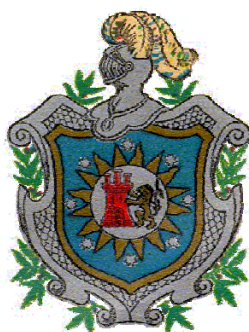


**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, LEÓN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**



**“APLICACIÓN DE LA ELECTROFORESIS CAPILAR  
EN ZONA AL ANÁLISIS DE POTASIO, CALCIO,  
SODIO Y MAGNESIO EN FRUTAS Y VEGETALES DEL  
MERCADO CENTRAL DE LA CIUDAD DE LEÓN”**

**MONOGRAFÍA**  
**PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADA EN QUÍMICA**

**PRESENTADA POR**

**BR. FRANCINIE LEONIE CORRALES BERMÚDEZ**  
**BR. MARÍA RENEÉ LARA MEMBREÑO**

**TUTORES**

**DR. SERGIO JOSÉ LÓPEZ GRÍO**  
**LIC. MARÍA ERNESTINA SOTO SARRIA**

**LEÓN, NICARAGUA, SEPTIEMBRE DE 2008**

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo monográfico esta dedicado especialmente a:

Mis tías Lic. Silvia Membreño y Elisa Amanda Membreño.

Mi abuelita doña Silvia Barreto Telleria.

Mi hermana Conny Maria Lara M.

Br. Maria Renée Lara Membreño

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco en primer lugar a nuestro señor Jesucristo por haberme permitido llegar a culminar mis estudios de preparación, por ser el principal guía y la luz que ilumino mi camino y entendimiento.

A mi familia, en especial a mi abuelita Silvia Nazarea Barreto Tellería que fue el principal apoyo en mi formación personal y académica.

A mi hermana Cony María Lara Membreño por brindarme confianza y demostrarme su apoyo incondicional. Deseo que mi logro sea un ejemplo a seguir para ella y que sepa que cuando uno se propone firmemente a triunfar en la vida lo puede lograr con paciencia, empeño y amor por lo que se desea.

A mi compañera de trabajo Francinie Leonie Corrales Bermúdez por la paciencia, cariño, apoyo, y sobre todo por su amistad incondicional, y por su perseverancia en nuestro trabajo monográfico.

A mis tutores el Dr. Sergio López y Lic. María Ernestina Soto por brindarnos la oportunidad de trabajar bajo su asesoría, por su apoyo incondicional, por confiar en nuestro buen juicio, pero sobre todo por los lazos de amistad adquiridos a lo largo de la convivencia diaria en las arduas jornadas de trabajo.

Br. Maria Renée Lara Membreño

## **DEDICATORIA**

Dedico el presente trabajo monográfico de manera muy especial a mis padres Francisco Corrales y Lisseth Bermúdez.

A mis hermanos Franco Roberto Corrales Bermúdez y Niuvilleth Nazareth Corrales Bermúdez.

Y a una persona muy especial en vida que me brindo su apoyo en todo momento Mario José Chavarría Narváez.

Br. Francinie Leonie Corrales Bermúdez

## AGRADECIMIENTO

Agradezco en primer lugar a mi señor Jesucristo por darme la oportunidad de culminar mis estudios universitarios y permitir que me siga preparando de manera profesional, Él es la luz en mí andar a diario.

De manera especial a mis padres Francisco Corrales y Lisseth Bermúdez por el apoyo y esfuerzo que me brindaron en mi preparación y por enseñarme a ser una persona independiente que pueda valerse por si misma.

A mis hermanos Roberto y Niuvilleth por ser mi inspiración en todo momento, pues deseo tomen de ejemplo lo que yo hice en mi preparación universitaria y de que sepan que no hay nada imposible cuando uno se propone algo de corazón, pues el mayor obstáculo en la vida esta en no intentar hacer lo que uno desea.

A mi compañera de trabajo María Renée por el cuidado, esmero, alegría y paciencia que apporto en la realización de este trabajo monográfico.

A mis tutores guías el Dr. Sergio y la Lic. María Ernestina por brindarnos la oportunidad de trabajar con ellos en este estudio científico de aporte para la ciencia, pero sobre todo quiero agradecer la amistad que nos regalaron y la paciencia que tuvieron con nosotras a lo largo del trabajo Monográfico.

Br. Francinie Leonie Corrales Bermúdez

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>CONTENIDO</b>	<b>PÁGINA</b>
I. Resumen	1
II. Introducción	2
III. Objetivos	4
IV. Marco teórico	5
IV.1 Electroforesis Capilar	5
IV.2. Los Cationes	14
IV.3. Frutas y Vegetales	17
IV.4. Tratamiento de Datos	22
V. Metodología	25
V.1. Equipos	25
V.2. Materiales	25
V.3. Reactivos	26
V.4. Preparación de soluciones	27
V.5. Lavado de Cristalería	29
V.6. Metodología experimental	30
VI. Análisis de resultados	34
VI.1. Selección de las frutas y vegetales	34
VI.2. Selección de la Condiciones de Operación	35
VI.3. Parámetros electroforéticos	37
VI.4 Contenido de potasio, calcio, sodio y magnesio en frutas y vegetales	38
VI.5. Relación del contenido de cationes con la Dosis Diaria Recomendada.	53
VII. Conclusiones	56
VIII. Recomendaciones	57
IX. Bibliografía	58
X. Anexos	60



## I. RESUMEN

Este trabajo monográfico presenta la aplicabilidad de una técnica de separación novedosa y versátil como es la Electroforesis Capilar en Zona para la determinación de cationes de interés biológico en frutas y vegetales de mayor consumo en el área urbana de la Ciudad de León, Nicaragua.

Los cationes potasio, calcio, sodio y magnesio fueron seleccionados por su participación en el equilibrio hídrico, iónico y metabolismo de los seres humanos. Las muestras se escogieron a partir de datos estadísticos a nivel nacional que revelaron para los vegetales que la cebolla, chiltoma y tomate son consumidos por casi toda la población urbana, y que las frutas tropicales son adquiridas por dos quintas partes este segmento de población.

Una vez claros sobre los analitos y matrices a ser analizados se procedió a la selección de las condiciones electroforéticas de mayor influencia en la técnica de separación y se calcularon los parámetros electroforéticos: tiempo de migración, velocidad y movilidad aparente para potasio, calcio, sodio y magnesio. Lo que permitió su cuantificación en las muestras agroalimentarias.

Los datos obtenidos de los estándares de cationes y muestras analizadas en las condiciones electroforéticas establecidas para este trabajo, fueron tratados estadísticamente con el fin de determinar el modelo que permita cuantificar los analitos de manera confiable y válida.

En este sentido se procedió a estimar los parámetros de regresión para la recta normal de calibrado, los límites de detección y cuantificación y los límites de confianza.

Una vez terminado el análisis químico se determinó el contenido de los Cationes más relevantes que se encuentran en las muestras de objeto de estudio. Es importante resaltar que el contenido que estos minerales aportan a través de las frutas y vegetales son solo un porcentaje mínimo de lo que una persona sana debe consumir en una dieta balanceada.



## II. INTRODUCCIÓN

Las técnicas de separación han tenido gran importancia para la Química, pero sobre todo para la Química Analítica, ejemplos de esto son el aislamiento de los elementos lantánidos y de los aminoácidos por intercambio iónico, la separación de isómeros ópticos por cromatografía de gases y las aplicaciones de la cromatografía líquida en la detección de pesticidas en alimentos, determinación de contaminantes atmosféricos. En este sentido, el desarrollo de la cromatografía ha provocado una división de las técnicas de separación en técnicas cromatográficas y no cromatográficas. [1]

Las técnicas cromatográficas son aquellas que separan mezclas de analitos en función de su diferente velocidad de desplazamiento al ser arrastrados por una fase móvil (líquida o gas) a través de un lecho cromatográfico que contiene la fase estacionaria (sólida o líquida). Gracias a la alta eficiencia y resolución que éstas han alcanzado, sobre todo la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la cromatografía de gases (GC), que están ampliamente establecidas en los laboratorios de ensayo, se ha reducido el uso de las técnicas no cromatográficas para los análisis de rutina. [1, 2]

La electroforesis es en sus orígenes una técnica de separación no cromatográfica basada en el fenómeno de la migración diferencial. Este fenómeno podemos describirlo como la diferente movilidad que presentan partículas cargadas cuando se las somete a la acción de un campo eléctrico. El uso de esta técnica de separación se remonta a los años 30 con los trabajos de Tiselius, sin embargo llamó poco la atención del químico analítico debido a que en disolución no se puede aislar el fenómeno de la migración de otros fenómenos de transporte indeseables como la convección y la difusión térmica. Lo cual fue en parte solucionado llevando a cabo la separación en geles y sobre un soporte plano (slab-gel electrophoresis). Sin embargo, los tiempos de análisis eran largos, no se tenía eficiencia en la separación y era difícil la detección y automatización, reduciendo así el campo de aplicación a las macromoléculas y al análisis cualitativo o semicuantitativo. [1-4]

El desarrollo actual de la electroforesis se debe al uso de un nuevo soporte donde llevar a cabo la separación: los capilares de sílice fundida. Puesto que estos capilares son de diámetro interno muy reducido y de un material anticonvectivo no es necesario el uso de geles. Además permiten la detección dentro del capilar y el uso de pequeños volúmenes de muestra lo que





permite de forma indirecta la automatización de los equipos. Esta innovación introducida por Hjerten en 1967 y la descripción del fundamento teórico por parte de Jorgenson a principios de la década de los 80 de esta técnica que fue rebautizada como electroforesis capilar, impulsa la comercialización de los primeros equipos automatizados a finales de esa década. Desde entonces se han ampliado los mecanismos de separación, dando lugar a diversos modos de operación y consecuentemente al campo de aplicación. La técnica ha sido aplicada al análisis alimentario, farmacéutico, bioquímico o medioambiental y constituye una técnica alternativa para aplicaciones que tradicionalmente se han llevado a cabo mediante cromatografía líquida, de gases o de intercambio iónico. [2, 3]

En la actualidad, la técnica ha alcanzado gran relevancia, siendo prueba de ello su paulatina aplicación en diversos campos industriales y la aceptación de los primeros métodos oficiales de análisis. Sin embargo, la utilización de la electroforesis capilar como técnica de análisis de rutina para resolver problemas analíticos reales es menor de lo previsto si se evalúa la gran cantidad de artículos de investigación publicados o las expectativas de los fabricantes de los equipos. Una de las limitantes podría ser la inercia existente a continuar utilizando otras técnicas analíticas más establecidas. Es en esta línea donde se enfoca este trabajo que pretende demostrar la capacidad de la técnica para resolver problemas de interés en el campo agroalimentario. Específicamente en la determinación de cationes de interés biológico como potasio, sodio, calcio y magnesio que influyen en el equilibrio iónico, el equilibrio hídrico y la función celular normal del organismo. [2, 4, 5]

Puesto que la aplicación se hará en el campo agroalimentario, se analizaran frutas y vegetales, los cuales son parte principal del menú nicaragüense. En Nicaragua la cebolla, el chiltomo y el tomate constituyen el 90% de alimentos más usados y las frutas tropicales el 40%. Las frutas seleccionadas son las disponibles en la temporada seca: sandía, banano y papaya. De ahí, la importancia de realizar un estudio para la determinación de minerales presentes en los alimentos que mayormente se consumen en nuestro país. [6]



### **III. OBJETIVOS**

#### **III.1 OBJETIVO GENERAL**

Aplicar la Electroforesis Capilar en Zona (CZE) al análisis de potasio, calcio, sodio y magnesio en frutas y vegetales del Mercado Central de la ciudad de León.

#### **III.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Seleccionar las frutas y vegetales según datos estadísticos de consumo.
- Establecer las condiciones electroforéticas para la determinación de potasio, calcio, sodio y magnesio por Electroforesis Capilar en Zona.
- Calcular los parámetros electroforéticos de potasio, calcio, sodio y magnesio.
- Determinar el contenido de potasio, calcio, sodio y magnesio en frutas y vegetales.
- Relacionar el contenido de minerales en frutas y vegetales con la Dosis Diaria Recomendada.



## IV. MARCO TEÓRICO

### IV.1 ELECTROFORESIS CAPILAR (CE)

#### IV.1.1 Introducción

La Electroforesis Capilar (CE, capillary electrophoresis) es una técnica de separación novedosa y versátil, que se basa en la diferencia de movilidad de las sustancias cargadas a través de un medio de conducción, generalmente un tampón acuoso, contenido en un tubo capilar, en respuesta a la aplicación de un campo eléctrico. [1-5, 7]

Esta técnica está basada en la reducción drástica de la sección transversal del aparato de electroforesis, es decir, la separación se realiza en el interior de un tubo capilar con un diámetro menor de 0.1 mm. De esta manera, la temperatura del líquido que transcurre a través del capilar no va a aumentar si se aplica un potencial de corriente elevado (entre 20.000 y 60.000 V); esto se traduce en una separación más rápida (ya que la velocidad de migración del ión aumenta proporcionalmente al potencial aplicado, como indica la ecuación  $v = \mu e V/L$ ) y con una mejor resolución. Por tanto, se pueden mantener voltajes más altos con un bajo calentamiento de Joule (el calentamiento de Joule es el calor producido por la corriente eléctrica). [8]

Cada sustancia introducida en el capilar se desplaza por su interior a una velocidad que depende de su carga electrónica, su estructura y el potencial aplicado, que son los responsables principales de la separación. Los dos extremos del capilar se sumergen en dos viales que contienen el tampón, en estos viales también están sumergidos los electrodos conectados a la fuente de energía, que al aplicar el potencial crean un flujo de cargas positivas que van del ánodo al cátodo denominado flujo electroosmótico. [2,9]

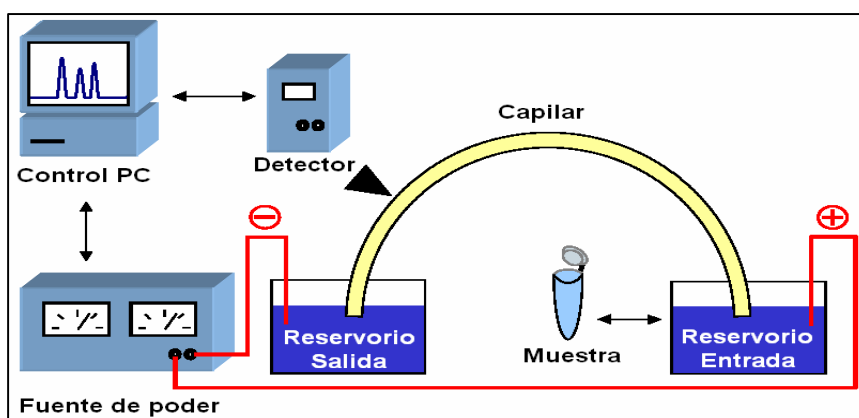


Al inyectarse la muestra, por el extremo del capilar correspondiente al ánodo, el potencial hace que los analitos cargados positivamente (cationes) migren hacia el cátodo, primero los más cargados, y luego los menos cargados y de mayor tamaño, y poco antes de llegar al extremo del cátodo serán captados por detector. [1-4, 9]

Los analitos neutros no se verán influenciados por el potencial, pero se moverán hacia el cátodo, arrastrado por el flujo electroosmótico, a la misma velocidad que este, y por tanto serán detectados después de los cationes. Por último los analitos cargados negativamente (aniones) migran hacia el ánodo, pero el flujo electroosmótico puede arrastrarlos, a todos o algunos de ellos, hacia el cátodo, siendo detectado, por tanto, al final del análisis, después de los analitos neutros, siendo los aniones más cargados y de mayor tamaño los últimos en llegar. [1-3]

El orden de llegada al detector, y por tanto, el orden en el electroferograma será: cationes, neutros y aniones. La separación electroforética depende, en gran medida, de la carga de los analitos y por siguiente esta muy bien influenciada por el pH, ya que cambios en el pH puede convertir analitos neutros en cargados, y viceversa, variando así su movilidad. [1-3]

La conformación de un equipo básico de electroforesis capilar se muestra en la siguiente Fig. IV.1: [5]



**Fig. IV.1** Esquema de un equipo de Electroforesis Capilar



Esta técnica por sus características de funcionamiento basadas en la carga de las moléculas, es adecuada para el análisis de sustancias iónicas o fácilmente ionizables, tales como cationes y aniones orgánicos e inorgánicos, ácidos orgánicos, azúcares, aminoácidos, siendo de las pocas técnicas que permite el análisis de moléculas de elevado peso molecular, como las proteínas. [4-5, 7-19]

Para establecer un método que permita separar y cuantificar una serie de analitos en una matriz determinada, se debe optimizar las diferentes condiciones que influye en la separación, hasta obtener la selectividad y sensibilidad adecuadas. Las principales condiciones a optimizar son el voltaje aplicado, la temperatura del capilar, el volumen de muestra inyectado, la longitud del capilar, el tampón y el pH del tampón. [5, 7]

El tampón y su pH son posiblemente los factores mas importantes a considerar, y de su correcta elección depende, en gran parte, el éxito de la separación, ya que para poder separar dos analitos similares, el pH del tampón debe encontrarse entre el valor del pka de uno y del otro, y de esta manera se consigue que uno este ionizado y el otro no. La CE puede llegar a límites de detección de mg/L a ng/L dependiendo del tipo de detector utilizado. [7]

#### IV.1.2 Fundamentos de la Separación

La velocidad de migración de un ion,  $v$ , sometido a la acción de un campo eléctrico, medida en cm/s, viene dada por la expresión:

$$v = \mu_e E \quad (IV.1)$$

siendo  $\mu_e$  la movilidad electroforética del ion, medida en  $\text{cm}^2/\text{Vs}$  y  $E$  la intensidad del campo eléctrico aplicado, medido en  $\text{V}/\text{cm}$ .

$\mu_e$  depende a su vez de la carga del ion ( $q$ ), de su radio ( $r$ ) y de la viscosidad de la solución ( $\eta$ ), según la expresión: [1, 2, 7, 8]

$$\mu_e = \frac{q}{6\pi \eta r} \quad (IV.2)$$

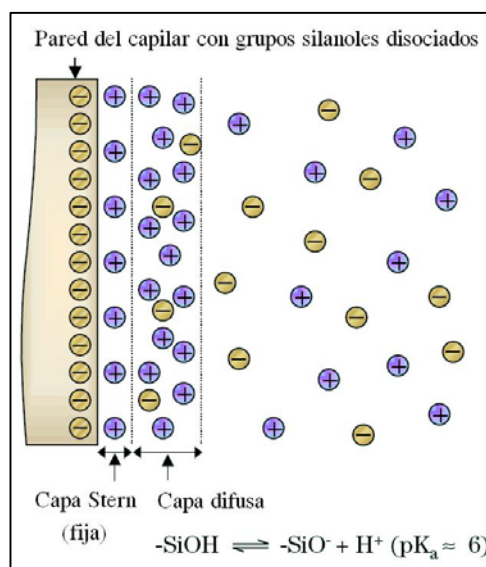


A partir de esta ecuación es evidente que especies pequeñas altamente cargadas tienen movilidades grandes, mientras que grandes y mínimamente cargadas tienen poca movilidad.

