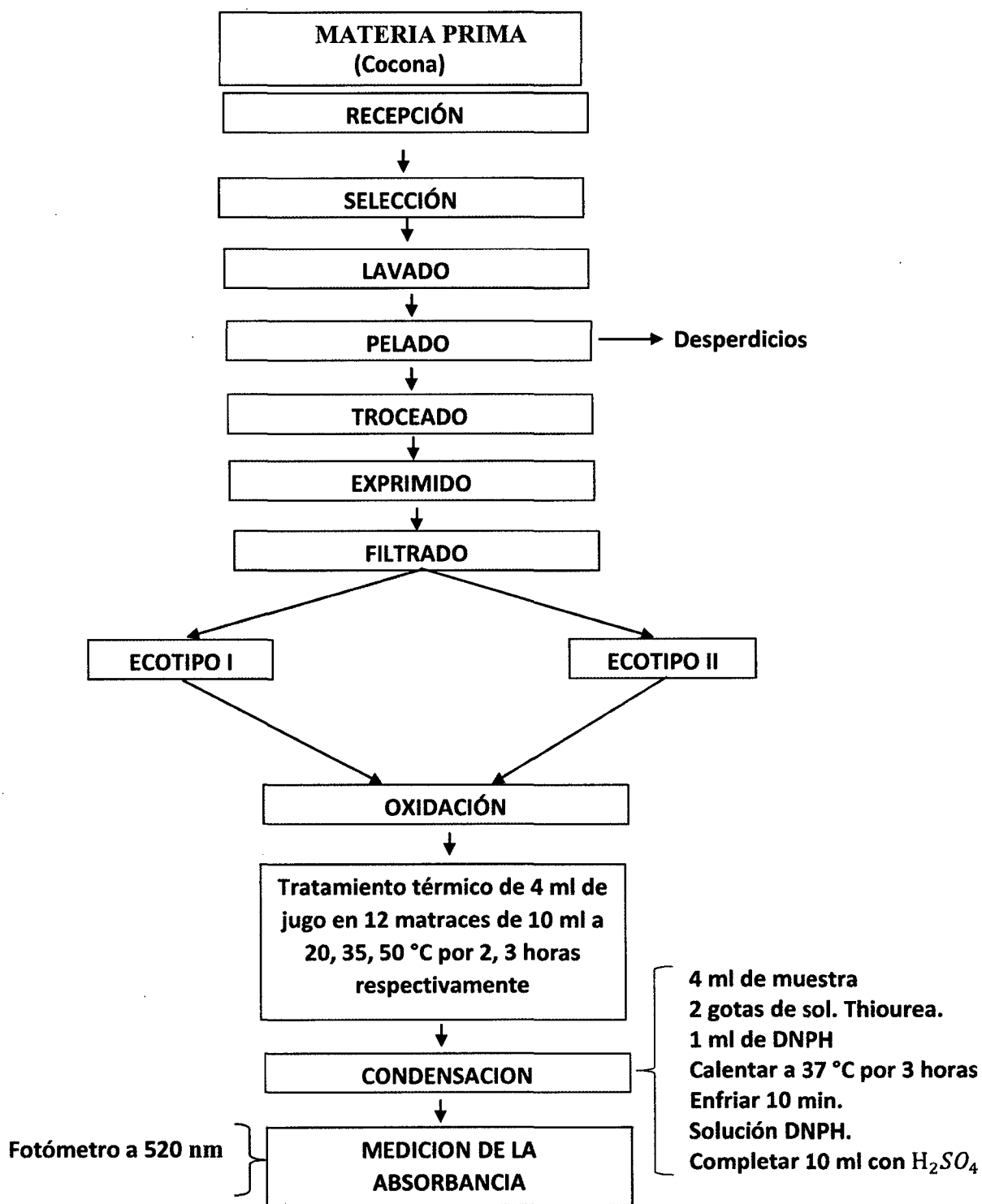


Figura 3. Diagrama de bloques para la evaluación de ácido ascórbico a partir de Cocona

