



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

Efecto de la Radiación Gamma en el Contenido de Acido Ascórbico en Melones y Duraznos

T E S I S
Que para obtener el título de:
Q U I M I C O
P r e s e n t a
Francisco Antonio Torres Servín
México, D. F. 1975

354



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Tesis
AÑO _____
FECHA 1975
PROC. M. I. - ~~BB~~ 330



QUIMICA

Esta tesis se hizo efectiva gracias al patrocinio del Organis
mo Internacional de Energía Atómica, la Organización para la
Agricultura y la Alimentación (O.I.E./F.A.O.) y el Centro de
Estudios Nucleares de la UNAM, bajo el contrato de investiga-
ción No. 972/RB/R2.

Agradezco al Centro de Estudios Nucleares de la UNAM el darme la oportunidad de realizar esta tesis y al M. en C. Luis Cabrera Mosqueda su muy distinguida y valiosa ayuda, así mismo, al M. en C. Victor Manuel Loyola Vargas le doy eternamente las gracias por su generosa colaboración.

A MIS PADRES:

Es muy importante señalar que la ayuda y esperanza de los padres hacia los hijos nunca es bien pagada, siempre les quedamos debiendo. Yo les ofrezco, humildemente, este pequeño trabajo como un pago a su enorme cariño y fe que me han dado.

A PEPE CON AGRADECIMIENTO POR SU AYUDA

A MIS HERMANAS POR SU CARIÑO

A C R I S T I

A M I S A M I G O S

RESUMEN

El presente trabajo tiene como objetivo el estudio del efecto que sufre el ácido ascórbico por la acción de los rayos gamma en dos frutos: melón (Cucumis melo) y durazno (Prunus persica).

Melones provenientes de Parácuaro, Michoacán y duraznos de Cuautla, Morelos, se llevaron al Centro de Estudios Nucleares de la UNAM, donde se realizó la investigación. Se hizo una selección de cada fruto por separado: los que tenían un color semejante en estado de madurez, aproximadamente el mismo tamaño y que estuvieran sanos. Se dividieron en 3 lotes que posteriormente se irradiaron en una fuente de rayos gamma de cobalto-60 con dosis de 0, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 y 10 Krads, los melones, y con dosis de 0, 250, 275, 325 y 350 Krads, los duraznos. Después se almacenaron a una temperatura ambiental de 20 ± 2 °C y a una humedad relativa de 45 ± 5 %. Se hicieron determinaciones analíticas de los frutos los días 2,5,8, 11 y 14. Tomando los resultados obtenidos se efectuó un análisis estadístico para la construcción de gráficas.

Se encontró que existía una variación en el contenido de ácido ascórbico en ambos frutos durante el transcurso del almacenaje.

INDICE

Resumen.....	i
Lista de tablas.....	v
Lista de gráficas.....	vi
INTRODUCCION.....	1
CAPITULO I. ANTECEDENTES.....	6
CAPITULO II. MATERIALES Y EXPERIMENTACION.....	16
2.1. Materiales.....	16
2.1.1. Fuente de Radiación.....	16
2.1.2. Espectrofotómetro.....	16
2.1.3. Gammabeam.....	17
2.2. Baño de temperatura controlada.....	18
2.3. Frutas.....	18
2.4. Tratamiento.....	19
2.5. Reactivos.....	19
2.6. Determinaciones analíticas.....	21
2.6.1. Extracción del ácido ascórbico con ácido oxálico....	21
2.6.2. Oxidación con 2,6-diclorofenolindofenol.....	22
2.6.3. Extracción del 2,6-diclorofenolindofenol.....	22
2.6.4. Condensación con la DNPH del ácido deshidroascórbico..	
.....	23
2.7. Determinación de la densidad óptica.....	24

2.8. Cálculos.....	25
2.9. Reacciones Químicas.....	26
CAPITULO III. RESULTADOS Y CONCLUSIONES.....	27
3.1. Resultados.....	27
3.2. Interpretación de las Gráficas.....	27
3.3. Conclusiones.....	29
BIBLIOGRAFIA.....	31
APENDICE DE GRAFICAS.....	36

LISTA DE TABLAS

TABLA I. Dosis de tratamiento para frutas empleadas.....20

TABLA II. Fechas de análisis de ácido ascórbico y ácido
deshidroascórbico.....20

LISTA DE GRAFICAS

I.- Gráfica de calibración del ácido ascórbico.....37
II.- Gráfica del ácido ascórbico en melones.....38
III.- Gráfica del ácido deshidroascórbico parcial en los
melones.....39
IV.- Gráfica del ácido deshidroascórbico total en los
melones.....40
V.- Gráfica del ácido ascórbico en los duraznos.....41
VI.- Gráfica del ácido deshidroascórbico parcial en los
duraznos.....42
VII.- Gráfica del ácido deshidroascórbico total en los
duraznos.....43

INTRODUCCION

La alimentación, uno de los grandes problemas que ha permanecido aún hasta nuestros días, ha sido el motivo para en sayar cada vez más, nuevas técnicas para mejorar la producción y preservación de alimentos. Se han ideado a través del tiempo varios procedimientos, tanto como para obtener una máxima calidad en la cosecha como para almacenarla por un buen tiempo hasta llevarla a la mesa.

Desde tiempos primitivos el hombre ha ido modificando la forma de almacenaje, así podemos mencionar el secado natural por el sol, primera técnica empleada que consistía en desecar los granos de las cosechas bajo los rayos del sol, y posteriormente guardándolos del agua dentro de sus cuevas. Mucho tiempo después, en el siglo XVIII, el hombre hace el intento por aumentar la cantidad de grano desecado colocando los comestibles cerca del fuego y exponiéndolos a los rayos del sol en capas delgadas y extendidas. Esta técnica aún fue perfeccionada por Masson y Challet, dos franceses, que construyeron un deshidratador el cual soplabá aire caliente a 41 °C sobre las hortalizas cortadas en porciones delgadas y colo cadas en su interior. Actualmente existen deshidratadores de una enorme capacidad.

Posteriormente, al desecado natural siguieron varias técnicas más como lo son el salado, ahumado, mantenimiento en frío y en seco, fermentación, encurtido, envasado, refrigeración y congelación, concentraciones azucaradas, como dulces y jaleas y el empleo de conservadores químicos.

La mayor parte de estas técnicas no cubre totalmente el requisito de mantener a un comestible con todas las propiedades nutritivas originales. Los alimentos sufren alteraciones causadas por microorganismos e insectos o bien por causas físicas, químicas o biológicas. Es por esto, que un animal o vegetal debe ingerirse en el menor intervalo posible desde el sacrificio o la cosecha a fin de obtener el mayor poder nutritivo.

Cada alimento tiene su propia composición química. El mecanismo de deterioro depende precisamente de esta composición, del sistema de almacenamiento y del tipo de microorganismos que lo ataquen. Aunque son pocos de éstos los que se alimentan de cualquier sustancia nutritiva, la mayoría lo hacen de la materia que producen por la acción que ellos mismos ejercen.

Para el año de 1940, surge una posibilidad más de preservar los alimentos, la radiación. Esta novedosa técnica aparte de las conservas enlatadas, es rápida, económica y eficaz sin aumentar más que unos cuantos grados la temperatura interna del alimento. La CEA (Comisión de Energía Atómica de los Estados Unidos) ha venido experimentando distintos métodos de irradiación de comestibles. Posteriormente, el Ejército Norteamericano comenzó sus experimentos utilizando las radiaciones. Tanto la CEA como el Ejército han buscado la forma de utilizar los productos de fisión nuclear verificando el tiempo de preservación con dosis variables y la calidad nutritiva del alimento.

Cuando una radiación actúa en alguna sustancia nutritiva, los átomos se ionizan, teniendo como consecuencia que la estructura de moléculas vitales grandes sean modificadas, lo que provoca que los microorganismos y bacterias mueran o disminuyan su metabolismo y su ritmo de reproducción.