La movilidad electroforética usualmente se encuentra en tablas como una constante física, determinada en el punto de carga total del soluto y extrapolada en dilución infinita. Si la sustancia esta presente en disolución en diferentes formas en equilibrio dinámico (por ejemplo en equilibrio ácido-base), la movilidad electroforética es una combinación de las movilidades de la  $i$  posibles especies ponderada por la fracción molar de cada  $i$  especie ( $\alpha_i$ ).

$$\mu_e = \sum_{i=0}^n \alpha_i \mu_i \quad (IV.3)$$

Sin embargo, la movilidad electroforética real no coincide con lo predicho por la ecuación IV.2 debido a la existencia del flujo electroosmótico (EOF, electroosmotic flow). El EOF resulta del efecto del campo eléctrico aplicado en la pared cargada del capilar, generando la doble capa eléctrica (Fig. IV.2). [2-5, 7]

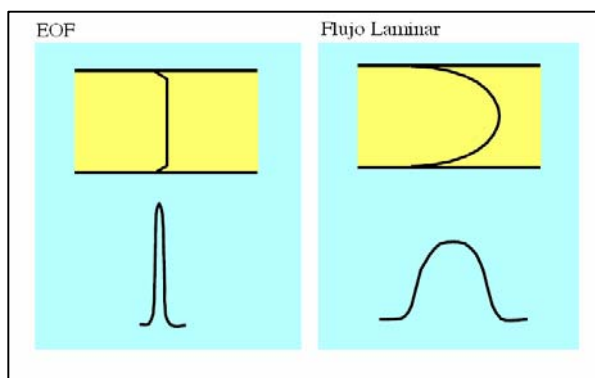


**Fig. IV.2** Distribución de la Carga en el Interior del Capilar

La velocidad del flujo es proporcional al potencial aplicado y a la viscosidad del tampón y depende de la carga en la superficie del capilar.



Los capilares usados en electroforesis capilar suelen ser de sílice fundida. A pH por encima de 3, la pared interna del capilar de sílice presenta carga negativa debido a la desprotonación de los grupos silanol (Si-OH) de la superficie. Los cationes de la disolución formarán cerca de la superficie del capilar una primera capa interna, fija, en la que los cationes, inmóviles, están unidos fuertemente a la superficie del capilar. Una segunda capa, denominada capa móvil o difusa, formada también por cationes aunque unidos de manera más débil a la superficie del capilar, migrará hacia el cátodo (electrodo negativo) en presencia de un campo eléctrico. El resto de la disolución, mediante capilaridad, migrará a la misma velocidad y en la misma dirección, lo que producirá un perfil de flujo plano, a diferencia de la cromatografía, que produce perfiles de flujo laminar (Fig. IV.3). [2-5, 7]



**Fig. IV.3** Perfiles del EOF y Flujo laminar

A causa del perfil de flujo plano del flujo electroosmótico, se reduce significativamente el ensanchamiento de banda y por tanto, mejora la resolución. Además, la gran ventaja que presenta el EOF es que la separación electroforética y la detección pueden realizarse a la vez para cationes y aniones. Sin el EOF, o sólo aniones, o sólo cationes migrarían hacia el detector. El ión de carga opuesta migraría retrocediendo al final de la inyección, y los compuestos neutros se quedarían al final y se dispersarían por difusión. Con EOF todas las especies pasan por el detector. [2-5, 7]

Finalmente, la velocidad de un ión en la electroforesis capilar vendrá determinada por su velocidad electroforética y por su velocidad de flujo electroosmótico:

$$v = (\mu_e + \mu_{EOF}) E \quad (IV.4)$$



La movilidad electroforética es una magnitud algebraica positiva para los cationes, que se desplazan en el sentido del E, y negativa para los aniones, que se mueven en la dirección opuesta a E. La movilidad resultante por la contribución del EOF se denomina movilidad aparente. [2-5, 7]

#### IV.1.3 Parámetros electroforéticos

La ecuación IV.4 presenta la forma de determinar la velocidad de un ion siempre que se conozca su movilidad total, sin embargo experimentalmente la velocidad,  $v$ , de un ion puede ser calculada del siguiente modo:

$$v = \frac{l}{t} \quad \text{IV.5}$$

donde  $l$  es la longitud efectiva del capilar y  $t$  el tiempo de migración. [2-5, 7]

El tiempo de migración,  $t$ , es el tiempo que un soluto necesita para migrar desde el punto de inyección hasta el punto de detección. Este se puede relacionar con un conjunto de parámetros experimentales a través de:

$$\mu_a = \frac{l}{tE} = \frac{lL}{tV} \quad \text{IV.6}$$

donde,  $\mu_a$  es la movilidad aparente o total,  $V$  es el voltaje aplicado,  $l$  la longitud efectiva del capilar, considerada como la distancia entre el extremo donde se realiza la inyección y la ventana de detección,  $L$  es la longitud total del capilar,  $t$  es el tiempo de migración y  $E$  la intensidad del campo eléctrico. En presencia del flujo electroosmótico la movilidad medida corresponde a la movilidad aparente. El flujo electroosmótico se puede medir inyectando una especie sin carga que no se absorba, para lo cual puede utilizarse, entre otras sustancias acetona, dimetilsulfóxido, dimetilformamida y óxido de mesitilo. [2-5, 7]

El número de platos teóricos,  $N$ , cuando la dispersión esta controlada por la difusión molecular, viene dado por:

$$N = \frac{l^2}{\sigma^2} = \frac{\mu_a V l}{2 D L} = \frac{\mu_a E l}{2 D} \quad \text{IV.7}$$





donde,  $\sigma^2$  es la varianza del pico y D el coeficiente de difusión o difusibilidad, lo que indica que la eficiencia es proporcional a las movilidades y al voltaje aplicado e inversamente proporcional a la difusibilidad e independiente de la longitud del capilar.  $\sigma^2$  y D se relacionan en la siguiente fórmula:

$$\sigma^2 = 2 D t = \frac{2 D l L}{\mu_a V} = \frac{w^2}{5.545} \quad \text{IV.8}$$

siendo w la anchura de la base del pico. [2-5, 7]

La resolución, **R**, entre los componentes de una muestra es el objetivo final de una técnica de separación. En CE, la resolución se define del mismo modo que en cromatografía, como la diferencia entre los máximos de los dos picos considerados dividida por el promedio de sus anchuras:

$$R = \frac{2 (t_2 - t_1)}{w_1 + w_2} = \frac{t_2 - t_1}{4 \sigma} \quad \text{IV.9}$$

siendo, t el tiempo de migración,  $w_1$  y  $w_2$  las anchuras de las bases de los picos y  $4\sigma$  es la anchura promedio. Por otra parte, la resolución depende de las movilidades electroforéticas y electroosmóticas, y de otros parámetros, del modo siguiente:

$$R = \left( \frac{1}{4 \sqrt{2}} \right) (\Delta\mu) \sqrt{\frac{V}{D (\mu + \mu_{\text{EOF}})}} \quad \text{IV.10}$$

donde  $\Delta\mu = \mu_2 - \mu_1$  y  $\mu = (\mu_1 + \mu_2)/2$ . A diferencia de lo que ocurría con la eficiencia (ecuación 6), un aumento del voltaje no provoca un aumento equivalente de resolución. Para al doble la resolución es necesario aumentar cuatro veces el voltaje. [2-5, 7]

#### IV.1.4 Modos de Operación en Electroforesis Capilar

Una característica importante de la electroforesis capilar es la gran versatilidad en los modos de operación. Se pueden distinguir seis modos de operación que corresponden al mismo número de mecanismos de separación. En la tabla IV.1 se resumen los modos en que se puede usar la Electroforesis Capilar y sus aplicaciones, posteriormente se abordaran aspectos generales de la Electroforesis Capilar en Zona, que es el modo usado para el desarrollo de este trabajo. [2-5, 7]

**Tabla IV.1** Modos y Aplicaciones de la Electroforesis Capilar

Usar modo de CE....	Para el análisis de....
Electroforesis Capilar en Zona (CZE)	Iones, etc.
Cromatografía Electrocinética Micelar (MECK)	Analitos iónicos y neutros
Electroforesis Capilar Quiral (CCE)	Moléculas quirales
Electrocromatografía Capilar (CEC)	Moléculas pequeñas
Electroforesis Capilar en Gel (CGE/SDS-PAGE)	Masa molar de proteínas/tamaño de ADN/ARN
Enfoque isoeléctrico capilar (CIEF)	Punto isoeléctrico de proteínas/péptidos
Isotacoforesis Capilar (CITP)	Iones

#### IV.1.4.1 Electroforesis Capilar en Zona

La Electroforesis Capilar en Zona (CZE, capillary zone electrophoresis), es la modalidad más utilizada a causa de su simplicidad operacional y versatilidad. En CZE el capilar, los viales de entrada y de salida contienen el mismo tampón de separación, que hace las veces del electrolito de fondo (BGE, background electrolyte) o de soporte de la corriente, y es en este medio donde se realiza la separación, la que se da gracias a las diferentes movilidades de los solutos en función de su relación carga/masa. La muestra es inyectada a la entrada del capilar. Por lo tanto un requisito previo de CZE es que los analitos posean cargas eléctricas.

En esta técnica la composición del tampón es constante en toda la zona de separación. El potencial aplicado hace que los diferentes componentes iónicos de la mezcla migren cada uno según su propia movilidad y se separen en zonas que puedan estar completamente resueltas o parcialmente solapadas. Por ejemplo el caso del potasio y el amonio presentan movilidad electroforética similar; pero con un electrolito de imidazol, la separación uno del otro es posible; agregando el ionoforo éter 18-corona-6, que forma complejos con el potasio, incrementando su tamaño y retrasando su migración [4].



La mayoría de los cationes carecen de grupos cromóforos y no dan una respuesta del Ultravioleta-Visible. Una mejor manera de utilizar la detección de UV-Vis indirecta es con un electrolito de fondo tal como el imidazol con una alta absorbancia en el UV-Vis. El electrolito de fondo proporciona una señal en el UV-Vis, cuando los analitos pasan por el detector la absorbancia del UV-Vis se reduce, y los analitos son detectados como picos negativos; contra un alto fondo. [2-5, 7]

La detección indirecta del UV-Vis es así un método de detección “universal”, detecta cualquier cosa la desventaja primaria de esto es que aumenta la posibilidad de interferencia entre especies de cargas similares. [2, 7]

#### **IV.1.4.2 Aplicaciones de la Electroforesis Capilar en Zona**

El intervalo de aplicaciones de la CZE es diverso y las áreas de aplicación pueden ir desde problemas relacionados con la separación de especies pequeñas hasta la separación de especies de gran volumen. [8-20]

Las aplicaciones de la CZE incluyen:

- Fraccionamiento de proteínas séricas, urinarias y de líquido cefalorraquídeo.
- Demostración de variantes de hemoglobinas.
- Cuantificación de lipoproteínas.
- Screening de drogas.
- Diagnóstico molecular de enfermedades genéticas.
- Determinación directa y simultánea de alcoholes, aminas, iso-ácidos, aminoácidos, flavonoides, bases púricas, y pirimidínicas presentes en la cerveza.
- Separación de las proteínas del suero humano normal y patológico.
- Separación de pequeñas moléculas ionizadas, como nucleótidos, vitaminas, aminoácidos y drogas iónicas.
- Separación de estereoisómeros.
- Separación de iones inorgánicos.[8-20]



## IV.2 LOS CATIONES

Los cationes ( $C^{y+}$ ) son especies (átomos o moléculas) con carga eléctrica positiva, es decir que han perdido electrones. Se encuentran como especies libres cuando sus sales ( $C_xA_y$ ) se disocian, en cationes y aniones ( $A^{x-}$ ), al estar en solución:



Por lo tanto, los minerales que se encuentran en forma de sales, al estar en solución contienen los cationes que cumplen numerosas funciones en el organismo humano. [21]

### IV.2.1 Función de los minerales en el organismo humano

Los minerales son elementos químicos imprescindibles para el normal funcionamiento metabólico, tanto los cambios internos como el equilibrio acuoso, dependen de su concentración y distribución.

Los principales minerales en el cuerpo humano son: calcio, fósforo, potasio, sodio, cloro, azufre, magnesio, manganeso, hierro, yodo, flúor, zinc, cobalto y selenio. El fósforo se encuentra tan ampliamente en las plantas, que una carencia de este elemento quizá no se presente en ninguna dieta. El potasio, el sodio y el cloro se absorben con facilidad y fisiológicamente son más importantes que el fósforo. Los seres humanos consumen azufre sobre todo en forma de aminoácidos que contienen azufre; por lo tanto, cuando hay carencia de azufre, se relaciona con carencia de proteína. No se considera común la carencia de cobre, manganeso y magnesio. [21]

Los minerales se pueden dividir acorde a la necesidad que el organismo tiene de ellos en:

Macronutrientes: Potasio, Calcio, Sodio, Fósforo, Magnesio y Azufre.

Micronutrientes: Cobre, Yodo, Hierro, Manganeso, Cromo, Cobalto, Zinc y Selenio.

En este trabajo se tratarán en detalle cuatro macronutrientes: Potasio, Calcio, Sodio y Magnesio, por ser objeto de nuestro estudio.



El **potasio** se encuentra en el organismo en forma iónica y, junto con el sodio y el cloro, son los electrolitos más abundantes en el organismo. El 97% del potasio se encuentra intracelularmente y el 3% restante en forma extracelular. Actúa como regulador del balance hídrico del organismo y participa en la contracción del músculo cardiaco. Está relacionado con el equilibrio ácido-base. Aproximadamente el 90% del potasio ingerido es absorbido en el intestino delgado y se elimina a través de la orina. Se encuentra principalmente en la fruta, en la verdura fresca y en las patatas y, en menores cantidades, en las legumbres y en los frutos secos. [22]

**Calcio:** Se encuentra presente en forma iónica, es el mineral más abundante del cuerpo humano, representando del 1,5% al 2% del peso corporal y el cuarto componente del cuerpo después del agua, de las proteínas y de las grasas. Se encuentra en los huesos, en los dientes, en la sangre, en los líquidos intersticiales y en las células. El calcio de los huesos y de los dientes desempeña una función plástica y de sostén, y el calcio plasmático una función reguladora: participa en la coagulación, en la permeabilidad de las membranas, como regulador nervioso y neuromuscular, favoreciendo la absorción y la secreción intestinal y la liberación de hormonas. El calcio está vinculado también al fósforo, ya que la falta o exceso de uno de ellos puede afectar a la absorción del otro. Las fuentes de calcio más importantes son la leche y los productos lácteos, pero también son ricos en este metal la mayoría de los vegetales y las aguas duras. [22]

El **Sodio** se encuentra en el organismo en forma iónica, en su mayor parte en el líquido extracelular. También hay una pequeña parte en el interior de la célula y el resto unido a los componentes inorgánicos del hueso. Junto con el potasio y el cloro, el sodio es uno de los electrolitos más abundantes en el organismo. Regula el balance hídrico del organismo e interviene en la transmisión del impulso nervioso a los músculos (bomba de sodio). Se encuentra principalmente en la sal, pero está presente en muchos alimentos. [22]



**Magnesio:** El magnesio es el quinto mineral por su abundancia en el organismo, esta presente en forma iónica y es imprescindible para la correcta asimilación del calcio y de la vitamina C. Es necesario para activar numerosas enzimas y las vitaminas del grupo B. Interviene en la síntesis de las proteínas, en la excitabilidad de los músculos y en la liberación de energía. Equilibra el sistema nervioso central (acción sedante) Aumenta la secreción de la bilis e interviene en la secreción y en la acción de la insulina. Se encuentra en el cacao, en la soja, en los frutos secos, en la avena, en el maíz y en algunas verduras. [22]

#### IV.2.2 Dosis diarias recomendadas (DDR) de minerales

Los nutricionistas han establecido una cantidad recomendable de nutrientes que deben ingerir los seres humanos para un correcto funcionamiento de sus sistemas. Esta cantidad recomendable suele definirse como dosis diaria recomendada (DDR). En la tabla IV.2 se presenta la DDR de cationes estudiados así como las consecuencias por su deficiencia. [21]

**Tabla IV.2** Dosis diaria recomendada y déficit de minerales\*

Mineral	DDR	DEFICIT
Potasio	2.0-5.0 g	Ataques cardiacos, aplopejías, sensación de debilidad, sed, confusión y cansancio.
Calcio	800-1200 mg	Impulso nervioso, desactivación enzimática, contracción muscular y osteoporosis.
Sodio	0.5-5.0 g	Calambres, sed y debilidad muscular.
Magnesio	300-400 mg	Debilidad muscular, descoordinación, letargo, depresión, irritabilidad y ataques cardiacos.

\* Para un adulto saludable con un peso de 70 Kg. [22]

#### IV.2.2 Ingesta Máxima Recomendada de Minerales (IMRM):

La ingesta máxima tolerable especifica el nivel máximo diario de consumo de minerales que es probable que no ponga un riesgo o produzca efectos adversos. Este consumo representa la ingesta total procedente de alimentos, aguas y suplementos [23].



La Ingesta Máxima Diaria Recomendada se aplica a individuos no a grupos, pudiéndosela utilizar en un sentido de “meta” de ingesta individual pero no debe ser utilizada para evaluar la adecuación de las dietas de grupo de individuos o para planificar dietas para grupos.

**Tabla IV.3** Dosis máximas tolerables de minerales

<b>Grupo por edad</b>	<b>Potasio(g/día)</b>	<b>Calcio (g/día)</b>	<b>Sodio (g/día)</b>	<b>Magnesio (mg/día)</b>
0-6 meses	ND	ND	ND	ND
7-12 meses	ND	ND	ND	ND
1-3 años	ND	2.5	1.5	6.5
4-8 años	ND*	2.5	1.9	110
9-13 años	ND*	2.5	2.2	350
14-18 años	ND*	2.5	2.3	350
19-50 años	ND*	2.5	2.3	350

**ND** No determinada debido a falta de datos en este grupo de edad. La fuente de estos minerales debería estar situada solo por alimentos, para impedir una ingesta excesiva. [24]

### IV.3 FRUTAS Y VEGETALES

En general, los alimentos de origen vegetal son especialmente ricos en agua, hidratos de carbono y fibra. Tienen poca grasa, (excepto algunos oleaginosos como las semillas de ciertas plantas de las que se extrae aceites) y carecen de colesterol. Aportan una cantidad moderada de proteína de menor calidad que la de origen animal, pero en absoluto menospreciable, y contienen prácticamente casi todos los minerales (aunque en el caso del hierro, éste sea de escasa biodisponibilidad) y las vitaminas hidrosolubles. Entre las liposolubles, las vitaminas E, K y los carotenos se encuentran en cantidades apreciables en algunos componentes de este grupo. Los alimentos de origen vegetal carecen de retinol y vitaminas B12 y D. [25]

#### IV.3.1 Frutas

La fruta es el conjunto de frutos comestibles que se obtienen de plantas cultivadas o silvestres, pero a diferencia de los otros alimentos vegetales (hortalizas y cereales), las frutas poseen un sabor y aroma intensos y presentan unas propiedades nutritivas diferentes.



La fruta además de ser el postre por excelencia y de aportar colorido y belleza a nuestra mesa, representa en nuestra alimentación un pilar del equilibrio dietético cuando se consume regularmente. [25]

#### **IV.3.1.1 Banano (*Musa Acuminata*)**

La palabra banano es un termino general que abarca un número de especies o híbridos del genero *Musa* de la familia *Musaceae*. La especie del banano que conocemos llegó a Canarias en el siglo XV y desde allí fue traída a América en el año 1516. [26]

El banano es una fruta rica en carbohidratos y fibra, especialmente de un tipo llamado “**FOS**” (fruto-oligosacáridos). Este tipo de carbohidratos no digerible apoya el crecimiento de bacterias beneficiosas en el colon. Los micronutrientes que más se encuentran en el banano son el potasio, el magnesio y el ácido fólico, cada uno de ellos con importantes funciones en nuestro organismo. Aparte, se encuentra en ellos unas sustancias llamadas taninos, que tienen interesantes propiedades con acción astringente. [26]

Al poseer los mencionados taninos, es una fruta recomendada para quienes sufren frecuentes episodios de diarrea. Los FOS son aliados en la regulación del tránsito intestinal, con un efecto protector frente al cáncer de colon al estimular el sistema inmunológico y favorecer el crecimiento de las bífidas bacterias.