Fuente: Elaboración propia

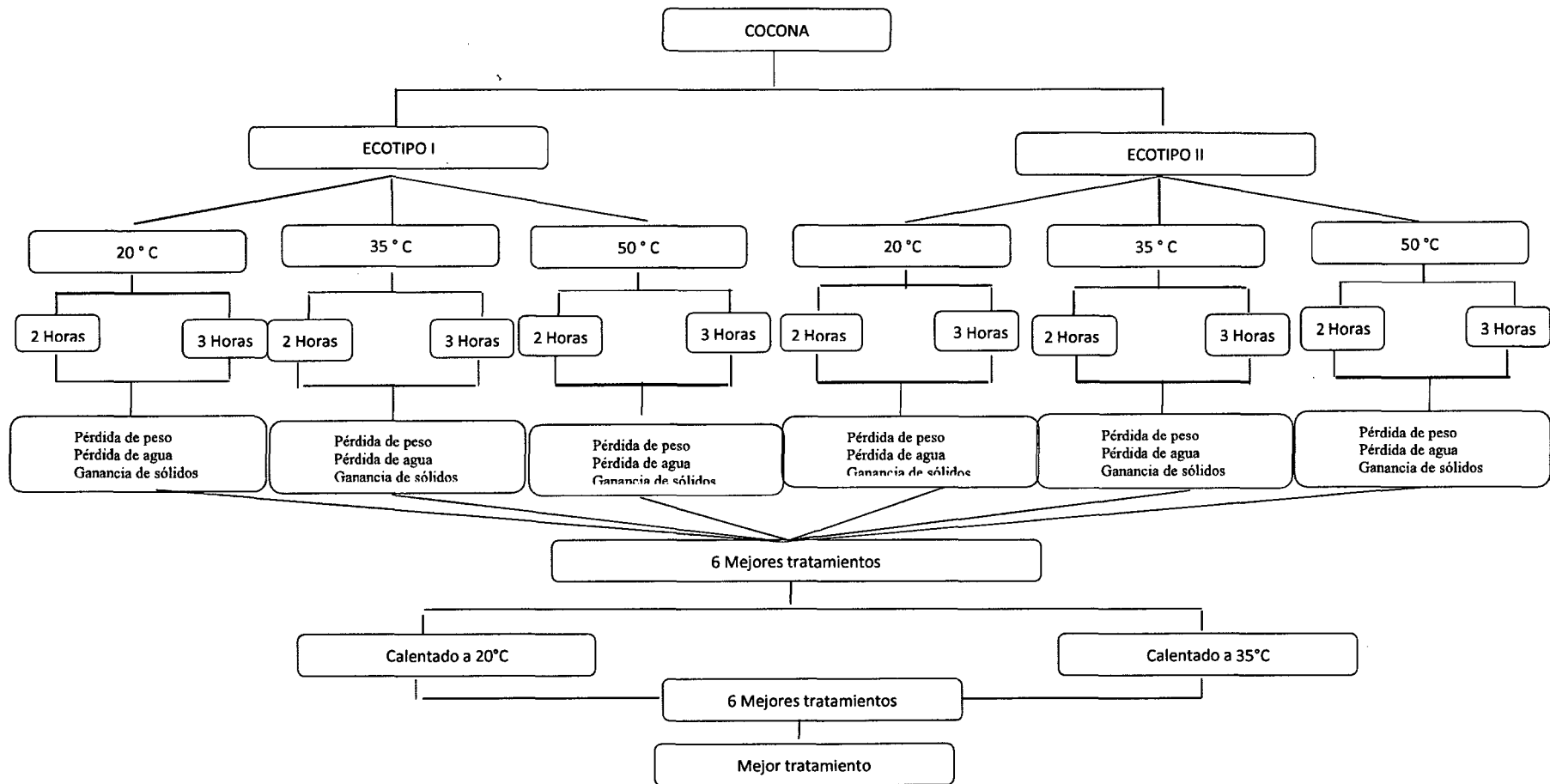


Figura 4. Secuencia de pruebas experimentales de evaluación de contenido de ácido ascórbico

Fuente: elaboración propia

2.3.2.1. Análisis del producto final

Para determinar los microgramos de vitamina C presentes en el volumen de muestra tomado para la condensación con DNPH aplicar la siguiente fórmula:

$$\frac{AM - AMBL * R}{AP - APBL}$$

Donde:

AM : Absorbancia de la muestra

AMBL: Absorbancia del blanco muestra

AP : Absorbancia del patrón

APBL : Absorbancia del blanco patrón

R : Microgramos de vitamina C en los ml. de patrón usados para la condensación.

- Expresar la cantidad de vitamina C de la muestra en mg/100 g o ml.

2.3.3. Análisis Estadístico.

A. Evaluación de la concentración de ácido.

Se trabajará con un experimento Factorial 2Ax5Bx2C, con Diseño Completamente al Azar (DCA) con 3 repeticiones. Donde el factor A esta representado por el tipo de fruta a utilizar, el factor B está representado por la concentración de soluto, y el factor C representado por el estado de madurez.

Linealidad del sistema

Modelo aditivo lineal

$$y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + C_k + (AB)_{ij} + (AC)_{ik} + (BC)_{jk} + (ABC)_{ijk} + \varepsilon_{ijklm}$$
$$i = 1, \dots, m \quad j = 1, \dots, \tilde{n} \quad k = 1, \dots, o \quad l = 1, \dots, p$$

Donde:

y_{ijkl} = Concentración de ácido ascórbico de cocona (*solanum sesiliform dunnal*) obtenida con el i-ésimo tipo, j-ésimo concentración de soluto y k-ésima estado de madurez.

μ = Efecto de la media general

A_i = Efecto del i-ésimo ecotipo de fruta

B_j = Efecto del j-ésimo variación de la temperatura.

C_k = Efecto de la k-ésimo variación del tiempo.

AB_{ij} = Efecto de la interacción del i-ésimo estado de madurez y j-ésimo variación de la temperatura.

AC_{ik} = Efecto de la interacción del i-ésimo tipo de fruta y k-ésima variación del tiempo.

BC_{jk} = Efecto de la interacción del j-ésimo variación de temperatura y k-ésima variación de tiempo

ABC_{ijk} = Efecto de la interacción del i-ésimo ecotipo de fruta, j-ésimo variación de temperatura y k-ésimo variación del tiempo.