Esta novedosa técnica de preservación tiene la gran ventaja de no producir efectos nocivos ni tornar radiactivos a los alimentos, además de no producir mayor pérdida de vitaminas a bajas concentraciones, que los procesos de congela-

ción o deshidratación.

La dosis de radiación se expresa generalmente en "rad". Un rad se expresa como la cantidad de radiación ionizante que da lugar a la absorción de 100 ergios por gramo de materia irradiada. La cantidad de radiación suministrada depende de la clase de alimento y de los resultados que se deseen lograr. Así, tenemos dos formas de conservación de alimentos por irradiación:

- a).- la radurización: cuando el objeto es prolongar la vida de los mismos durante un período de almacenamiento útil o necesario, se emplea una dosis de radiación que varía de 200,000 a 500,000 rads,
- b).- y la radapertización, cuya finalidad es prolongar por largo tiempo la vida del alimento sin refrigerarlo y utilizando altas dosis de radiación que varían de 200,000 a 4.500,000 rads.

También se pueden emplear bajas dosis de radiación para evitar brotes, de 4,000 a 10,000 rads, como en las patatas y cebollas. De 20,000 a 50,000 rads se logra el exterminio de

insectos causantes de la infestación en granos de cereales, y con 50,000 rads se consigue esterilizar las larvas de insectos que deterioran los frutos por dentro. (1), (2).

CAPITULO I

ANTECEDENTES

Anteriormente, se han realizado trabajos para determinar el efecto que produce la radiación gamma en el contenido de ácido ascórbico. Nos muestran una evidente disminución, algunas veces acompañada de marcados cambios en la calidad del producto.

Cuando soluciones de ácido ascórbico se irradiaron con una fuente de ^{60}Co (1,000 Ci) a pH de 4.8 la velocidad de desaparición del ácido fue directamente proporcional a la concentración inicial e inversamente proporcional a la intensidad de la dosis en igualdad de dosis total e independientemente de la adreación, sustancias buffer y productos formados por radiólisis, por lo cual es aconsejable utilizar altas dosis de radiación para preservar alimentos. (3).

El ácido ascórbico sólido no sufre un cambio apreciable bajo la acción de los rayos gamma a una dosis de 2,5 Mrads y a una intensidad de dosis de 10,000 rads/h. En solución a baja concentración (principalmente 0.05-0.5%) sufre un cambio apreciable. Por encima de 2% de concentración, la

irradiación se puede usar sin peligro con una pérdida únicamente de 1-2 %. (4).

En la irradiación de fresas y frutas natsudaikai (Ci-
trus natsudaikai), variedad de cítricos orientales, con rayos gamma de cobalto-60 el resultado nos muestra que hay una disminución de contenido de ácido ascórbico mientras que aumenta la cantidad de ácido deshidroascórbico. A medida de que la dosis de radiación aumenta es más notable el índice de cambio de ácido ascórbico. El contenido de ácido ascórbico en las fresas no irradiadas disminuye en el período de almacenamiento, no así en las fresas irradiadas. Sin embargo, durante un largo tiempo de almacenaje casi no hubo diferencia entre las fresas irradiadas y las no irradiadas. Para las frutas natsudaikai, el ácido ascórbico disminuyó después de la irradiación, inmediatamente después de ésta el ácido L-ascórbico decrece mientras que el ácido deshidroascórbico se incrementa como en las fresas. Aunque más lentamente, la cantidad de ácido L-ascórbico que pasa a ácido deshidroascórbico fue mayor que en las fresas. Casi no se observaron cambios en las frutas natsudaikai irradiadas y en las no irradiadas durante un largo tiempo de almacenamiento. (5).

Fresas maduras se han tratado con CO_2 durante 3 horas y empacadas en bolsas de polietileno, posteriormente irradiadas con rayos gamma de cobalto-60 de 0.1 a 0.3 Mrads y almacenadas a 4 °C. El ácido ascórbico reducido disminuye al aumentar la dosis de radiación. Al final del almacenamiento los lotes de 0.1 y 0.2 Mrads conservan más del doble de ácido ascórbico reducido que el lote control. (6).

Son evidentes los daños producidos a frutas cítricas por la radiación, sobre todo en la piel. Para el caso de las naranjas Shamouti con madurez total y a baja dosis de radiación la calidad interna se afecta poco, no así la piel que se daña considerablemente en apariencia y composición. El ácido ascórbico y los azúcares reductores en las capas externas de la piel y la actividad de la catalasa disminuyen, mientras que la actividad de la peroxidasa aumenta al incrementar la dosis. (7).

En las naranjas Valencia no hay una disminución evidente en el contenido de ácido ascórbico bajo los efectos de las radiaciones. Al aumentar la dosis de radiación en las uvas el ácido ascórbico disminuye en el tejido flavedo. La actividad enzimática (peroxidasa y catalasa) aumenta. En las naranjas

Shamouti, al aumentar la edad de la fruta la disminución del ácido ascórbico y de los azúcares reductores es menor, Se reducen considerablemente los daños por radiación ionizante evitando una excesiva pérdida de agua (tratamiento de cera). Hay una acumulación de ácidos fenólicos en las células de la piel debido a la irradiación. (7), (8).

Para dosis de más de 200 Krads el ácido ascórbico disminuye marcadamente en los limones en almacenamiento. Las naranjas, a estas dosis no son afectadas. (9).

El contenido de ácido ascórbico en papas irradiadas a bajas dosis de radiación es ligeramente menor que en las no irradiadas o destruido con radiaciones de cobalto-60 hasta 1 Mrad. (10), (11).

Por otra parte, se han irradiado tomates rojos, maduros de mesa y maduros verdes. La cantidad de ácido ascórbico fue mayor en el último caso después de la irradiación que en los maduros de mesa y los rojos. No obstante, esta cantidad de ácido ascórbico fue más alta en estos dos últimos que en los maduros verdes. (12).

Tomates "Pearl Harbor" uniformes en color y tamaño fueron seleccionados en el momento en que comenzaban a cambiar de color; se irradiaron en una fuente de rayos gamma de cobalto-60 con diferentes dosis de radiación. La cantidad de vitamina C disminuyó con los períodos de almacenamiento más grandes, especialmente los expuestos a altas dosis de radiación. (13).

Con dosis de radiación de 5-25 Krads el ácido ascórbico aumenta su nivel en el trigo Ostka Chlopicka. (14).

Retoños de trigo Ostka Chlopicka con 15 días de antigüedad de tallos crecidos de semillas irradiadas con 1.5-10 Krads sobre el nutriente de Hoaglan No. 2 a 19 °C mostraron un aumento de ácido ascórbico de 12-50% en cada período de crecimiento con dosis de radiación de 5-10 Krads. (15).

En la irradiación del centeno el ácido ascórbico disminuye con dosis de radiación de 5-100 Krads excepto para 1 Krad. (14).

Con el objeto de determinar la resistencia de la vitamina C en las plantas de algodón por el efecto de las radiaciones se sumergieron semillas en una solución de 0.01M de

ácido ascórbico un día antes de la exposición a dosis de radiación de 10 Krads (25 rads/seg). Se determinó la biosíntesis del ATP en las mitocondrias y en el núcleo hasta 5 días después de la irradiación, así como la actividad de la catalasa y la cantidad de peróxidos orgánicos en el tejido que tiene la envoltura de la semilla. La biosíntesis del ATP en el núcleo y especialmente en la mitocondria aproximadamente es la misma en las plantas crecidas de semillas irradiadas como de las no irradiadas. Existe un aumento en los peróxidos orgánicos y una preservación de la peroxidasa. Se normaliza la germinación, crecimiento y peso de las plantas. (16).

El contenido de clorofila y ácido ascórbico en las plantas de algodón es variable dependiendo de la naturaleza y de las fases de vegetación (precapullo, capullo y florecimiento) bajo la radiación ionizante. La diferencia de acumulaciones de la clorofila y el ácido ascórbico no es notoria a intensidades de dosis de 1,000 y 2,000 rads. (17).