Igualmente, su alto aporte de potasio y su baja cantidad de sodio lo convierten en un aliado de las personas que sufren de hipertensión arterial o enfermedades del corazón y vasos sanguíneos.

Su composición por 100 g de porción comestible es: agua 70 %, carbohidratos 27 %, proteínas 1.2 %, fibras 0.5 %, grasa 0.3 %, potasio 358 mg, calcio 5 mg, sodio 1 mg, magnesio 27 mg, fósforo 22 mg, hierro 0.3 mg, vitamina A 3 mcg, vitamina B<sub>6</sub> 0.4 mg, vitamina C 8.7 mg y niacina 0.7 mg. [27]





#### **IV.3.1.2 Sandía (*Citrullus lanatus*)**

La Sandía es originaria de África tropical. Se han encontrado vestigios, de los que se deduce, que ya existía en el antiguo Egipto. De ahí pasó a los países bañados por el Mediterráneo. Al Continente Americano llegó gracias a países Europeos, como España y Portugal.

Es una planta herbácea, que pertenece a la familia de las *Cucurbitáceas* y crece de la planta llamada Sandiera. Necesita climas cálidos o tropicales. Los países principales productores de sandías son: Turquía, Grecia, Italia, España, China y Japón. [28]

La sandía se puede decir que es la fruta que más cantidad de agua contiene (93%), por lo que su valor calórico es muy bajo, apenas 20 calorías por 100 gramos. Los niveles de vitaminas y sales minerales son poco relevantes, siendo el potasio y el magnesio los que más destacan, si bien en cantidades inferiores comparados con otras frutas. El color rosado de su pulpa se debe a la presencia del pigmento licopeno, sustancia con capacidad antioxidante.

Su composición por 100 gramos de porción comestible es: calorías 20.3, hidratos de carbono 4.5, fibra 0.3 g, potasio 112 mg, calcio 7 mg, sodio 1 mg, magnesio 10 mg, ácido fólico 3 mcg, Beta-caroteno (provitamina A) 18 mcg. [29]

#### **IV.3.1.3 Papaya (*Carica Papaya*)**

La papaya nativa de Centroamérica, posiblemente entre el sur de México y el norte de Nicaragua, pertenece a la familia de las *Caricáceas*. Es una fruta muy apreciada en toda Sudamérica donde se le conoce también con los nombres de papaw, fruta bomba, y fundamentalmente, lechosa.

La papaya es una fruta rica en fibra, calcio, fósforo, hierro, riboflavina, niacina y ácido ascórbico, málico y cítrico, agua, proteínas, materia grasa, hidratos de carbono, calorías, vitamina A, B<sub>3</sub>, C y D. Es rica en materia vegetal, goma, resina blanca, sales alcalinas con



preferencia potasa y sal combinada al ácido málico y algo de tanino y dos sustancias altamente curativas: la papaina y la papaverina. Por ser rica en papaina, en infusión, es diurética y ayuda al sistema digestivo.

La composición de la papaya por cada 100 g de porción comestible es: calorías 26.5 g, hidrato de carbono 6.3 g, fibras 1.9 g, potasio 257 mg, calcio 24 mg, sodio 3 mg, magnesio 10 mg, pro vitaminas 97.5 mdg, vitamina 82 mg y ácido fólico 1 mcg. [30]

### **IV.3.2 Vegetales**

Los **vegetales** son hortalizas cuya parte comestible son los órganos verdes de la planta, como los tallos, las hojas que bien crudas, conservadas o preparadas de diversas formas se utilizan directamente para el consumo humano.

Los vegetales son muy saludables, porque aportan muchos micronutrientes que actúan sinérgicamente como antioxidantes y protegen de varias enfermedades crónicas, tanto cardiovasculares, como del cáncer (cáncer de próstata, cáncer de colon) e igualmente ayudan a mantener la salud de tejidos como piel y mucosas del cuerpo. [31]

#### **IV.3.2.1 Cebolla (*Allium Cepa*)**

El origen primario de la cebolla se localiza en Asia central, y como centro secundario el Mediterráneo, pues se trata de una de las hortalizas de consumo más antigua. Cebolla es el nombre general de las hierbas del género *Allium* de la familia Liliaceae.

La cebolla es un alimento empleado principalmente como condimento por la presencia de un aceite volátil de olor y sabor característico. Esta constituida por sesquiterpenos, sulfuro de alilo y otros sulfuros, además posee sustancias péctidas, vitaminas, enzimas, lípidos, pigmentos, compuestos aromáticos y de sabor y un principio farmacológicamente activo Alicina y Ajojene.



Se reporta que contiene azúcares constituidos por glucosa, fructosa, almidón y destrina, la arginina, ácido aspártico, esparraguina, histidina, leucina, metionina, fenil alanina, prolina, serina treonina, triptófano y valina contiene vitaminas, ácido ascórbico, vitamina A, tiamina, riboflavina niacina y biotina. Se ha reportado que los pigmentos en la misma son el carotenoides  $\alpha$  y  $\beta$ -carotenos, xantofilas, antocianinos y clorofilos y que existe en su composición una ligera cantidad de ceniza total y de ceniza insoluble, así como la presencia de varios minerales y elementos de trazas: sodio, cobre, hierro, cadmio, cobalto, níquel, calcio, fósforo, azufre, magnesio, zinc, vanadio, molibdeno, titanio, cerio, litio y selenio. [32]

La composición de la cebolla por cada 100 g de porción comestible es: energía 3 Kcal., agua 89 %, glúcidos 7.1 %, lípidos 0.2 %, proteínas 1.3 %, fibras 2.1 %, potasio 119 mg, calcio 20 mg, sodio 8 mg, magnesio 9 mg, hierro 0.3 mg, vitamina C 7 mg, vitamina B<sub>1</sub> 0.06 mg, vitamina B<sub>3</sub> 0.3 mg, vitamina B<sub>6</sub> 0.14 mg, vitamina B<sub>9</sub> 0.02 mg y de vitamina E 0.14 mg.

#### **IV.3.2.2 Chiltomo (*Capsicum annuum*)**

El chiltomo es nativo de América, es cultivado casi exclusivamente en Europa y Estados Unidos. El chiltomo pertenece al genero *Capsicum* de la familia Solanaceae. Es llamado chiltomo, Chiltoma o chile dulce, según la región. [33]

El principal componente del pimiento verde es al agua seguido de los hidratos de carbono, lo que hace que sea una verdura de bajo aporte calórico. Es buena fuente de fibra que mejora el tránsito intestinal, además de poseer un efecto saciante. Al igual que el resto de verduras, su contenido proteico es muy bajo y apenas aporta grasas.

Entre los minerales cabe destacar la presencia de potasio, estando presentes en menor proporción el magnesio, el fósforo y el calcio. [34]



La composición de la chiltoma por cada 100 g de porción comestible es: energía 19.3 Kcal, agua 92 g, proteínas 0.9 g, potasio 175 mg, calcio 10 mg, sodio 3 mg, magnesio 10 mg, fósforo 25 mg, hidratos de carbono 3.7 g, fibras 1.4 g, vitamina C 131 mg, vitamina A 67.5 mcg y de vitamina E 0.8 mg.

#### **IV.3.2.3 Tomate (*Lycopersicum Esculentum*)**

El tomate es el fruto de la tomatera, planta de origen sudamericano. El tomate pertenece al genero *Lycopersicum* de la familia *Solanaceae*.

Es una fuente de potasio, fósforo y magnesio necesarios para la actividad normal de nervios y músculos, nos aportan importantes cantidades de vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>5</sub>, E y, sobre todo, C y A, β-caroteno o pro-vitamina A. [35]

La composición del tomate por cada 100 g de porción comestible es: agua 94 %, hidratos carbono 3 %, proteínas 1 %, lípidos 0.3 %, potasio 212 mg, calcio 5 mg, sodio 42 mg, magnesio 8 mg, hierro 0.6 mg, fósforo 24 mg, vitamina C 26 mg, vitamina A 207 mg, tiamina 0.06 mg, riboflavina 0.04 mg y por ultimo niacina 28 microgramos.

### **IV.4 TRATAMIENTO DE DATOS**

#### **IV.4.1 Regresión Lineal Simple**

En regresión lineal simple, los modelos se suelen utilizar en el modo de "retroceso". Se hacen predicciones de la variable independiente  $x$  (la concentración) a partir de valores conocidos de la variable dependiente  $y$  (la señal instrumental). Matemáticamente este modelo se representa por la siguiente ecuación: [36]

$$y = a + b X \quad (IV.12)$$

donde, **a** es la ordenada en el origen o intercepto poblacional; **b** es la pendiente poblacional del modelo y **x** es la variable independiente (la concentración) a partir de valores conocidos.



#### IV.4.1.1 Coeficiente de determinación ( $r^2$ )

El coeficiente de determinación es el indicador de la bondad del ajuste en la regresión lineal. Se puede definir como la proporción de la variación de la variable dependiente explicada por el modelo de regresión. Toma valores de 1 para un ajuste perfecto y 0 para un ajuste nulo, en química analítica es aceptable un  $r^2 \geq 0.995$  [36]

$$r^2 = \frac{\Sigma(\hat{y} - \bar{y})^2}{\Sigma(y_i - \bar{y})^2} = \frac{SC_{exp}}{SC_T} \quad (IV.13)$$

#### IV.4.2 Límite de detección (LD)

El límite de detección relativo, LD, es la mínima concentración de analito que proporciona una señal,  $y_c$ , significativamente distinta de la medida de las señales del blanco,  $\bar{y}_b$ , por tanto  $y_c$  es el valor crítico de la hipótesis nula  $H_0: y = \bar{y}_b$  (prueba de un lado). Si la señal aumenta con la concentración del analito (como sucede en la mayoría de los métodos analíticos), la hipótesis alternativa es  $H_1: y > \bar{y}_b$ . Aceptar  $H_0$  equivale afirmar que no se ha detectado analito, y se dice que el resultado es negativo. Por el contrario rechazar  $H_0$  es afirmar que la muestra contiene analito a una concentración superior al LD, y se dice que el resultado es positivo.

Durante años se ha utilizado, y se sigue utilizando, el “criterio 3s” (IUPAC, 1978), según el cual, el LD es la concentración de analito que proporciona una señal neta igual a tres veces la desviación estándar del blanco,  $S_B$ . Sin embargo, a partir de la recta de regresión se puede determinar el límite de detección usando la siguiente expresión: [36]

$$LD = \frac{3S_a}{b} \quad (IV.14)$$

donde  $b$  la pendiente de la curva de calibración y  $3S_a$  es tres veces la desviación estándar del intercepto. [37]



#### IV.4.3 Límite de cuantificación (LQ)

Corresponde a la cantidad o concentración del analito a partir de la cual es confiable realizar determinaciones cuantitativas y se define como aquella concentración de analito que produce una señal 10 veces la desviación estándar del intercepto entre la pendiente. [37]

$$LQ = \frac{10 S_a}{b} \quad (IV.15)$$

#### IV.4.4 Límites de Confianza

Los resultados de los cationes, cuantificado mediante la técnica de Electroforesis Capilar fueron calculados sobre la base de análisis de regresión. A cada resultado del parámetro objeto de este estudio, le fue calculado el error de medida mediante el denominado intervalo de confianza. En el caso del parámetro determinado por recta de regresión la ecuación de cálculo utilizada fue:

$$X_1 \pm \frac{t_{(0.05, (n+m-3))} S_1}{m} \quad (IV.16)$$

donde  $X_1$  es el valor del porcentaje de analito,  $t$  es la  $t$  de student a 95% de confianza y  $m+n-3$  grados de libertad y  $S_1$  es la desviación estándar de la predicción que se calcula mediante la siguiente formula:

$$S_1 = \sqrt{\frac{S_e^2}{b_1^2} \left[ \frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(Y_i - \bar{Y})^2}{b_1^2 \sum (X_i - \bar{X})^2} \right]} \quad (IV.17)$$

donde  $S_e^2$  es la varianza de los residuos,  $b_1^2$  es la pendiente al cuadrado de la recta,  $m$  son las lecturas de la muestra,  $n$  son los puntos de la recta de regresión,  $X_i$  las concentraciones de la recta de regresión.  $S_e^2$  se calcula como:

$$S_e^2 = \frac{\sum (Y_i - \bar{Y})^2}{n-2} \quad (IV.18)$$

donde  $\bar{Y}$  es la predicción de las lecturas de la recta de regresión. [36]



## **V. METODOLOGÍA**

### **V.1 EQUIPOS**

Balanza analítica (Ohaus)

Horno de convección (Thelco)

Horno Mufla (Heraeus)

Campana extractora de gases (Labconco.)

Refrigeradora (Cetron)

Agitador Magnético (Selecta)

pH-metro (Mettler Toledo)

Electroforesis Capilar (Agilent) (ver fig. X.1 en anexos)

Ultrasonido (Branson)

Procesador de alimentos (Toastermaster)

### **V.2 MATERIALES**

Desecador de vidrio (Pyrex)

Cápsulas de porcelana (Fisherbrand)

Pinzas de cápsulas de porcelana (Fisherbrand)

Vidrio reloj 6 in de diámetro (Pyrex)

Embudo de espiga, de 150 mm de espiga, 60° (Pyrex)

Brazo soporte de embudo (Fisher)

Barras magnéticas, 25.4 mm (Fisher)

Soporte universal (Fisher)

Clanes (Kimax)

Balones aforados de 1000, 500, 250, 100, 50 y 10 mL (Pyrex)

Beaker de 600, 250, 100, 50 y 10 mL (Pyrex)

Matraces erlenmeyer de 250 mL (Pyrex)

Probeta de 100 y 50 mL (Pyrex)

Espátula (Fisher Scientific)

Pizeta de 500 mL (Fisher Scientific)



Termómetro enviro-safe 200° C (VWR)  
Jeringas descartable de 5 mL y 3 mL (Napro)  
Filtros de jeringa membrana de nylon 0.20 µm (Fisher)  
Viales 1 mL (Agilent)  
Frascos plásticos de 125 mL  
Frascos de vidrio de 60 mL  
Papel filtro N°5 (Whatman)

### V.3 REACTIVOS

Ácido clorhídrico, 37.5% (Merck, Darmstadt, Alemania)  
Hidróxido de Sodio, 97% (Fisher, New Jersey, USA)  
Acido nítrico, 69% (Fisher Chemical, New Jersey, USA)  
Acido sulfúrico, 96% (Merck, Darmstadt, Alemania)  
Imidazol, 99% (Merck, Darmstadt, Alemania)  
Ácido láctico, 85% (Mallinckrodt Chemicals, New Jersey, USA)  
Éter 18-corona-6, 99% (Acrös Organics, New Jersey, USA)  
Cloruro de sodio, 99% (Merck, Darmstadt, Alemania)  
Cloruro de calcio, 98% (Merck, Darmstadt, Alemania)  
Cloruro de potasio, 99% (Fisher, New Jersey, USA)  
Cloruro de magnesio hexahidratado, 99.9% (Merck, Darmstadt, Alemania)  
Dicromato de Potasio, 100% (Fisher, New Jersey, USA)  
Acido Acético glacial, 100% (Merck, Darmstadt, Alemania)  
Metanol, 99.9% (Fisher, New Jersey, USA)  
Etanol, 95% (Merck, Darmstadt, Alemania)  
Ioduro de Dimetildifenilfosfonio, 98% (Aldrich, USA)  
Ácido  $\alpha$ -hidroxiisobutírico, 98% (Acrös, New Jersey, USA)  
Agua desionizada  
Agua destilada





## **V.4 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES**

### **V 4.1 Solución Sulfocrómica**

Pesar 10 g de dicromato de potasio en un beaker de 250 mL. Diluir con 100 mL de agua destilada para disolver, al calor el dicromato de potasio. Enfriar, pasar la solución a un beaker de 1500 mL y agregar lentamente, con agitación continua, 1000 mL de ácido sulfúrico comercial.

### **V 4.2 Agua regia**

Preparar 1 L a partir de ácido clorhídrico (HCl) y ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrados en relación 3:1.

### **V 4.3 Ácido Acético 1 M**

Agregar 14.3 mL de ácido acético glacial en un matraz aforado de 250 mL que contiene un poco de agua desionizada, agitar y aforar con agua desionizada.

### **V.4.4 Tampón para Cationes (10 mM imidazol, 5 mM ácido láctico, 0.5 mM éter 18-corona-6, pH 4.5)**

Disolver con aproximadamente 800 mL de agua desionizada 0.6876 g de imidazol, 0.1334 g de éter 18-corona-6 y 0.65 mL de ácido láctico, ajustar el pH a 4.5 con ácido acético 1 M y llevar a volumen de 1000 mL.

### **V.4.5 Hidróxido de sodio 1 M**

Disolver 10.31 g de hidróxido de sodio en 250 mL de agua desionizada.

### **V.4.6 Hidróxido de dimetildifenilfosfonio 25 mM**

Disolver 2.14 g de ioduro de dimetildifenilfosfonio en 250 mL de agua desionizada. Ultrasonificar hasta completa disolución. Pasar la solución de ioduro de dimetildifenilfosfonio por una resina Amberlite IRN 78 previamente acondicionada con hidróxido de sodio 1M y lavada con agua desionizada hasta pH menor de 7.



#### **V.4.7 Éter 18-corona-6 40 mM**

Disolver 0.5285g de éter 18-corona-6 en 50 mL disolver agua desionizada.

#### **V.4.8 Ácido $\alpha$ -hidroxiisobutírico 100 mM**

Disolver 0.52 g de ácido  $\alpha$ -hidroxiisobutírico en 50 mL agua desionizada.

#### **V.4.9 Solución Tampón para cationes (5 mM hidróxido de dimetildifenilfosfonio, 2 mM éter 18-corona-6, 6 mM ácido $\alpha$ -hidroxiisobutírico)**

En un matraz volumétrico de 100 mL agregar 20 mL de Hidróxido de dimetildifenilfosfonio 25 mM, 5 mL éter 18-corona-6 40 mM y 6 mL ácido  $\alpha$ -hidroxiisobutírico 100 mM. Aforar a volumen con agua desionizada. El pH deberá ser  $4.5 \pm 0.1$ .

#### **V.4.10 Solución de Magnesio ( $Mg^{2+}$ ) 1000 ppm**

Disolver 0.8451 g de  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  en 100 mL de agua desionizada.

#### **V.4.11 Solución de Calcio ( $Ca^{2+}$ ) 1000ppm**

Disolver 0.2825 g de  $CaCl_2$  en 100 mL de agua desionizada.

#### **V.4.12 Solución de Potasio ( $K^+$ ) 1000ppm**

Disolver 0.1927 g de KCl en 100mL de agua desionizada.

#### **V.4.13 Solución de Sodio ( $Na^+$ ) 1000ppm**

Disolver 0.2569 g de NaCl en 100mL de agua desionizada.

#### **V.4.14 Mezcla de cationes**

Medir 0.1 mL de soluciones de  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$  y  $Mg^{2+}$  de 1000 ppm llevar a matraz de 100 mL, la solución resultante tiene concentración de 1 ppm.