ε_{ijkl} = Efecto del error experimental

Nivel de significancia (α) : 5%

Nivel de confianza ($1-\alpha$) : 95%

Comparaciones múltiples: Comparaciones múltiples. Para las comparaciones múltiples se empleara la prueba de distribución Tukey al 95 % del nivel de confianza.

III. RESULTADOS

Se efectuó antes de realizar los tratamientos respectivos. Los resultados se muestran en la Tabla 6 y 7.

Tabla 6. Características fisicoquímicas de la Cocon ecotipo I

Característica	Valor
Cenizas (%)	0,70
Sólidos solubles (°Brix)	11
Acidez titulable (%)	4,00
Humedad (%)	81
Sólidos totales (100 – % humedad)	19,29
Índice de madurez (°Brix/% de Acidez titulable)	2,8
pH	3,3

Fuente. Elaboración propia

Tabla 7. Características fisicoquímicas de la Cocona Ecotipo II

Característica	Valor
Cenizas (%)	0,75
Sólidos solubles (°Brix)	6
Acidez titulable (%)	3,95
Humedad (%)	85,60
Sólidos totales (100 – % humedad)	12,59
Índice de madurez (°Brix/% de Acidez titulable)	1,363
pH	3,7

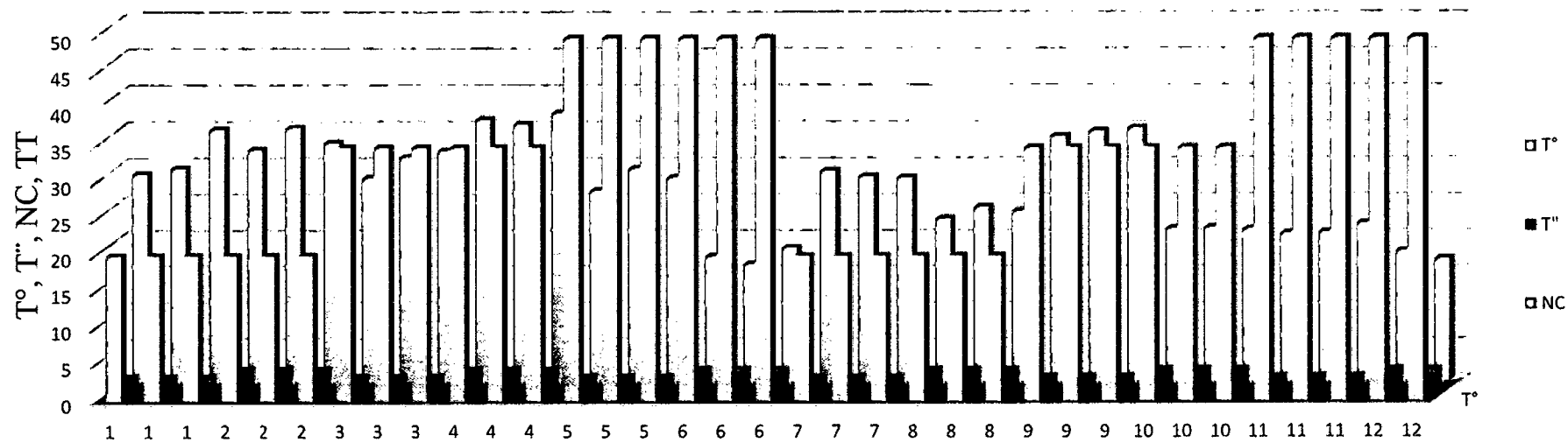
Fuente. Elaboración propia

3.1. Evaluación de la concentración de ácido ascórbico en dos ecotipos de Cocona

Tabla 8. Resultados de la evaluación del contenido de ácido ascórbico en dos ecotipos de Cocona.

ECOTIPO	TRATAMIENTO	TEMPERATURA (°C)	TIEMPO (Horas)	NIVEL DE CONCENTRACION (mg/100 g)
I	1	20	2	2,864
I	1	20	2	2,942
I	1	20	2	3,475
I	2	20	3	3,195
I	2	20	3	3,498
I	2	20	3	3,294
I	3	35	2	2,806
I	3	35	2	3,095
I	3	35	2	3,185
I	4	35	3	3,612
I	4	35	3	3,546
I	4	35	3	3,702
I	5	50	2	2,635
I	5	50	2	2,938
I	5	50	2	2,812
I	6	50	3	1,721
I	6	50	3	1,612
I	6	50	3	1,845
II	7	20	2	2,91
II	7	20	2	2,835
II	7	20	2	2,819
II	8	20	3	2,248
II	8	20	3	2,41
II	8	20	3	2,355
II	9	35	2	3,385
II	9	35	2	3,451
II	9	35	2	3,492
II	10	35	3	2,11
II	10	35	3	2,125
II	10	35	3	2,101
II	11	50	2	2,042
II	11	50	2	2,059
II	11	50	2	2,187
II	12	50	3	1,792
II	12	50	3	1,683

Fuente. Elaboración propia



T°: Temperatura (°C)

T'': Tiempo (Horas)

NC: Nivel de concentración (mg/100g)

TT: Tratamientos

TRATAMIENTOS

Figura 5. Resultados de la evaluación del contenido de ácido ascórbico para los tres tratamientos.