Las semillas castor -de cuya planta se extrae el aceite de ricino- inactivas irradiadas y no irradiadas, no tienen la presencia del ácido ascórbico ni de la enzima oxidasa ascorbata. Después de tener 5 días de germinación la cantidad

de ácido ascórbico es máxima. A los 7 días, la actividad de la oxidasa ascorbata también es máxima. Al aumentar la dosis de radiación en las semillas inactivas aumenta el contenido de ácido ascórbico.

Para la formación de la vitamina C hay una relación con la formación de fragmentos de carbohidratos y no con la fotosíntesis. La estimulación del desarrollo es dependiente del contenido de ácido ascórbico y de otros productos metabólicos. (18).

El ácido ascórbico tiene una actividad de antirradiación en semillas germinantes y secas del ajo (Allium fistulosum) en concentraciones de 10^{-6} - 10^{-3} $\mu\text{g/ml}$. Su efecto protectoro contra la radiación ionizante es mayor en concentraciones de 10^{-6} $\mu\text{g/ml}$, mientras que el decremento en las mutaciones cromosomales es más alto a concentraciones de 10^{-5} $\mu\text{g/ml}$. (19).

En los tejidos tumorosos bacteriamente inducidos de un cultivo *in vitro* de tabaco (Nicotiana tabacum) variedad White Burley en medio normal y medio enriquecido con polen de abeja, bajo radiaciones gamma de cobalto-60, el contenido de ácido ascórbico aumenta en proporción a la dosis de radiación,

pero disminuye en tejidos normales. Existe una relación directa entre la concentración del ácido y la radioresistencia en el material de la planta estudiada. El tejido calloso es más radiosensitivo que un tejido tumeroso ya que tiene una baja capacidad para sobrevivir con un ligero estímulo de desarrollo a dosis de 1,000 y 2,000 rads. (20).

Con otro tipo de radiaciones el ácido ascórbico también sufre modificaciones. Así, tenemos que con una exposición de rayos ultravioleta (U.V.) durante 5 minutos de irradiación el contenido de vitamina C en las yemas del ricino (Ricinus communis) aumenta y en las yemas de la mostaza (Sinapis alba), col negra (Brassica nigra) y lino (Linum unitatissimum), disminuye. Para las semillas secas el contenido de vitamina C es bajo, varía en el rango de 0.02 a 0.9 mg %. En las semillas hinchadas el valor del ácido ascórbico es alto, de 0.4 a 0.8 mg %. (21).

En rebanadas de tomate, naranjas de verano, rábano y cebolla la vitamina C disminuye con las radiaciones U.V. por 2 horas, pero no es afectada después de 16 horas de la exposición.

En rebanadas de patata, patata dulce y zanahorias la cantidad del ácido ascórbico varía muy poco con los rayos U.V. y disminuye claramente en la col, habichuela francesa y espinaca. (22).

Del estudio citogenético de las sustancias naturales protectoras antimutagénicas del extremo de la raíz en cebollas (Allium cepa), el ácido ascórbico (10^{-3} - 10^{-2} M) junto con la piridoxina (10^{-3} - 10^{-4} M) muestran una evidente reducción en la intensidad de aberración mitótica inducida por una dosis de 35 rads de rayos X en 25.6 % y 2.6 %, respectivamente. (23).

Utilizando radiaciones X en dosis de 5,000-80,000 Roentgen el nivel del ácido ascórbico disminuye en el trigo, maíz y tomate. Con las radiaciones U.V. mediante una lámpara de mercurio-cuarzo, la cantidad de la vitamina C aumenta. (24).

Los reguladores del crecimiento estudiados en segmentos de maíz, 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y ácido indolacético (IAA), aumentan el nivel de la vitamina C, mientras que el ácido giberélico aumenta el valor de la relación ácido

ascórbico/ácido deshidroascórbico en segmentos de caña. La radiación X reduce la suma de ambos ácidos. El crecimiento y la reducción de peso causada por esta radiación es abolida por los reguladores, como el ácido giberélico, a 1 mg/l. (25).

CAPITULO I
MATERIALES Y EXPERIMENTACION

2.1. Materiales.

2.1.1. Fuente de Radiación.

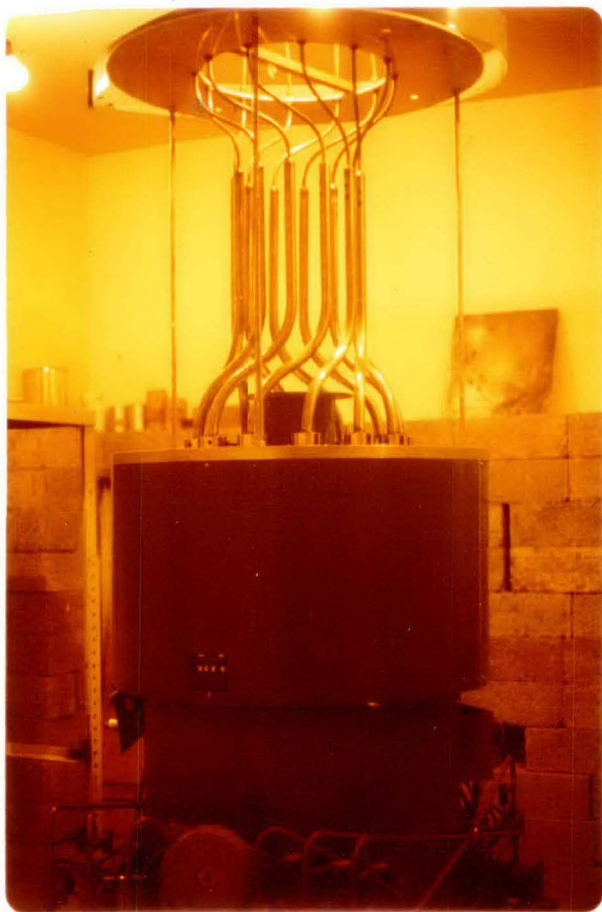
Las muestras se irradiaron en el Centro de Estudios Nucleares de la UNAM en un equipo Gammabeam 650, básicamente, constituido por un contenedor de plomo, donde se encuentra la fuente de cobalto-60. El 15 de mayo de 1974 la actividad de la fuente era de 35,000 Curios. Fig. 1.

2.1.2. Espectrofotómetro UNICAM SP-500 Serie 2.

Los resultados obtenidos en las determinaciones analíticas de las diferentes muestras se leyeron en un espectrofotómetro, de las siguientes características:

- Longitud de onda de 186-1,000 nm
- Lámparas de Tungsteno y Deuterio
- Lámpara de Deuterio enfriada con aire
- Arco enfriado con aire.

Figura 1. Gammabeam.



El uso de la lámpara más adecuada se efectúa automáticamente al seleccionar una longitud de onda determinada.

-Exactitud de la longitud de onda seleccionada:

± 0.2 nm a 200 nm

± 1.0 nm a 400 nm

± 2.5 nm a 600 nm

-Exactitud en la lectura: $T \pm 0.3 \%T$ (T = transmisión).

-Abertura: aberturas bilaterales curvadas continuamente variables arriba de 2 mm.

-Unidad de detección: constituida por dos fotoceldas dentro de un compartimiento libre de humedad, una es azul (con envoltura de sílica) útil para el intervalo de 186 a 625 nm y la otra para 625 a 1,000 nm.

2.2. Baño de temperatura controlada.

2.3. Frutas: melones y duraznos.

Los melones proceden de Parácuaro, Michoacán y los duraznos de Cuautla, Morelos.

2.4. Tratamiento.

Las muestras se irradiaron en el equipo descrito en la página 16. En la tabla I se pueden ver las dosis empleadas en el tratamiento.

2.5. Reactivos.

Acido ascórbico, Q.P. (Merck)

Acido Oxálico, G.R. (Merck)

Tiourea, G.R. (Merck)

2,6-diclorofenolindofenol, G.R. (J.T. Baker)

Eter Etilico, G.R. (J.T.Baker)

2,4-dinitrofenilhidrazina, G.R. (Eastman Organic Chemicals).

Acido Sulfúrico, G.R. (g.e. 1.84) (Monterrey).

Solución de ácido oxálico para efectuar las extracciones. Se disuelven 5 g de ácido oxálico, G.R. en un litro de agua.