Medir 0.5 mL de soluciones de  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$  y  $Mg^{2+}$  de 1000 ppm llevar a matraz de 100 mL, la solución resultante tiene concentración de 5 ppm.

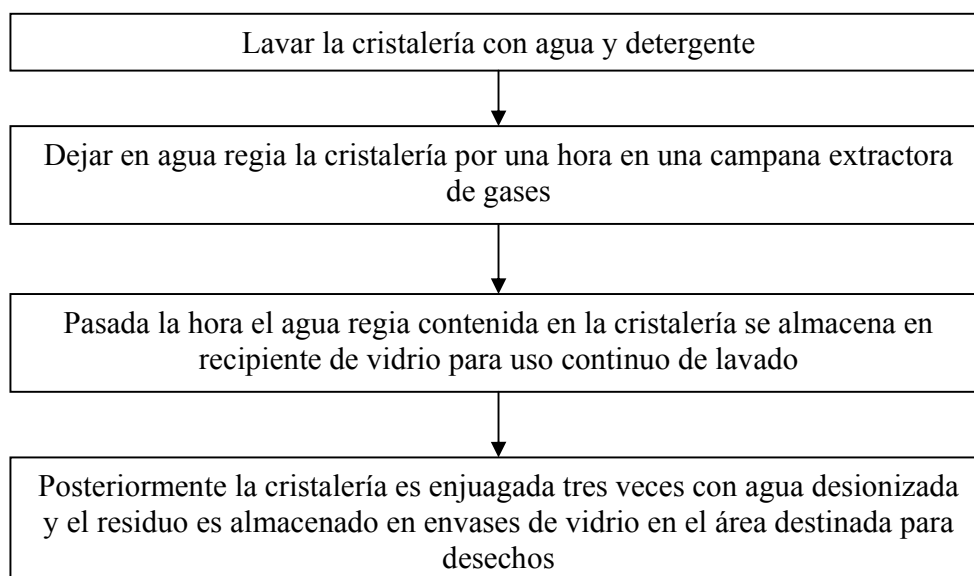


Medir 1 mL de soluciones de  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$  y  $Mg^{2+}$  de 1000 ppm llevar a matraz de 100 mL, la solución resultante tiene concentración de 10 ppm.

Medir 1.5 mL de soluciones de  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$  y  $Mg^{2+}$  de 1000 ppm llevar a matraz de 100 mL, la solución resultante tiene concentración de 15 ppm.

Medir 2 mL de soluciones de  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$  y  $Mg^{2+}$  de 1000 ppm llevar a matraz de 100 mL, la solución resultante tiene concentración de 20 ppm.

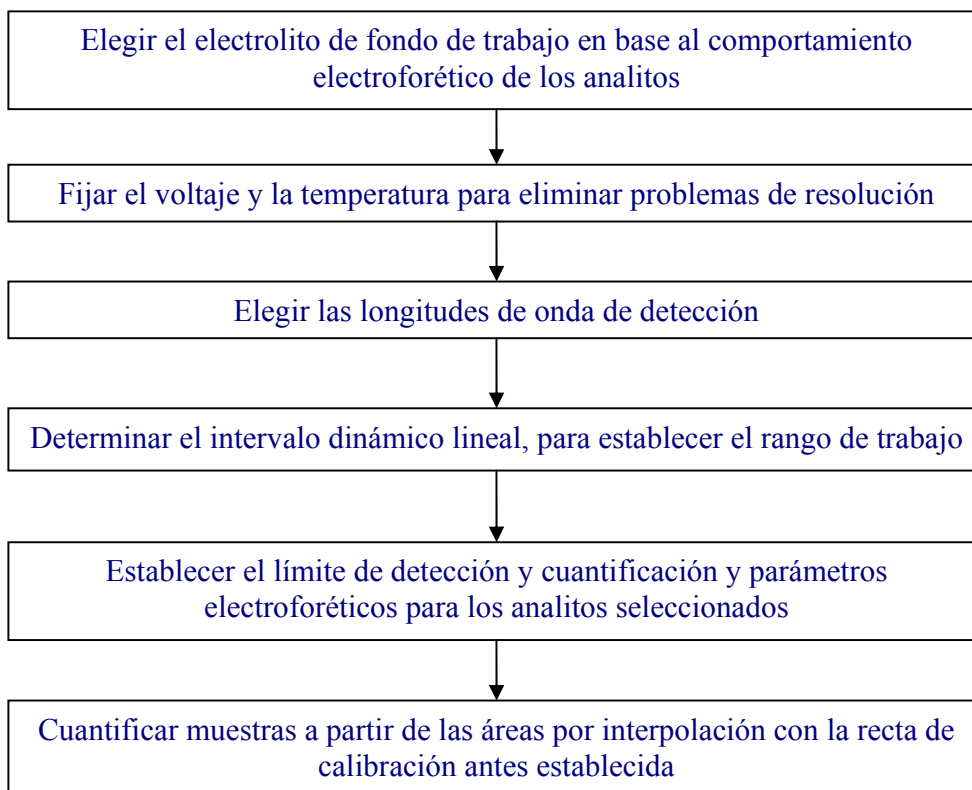
#### V.5 LAVADO DE CRISTALERÍA





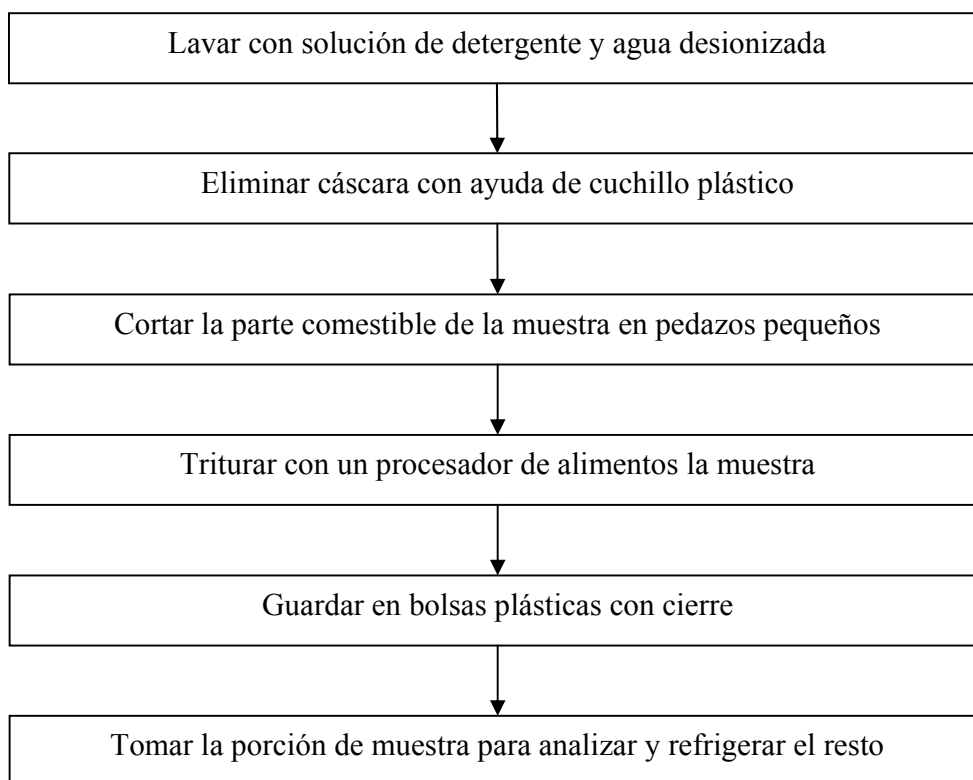
## V.6 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Durante el trabajo experimental de esta monografía se utilizó el modo de separación Electroforesis Capilar en Zona, para el cual se siguió el siguiente esquema de trabajo:





### V.6.1 Pretratamiento de las muestras



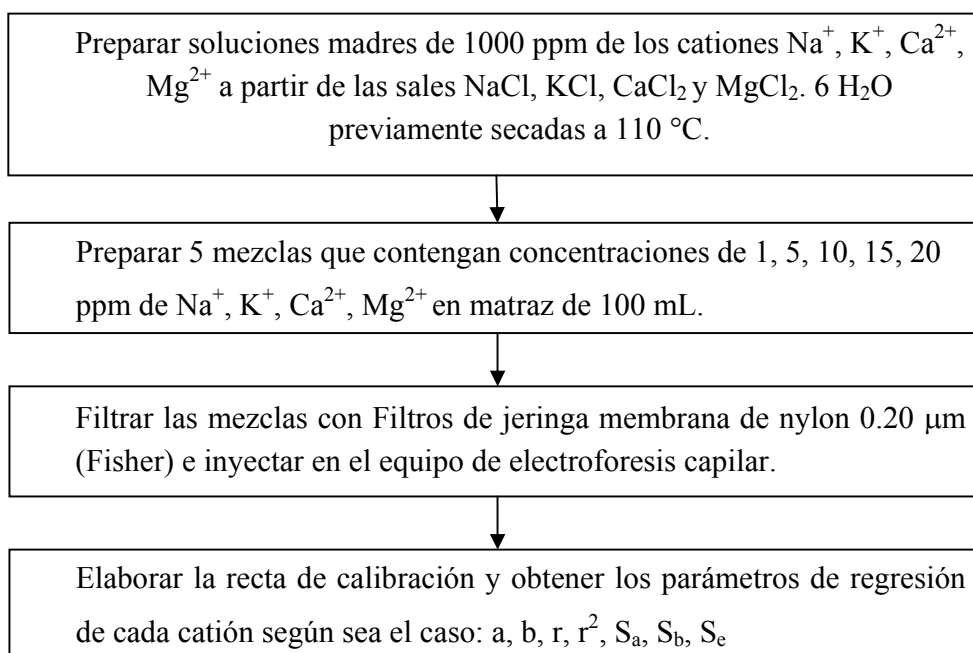
**Tabla V.1** Condiciones Electroforéticas para Cationes

<b>Equipo</b>	Electroforesis Capilar AGILENT G 1600 AX
<b>Tampón</b>	10 mM Imidazol, 0.5 mM éter 18-corona-6, 5 mM ácido láctico a pH 4.5.
<b>Temperatura</b>	20 °C
<b>Voltaje</b>	20 kV
<b>Inyección</b>	300 mbar
<b>Detección</b>	Señal 240/10, referencia 210/10 nm
<b>Capilar</b>	147 cm, L 55.5 cm, id 75 µm, Sílice fundida.



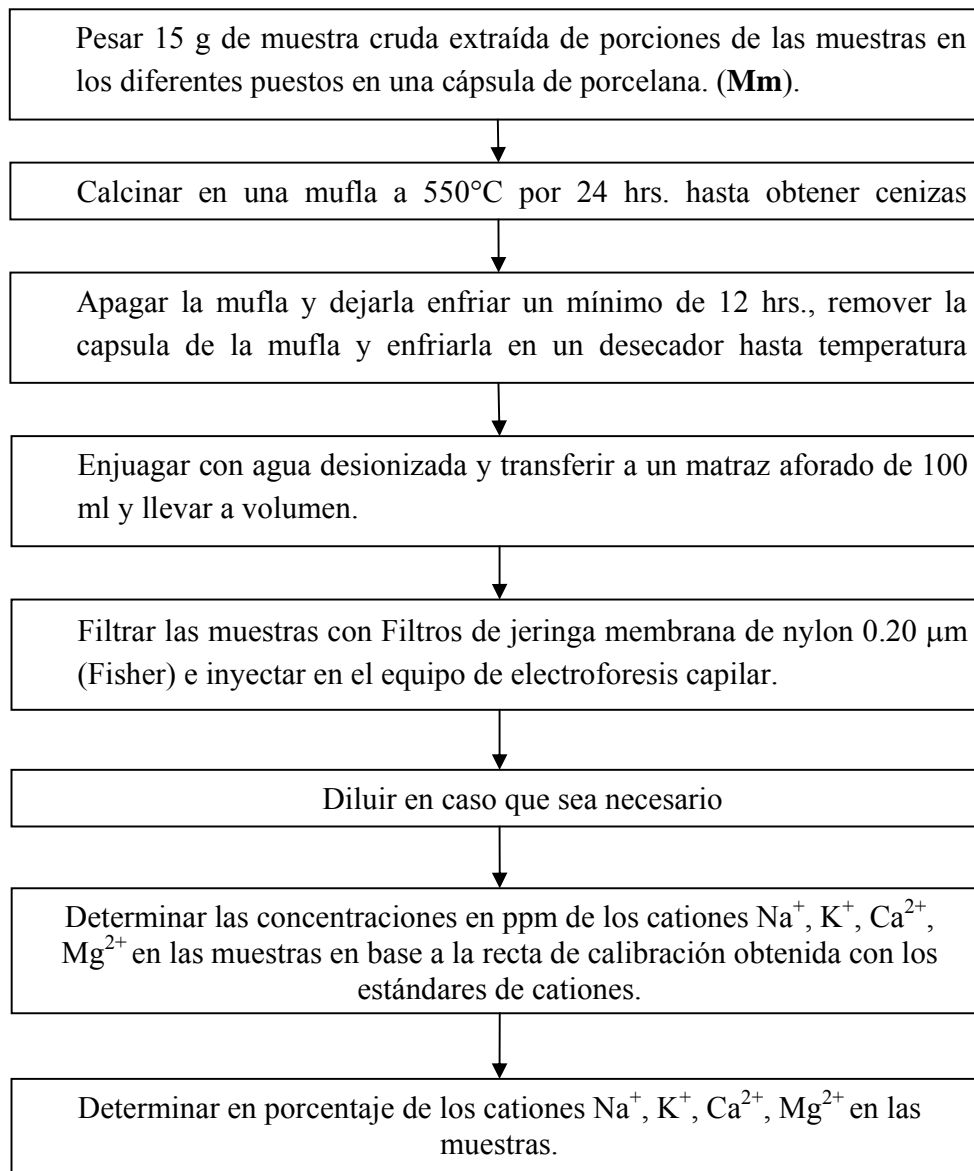
## V.6.2 Determinación de $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ , $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$

### Estándares





**Muestra:**



Cálculo para determinar los mg de los cationes K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>

$$\text{mg Cation}/100 \text{ g de muestra} = \frac{(C * FD)}{(Mm * 10)} \quad (V.1)$$

donde c es la concentración en ppm de cada catión en la muestra, FD el Factor de dilución, Mm la Masa en (g) de la muestra y 10 el Factor para pasar de 1000 mL a 100 g



## **VI. ANÁLISIS DE RESULTADOS**

### **VI.1 SELECCIÓN DE FRUTAS Y VEGETALES**

En el marco teórico se estableció que las frutas y vegetales son importantes para el buen funcionamiento del organismo humano, de ahí que la selección de las frutas y vegetales ha de ser tomadas en cuenta en la realización de este trabajo es un aspecto determinante de la validez de la investigación. En este sentido se tomó como referencia la última encuesta de consumo realizada en el país. En dicha publicación se estableció que la cebolla, tomate y chiltomo son consumidos por más del 90% de los hogares urbanos y que las frutas tropicales son consumidas en el 42 % de las unidades encuestadas, en la tabla X.I de los anexos se presentan los resultados obtenidos en la Encuesta del MAGFOR.

Debido a que los resultados son para el área urbana, se decidió tomar como población para el muestreo el Mercado Central de la ciudad de León, por su ubicación en la metrópolis. Para lo cual se hizo un conteo de los puestos de verduras y frutas ubicados en el área interna del mercado. El conteo se realizó en base a las frutas y vegetales seleccionados, en la tabla X.II de anexos se presentan la cantidad de puestos por fruta y vegetal, los puestos muestreados y muestras recolectadas.

El criterio de selección de las frutas se hizo en base a las frutas disponibles en la época seca del año, que fue el período en que se realizó el análisis, encontrándose mayor disponibilidad de banano, sandía y papaya.

La muestra a ser analizada correspondió al 20% de las unidades determinadas a través del conteo. La selección del porcentaje de muestra se determinó según lo recomendado por Paula Lagares [38] lo que representa el 95% de confianza. Los puestos fueron escogidos aleatoriamente.

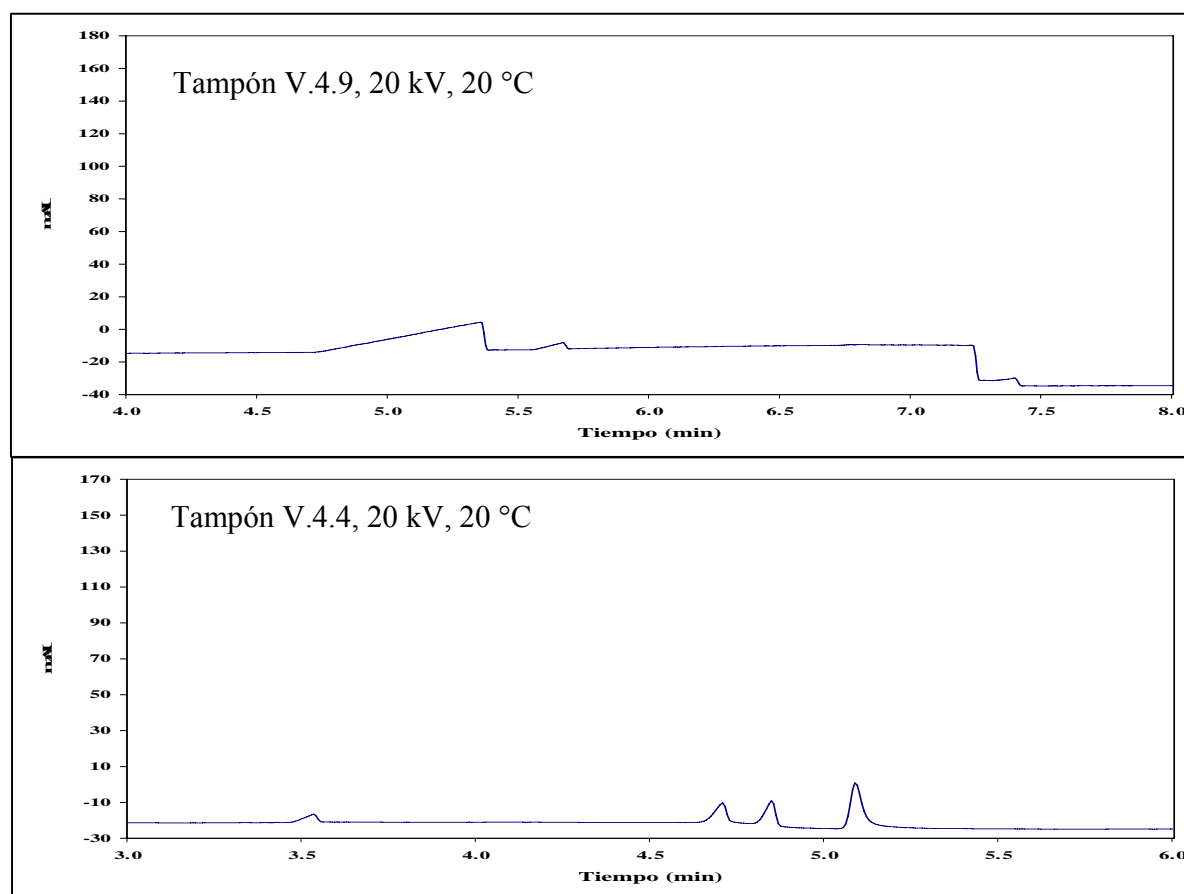




## VI.2 SELECCIÓN DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN

### VI.2.1 Efecto del Tampón, temperatura, voltaje y detección

Los tampones electroforéticos (V.4.4 y V.4.9) para la determinación de los cuatro cationes fueron estudiados en diferentes condiciones (voltaje y temperatura) a partir de lo recomendado por el fabricante del equipo y Warren [5,8]. En la Fig. VI.1 se muestran los electroferogramas en distintas condiciones electroforéticas, obteniéndose mejor resolución, tiempo de análisis, área de picos usando las siguientes condiciones electroforéticas: tampón 10 mM Imidazol, 0.5 mM éter 18-corona-6, 5 mM ácido láctico a pH 4.5; capilar de sílice fundida de 47 cm de longitud efectiva, 55.5 cm de longitud total y 75  $\mu\text{m}$  de diámetro interno; temperatura 20  $^{\circ}\text{C}$ ; voltaje 20 kV; inyección 300 mbar; y detección a 240/10 nm con referencia 210/10 nm.