Fuente: Elaboración propia

3.1.1. Concentración de ácido ascórbico en función a la temperatura

En la Figura 6 se tiene el nivel de concentración en función de la temperatura de calentamiento. Existe diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza de 95 % entre temperaturas, teniendo una mayor concentración a una temperatura de 35°C, y una menor concentración a una temperatura de 50 °C.

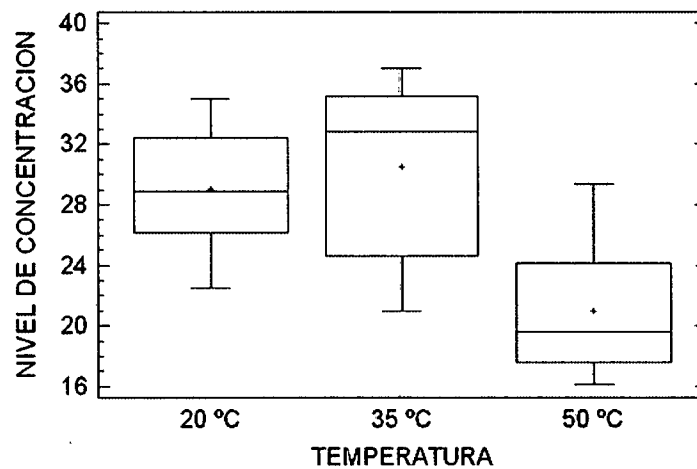


Figura 6. Nivel de concentración vs T° de calentamiento

Fuente. Elaboración propia

3.1.2. Nivel de concentración en función al ecotipo.

En la Figura 7 se tiene el nivel de concentración en función al ecotipo. Existe diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza de 95 % entre el ecotipo I y el ecotipo II, teniendo un mayor nivel de concentración para el ecotipo I.

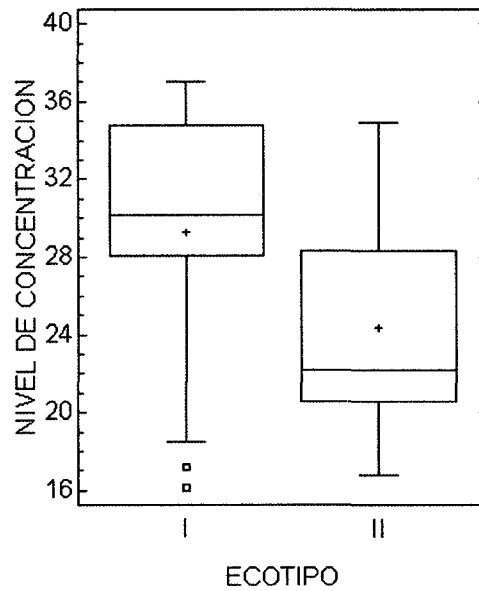


Figura 7. Nivel de concentración vs ecotipo

Fuente: Elaboración propia

3.1.3. Nivel de concentración en función al tiempo

En la Figura 8 se tiene el nivel de concentración en función del tiempo. Existe diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza de 95 % entre las 2 variaciones de tiempo, teniendo un mayor nivel de concentración a las 3 horas en comparación al otro tratamiento de 2 horas.

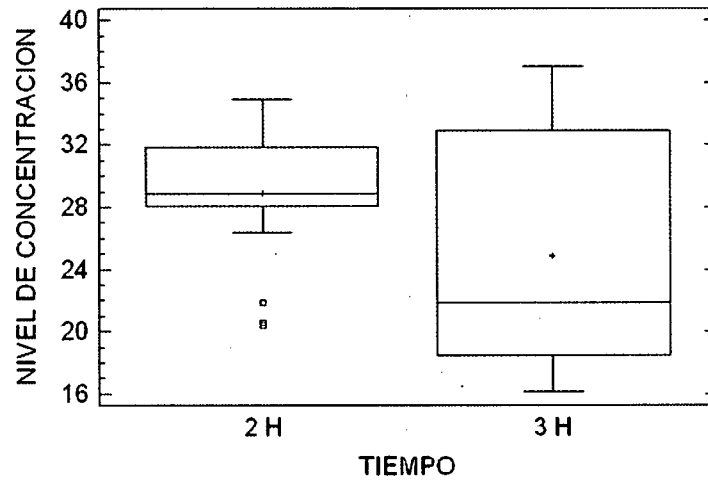


Figura 8. Porcentaje de pérdida de peso vs concentración

Fuente: Elaboración propia

3.2. Condiciones para la evaluación del contenido de ácido ascórbico de los mejores tratamientos.

Tabla 9. Condiciones para la evaluación de la concentración de ácido ascórbico de los mejores tratamientos

Clave	Secado		
	Tratamiento	Temperatura (°C)	Tiempo (Horas)
A	T1	20	2
B	T2	20	3
C	T7	20	2
D	T8	20	3
E	T3	35	2
F	T4	35	3
A	T9	35	2
B	T10	35	3
C	T3	50	2
D	T4	50	3
E	T7	50	2
F	T9	50	3

Fuente. Elaboración propia

T1:20°C temperatura de calentamiento, con un tiempo de 2 horas.

T2:20 °C temperatura de calentamiento, con un tiempo de 3 horas.

T7:20 °C temperatura de calentamiento, con un tiempo de 2 horas.