TABLA I. Dosis de tratamiento para las frutas empleadas.

Dosis	(Krads)
Melones	Duraznos
0	0
0.5	250
1.0	275
2.5	325
5.0	350
10.0	---

TABLA II. Fechas de análisis de ácido ascórbico y ácido deshidroascórbico.

Fechas de análisis después del tratamiento.	
Melones	Duraznos
2	5
5	8
8	11
11	14
14	--

Solución de tiourea.- se pesan 10 g de tiourea, G.R. y se disuelven en 100 ml de una mezcla de 3 partes iguales en volumen de agua y una parte de ácido sulfúrico, 95-97% (g.e. 1.84).

Solución de 2,6-diclorofenolindofenol.- esta solución es utilizada para producir un medio oxidante débil suficiente para oxidar el ácido ascórbico a ácido deshidroascórbico según el método de Roe y Kuchter (26), introducido primero en el método de la DNPH (2,4-dinitrofenilhidrazina), dado por Bolin y Book. Se pesan 0.25 g de 2,6-diclorofenolindofenol de sodio, G.R. y se disuelven en 100 ml de agua.

2.6. Determinaciones Analíticas.

2.6.1. Extracciones con Acido Oxálico.

-Una vez irradiados los lotes y almacenados en una cámara de 20 ± 2 °C y 45 ± 5 % de humedad relativa y de una manera periódica, tabla II, se analizaron las muestras en su contenido de ácido ascórbico pesando 20 g de la pulpa para el caso de los melones y 10 g para el caso de los duraznos, eliminando la piel y las semillas.

-La muestra se coloca dentro de una licuadora y se desmenuza, agregando ácido oxálico en solución, aproximadamente hasta cubrir la pulpa con el fin de estabilizar el ácido ascórbico, por espacio de dos minutos.

-Esta solución se filtra en fibra de vidrio y se recibe en un matraz volumétrico de 100 ml.

-El filtrado se afora hasta la marca con solución de ácido oxálico. (Solución I).

-De la solución I se toman 50 ml y se colocan en un embudo de separación.

2.6.2 Oxidación con 2,6-diclorofenolindofenol.

-Se añade 2,6-diclorofenolindofenol hasta obtener una coloración rosada persistente, más un pequeño exceso. Se deja actuar al oxidante por dos minutos.

2.6.3. Extracción del 2,6-diclorofenolindofenol.

-El exceso de 2,6-diclorofenolindofenol se extrae con

50 ml de éter etílico. La capa acuosa se pasa a un matraz volumétrico de 100 ml y la capa etérea se lava con solución oxálica.

-Se reúnen las soluciones acuosas y se aforan hasta 100 ml. (Solución II).

2.6.4. Condensación con la DNPH del Acido Deshidroascórbico.

-Se toma una alícuota de 5 ml de la solución I en un matraz de 25 ml y se le añaden 5 ml de solución de ácido oxálico. Solución III. De la solución II se toma una alícuota de 10 ml que también se coloca en un matraz de 25 ml. Solución IV. A ambos se les añaden dos gotas de tiourea, se les agrega 2.5 ml de DNPH, se agitan y se colocan en un termostato a 37 °C por 3 horas.

-Al término de las 3 horas se sacan del baño y se ponen en hielo por 10 minutos, al término de los cuales se aforan lentamente y dentro de un baño de hielo con ácido sulfúrico al 85%.

Las soluciones así obtenidas se leen en un espectro-

fotómetro a 520-525 nm.

2.7. Determinación de la Densidad Optica.

A 10 ml de una solución conteniendo 250 μg de ácido L-ascórbico se oxida añadiendo 2,6-diclorofenolindofenol, posteriormente se extrae con éter etílico como en las determinaciones anteriores. La capa acuosa se afora hasta 25 ml en un matraz aforado. Se toman 3 alícuotas de 1.0 ml (= 10 μg), 2.0 ml (= 20 μg) y 4.0 ml (= 40 μg) y se colocan en matraces aforados de 10 ml, se aforan hasta 4 ml con solución de ácido oxálico. Enseguida, se les agregan 2 gotas de solución de tiourea y 1.0 ml de la solución de DNPH, se condensan en un termostato a 37 °C durante 3 horas. Posteriormente, se enfrían 10 minutos en hielo y se diluyen con ácido sulfúrico al 85% hasta la marca. Las muestras se leen en un espectrofotómetro con una celda de 1 cm y a una longitud de onda de 520-525 nm contra un blanco preparado de la siguiente forma: a 4.0 ml de ácido oxálico en solución se añaden 2 gotas de tiourea, 1 ml de DNPH y 5 ml de H_2SO_4 al 85%. Las diluciones se anotan en una gráfica contra los pesos correspondientes de ácido ascórbico por 10 ml de solución. Gráfica I.

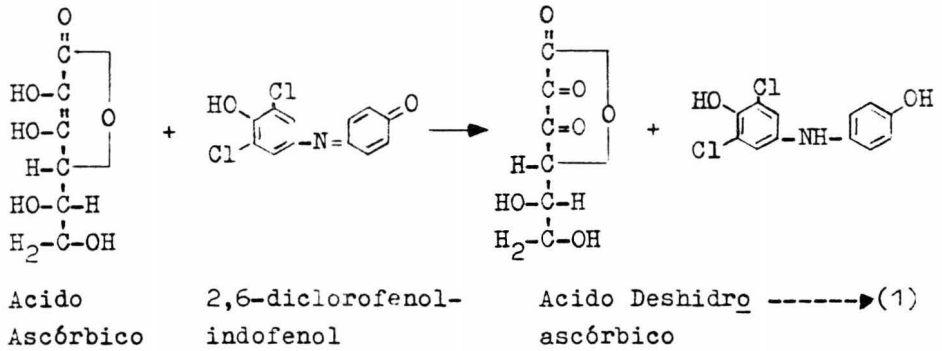
2.8. Cálculos.

Las lecturas de por ciento de transmisión obtenidas para las soluciones III y IV se convierten a densidad óptica (D.O.), ésta se lee en la gráfica de calibración, obteniéndose el dato de ácido deshidroascórbico (A.D.) total en el caso de la solución IV y el de ácido deshidroascórbico parcial en el caso de la solución III. La diferencia de estos dos valores es el contenido de ácido ascórbico.

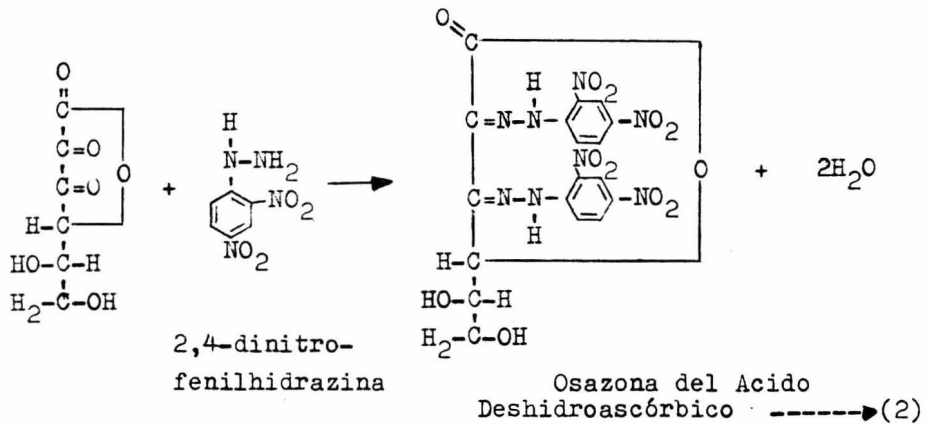
$$\text{Acido ascórbico } (\mu\text{g}) = \text{A.D.}_{\text{IV}} - \text{A.D.}_{\text{III}}$$

2.9. Reacciones Químicas.

OXIDACION



CONDENSACION



CAPITULO III

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

3.1. Resultados.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la experimentación se hizo un análisis estadístico de los lotes con objeto de encontrar los promedios de las variaciones en el contenido de ácido ascórbico (A.A.) con las dosis de radiación y los días de almacenamiento, tanto de melones como de duraznos.