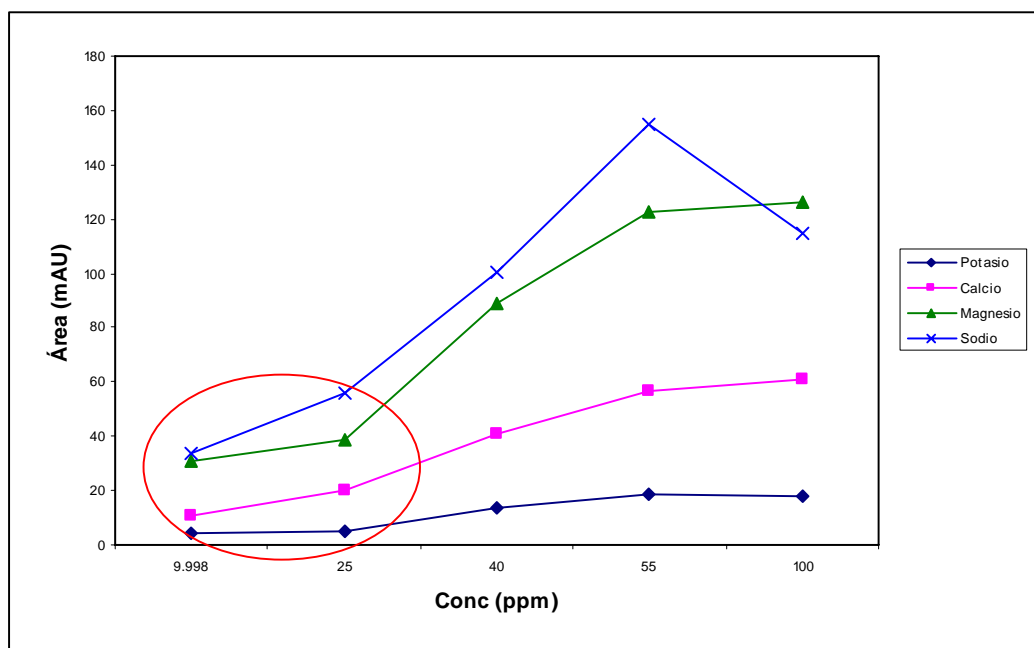


**Fig. VI.1** Electroferogramas de cationes en condiciones electroforéticas



### VI.2.2 Intervalo dinámico lineal

En la condiciones electroforéticas establecidas arriba se elaboró el gráfico de la concentración de cada uno de los cationes versus el área de pico (Fig. VI.2).



**Figura VI.2** Rango dinámico lineal de los cationes Potasio, Calcio, Sodio, Magnesio

A partir de la Fig. VI.2 se puede establecer el rango de concentraciones para las cuales el comportamiento de los cuatros cationes se ajusta al modelo lineal de regresión, que no es el único que existe, pero si el más usado por su facilidad para la cuantificación por interpolación con la ecuación de la recta de regresión lineal simple. En este sentido, se decidió trabajar con concentraciones menores de 25 ppm para los cuatro analitos ha ser determinados en este trabajo.

En la tabla VI.1 se presentan las concentraciones y áreas promedio de las réplicas de las inyecciones realizadas de la mezcla de cationes para la determinación del rango de trabajo, las áreas de las réplicas se presentan en la tabla X.3 de anexos.

**Tabla VI.1** Concentraciones y áreas promedio de los cationes para el rango lineal

Conc. (ppm)	Catión	Área promedio
10	Potasio	4.0
	Calcio	10.6
	Sodio	33.4
	Magnesio	30.7
25	Potasio	5.0
	Calcio	19.8
	Sodio	55.8
	Magnesio	39.0
40	Potasio	13.5
	Calcio	40.7
	Sodio	100.1
	Magnesio	88.8
55	Potasio	18.5
	Calcio	56.9
	Sodio	155.0
	Magnesio	122.7
100	Potasio	18.2
	Calcio	61.1
	Sodio	114.4
	Magnesio	126.1

### VI.3 PARÁMETROS ELECTROFORÉTICOS

En las condiciones de trabajo seleccionadas para la determinación de los cationes y a partir de los datos obtenidos de los electroferogramas de los estándares de potasio, calcio, sodio y magnesio, se procedió a calcular usando las ecuaciones presentadas en el marco teórico los parámetros electroforéticos: velocidad del ion, movilidad aparente, número de platos teóricos y resolución.

Los parámetros electroforéticos así determinados (ver tabla VI.2) aportaran evidencia del comportamiento de los analitos y la eficacia y resolución del capilar, es decir demostraran la idoneidad de las condiciones electroforéticas seleccionadas para la cuantificación de potasio, calcio sodio y magnesio. En la tabla X.4 de anexos se presentan los datos usados para calcular los parámetros electroforéticos.

**Tabla VI.2** Parámetros Electroforéticos de los cationes analizados

Parámetro	Potasio	Calcio	Sodio	Magnesio
Tiempo de Migración (min)	3.394	4.686	4.854	5.127
Velocidad del ion (cm/s)	0.231	0.167	0.161	0.153
Movilidad aparente (cm <sup>2</sup> /Vs)	6.40 x 10 <sup>-4</sup>	4.64 x 10 <sup>-4</sup>	4.48 x 10 <sup>-4</sup>	4.24 x 10 <sup>-4</sup>
Nº de platos teóricos	18969	54748	64455	184824
Resolución	-----	14.45	2.13	4.39

Los tres primeros parámetros electroforéticos, tiempo de migración, movilidad aparente o total y velocidad de cada catión están íntimamente relacionados. La velocidad del ion es directamente proporcional a la movilidad aparente, pero inversamente proporcional al tiempo de migración. Por consiguiente, el orden de migración de los cationes estudiados corresponde a los valores de los parámetros electroforéticos calculados.

El número de platos teóricos indica la eficacia del capilar, en este sentido los valores obtenidos son mayores de  $1 \times 10^4$ , es decir que se tuvo buena eficacia para la determinación de los cuatro cationes. En cuanto a la resolución se puede observar claramente que esta fue buena, pues se lograron separar los cuatro cationes en un tiempo de análisis corto.

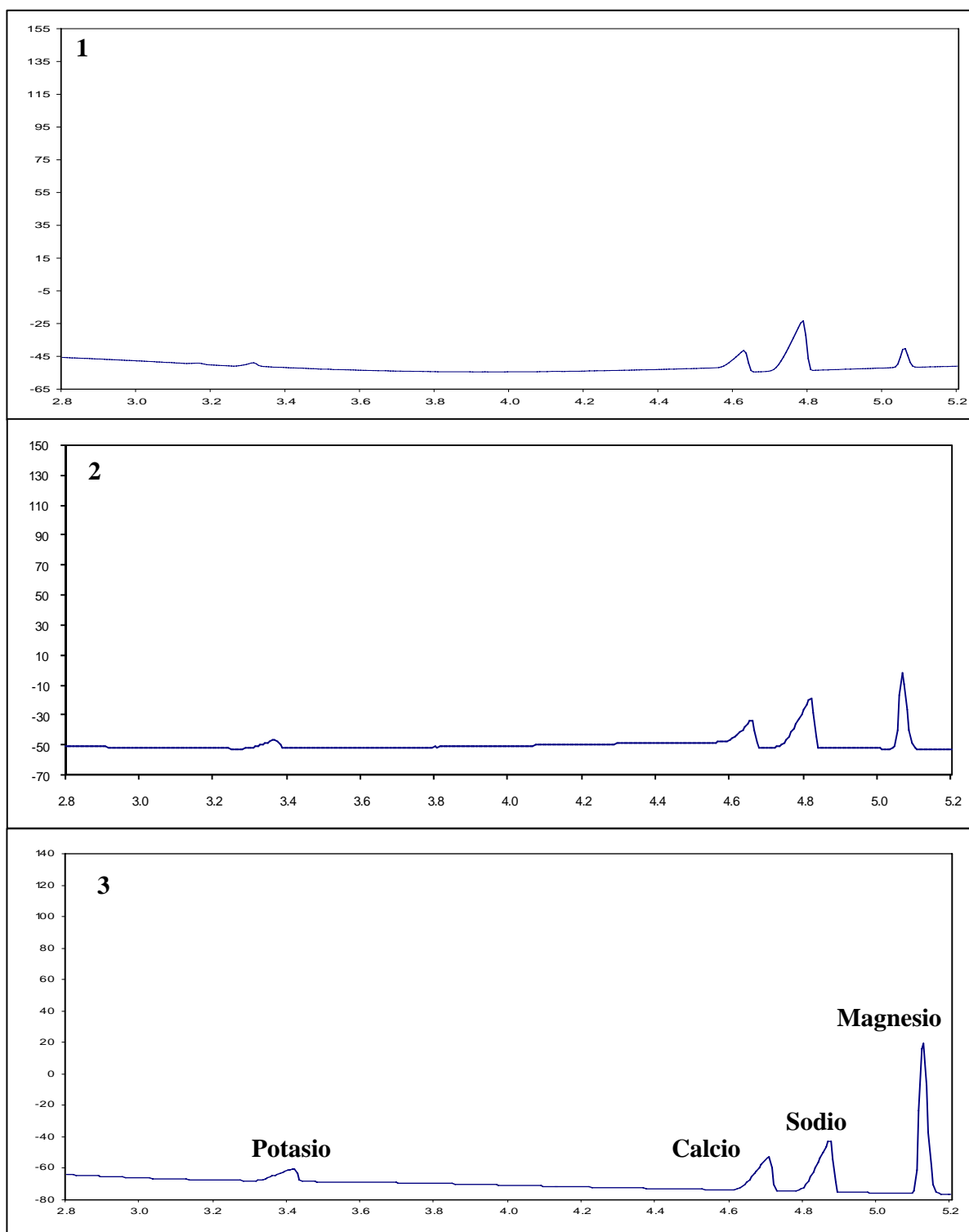
#### VI.4 CATIONES EN FRUTAS Y VEGETALES

Con el fin de cuantificar los cuatro cationes en las muestras de frutas y vegetales se elaboró una recta de calibrado con cinco niveles de concentración que se inyectaron por triplicado, en la Tabla VI.3 se presentan las concentraciones usadas y las áreas promedio (ver tabla X.5 en anexos para áreas de las réplicas), a los cuales se aplicó análisis de regresión lineal simple con el fin de obtener los parámetros necesarios para cuantificar los analitos presentes en las muestras.

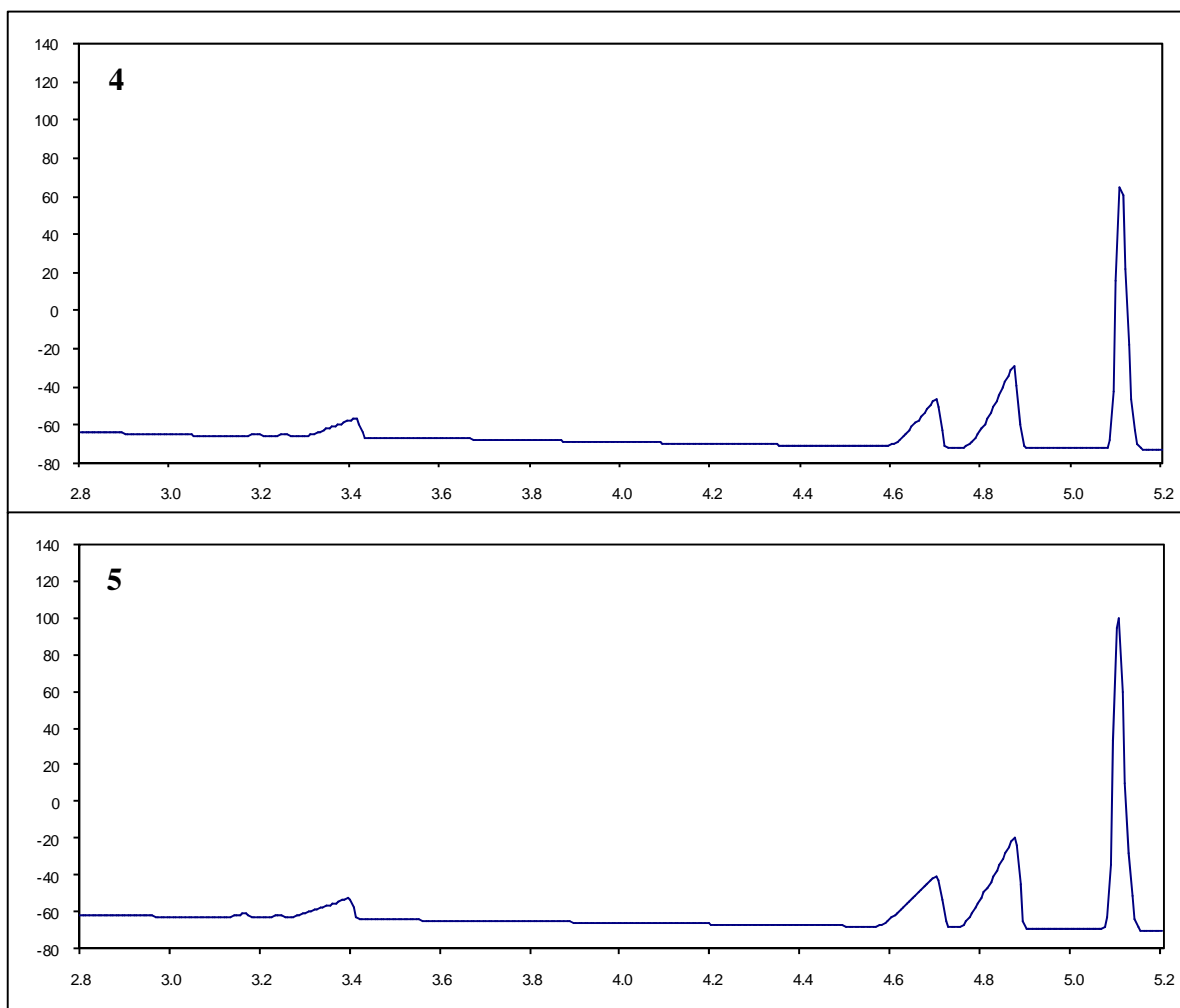
**Tabla VI.3** Concentración (ppm) de los estándares de cationes estudiados y áreas promedio

<b>Nivel</b>	<b>Catión</b>	<b>Concentración (ppm)</b>	<b>Área promedio</b>
<b>1</b>	Potasio	0.9997	2.50
	Calcio	0.9997	7.12
	Sodio	0.9999	10.93
	Magnesio	1.0091	17.23
<b>2</b>	Potasio	4.9988	13.83
	Calcio	4.9987	27.30
	Sodio	4.9997	41.90
	Magnesio	5.0453	81.20
<b>3</b>	Potasio	9.9970	26.07
	Calcio	9.9974	57.79
	Sodio	9.9993	88.80
	Magnesio	10.0906	161.90
<b>4</b>	Potasio	14.9966	37.85
	Calcio	14.9961	84.10
	Sodio	14.9990	124.68
	Magnesio	15.1359	239.47
<b>5</b>	Potasio	19.9954	50.72
	Calcio	19.9948	109.60
	Sodio	19.9986	166.68
	Magnesio	20.1812	318.27

En la Fig. VI.3 se muestran los electroferogramas de las mezclas de los cationes para los cinco niveles de concentración, usándose como criterio de identificación los tiempos de migración.

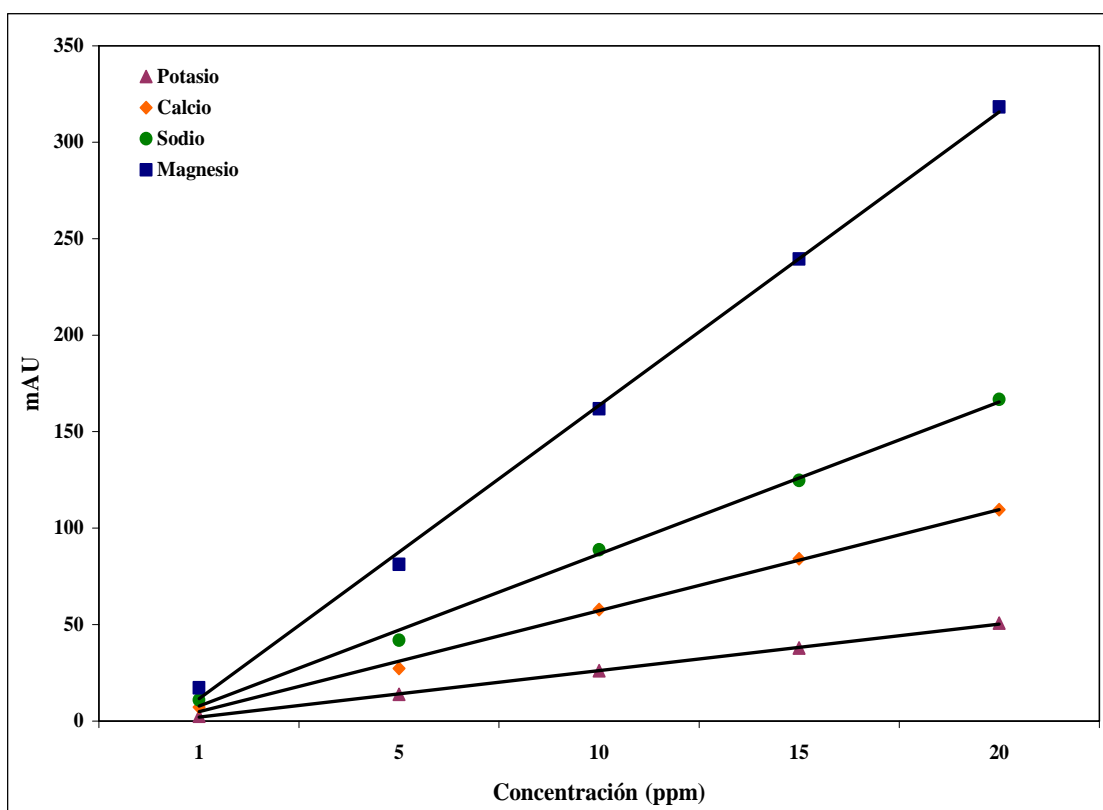


**Figura VI.3** Electroferogramas de las mezclas de estándares de los cationes: Potasio, Calcio, Sodio y Magnesio, **1.** 1 ppm, **2.** 5 ppm, **3.** 10 ppm, **4.** 15 ppm y **5.** 20 ppm



**Figura VI.3** (Continuación)

En la figura VI.4 se muestran las rectas de calibrado para los cationes, potasio, calcio, sodio y magnesio elaboradas por análisis de regresión realizado en MS<sup>®</sup> Excel, de donde se obtuvieron los parámetros de ajustes mostrados en la tabla V.4. En esta se puede observar que el ajuste de las rectas fue excelente, siendo el  $r^2$  en todos los casos mayores o cercanos al 0.995. Estos valores nos indican la bondad del ajuste de las rectas, razón por la cual podemos utilizarlas para la determinación de la concentración de los cuatros cationes presentes en las muestras de frutas y vegetales estudiados.