T8: 20 °C temperatura de calentamiento, con un tiempo de 3 horas.

T1:35°C temperatura de calentamiento, con un tiempo de 2 horas.

T2:35 °C temperatura de calentamiento, con un tiempo de 3 horas.

T7:35 °C temperatura de calentamiento, con un tiempo de 2 horas.

T8: 35°C temperatura de calentamiento, con un tiempo de 3 horas.

T1:50 °C temperatura de calentamiento, con un tiempo de 2 horas.

T2:50 °C temperatura de calentamiento, con un tiempo de 3 horas.

T7:50°C temperatura de calentamiento, con un tiempo de 2 horas.

T8: 50°C temperatura de calentamiento, con un tiempo de 3 horas.

3.3. Alcances de la investigación.

El tema de investigación es aplicada. Los resultados del tema de investigación a nivel de laboratorio serán en beneficio de los siguientes sectores:

Salud: En beneficio de la población en general con diversas patologías, obesidad, malestares cardiovasculares depresión, cataratas, malestares urinarios, dolores estomacales, cálculos renales, etc.

En cambio la anemia hipocromica que acompaña al escorbuto se explica por la acción del ácido ascórbico sobre el metabolismo del hierro, ya que la vitamina C es necesaria para incorporar el hierro a la ferritina (Ronald S. Kirk, 2006).

El ácido ascórbico ejerce en el organismo animal una acción protectora contra la deficiencia de otras vitaminas (tiamina, riboflavina, ácido pantoténico, biotina, ácido fólico, vitamina E, vitamina A) (Ronald S. Kirk, 2006).

La industria farmacéutica y alimentaria: Se verá favorecida encontrando en los frutos nativos una fuente de industrialización de suplementos vitamínicos.

IV. DISCUSIÓN

Antes de entrar en la discusión de los resultados es conveniente hacer algunas anotaciones previas.

En nuestro estudio nos hemos limitado al “zumo de cocona” y como consecuencia, el valor de los parámetros tenidos en cuenta se refiere exclusivamente al “zumo” y no a la fruta.

El ácido ascórbico es muy sensible a la temperatura y gran parte de esta se pierde en el procesamiento de alimentos a base de calor (Alvarado 1996). Según los resultados de la investigación realizada, se observa en la tabla 8 el contenido de ácido ascórbico desciende conforme aumenta la temperatura (°C) y el tiempo (min) de exposición a esta.

El ácido ascórbico se clasifica como una vitamina hidrosoluble, razón por la cual es abundante en frutas cuyo contenido de agua es superior al 50 %; esta vitamina se degrada muy fácilmente por cambios de temperatura, incidencia de la radiación y concentración de oxígeno. Su extracción de fuentes naturales debe realizarse en medio ácido y con la mínima cantidad de radiación (Gutiérrez 2007). Durante la evaluación del ácido ascórbico se tuvo marcadas diferencias en cuanto a temperatura y tiempo para los tratamientos realizados, siendo el mejor tratamiento el número cuatro donde se obtuvo una concentración promedio (3,62 mg. Por cada 100 g.), a una temperatura (35°C) y con un tiempo de (3 horas) para el calentamiento.

El ácido L-ascórbico representa el 90% del contenido total en vitamina C y es la forma predominantemente activa. Se oxida reversiblemente a la forma L-deshidroascórbico, que también presenta actividad biológica (Burini, G. 2007). En la presente estudio de investigación los valores correspondientes a los resultados de los análisis relativos al contenido en ácido ascórbico ha sido obtenidos por cálculo a partir de la lecturas de los máximos a la longitud de onda de 520 nm., tal como indica el método. Una de las causas más frecuentes para la destrucción del ácido ascórbico es la temperatura y como pudimos constatar en este trabajo a una temperatura de 50 °C, obtuvimos la menor cantidad de ácido en la evaluación. A diferencia de los 35 °C que la cantidad evaluada tuvo resultados satisfactorios.

El contenido nutricional de la cocona (*Solanum sessiliflorum dunnal*) en 100 gramos de pulpa es el siguiente: humedad 88,52g, extracto etéreo 1,21g, proteína 0,78g, fibra dietética (fracción soluble) 1,22 g, fibra dietética (fracción insoluble) 2,59 g, ceniza 0,61 g, carbohidratos totales 8,88 g, calcio 0,0124 mg, fosforo 0,26 mg, hierro 0,1293 mg, pro vitamina A (beta carotenos) 0,06 mg, vitamina b1 0,03 mg, vitamina C 58,7 mg, azúcares totales 2,087 mg, glucosa 1,273 mg, fructosa 578 mg, sacarosa 236 mg (Corpei, 2005). En el presente estudio se hizo el empleo de frutos de cocona en estado de madurez fisiológica, presentando un pH (3,4) para el ecotipo I y un pH (3,7) para el ecotipo II, una acidez (3,9) para el ecotipo I y para el ecotipo II la acidez fue (4,4), el grado Brix fue (11) para el ecotipo I y (6) para el ecotipo II, los sólidos solubles fue de (19, 29) para el ecotipo I y (12,59) para el ecotipo II. Siendo estos los parámetros en los cuales se realizó la evaluación del ácido ascórbico. Para lo cual se encontró diferencia significativa entre los ecotipos evaluados.