Se construyeron gráficas que nos muestran el efecto en el contenido que sufren tanto el A.A. como el ácido deshidroascórbico (A.D.) parcial y total con los días de almacenamiento.

3.2. Interpretación.

a).-Melones. El A.A. del control nos muestra un aumento en su nivel durante la primera semana de almacenaje y una disminución en los días siguientes. El A.A. irradiado tiene un efecto similar al del control solamente que las concentraciones son completamente diferentes por la evidente disminu-

ción que hay con la aplicación de radiaciones gamma. Gráfica II.

En la gráfica III, el contenido del A.D. de los frutos irradiados es menor que el de A.D. del control durante el transcurso de la primera semana de almacenamiento y mayor en los diez días siguientes. La diferencia que hay entre el A.D. del control y el A.D. de los frutos irradiados durante la primera semana puede ser debido a la formación de la osazona del ácido deshidroascórbico después de la condensación con la DN-PH como se muestra en la reacción (2).

El A.D. total de los frutos irradiados de la gráfica IV, nos muestra una clara disminución en su nivel durante todo el transcurso del almacenamiento con la excepción de un día, aproximadamente. Esta disminución puede deberse a la formación de la osazona como se mencionó anteriormente.

b).-Duraznos. El A.A. en los duraznos, gráfica V, nos presenta también una disminución durante los días de almacenamiento, en tanto que el A.D. tiende a incrementarse después de la aplicación de las dosis de radiación.

Al igual que en los melones el A.D. total en los duraznos sufre variaciones anormales. Aproximadamente en los 10 primeros días existe una disminución en su contenido y un aumento en los 3 días siguientes. Las causas de esto se pueden considerar las mismas que para el caso de los melones.

3.3. Conclusiones.

En todos los trabajos realizados anteriormente por la aplicación de rayos X, gamma o ultravioleta a frutas, plantas y semillas, se ha encontrado una disminución o pérdida absoluta del ácido ascórbico. Este trabajo de igual forma nos presenta una variación en la concentración del ácido por la aplicación de rayos gamma de cobalto-60, lo cual sucede también con otros tratamientos.

A los 14 días de almacenamiento los melones y duraznos irradiados sufrieron una pérdida en su contenido de ácido ascórbico de un 23% y un 18%, respectivamente. El 5% es la mínima cantidad que se pierde de vitamina C en ambos casos con un lapso de 3 días de diferencia.

Considerando esto último, la radiación es útil cuando se trate de conservar la mayor cantidad posible de ácido as-

córbico independientemente de los efectos de preservación, ca lidad del fruto o apariencia física que se requiera de ellos. Por lo tanto, creemos que nuestro objetivo se ha logrado al encontrar el efecto que sufre el ácido ascórbico en su contenido por la aplicación de radiaciones gamma.

BIBLIOGRAFIA

- 1.-Loyola V., Victor Manuel.
Cambios Inducidos por Dosis Variables de Radiación Gamma en Mango de Manila para su preservación.
Tesis para obtener el grado de Maestría en Química Nuclear.
Fac. Quím. México, D.F. (1973).
- 2.-Urrows, M. Grace.
Conservación de Alimentos por Irradiación.
Comisión de Energía Atómica de los EE.UU.
División de Información Técnica. (1966).
- 3.-Cescon, Paolo; Montalti, Maria.
Polarographic determination of L-ascorbic acid. Application in the analysis of aerated aqueous solutions subjected to γ (gamma)- irradiation.
- 4.-Pandula, E.; Farkas, E.; Nagykaldi, A.
Radiation-sterilized drugs and their aqueous solutions.
Ann. Nutr. Aliment. 24(3), 41-9, (1970).
- 5.-Kurosaki, Toshiharu.
Effect of gamma radiation on the ascorbic acid content in strawberries and natsudaidai fruits.
Hiroshima Nogyo Tanki Daigaku Kenkyu Hokoku. 4(1), 50-4, (1970).
- 6.-Kim, H. Soo; Kim, Y. Sik; Park, K. Tai.
Storage of irradiated fruits. II. Storage of strawberry.
J. Nucl. Sci. 9(1) (pt-2), 111-18, (1969).

- 7.-Monselise, S.P.; Kahan, R.S.
Effect of gamma radiation on appearance, composition, and enzymic activities of citrus fruits.
Preserv. Fruit. Veg. Radiat. Proc. Panel, Vienna.
93-104, (1968).
- 8.-Monselise, S.P.; Riov, J.
Relation between radiation damages to citrus fruits and changes in enzymes and other constituents of the peel.
Tissue physiology in food preservation by irradiation.
Nucl. Sci. Abstr. 25(12), 27235, (1971).
- 9.-Maxie, E.C. ; Sommer, N.F.; Eaks, I.L.
Effect of gamma radiation on citrus fruits.
Proc. Int. Citrus Symp., Inst. 3, 1375-87, (1968).
- 10.-Gounelle, H.; Marnay-Gulat, C.; Fauchet, M.; Durand-Brisset.
Effect of irradiation on the content of group B and C vitamins, of several foods.
Ann. Nutr. Aliment. 24(3), 41-9, (1970).
- 11.-Chacun, Jean P.
Effect of irradiation of 4 vitamins of group B and vitamin C.
Avail. Dep. From. Nucl. Sci. Abstr. 23(16), 32006, (1969).
- 12.-Abdel-Kader, A.; Morris, L.L.; Maxie, E.C.
Physiological studies of gamma-irradiated tomato fruits.
III. Effect on ascorbic acid content, acidity, and texture.
Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 93, 843-53, (1968).

- 13.-Fahmy, B.A.; Kamel, Taimour A.; Saloma, S.B.
Effect of irradiation on the keeping quality of "Pearl Harbor" tomatoes.
Agr. Res. Rev. 46(3), 127-37, (1968).
- 14.-Janusz Kulesza; Antoszevska, L.; Kroh, J.; Rajchert, A.
The influence of ^{60}Co γ -rays on the ascorbic acid content in corn sprouts grown from irradiated seeds.
Zesz. Nauk. Politech. Lodz., Chem. Spozyw. 14, 43(7), (1968).
- 15.-Kulesza, J.; Kroh, J.; Rajchert, A.
The effect of γ -irradiation of wheat seeds on the ascorbic acid content in Ostka Chlopicka wheat sprouts in different growth periods.
Zesz. Nauk. Politech. Lodz., Chem. Spozyw. 14, 49-53, (1968).
- 16.-Nazirov, N.N. and Arslanova, S.
Role of ascorbic acid in the radioresistance of the cotton plant.
Dokl. Akad. Nank. Uzb. SSR. 24(11), 52-4, (1967).
- 17.-Guseinov, S.G.
Effect of ionizing radiation on the content of chlorophyll, ascorbic acid, and, dry matter in cotton plant leaves.
Dokl. Akad. Nauk. Azerb. SSR. 23(6), 45-8, (1967).
- 18.-Tanki, R.J.; Patel, K.C.; Patel, R.D.
Variation in ascorbic acid content and ascorbate oxidase activity during germination in dark of γ -irradiated castor seeds.

- Indian J. Exp. Biol. 7(4), 277-9, (1969).
- 19.-Selimbekova, D.D.
Antirradiation activity of ascorbic acid.
Dokl. Akad. Nauk Azerb. SSR. 25(6), 78-80, (1969).
- 20.-Rennert, Aldona; Antoszezewska, L.
Growth, survival, and ascorbic acid level in normal and tumorous tissue cultures of tobacco after γ -irradiation.
Radiobiologiya. 10(4), 580-3, (1970).
- 21.-Florentyna W. Kudrzycha-Bieloszabska and Ewa Stepien.
Effect of ultraviolet irradiation on the vitamin C content in the germs of seeds of certain medicinal plants.
Acta. Pol. Pharm. 24(6), 625-8, (1967).
- 22.-Kitagawa, Yukie.
The effect of ultraviolet rays on vitamin C. III. Changes on the vitamin C in vegetables and fruits.
Eiyo to Shokuryo. 20(6), 467-71, (1968).
- 23.-Barthelmess, A.; Huber, H.; Fuerest, H.
Cytogenetic studies on natural antimutagenic protective substances for radiodiagnosis, radiotherapy, and occupational radiation exposure.
Strahlentherapie. 136(1), 116-30, (1968).
- 24.-Kezeli, T.A.; Tarashvili, K.M.; Gvamichava, N.E.
Effect of x-rays and ultraviolet rays on the level and state of vitamins in a plant.
Tr. Inst. Bot., Akad Nauk Gruz. SSR. 26, 74-88, (1969).