**Fig. VI.4** Rectas de calibrado de los cationes

**Tabla VI.4** Parámetros de ajustes de las rectas de regresión de los cationes estudiados

Cationes	a	S <sub>a</sub>	b	S <sub>b</sub>	r <sup>2</sup>	S <sub>e</sub>
Potasio	0.6273	0.4969	2.5073	0.0406	0.9992	0.6160
Calcio	1.5520	1.2179	5.4554	0.0994	0.9990	1.5097
Sodio	2.8190	2.1193	8.2144	0.1729	0.9987	2.6271
Magnesio	2.0718	0.7941	15.6952	0.0642	0.9999	0.9844

a: Intercepto, S<sub>a</sub>: Desviación estándar del intercepto, b: Pendiente, S<sub>b</sub>: Desviación estándar de la pendiente, r<sup>2</sup>: Coeficiente de determinación, S<sub>e</sub>: Desviación estándar de los residuos

Sustituyendo los valores adecuados en las ecuaciones IV.14 y IV.15 se calcularon el límite de detección y el límite de cuantificación teórico de cada catión para las condiciones electroforéticas seleccionadas. Sin embargo, estos valores fueron corroborados usando el criterio de la IUPAC, obteniéndose así límites de detección y cuantificación experimentales más bajos que los calculados usando las ecuaciones antes indicadas (ver Tabla VI.5).

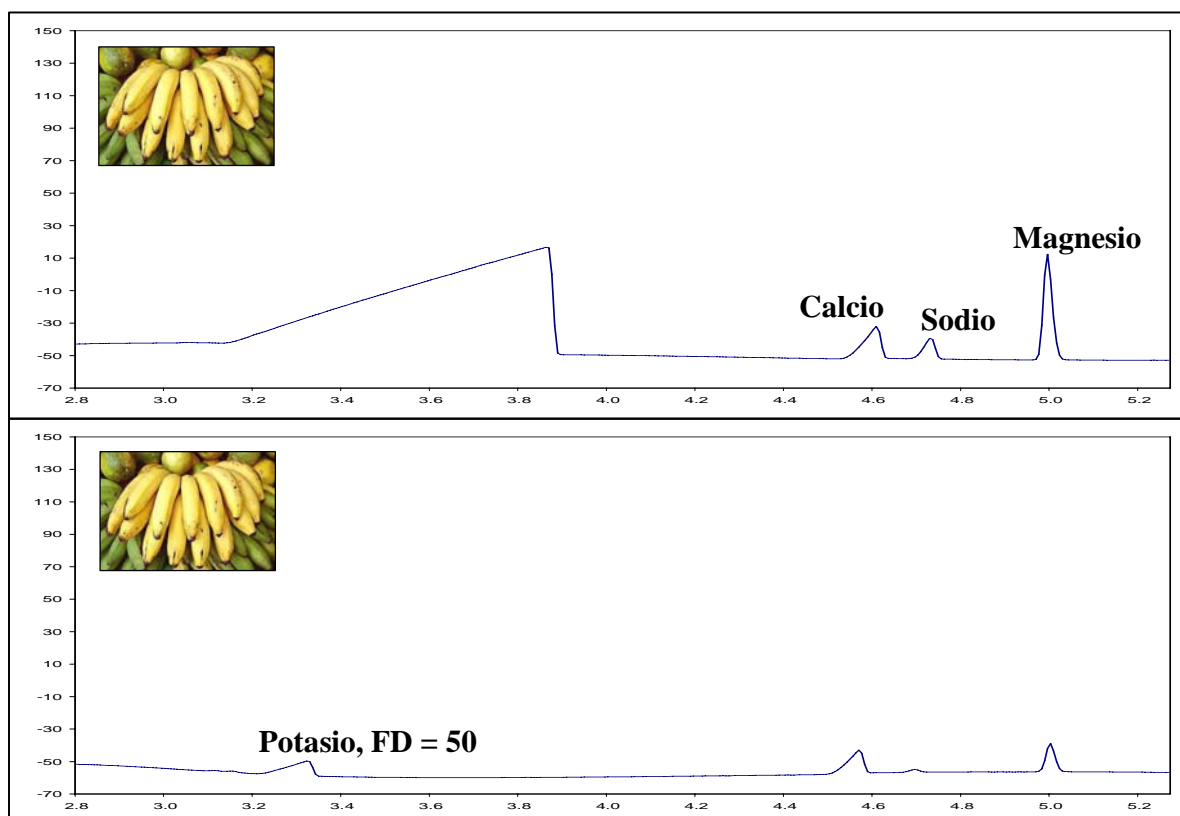




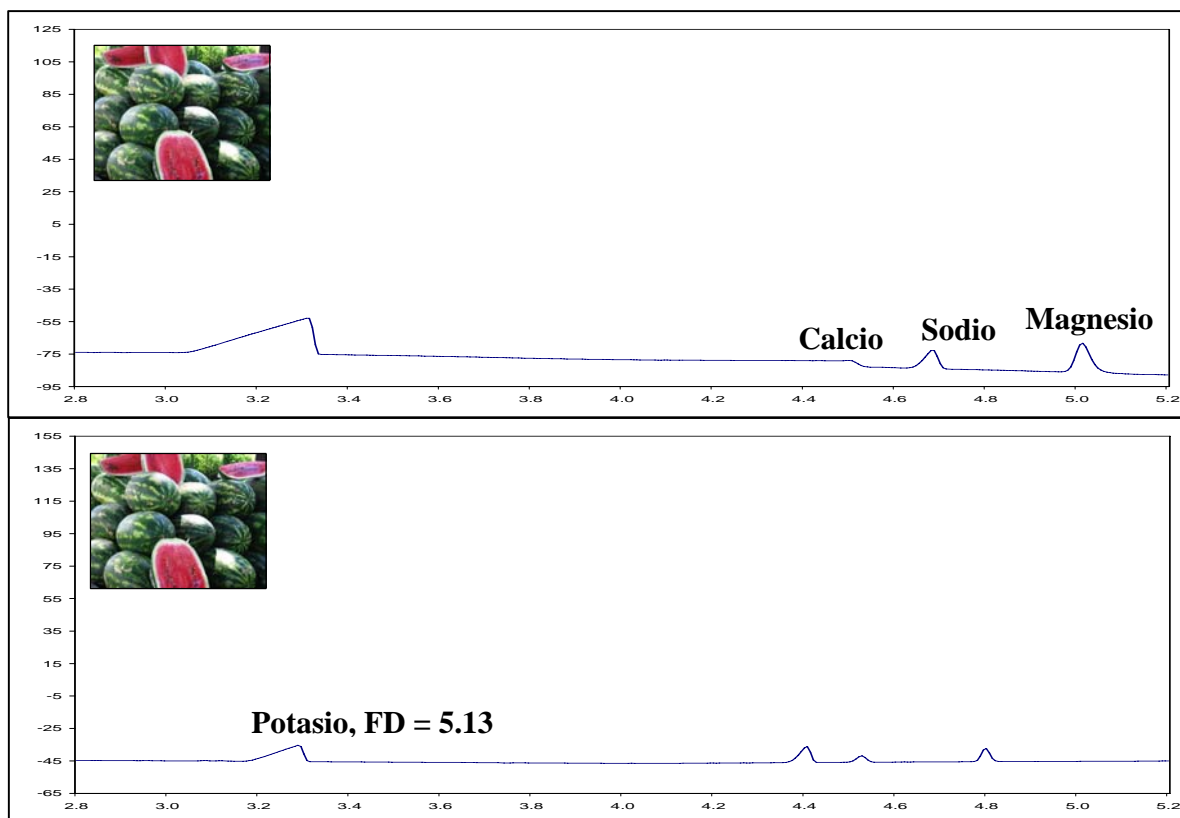
**Tabla VI.5** Límite de Detección (LD) y Límite de Cuantificación (LQ)

Cación	Valor Teórico		Valor Experimental	
	LD (ppm)	LQ (ppm)	LD (ppm)	LQ (ppm)
Potasio	0.58	1.94	0.09	0.27
Sodio	0.79	2.64	0.20	0.90
Calcio	0.67	2.23	0.02	0.15
Magnesio	0.17	0.53	0.03	0.08

Conociendo los parámetros de ajuste de las rectas de calibrado y los límites de detección y cuantificación, se procedió a inyectar las muestras sometidas a mineralización seca, las cuales fueron analizadas por triplicado, a continuación se presentan los electroferogramas obtenidos. La cuantificación de los cuatro cationes se realizó por interpolación de las áreas promedio de los picos (ver tabla VI.7), usando la ecuación del modelo lineal de regresión (IV.12), en la mayoría de las muestras fue necesario hacer una dilución para cuantificar el potasio, debido a que sobrepasaba el rango de concentración de trabajo.



**Fig. VI.5** Electroferogramas de muestra de Banano (arriba: sin dilución, abajo: con dilución)



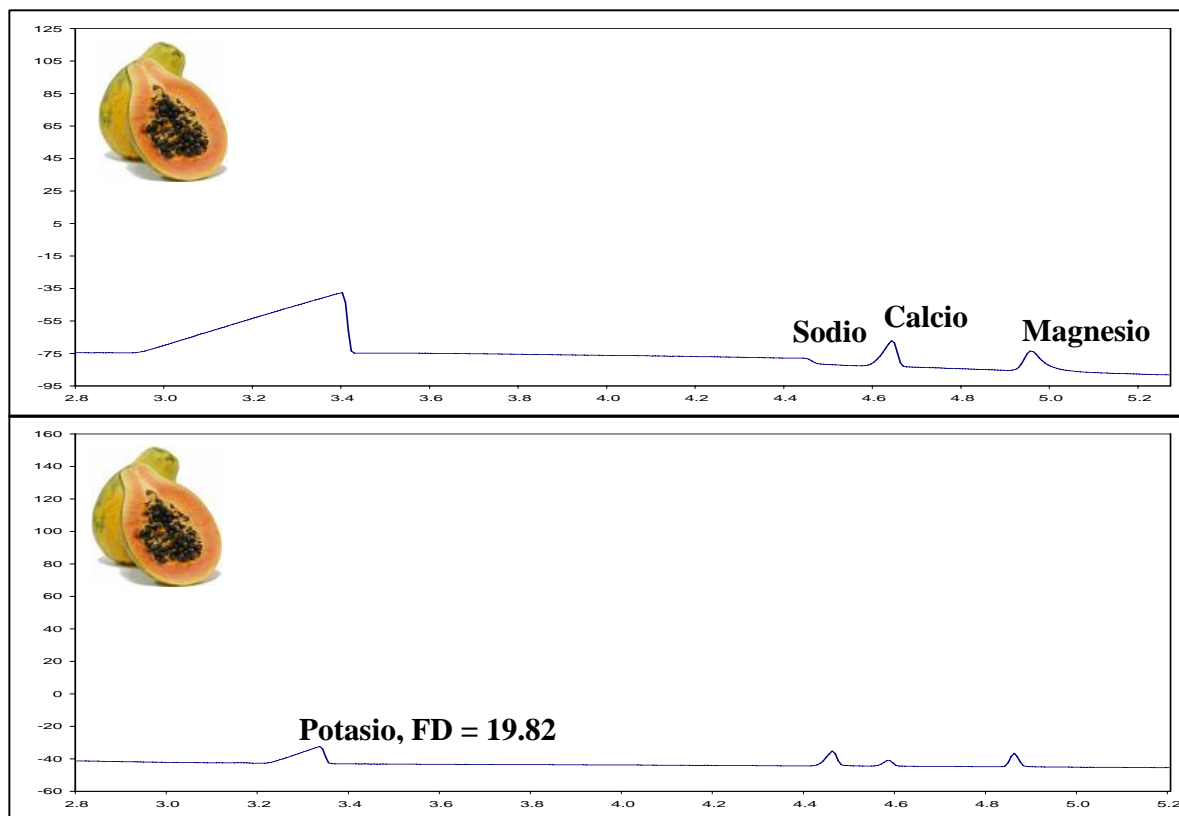
**Fig. VI.6** Electroferogramas de muestra de Sandía (arriba: sin dilución, abajo: con dilución)

Los factores de dilución usados para la determinación de potasio, calcio, sodio y magnesio en las frutas y vegetales se resumen en la tabla VI.6. El factor de dilución (FD) fue calculado dividiendo el volumen final de la solución ( $V_f$ ) por el volumen tomado de muestra ( $V_m$ ), por ejemplo para el potasio en el banano:

$$FD = \frac{V_f}{V_m} = \frac{5 \text{ mL}}{0.1 \text{ mL}} = 50$$

**Tabla VI.6** Factores de dilución de las muestras de frutas y vegetales

Fruta	Factor de Dilución (FD)		Vegetal	Factor de Dilución (FD)	
	Potasio	Calcio		Potasio	Calcio
Banano	50.00	1	Cebolla	3.87	1
Sandía	5.13	1	Chiltoma	31.99	1.98
Papaya	19.82	1	Tomate	38.16	1



**Fig. VI.7** Electroferogramas de muestra de Papaya (arriba: sin dilución, abajo: con dilución)

**Tabla VI.7** Áreas promedio de los picos de los cationes en las muestras

Muestra	Áreas Promedio (mAU)			
	Potasio	Calcio	Sodio	Magnesio
Banano	37.2667	53.1000	24.3000	150.4333
Sandia	32.30.80	27.1000	16.7667	157.5000
Papaya	36.4333	32.9333	32.9333	30.3333
Cebolla	22.2997	14.1333	-	-
Chiltoma	29.9333	40.9667	35.3333	80.1000
Tomate	34.2333	55.6333	54.7667	73.2333

Las áreas de las réplicas de las muestras y los gramos de muestra usados se encuentran en las tablas X.6 y X.7 de anexos. En la tabla VI.8 se presentan las concentraciones en partes por millón (ppm) de los analitos en las muestras con sus respectivos límites de confianza.

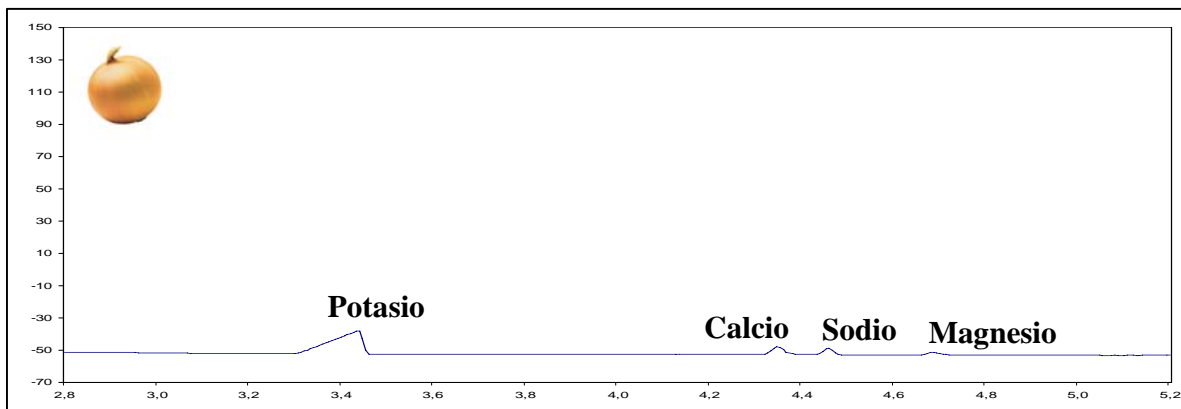


Fig. VI.8 Electroferogramas de muestra de Cebolla sin dilución

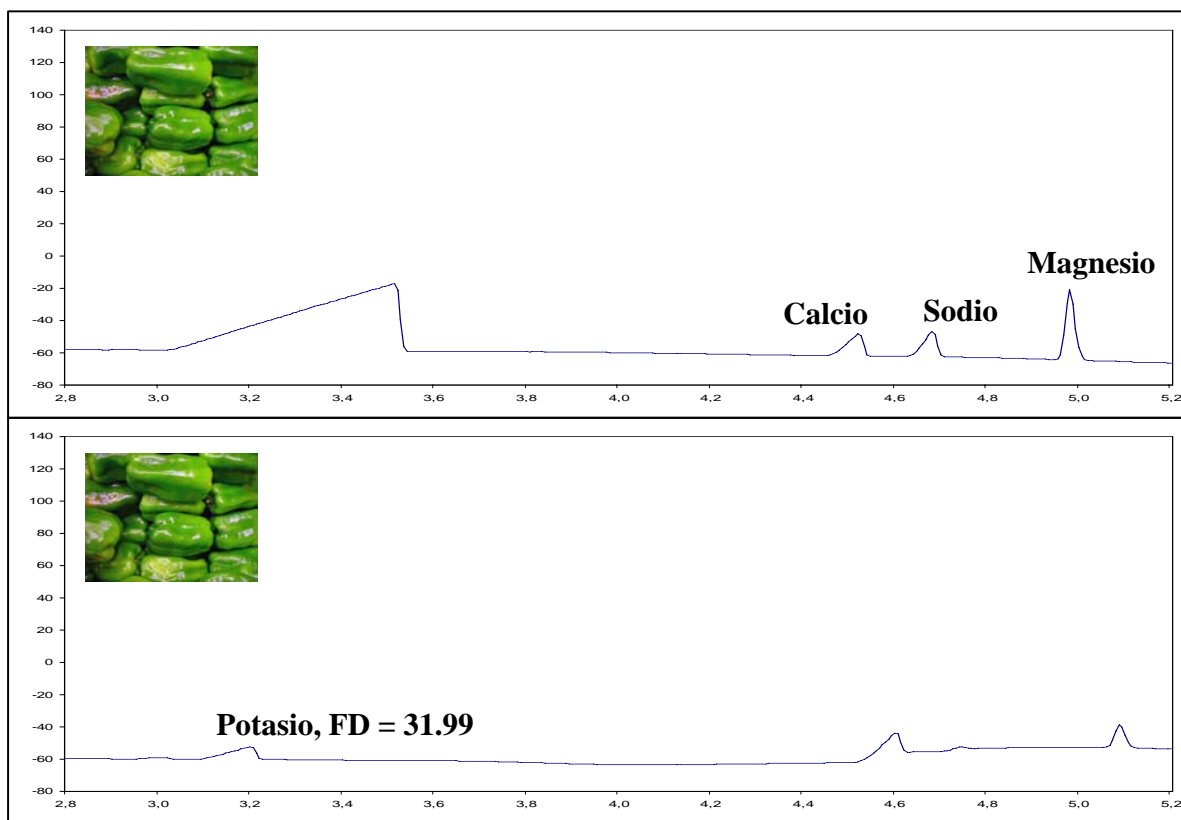
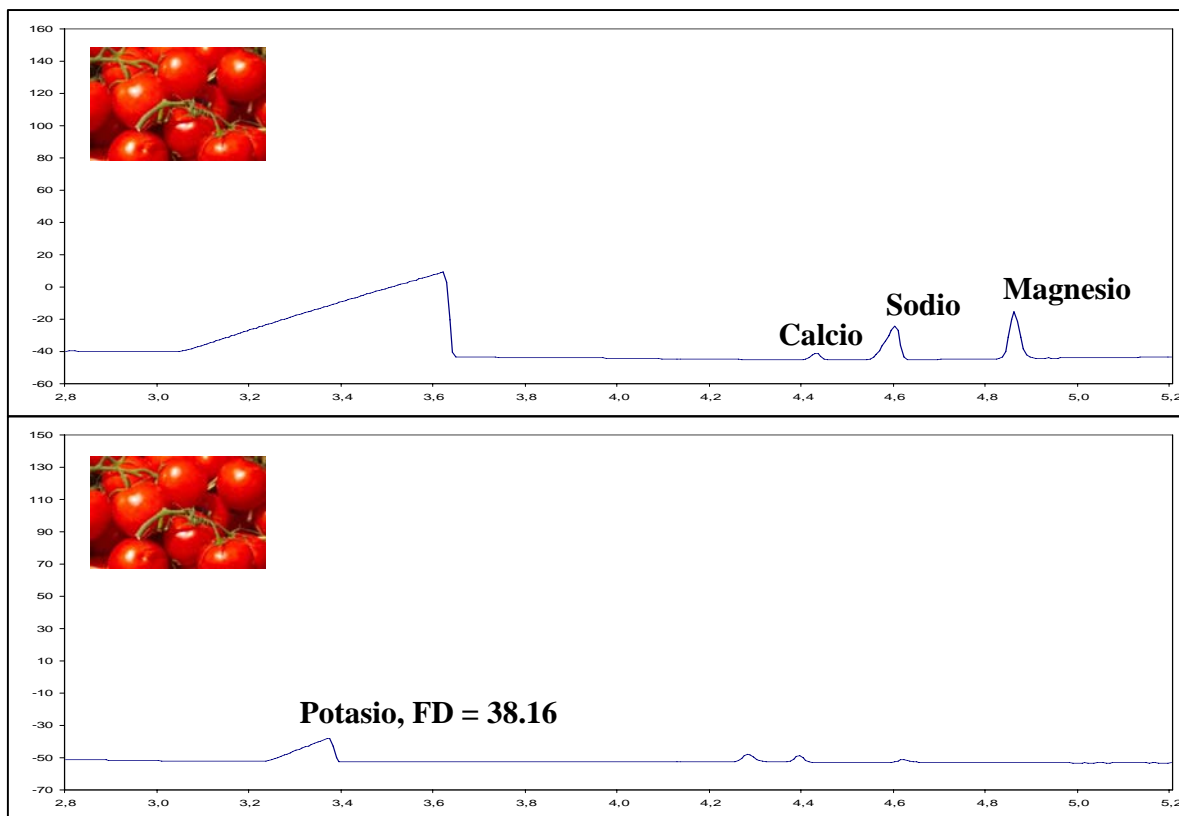