La linealidad es una propiedad importante de los métodos utilizados para efectuar mediciones en un intervalo de concentraciones. La linealidad de respuesta a patrones puros y a muestras realistas puede determinarse. La linealidad generalmente no es cuantificable pero es comprobada mediante inspección o utilizando pruebas de significancia de la no linealidad. La no linealidad significativa es usualmente corregida mediante el uso de funciones de calibración no lineal o eliminada seleccionando un intervalo de operación más restringido. Cualquier desviación residual de la linealidad normalmente es estabilizada por el estimado de la precisión global, cubriendo varias concentraciones, o dentro de cualquier incertidumbre asociada a la calibración (Quam 2000)

En este trabajo se presenta un método de análisis por espectrofotometría, que no compromete la integridad del ácido ascórbico y que a la vez proporciona unos resultados fiables, siendo rápido y de bajo coste. Se emplea un sencillo método de extracción que consta de tan solo cinco pasos, con una duración aproximada de 4 horas, usando una mezcla de ácido oxálico (5%), solución 2,6 diclorofenol indofenol sódico, solución 2,4 dinitrofenilhidreazina, solución tiourea, éter etílico, ácido sulfúrico (85%).

V. CONCLUSIONES

Podemos indicar que la cuantificación del ácido ascórbico, utilizando este método y teniendo como indicador específico para ácido ascórbico la solución de 2,6 diclorofenolindofenol para su evaluación a través del espectrofotómetro; Longitud de máxima absorción: 520 nm, es un método sensible. Además de presentar, precisión y exactitud.

El contenido en ácido L-ascórbico aumenta considerablemente para el tratamiento 4, que es el mejor tratamiento y las condiciones presentadas fueran las óptimas para obtener mayor concentración de ácido.

El considerable aumento en el tiempo de evaluación resulta ser una gran desventaja, teniendo en cuenta que cuanto mayor sea, más posibilidades de degradación del ácido ascórbico. El método de extracción que se presenta en este trabajo resulta mucho más sencillo y rápido, con la única exigencia de preparar las muestras el mismo día, preservarlas de la luz y de posibles aumentos de temperatura.

Durante la evaluación del contenido de ácido ascórbico de los dos ecotipos analizados, el ecotipo I presenta la mayor concentración.

En el caso del análisis del ácido L-ascórbico, se ha de señalar la importancia del tiempo en la preparación de las muestras.

El tiempo comprendido para la evaluación del AA está comprendido entre (2y3 horas) a una temperatura de (35°C)

VI. RECOMENDACIONES

La muestra y la extracción de los materiales que va a ser examinados debe hacerse de tal en el menor tiempo posible ya que esto va disminuir las pérdidas de AA por oxidación y por lo que puede existir la posibilidad de que ocurran cambios significativos antes del análisis.

Después de que los materiales son cortados, machacados, deben manipularse muy rápidamente como sea posible para prevenir una oxidación indebida del ácido ascórbico.

Hacer estudios teniendo en cuenta las condiciones del trabajo para diseñar métodos los cuales permitan la evaluación de ácidos en las frutas nativas de la región.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Alvarado Juan de Dios. (1996). Principios de ingeniería aplicados a los alimentos. Editorial. Secretaría General de la OEA en Ecuador. Quito, Ecuador.
- Burini, G., Development of a quantitative method for the analysis of total L-ascorbic acid in foods by HPLC. J. Chromatogr., A (2007), 1154 (Copyright (C) 2012 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.).
- Carbajal Toribio, C., Balcázar de Ruiz, L. (2001). Cultivo de Cocona. Centro Regional de investigaciones – Tingo María.
- Cardona Jaramillo, Juliana. (2011). Estudio de metabolitos fijos y volátiles en tres morfo tipos de cocona (*Solanum sessiliflorum dunal*) procedentes del departamento del Guaviare. Tesis de grado para optar al título de Master en Ciencias-Química. UNAL. Colombia.
- Cervera, Pilar. (1993). Alimentation y Dietoterapia. Editorial Interamericana, McGraw Hill. 2da. Edición. México.
- Corpei, (2005), “Naranjillas pitahaya, araza y borojo con agroquímicos”, [http://www.ceaecuador.org/imagesFTP/4740.fichas_Naranjilla_pitahaya_araza_y_borojo con agroquimicos. Pdf](http://www.ceaecuador.org/imagesFTP/4740.fichas_Naranjilla_pitahaya_araza_y_borojo_con_agroquimicos.Pdf) (accesado agosto 2015)
- Duran, M. y Moreno Álvarez, M.J. (2000). Evaluación de algunas mezclas de solvente en la extracción de carotenoides de tamarillo (CyphomandrabetaceaeSendt). Venezuela.
- Goodman & Gilman. (2002). Las bases farmacológicas de la terapéutica. McGraw Hill Interamericana. Vol. II. Décima Edición.
- Gutiérrez M.T., Hoyos L.O., Paez M., Determinación del contenido de ácido ascórbico. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Vol. 05.
- Instituto de Nutrición de los Alimentos de Centroamérica y Panamá – INCAP-. (2002). Organización Panamericana de la Salud OPS. Valor nutricional de los alimentos de Centroamérica.
- Kenkel, J. (1992). Analytical Chemistry refresher manual. Chelsea, Lewis Publishers.
- Kirk, S. R; Sawyer R; Egan H. (2006). Composición y análisis de alimentos de Pearson. Compañía editorial continental. México.
- Licata, M. (1999). Vitaminas. Disponible en: <http://www.zonadiet.com/nutricion/vitaminas.htm>. Acceso 31 de enero 2016.
- Norman N. Potter, Ph D. (1998). La Ciencia de los alimentos. Harla. México.
- Serna Rivera, L., López García, S.D. (2010). Manual de laboratorio de Análisis de Alimentos. Universidad Tecnológica de Pereira – Programa de Tecnología Química.