25.-Grebinskii, S.O.; Kolodiichuk, M.T.

Simultaneous effect of growth substances and x-rays irradiation on the growth of segments of pea stalks and corn coleoptiles and on their ascorbic acid levels.

Rost Ustoichivost Rast., Akad. Nauk Ukr. SSR. Respub. Mezhvedom. Sb. No. 4, 48-51, (1968).

26.-Strobecker, Rolf y Henring, H.M.

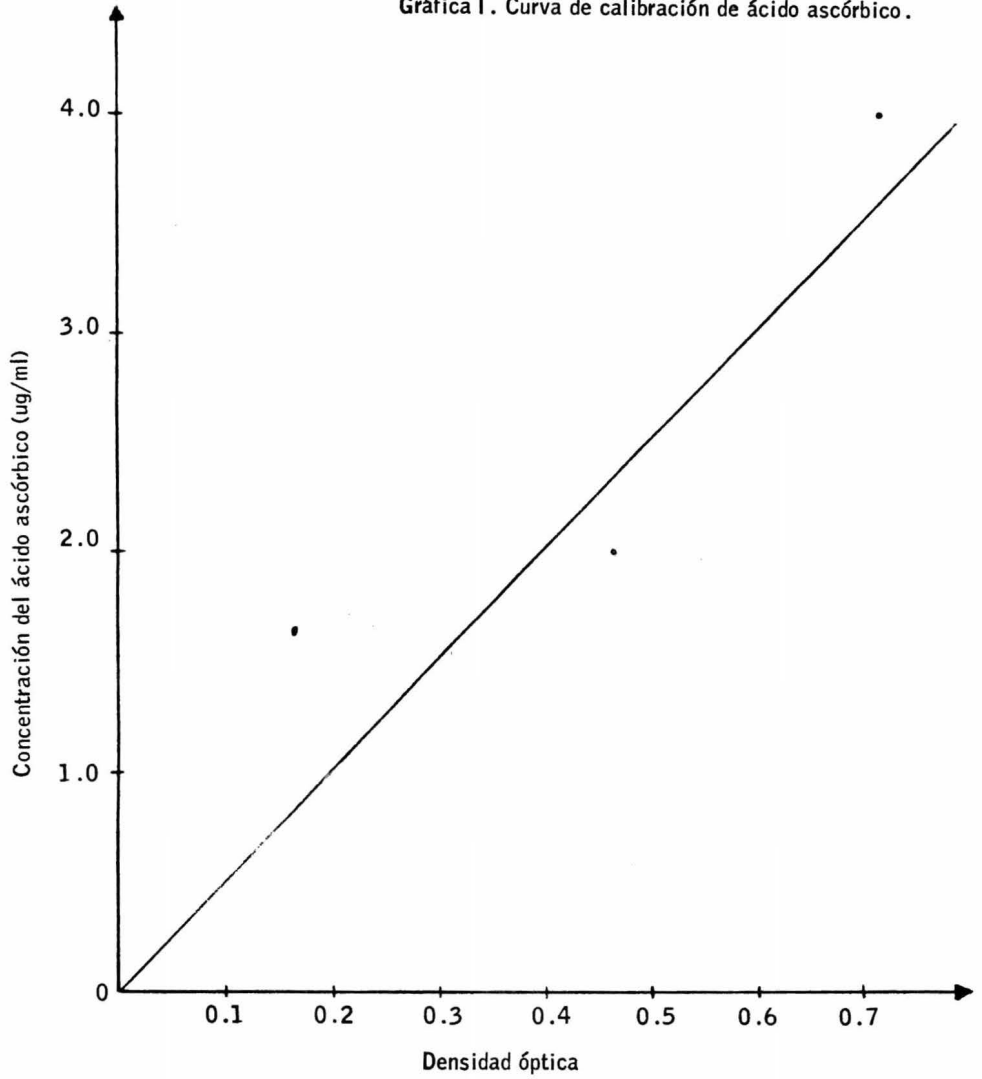
Análisis de Vitaminas