Fig. VI.9 Electroferogramas de muestra de Chiltoma (arriba: sin dilución, abajo: con dilución)



**Fig. VI.10** Electroferogramas de muestra de Tomate (arriba: sin dilución, abajo: con dilución)

**Tabla VI.8** Concentraciones de los cationes en las muestras con sus límites de confianza

Muestra	Concentración (ppm)			
	Potasio	Calcio	Sodio	Magnesio
Banano	14.61 ± 0.22	9.45 ± 0.13	2.62 ± 0.22	9.45 ± 0.03
Sandia	12.64 ± 0.20	4.68 ± 0.16	1.70 ± 0.24	9.90 ± 0.03
Papaya	14.28 ± 0.22	5.75 ± 0.15	3.67 ± 0.20	1.80 ± 0.05
Cebolla	8.64 ± 0.19	2.31 ± 0.19	-	-
Chiltoma	11.69 ± 0.19	7.23 ± 0.14	3.96 ± 0.20	4.97 ± 0.04
Tomate	13.40 ± 0.21	9.91 ± 0.13	6.32 ± 0.17	4.53 ± 0.04

Conociendo la concentración en ppm y los factores de dilución correspondientes para cada caso, se aplicó la ecuación V.1 para calcular los miligramos de cada catión contenidos en una porción de 100 g de muestra (tabla VI.9).

**Tabla VI.9** Contenido en mg de cationes por cada 100 g de muestra cruda.

Muestras	Contenido (mg/100 g)			
	Potasio	Calcio	Sodio	Magnesio
Banano	477.08 ± 7.19	6.28 ± 0.09	1.74 ± 0.15	6.17 ± 0.02
Sandía	41.57 ± 0.66	3.09 ± 0.10	1.12 ± 0.16	6.54 ± 0.02
Papaya	172.36 ± 2.60	3.50 ± 0.09	2.23 ± 0.12	1.10 ± 0.03
Cebolla	22.21 ± 0.50	1.53 ± 0.13	-	-
Chiltoma	249.11 ± 4.12	9.57 ± 0.18	2.65 ± 0.13	3.31 ± 0.02
Tomate	344.28 ± 5.29	6.67 ± 0.09	4.26 ± 0.11	3.03 ± 0.03

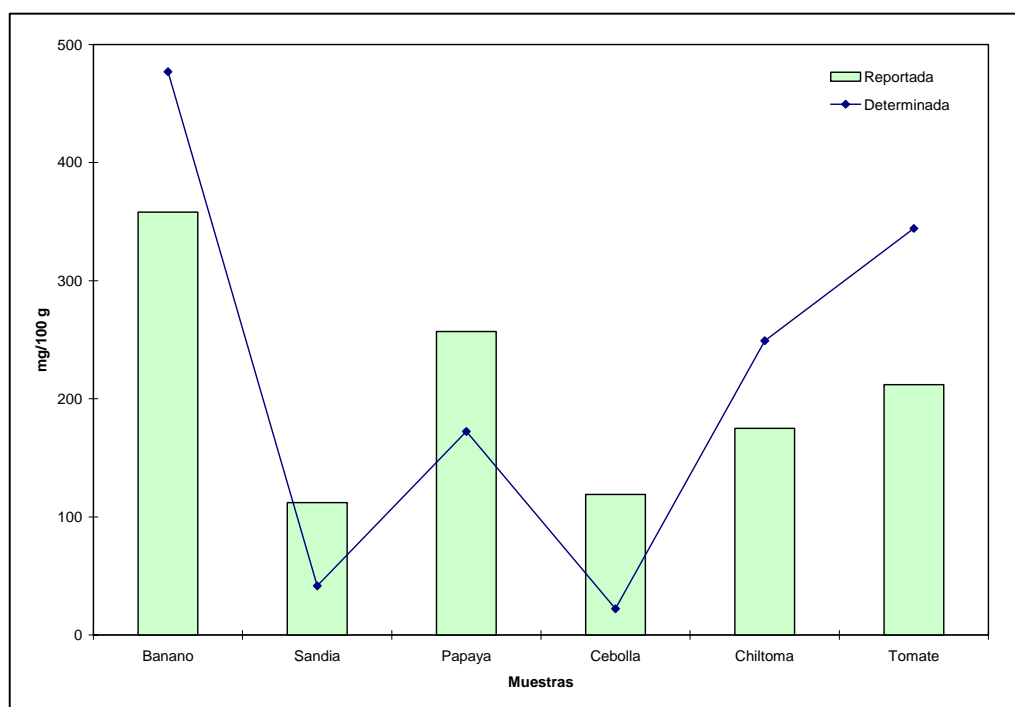
El contenido de cationes encontrado en las muestras de frutas y vegetales no tendría ninguna relevancia científica sino es comparado con los datos presentados en diferentes publicaciones.

En la tablas VI.10 a VI.13, se muestran las concentraciones de cationes determinadas en las muestras de este estudio, las concentraciones reportadas, la diferencia entre ellas, el porcentaje de diferencia y el signo del incremento.

**Tabla VI.10** Contenido de potasio reportada, determinada, diferencia, porcentaje de diferencia con signo del incremento

Muestra	Potasio			
	Teórico (mg/100g)	Experimental (mg/100 g)	Diferencia	%
Banano	358	477.1	119.1	33.3
Sandía	112	41.6	-70.4	-62.9
Papaya	257	172.4	-84.6	-32.9
Cebolla	119	22.2	-96.8	-81.3
Chiltoma	175	249.1	74.1	42.4
Tomate	212	344.3	132.3	62.4

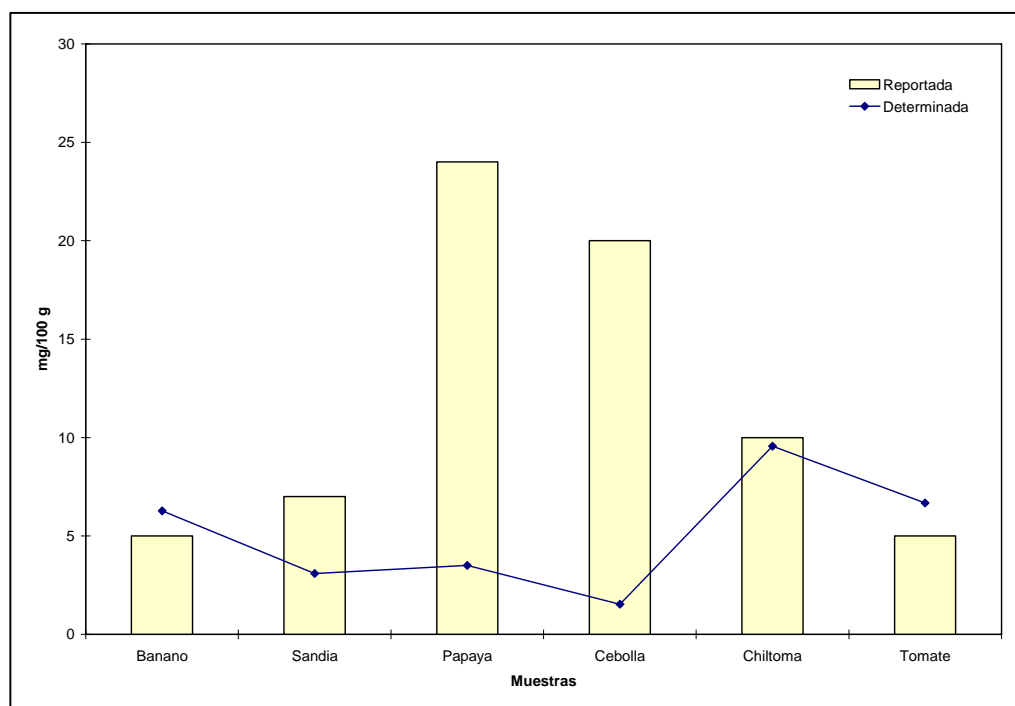
Estos datos se graficaron para facilitar la comparación (Fig. VI.11), observándose que para el banano, chiltoma y tomate se encontró más del 30% de potasio de lo reportado en la bibliografía, para sandía y cebolla se encontró menos del 60% y 30% para papaya.



**Fig. VI.11** Contenido de potasio reportada y determinada

**Tabla VI.11** Contenido de calcio reportada, determinada, diferencia, porcentaje de diferencia y signo del incremento

Calcio				
Muestra	Reportada (mg/100g)	Determinada (mg/100 g)	Diferencia	%
Banano	5	6.3	1.3	25.6
Sandía	7	3.1	-3.9	-55.8
Papaya	24	3.5	-20.5	-85.4
Cebolla	20	1.5	-18.5	-92.3
Chiltoma	10	9.6	-0.4	-4.3
Tomate	5	6.7	1.7	33.5



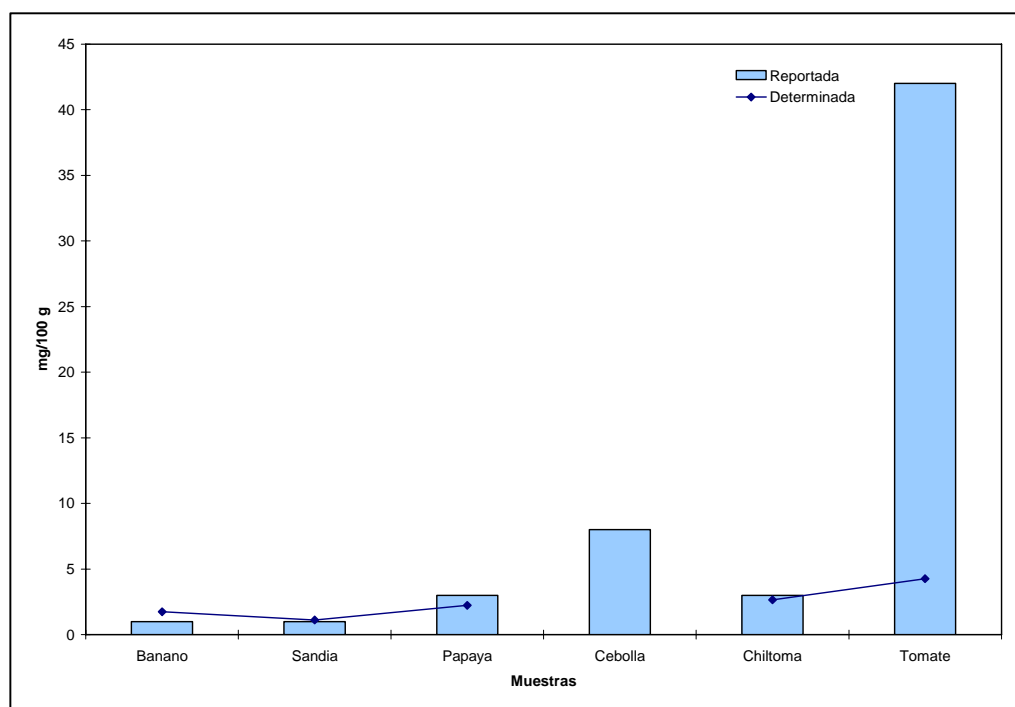
**Fig. VI.12** Contenido de calcio reportada y determinada

Observando la Fig. VI.12 elaborada a partir de los datos de la tabla VI.11, claramente se ve que para el banano y tomate se encontró un poco más del 25% de calcio de lo reportado en la bibliografía. Sin embargo, para la chiltoma se obtuvo 95% de la cantidad esperada. La Chiltoma se acercó al valor esperado (92%), pero sandia, papaya y cebolla estuvieron por debajo del 50%.

**Tabla VI.12** Contenido de sodio reportada, determinada, diferencia, porcentaje de diferencia y signo del incremento

Muestra	Sodio			
	Teórico (mg/100g)	Experimental (mg/100 g)	Diferencia	%
Banano	1	1.7	0.7	73.8
Sandia	1	1.1	0.1	12.2
Papaya	3	2.2	-0.8	-25.6
Cebolla	8	-	-	-
Chiltoma	3	2.6	-0.4	-11.8
Tomate	42	4.3	-37.7	-89.9



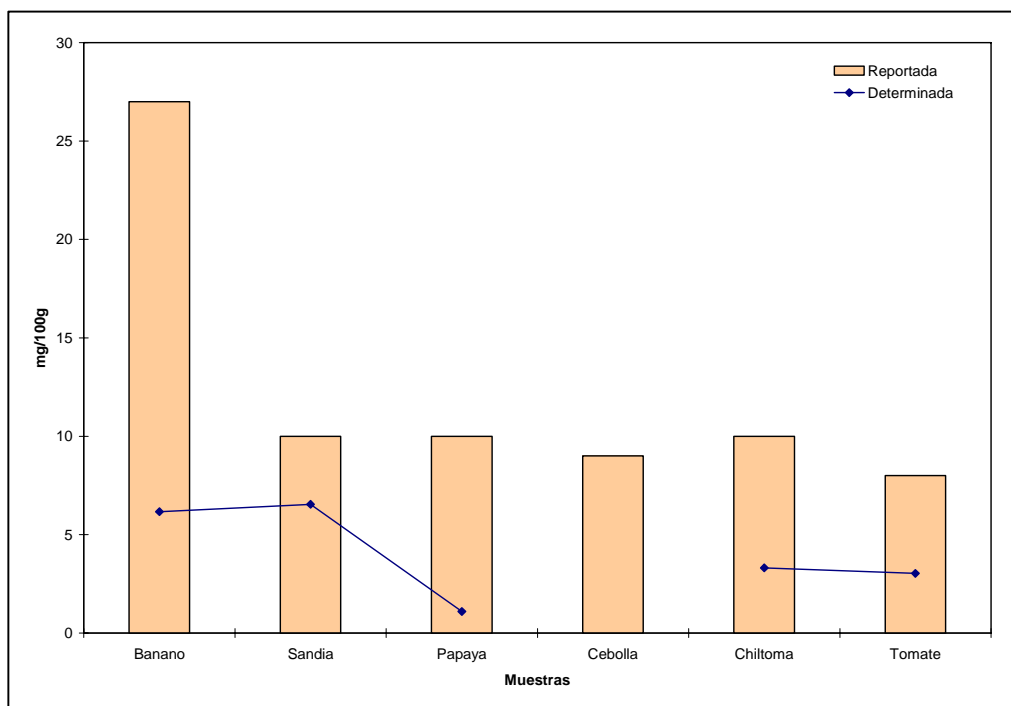


**Fig. VI.13** Contenido de sodio reportada y determinada

Para el sodio, se obtuvo (Fig. VI.13) que el banano y sandia está un poco encima de lo establecido por la bibliografía. Sin embargo, para la papaya y chiltoma se obtuvo el 82% de la cantidad esperada, pero en el tomate solo se obtuvo el 10 % de lo esperado. El calcio en la cebolla estuvo fuera del rango de concentraciones de la recta de calibrado.

**Tabla VI.13** Contenido de magnesio reportada, determinada, diferencia, porcentaje de diferencia y signo del incremento

Muestra	Magnesio			
	Teórico (mg/100g)	Experimental (mg/100 g)	Diferencia	%
Banano	27	6.2	-20.8	-77.1
Sandia	10	6.5	-3.5	-34.6
Papaya	10	1.1	-8.9	-89.0
Cebolla	9	-	-	-
Chiltoma	10	3.3	-6.7	-66.9
Tomate	8	3.0	-5.0	-62.2



**Fig. VI.14** Contenido de magnesio reportada y determinada

Una inspección de la Fig. VI.14, muestra que para todas las muestras se encontró magnesio por debajo de lo establecido por la bibliografía, excepto en la cebolla que estaba fuera del rango de concentraciones de la recta de calibrado.

Si se evalúa cada muestra por separado se tiene que el banano tiene cantidades por encima de potasio, sodio y calcio, pero menos del 25% de magnesio. La sandia estuvo por debajo en potasio, calcio y magnesio, pero excedió el 12% en sodio. La papaya en los cuatros cationes presentó valores menores.

En cuanto a los vegetales, para la cebolla en el caso de potasio y calcio estuvieron por debajo, sin embargo el sodio y magnesio no pudieron ser cuantificados. La chiltoma excedió el valor de potasio, pero estuvo por debajo en calcio, sodio y magnesio. El tomate presentó valores por encima en potasio y calcio, pero muy por debajo en sodio y magnesio.