Silva Filho, D.F. (1998). Cocona (*Solanum sessiliflorum dunal*) cultivo y utilización. Caracas – Venezuela.

Stedman Bilingue. (2001). Diccionario de ciencias médicas. Inglés-Español. Editorial Panamericana.

Quam. P.I.(2000).Eurachem/citac guide.quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. Second edition

ANEXOS

ANEXO 01

Época de recogida de las muestras: toda la fruta que ha servido para la realización de los análisis cuyos resultados se recogen en este trabajo se recibieron en la primera quincena de agosto del 2015.

Momento de realización del análisis: las pruebas analíticas han sido efectuadas en unos casos en el momento inmediato a la recepción de la fruta y tras la obtención de los zumos correspondientes.

Variedad de la cocona: El material con el que se ha trabajado ha sido suministrado directamente de la Ciudad de Rodríguez de Mendoza (Ecotipo I) y de la Ciudad de Tarapoto (Ecotipo II).

Sin embargo es problemática la absoluta identidad varietal de las muestras. Quizás alguna de las diferencias observadas dentro del grupo se deba a esta causa, aunque por otro lado sea innegable la influencia de los factores ecológicos o edáficos.

El método: la utilización del método por fotometría, para su aplicación en zumos con contenido de vitamina C.

Ha sido necesario cuidar la preparación de la muestras para tratar de conseguir la máxima transparencia del líquido al analizar, con el objetivo de reducir al mínimo las interferencias. Al mismo tiempo se ha tratado de extremar el cuidado para evitar las oxidaciones, en especial en el contacto con el aire, de las muestras de zumo; con estas salvedades el método resulta válido.

a) Titulación con 2,6 diclorofenolindofenol.

Este método se basa en la reducción del 2,6 diclorofenolindofenol por una solución acida del ácido ascórbico. En ausencia de sustancias que interfieran, la capacidad del extracto de la muestra de reducir la solución reactivo, como se determina por titulación.

b) 2,4 dinitrofenilhidrazina.

Está basado en la oxidación del ácido ascórbico a ácido dehidroascórbico y subsecuente conversión de este ácido en ácido dicetogulónico.

c) Tratamiento con ácido sulfúrico al 85 %.

Este proceso nos va permitir obtener la coloración del extracto soluble.

ANEXO 02

Tabla 10. Análisis de Varianza para nivel de concentración.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:ECOTIPO	219,534	1	219,534	14,43	0,0006
B:TEMPERATURA	627,64	2	313,82	20,63	0,0000
C:TIEMPO	144,0	1	144,0	9,46	0,0044
RESIDUOS	471,679	31	15,2155		
TOTAL (CORREGIDO)	1462,85	35			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Tabla 11. Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para nivel de concentración con intervalos de confianza del 95,0%

			<i>Error</i>	<i>Limite</i>	<i>Limite</i>
<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Est.</i>	<i>Inferior</i>	<i>Superior</i>
MEDIA GLOBAL	36	26,8511			
ECOTIPO					
I	18	29,3206	0,919404	27,4454	31,1957
II	18	24,3817	0,919404	22,5065	26,2568
TEMPERATURA					
20	12	29,0375	1,12603	26,7409	31,3341
35	12	30,5083	1,12603	28,2118	32,8049
50	12	21,0075	1,12603	18,7109	23,3041
TIEMPO					
2	18	28,8511	0,919404	26,976	30,7263
3	18	24,8511	0,919404	22,976	26,7263

Tabla 12. Pruebas de Múltiple Rangos para nivel de concentración por ecotipo.

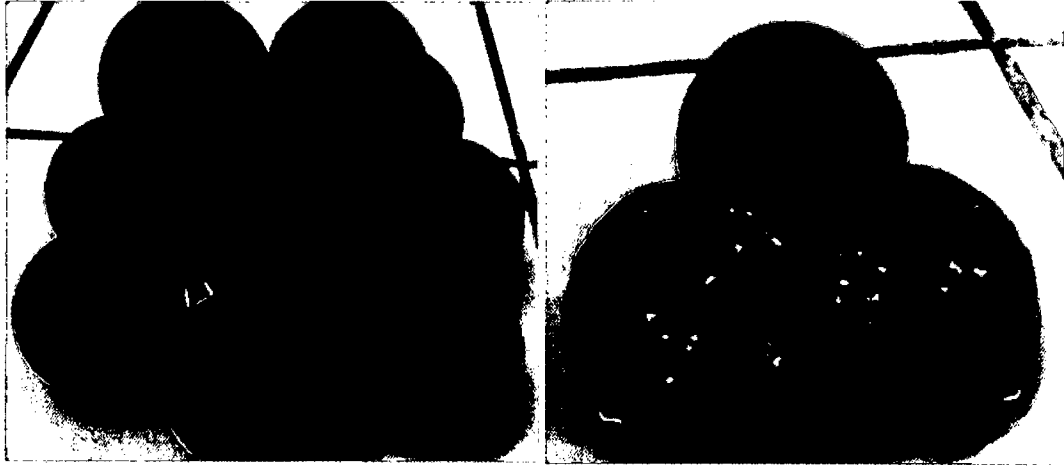
Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>ECOTIPO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
II	18	24,3817	0,919404	X
I	18	29,3206	0,919404	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
I - II	*	4,93889	2,65185