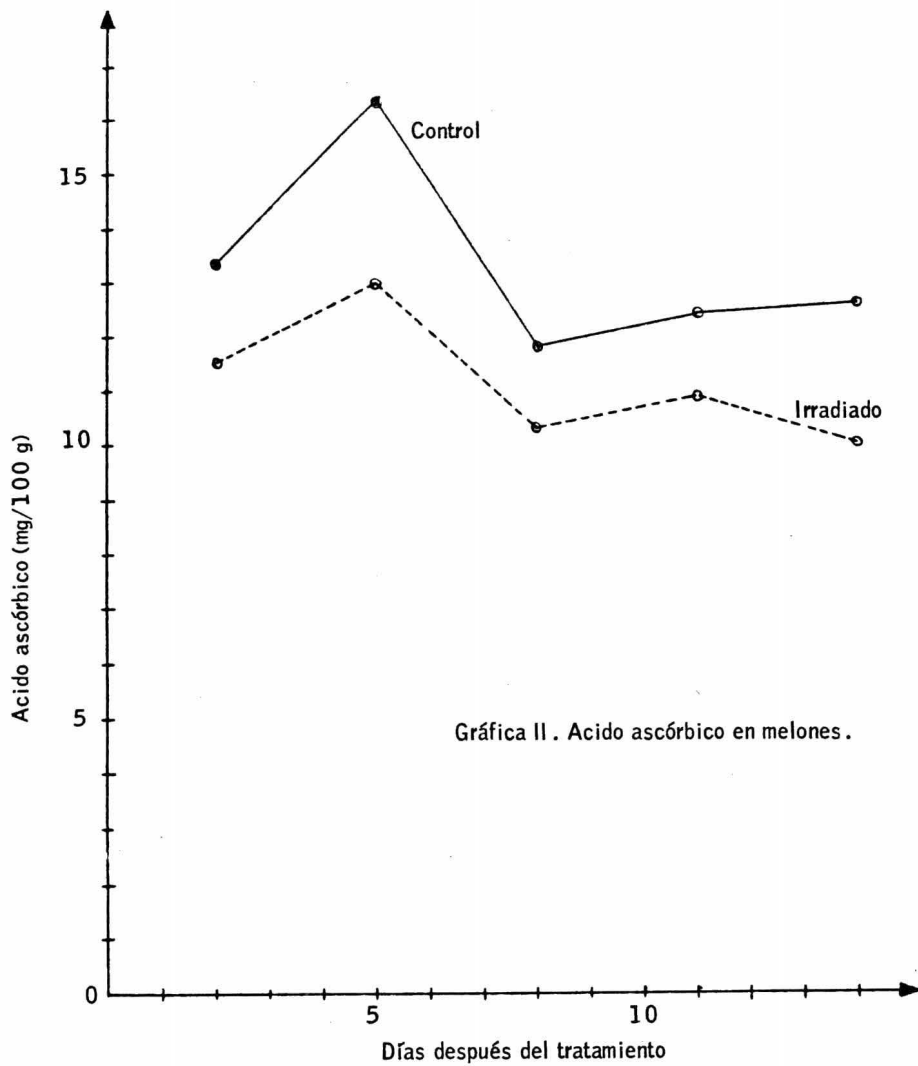
Ed. Paz Montalbo

Pag. 296-301

APENDICE
DE
GRAFICAS

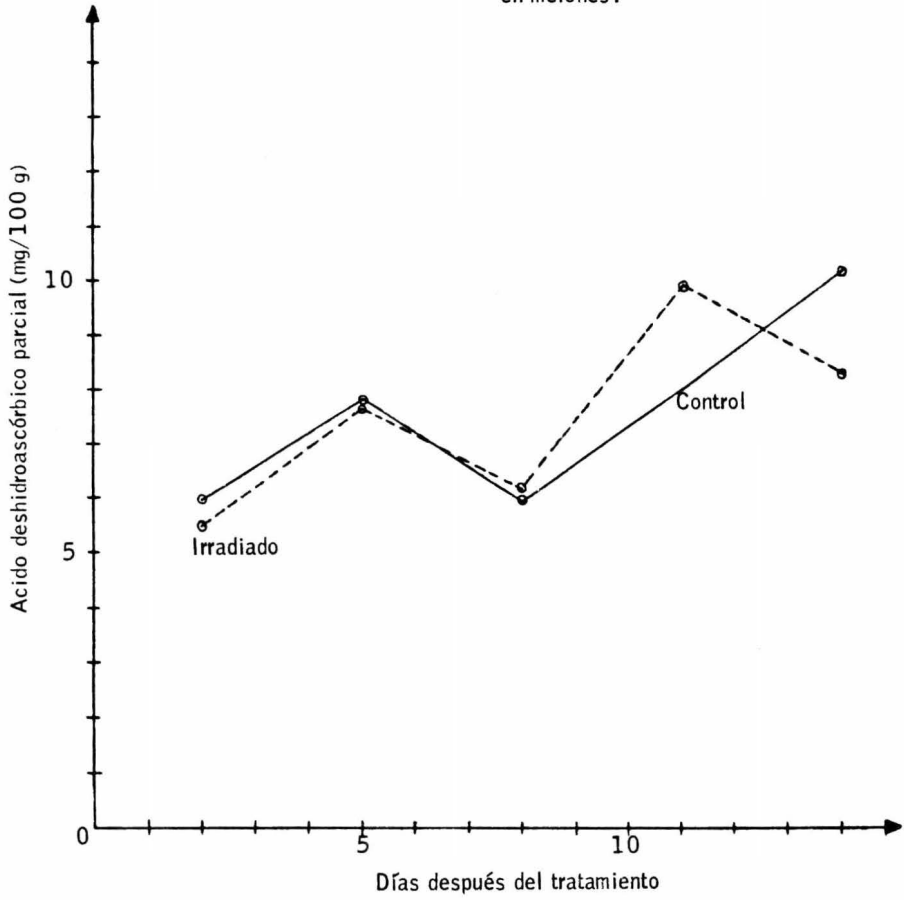
Gráfica I. Curva de calibración de ácido ascórbico.



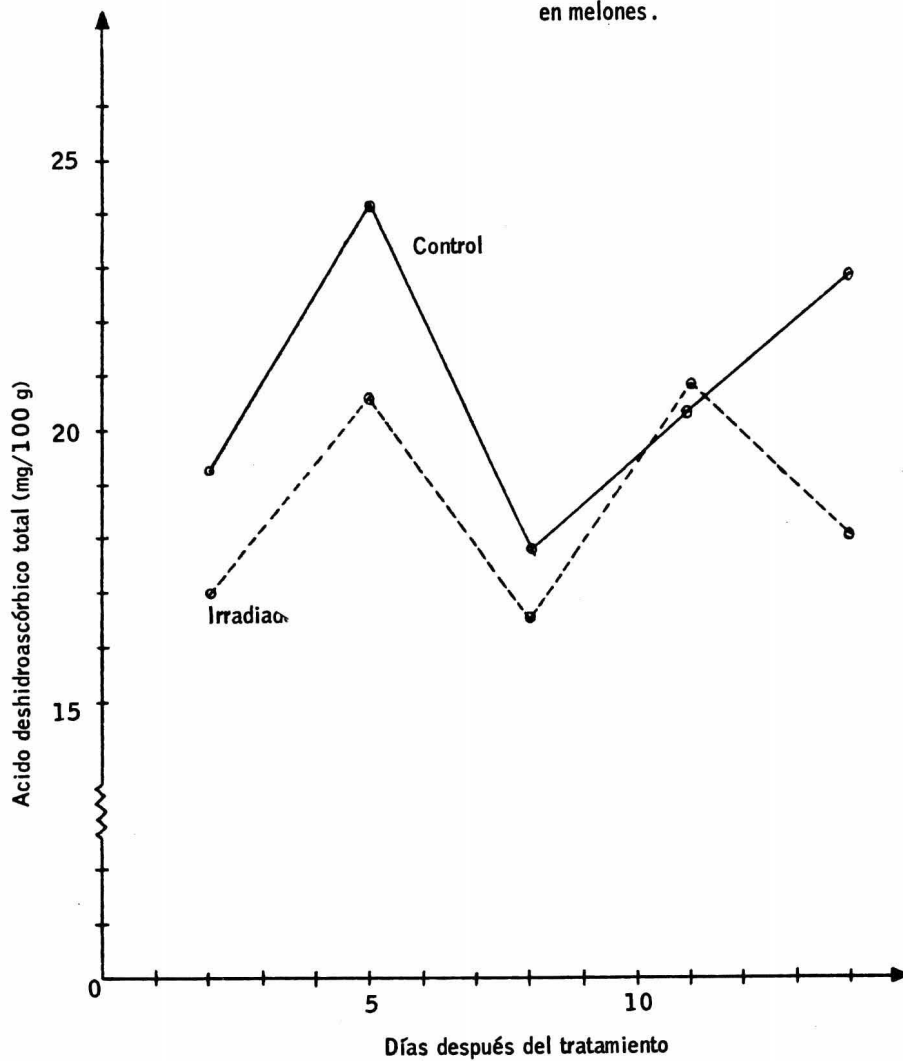


Gráfica II . Acido ascórbico en melones .

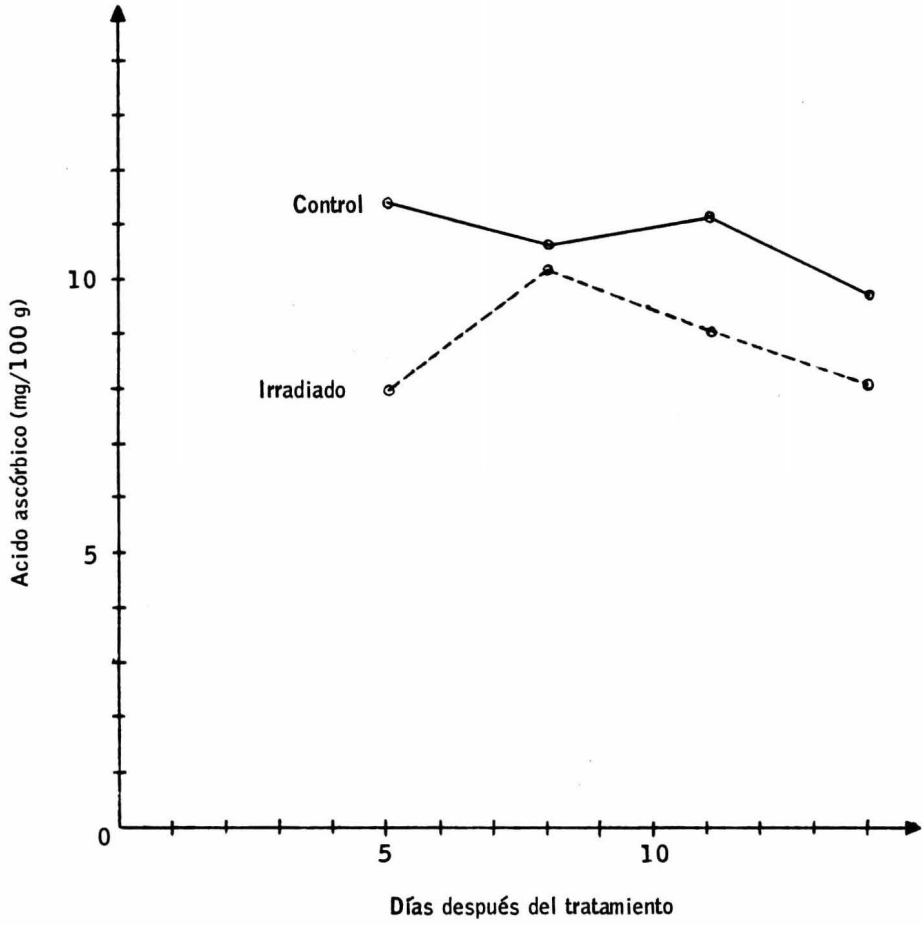
Gráfica III . Acido deshidroascórbico parcial en melones .

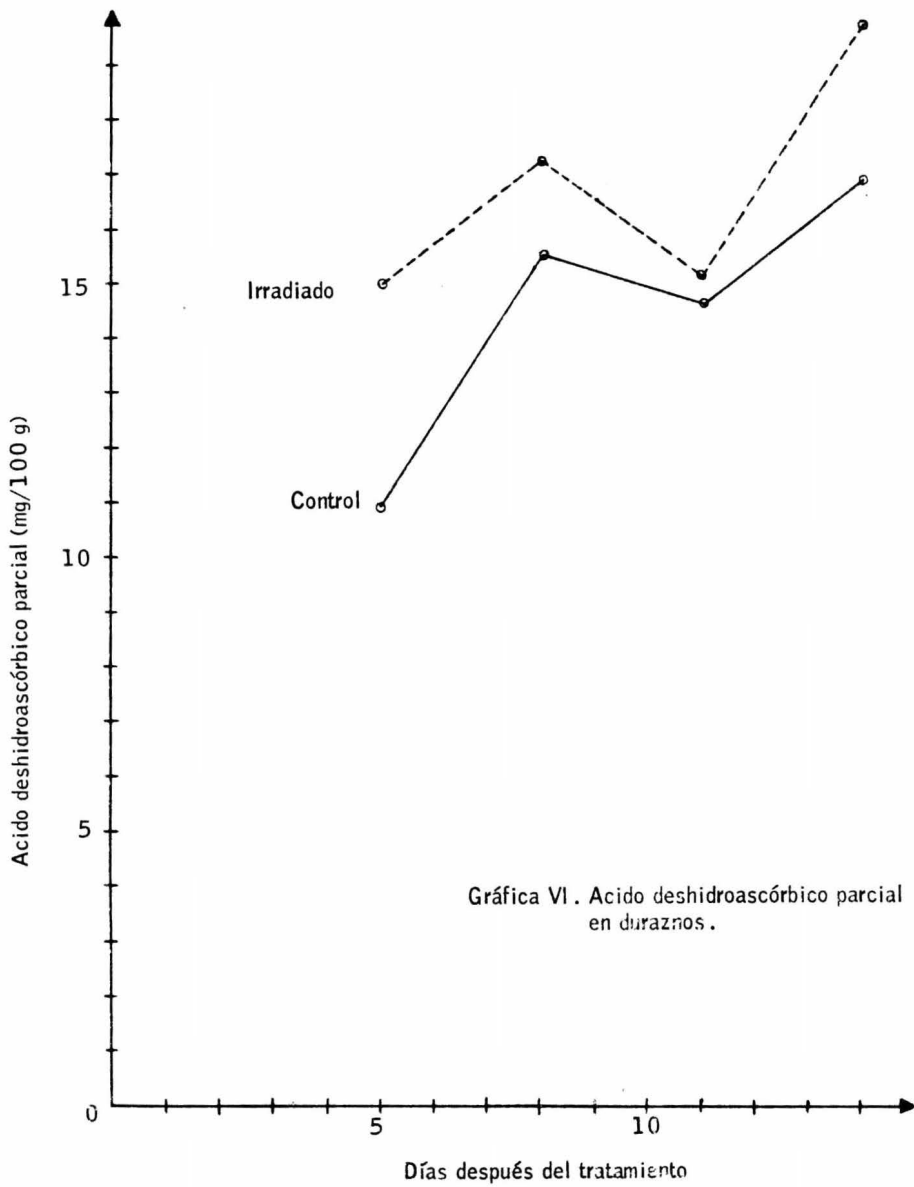


Gráfica IV. Acido deshidroascórbico total en melones .

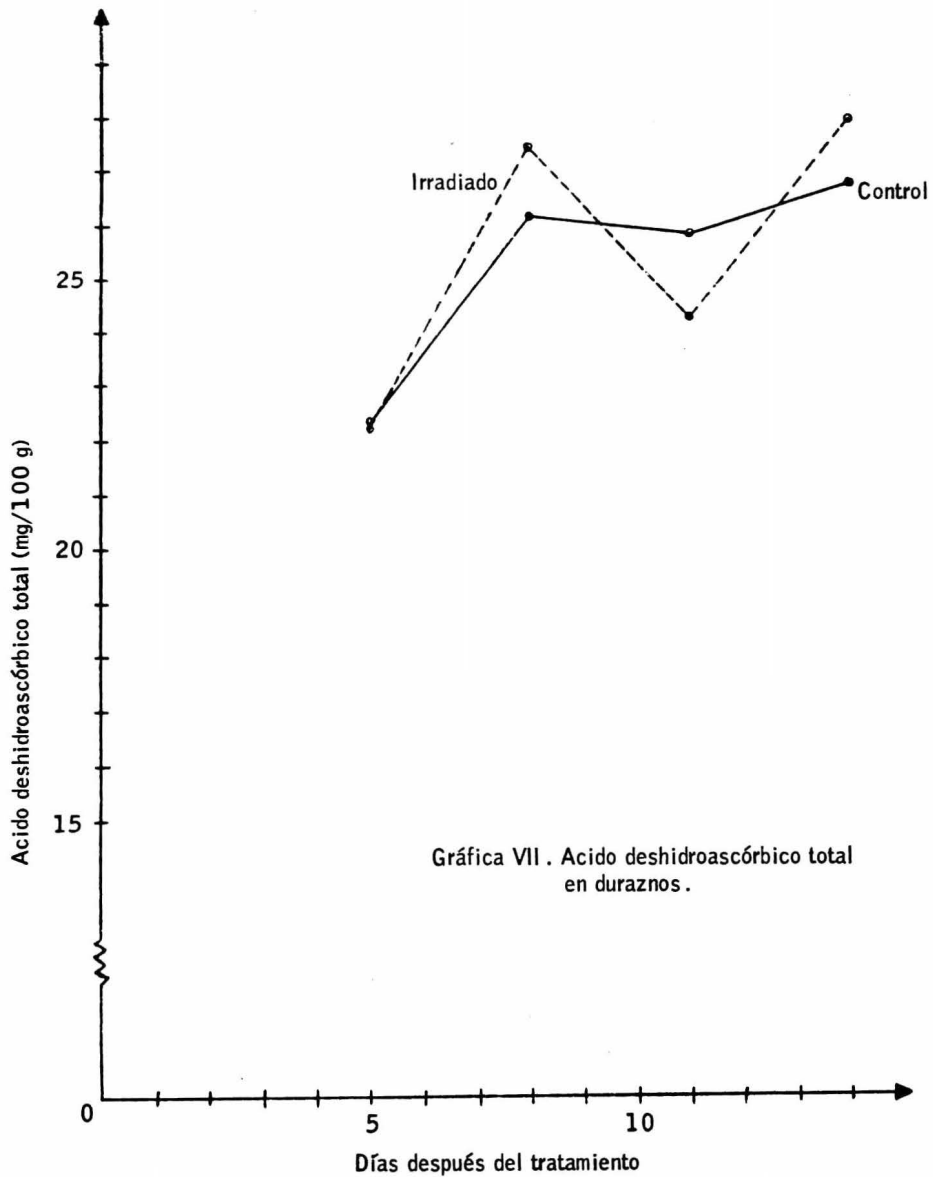


Gráfica V. Acido ascórbico en durazos .





Gráfica VI. Acido deshidroascórbico parcial en duraznos.



Gráfica VII. Acido deshidroascórbico total en duraznos.