* indica una diferencia significativa

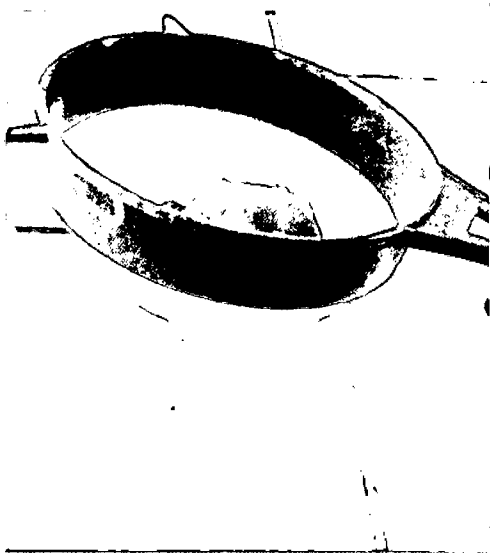
ANEXO 3



Fotografia 01 : Fruto de Cocona I



Fotografia 02: Fruto Cocona II



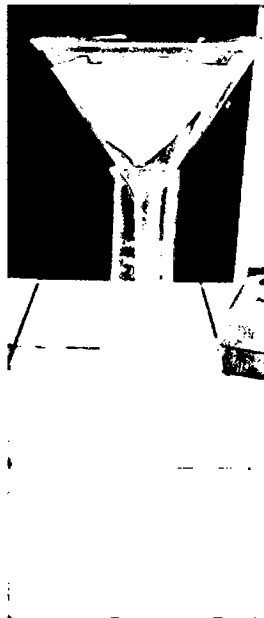
Fotografía 03: Exprimido



Fotografía 04: Filtrado



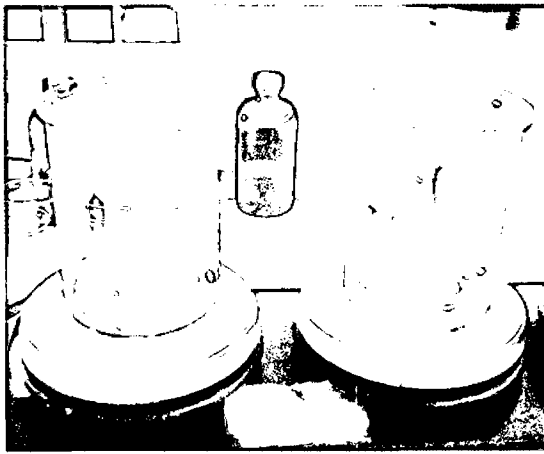
Fotografía 05: Filtrado



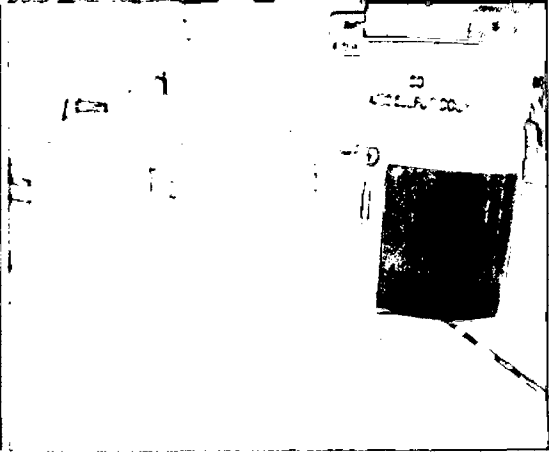
Fotografía 06: Filtrado



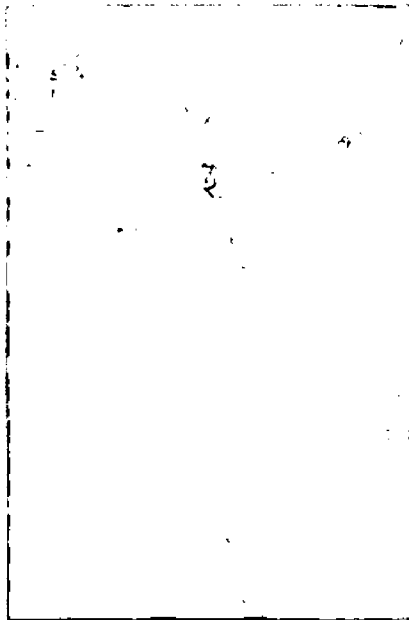
Fotografía 07: Filtrado



Fotografía 08: Calentamiento



Fotografía 09: Enfriado



Fotografía 10: Condensación