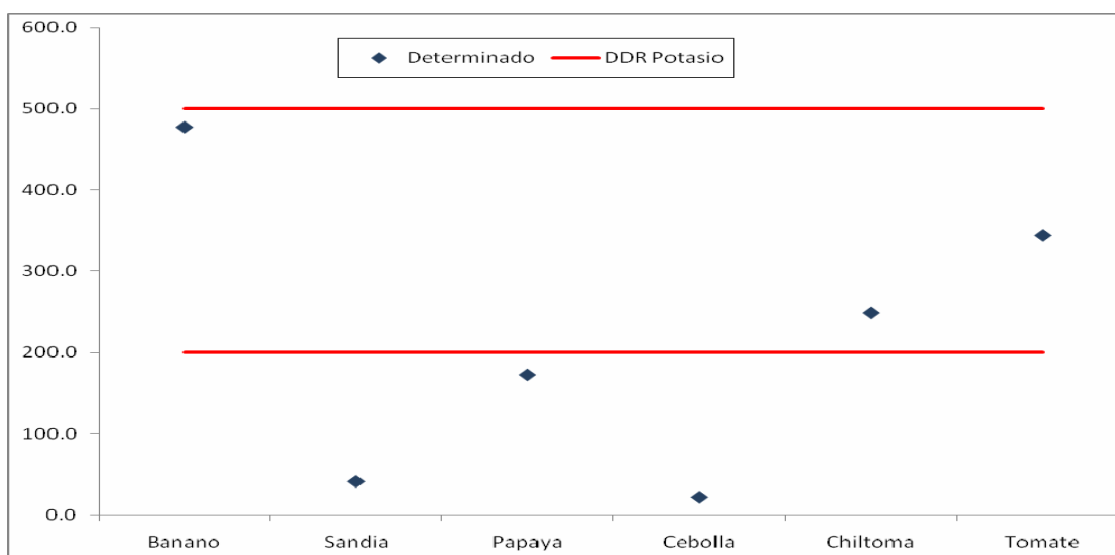
Estas diferencias se pueden deber a la procedencia de la muestra por lo cual se hace necesario realizar un estudio comparativo para establecer la denominación de origen de las frutas y vegetales, con el fin de determinar los factores que causan el detrimento de la cantidad de minerales en los agroalimentos y tomar acciones correctivas si fuere necesario.

En este sentido, la electroforesis capilar en zona, podría ser la técnica analítica idónea para llevar un monitoreo de la calidad de los agroalimentos nicaragüenses, siempre y cuando se amplíen los parámetros cualimétricos del método para la determinación de cationes.

### VI.5 RELACIÓN DEL CONTENIDO DE CATIONES CON LA DDR

De igual forma, debe evaluarse el valor nutricional de los agroalimentos estudiados respecto a valores de referencia internacionalmente establecidos como son la Dosis Diaria Recomendada e Ingesta Máxima Diaria.

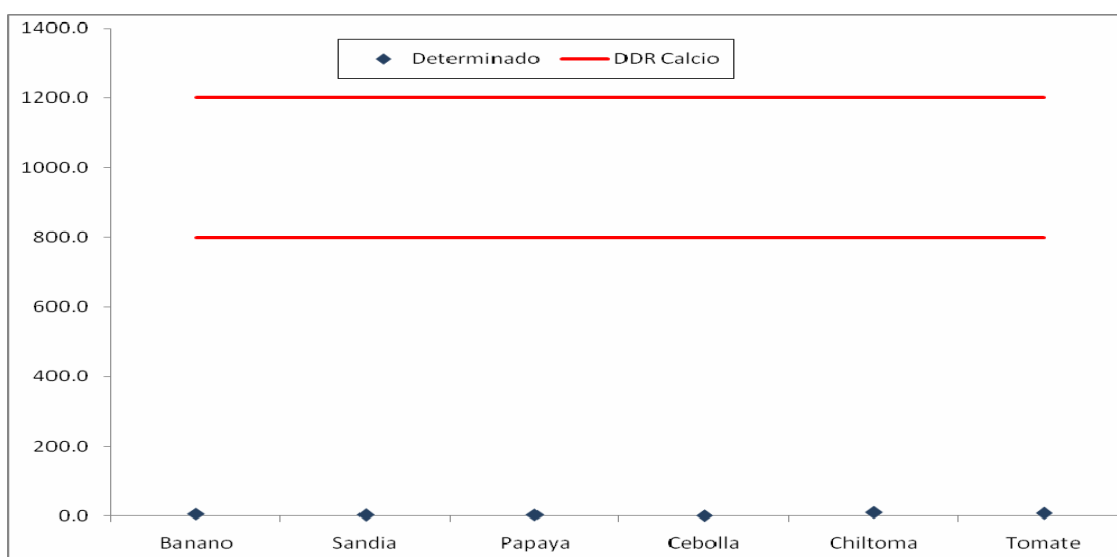
En la tabla IV.2 y IV.3 se presentó la DDR e IMD para los minerales analizados, estos valores se compararon con los resultados obtenidos en las muestras estudiadas.



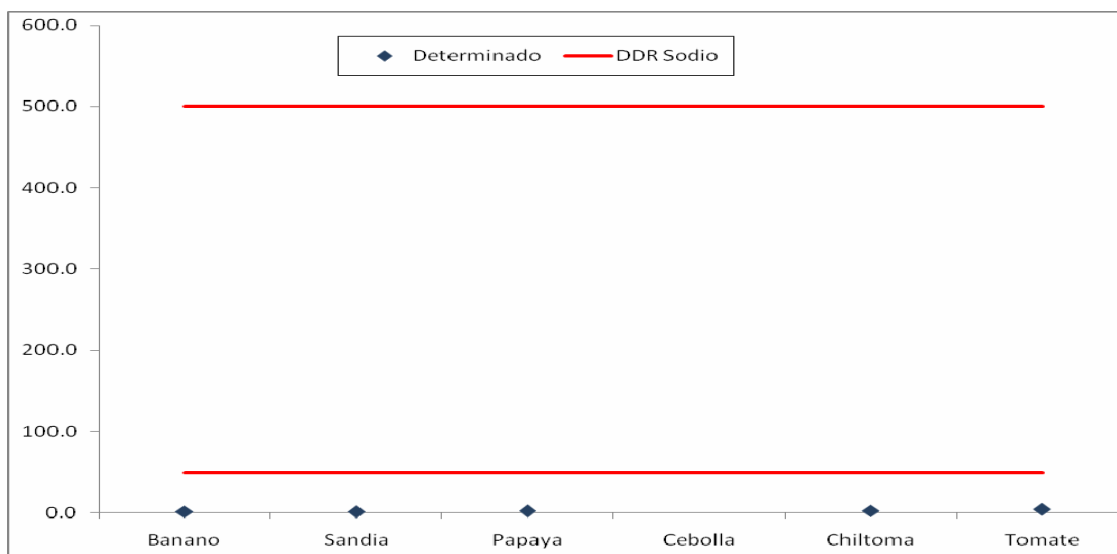
**Fig. VI.15** Relación de DDR y Contenido determinado de Potasio en muestras



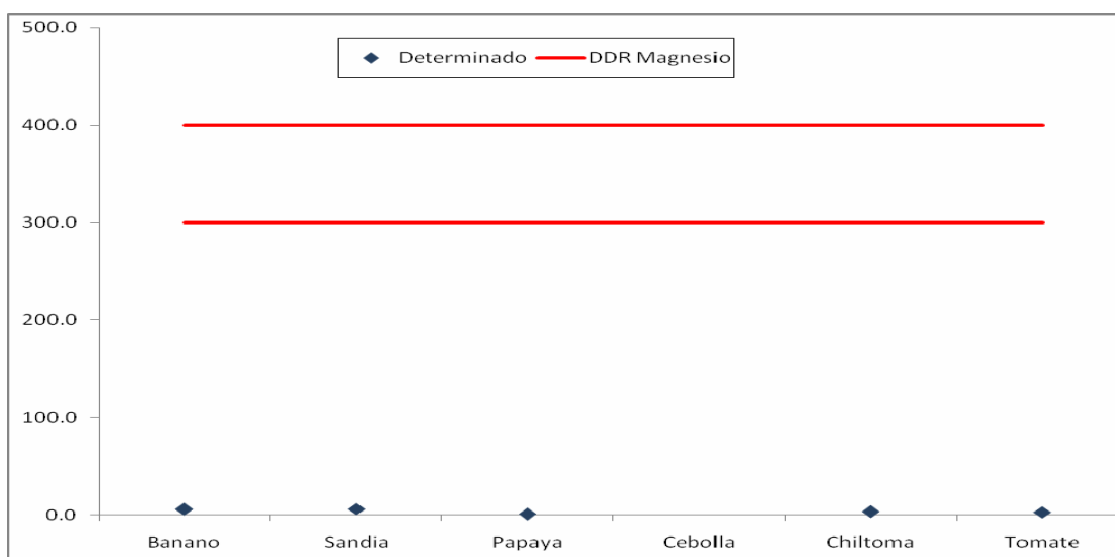
En la Fig. VI.15 se presenta la relación entre la DDR y el contenido determinado de potasio en las frutas y vegetales, encontrándose que sólo el banano, chiltoma y tomate están dentro del rango de la DDR, la papaya se acerca un poco, pero la sandia y la cebolla están muy por debajo. En las Fig. VI.16, VI.17 y VI.18 se grafica la relación entre la DDR y el contenido de calcio, sodio y magnesio determinado en las muestras, respectivamente. Para estos tres cationes resulta claro que ninguna de las muestras por si solas alcanza la DDR.



**Fig. VI.16** Relación de DDR y Contenido determinado de Calcio en muestras



**Fig. VI.17** Relación de DDR y Contenido determinado de Sodio en muestras



**Fig. VI.18** Relación de DDR y Contenido determinado de Magnesio en muestras

Ante esta situación resulta importante conocer el porcentaje que aportan cada una de las muestras, con el fin de realizar las combinaciones pertinentes entre ellas o con otros alimentos con el fin de alcanzar los requerimientos diarios de minerales. En la tabla VI.14 se muestran dichos porcentajes. Cabe señalar, que las frutas y vegetales analizadas al ser consumidas de manera individual no sobrepasan la IMD.

**Tabla VI.14** Porcentaje de aporte de minerales de frutas y vegetales a la DDR

Muestra	Mineral			
	Potasio (%)	Calcio (%)	Sodio (%)	Magnesio (%)
Banano	95 - 239	0.5 - 0.8	0.4 - 3	1 - 2
Sandia	8 - 21	0.3 - 0.4	0.2 - 2	2 - 2
Papaya	35 - 86	0.3 - 0.4	0.4 - 4	0.3 - 0.4
Cebolla	4 - 11	0.1 - 0.2	-	-
Chiltoma	50 - 125	0.8 - 1.2	0.5 - 5	0.8 - 1
Tomate	69 - 172	0.6 - 0.8	0.8 - 8	0.8 - 1



## VII. CONCLUSIONES

Una vez concluidas las actividades experimentales y una vez realizando el análisis de los resultados llegamos a las siguientes conclusiones:

1. Se seleccionaron las frutas y vegetales mediante datos estadísticos oficiales de consumo, encontrándose que el 90% de la población urbana consumen tomate, cebolla y chiltoma y un 42% consumen banano, papaya y sandia.
2. Se lograron establecer las condiciones electroforéticas para la determinación de Potasio, Calcio, Sodio y Magnesio por Electroforesis Capilar en Modo en Zona.
3. Se calcularon los parámetros electroforéticos para cada catión en las condiciones electroforéticas seleccionadas, los que indican la idoneidad de la técnica para el análisis de potasio, calcio, sodio y magnesio en frutas y vegetales.
4. Se logró determinar el contenido de cuatro cationes en seis muestras de frutas y vegetales usando la técnica de Electroforesis Capilar. Se encontraron diversas concentraciones en las muestras estudiadas que fueron relacionadas con las reportadas por la bibliografía, encontrándose que la mayoría tiene cantidades por debajo de lo esperado.
5. Se logró establecer el aporte nutricional de minerales de las muestras objeto de este estudio, relacionándolo con la DDR. Se determinó que a partir de 100 gramos de las muestras, la mayoría no cumple con la DDR, excepto el banano, chiltoma y tomate para el potasio.



## VIII. RECOMENDACIONES

Una vez finalizado el presente trabajo monográfico y considerando los resultados obtenidos recomendamos los siguientes aspectos:

1. Realizar diferentes estudios de recuperación de cationes en las muestras objeto de estudio.
2. Realizar un estudio de diferentes sistemas de extracción a fin de comparar nuestros resultados con estos estudios.
3. Extender el análisis a otros cationes de interés biológico y toxicológico, tales como el hierro, zinc, litio, etc.
4. Realizar un estudio de validación del método ensayado, a fin de incorporarlo como análisis de rutina en el Laboratorio de Técnicas de Separación.
5. Dar a conocer a las instancias correspondientes sobre el valor nutricional de frutas y vegetales de mayor consumo en la alimentación diaria.



## IX. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Valcárcel, Miguel et al. Técnicas analíticas de separación. Reverté, 1988. págs. 1-4, 337-340
- [2] Herrero, José M. Desarrollo de métodos de electroforesis capilar para el control de calidad en problemas ambientales e industriales. Universidad de Valencia. Serie de publicaciones 2002. Valencia, España.
- [3] Juan Miguel Castagnino, Asociación de Química y Farmacia del Uruguay, No 28, 2000 [http://www.aqfu.org.uy/revista/28/revista\\_N28\\_julio\\_2000\\_electroforesis\\_capilar.htm](http://www.aqfu.org.uy/revista/28/revista_N28_julio_2000_electroforesis_capilar.htm), Paraguay. Consultada el 1 de agosto de 2008
- [4] Sogorb, Miguel Ángel, Vilanova, Eugenio. Técnicas analíticas de contaminantes químicos: Aplicaciones toxicológicas, medioambientales y alimentarias. Ediciones Díaz de Santos, 2004, págs. 225-226
- [5] Hewlett Packard. Capillary Electrophoresis System, Application compendium. Editado por Gordón Ross y María Serwe. 1<sup>era</sup> edición, Alemania 1998. Pág. 90,99.
- [6] Zapata Corea Allan. VI Encuesta de Consumo de Alimentos de Nicaragua 2004. Pág. 7-24-25-26 de 98
- [7] David Heiger. High performance capillary electrophoresis. Editado por James W. Jorgenson. Chapel Hill, NC, USA, November 25, 1992. Pag 17, 28, 29, 42 de 135.
- [8] García Prieto, Rocío et al. Otros tipos de separación Cromatográfica. Electroforesis.
- [9] Warren CR, Adams MA. Phytochemical Analysis 15: (2004) 407-413
- [10] Sonia Cortacero-Ramírez et al. Journal of Chromatography A, 1064 (2005) 115–119
- [11] Fernandez, A. et al. Chromatographia, 52, 7/8 (2000) 413-417
- [12] Zhang, Ying, Gomez, Frank. Electrophoresis 2000, 21, 3305-3310
- [13] Ekinci, R. and Kadakal, Ç. Acta chromatographica, 15 (2005) 289-297
- [14] Warren CR, Adams MA. J Exp Bot. 51: (2000) 1147-1157
- [15] Padarauska, Audrius et al. Journal of Chromatography A, 800 (1998) 369–375
- [16] Watanabe, Toshiro and Terabe, Shigeru. Journal of Chromatography A, 880 (2000) 295–301
- [17] Ehmman, Thomas et al. Journal of Chromatography A, 816 (1998) 261–275
- [18] Govindaraju, K. et al. Journal of Chromatography B, 762 (2001) 147–154
- [19] Taga, Atsushi et al. Journal of Chromatography A, 802 (1998) 243–248
- [20] Yau, Wai-Ping and Chan, Eli. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 28 (2002) 107–123





- [21] Latham, M. Nutrición humana en el mundo en desarrollo. Colección FAO: Alimentación y nutrición N° 29, Roma, 2002. Pág. 109-118
- [22] Becerril Ana Cecilia. Función y requerimiento diario de algunas vitaminas, minerales y otros compuestos. <http://www.fitness.com.mx/medicina071.htm>.
- [23] Portillo Díaz Jacobo, Barrios Fernández Maria, Salido Paredes Fernando. Aspectos básicos de bioquímica clínica. Pág. 205 a 293
- [24] Gabarra, A. Ingesta nutrientes: Conceptos y recomendaciones internacionales. 2da parte.
- [25] Frutas Tropicales. <http://es.wikipedia.org/wiki/fruta>.
- [26] Platano/Banano.  
<http://www.alimentacionsana.com.ar/informaciones/chef/banana.htm-26k>.
- [27] Banano-wikipedia la enciclopedia libre.es.wikipedia.org/wiki/musa acuminata-26k.
- [28] Sandía. <http://www.euroresidentes.com/alimentos/sandia.htm-28k>
- [29] Las Propiedades de la Sandía. [www.alimentacion-sana.org](http://www.alimentacion-sana.org)
- [30] Vargas O. Mariela. Revista La Guia.com.  
[www.revistalaguia.com/may\\_05/papay\\_05.htm-28k](http://www.revistalaguia.com/may_05/papay_05.htm-28k)
- [31] Verduras. <http://es.wikipedia.org/wiki/verduras-75k>
- [32] Iglesias I. Ciencia y tecnología de los Alimentos. Tesis de Materia Grado Científico. (1998) UH, C. Habana. Cuba
- [33] Capsicum annum-wikipedia la enciclopedia libre.es.wikipedia.org/wiki/capsicum-annuum-27k.
- [34] Simon, J.E., A.F. Chadwick and L.E. Craker. 1984. Herbs: An Indexed Bibliography. 1971-1980. The Scientific Literature on Selected Herbs, and Aromatic and Medicinal Plants of the Temperate Zone. Archon Books, 770 pp., Hamden, CT.
- [35] El Tomate Propiedades. [www.alimentacion-sana.org](http://www.alimentacion-sana.org)
- [36] Ramis Ramos, Guillermo y García Álvarez-Coque, Maria Celia. Quimiometría. Editorial Síntesis, S.a. Vallehermosa, Madrid.
- [37] Miller, James and Miller, Jane. Estadística y Quimiometría para Química Analítica. Editorial Pearson Educación SA. 4ta Edición Madrid 2002.
- [38] Lagares, Paula. Población y muestra. Editorial Reverte, España. 2001



## X. ANEXOS



**Fig. X.1** Equipo de Electroforesis Capilar

**Tabla X.1** Porcentaje de hogares que usaron cada producto por área de residencia

<b>Producto</b>	<b>Nacional</b>	<b>Urbano</b>	<b>Rural</b>
<b>Cebolla</b>	94.2	96.5	88.5
<b>Chiltomo y Tomate</b>	91.8	97.1	78.6
<b>Frutas Tropicales</b>	36.6	42.8	21.0

Fuente: IV Encuesta de Consumo de Alimentos de Nicaragua 2004 [6]



**Tabla X.2** Puestos de Frutas y Vegetales del Mercado Central de la ciudad de León

Frutas y Vegetales	Nº de puestos	Nº de puestos muestreados	Unidades compradas por puestos
<b>Cebolla</b>	20	4	3
<b>Tomate</b>	20	4	3
<b>Chiltomo</b>	20	4	3
<b>Banano</b>	15	3	3
<b>Papaya</b>	3	3	1
<b>Sandia</b>	5	1	1

**Tabla X.3** Concentraciones y áreas de las replicas de los cationes para el rango lineal

Conc. (ppm)	Catión	Área (mAU)		
10	Potasio	3.8	4.2	4.0
	Calcio	10.5	10.6	10.6
	Sodio	33.4	33.5	33.4
	Magnesio	30.7	30.7	30.8
25	Potasio	4.9	5.0	5.0
	Calcio	19.8	19.8	19.8
	Sodio	55.8	55.7	55.8
	Magnesio	39.1	39.0	38.9
40	Potasio	13.4	13.4	13.5
	Calcio	40.7	40.7	40.7
	Sodio	100.0	100.1	100.1
	Magnesio	88.8	88.7	88.8
55	Potasio	18.5	18.4	18.5
	Calcio	56.9	56.8	56.9
	Sodio	155.0	155.0	155.1
	Magnesio	122.6	122.7	122.8
100	Potasio	18.2	18.1	18.2
	Calcio	61.1	61.0	61.1
	Sodio	114.4	114.3	114.4
	Magnesio	126.1	126.0	126.1



**Tabla X.4** Datos para calcular parámetros electroforéticos

Parámetros	Potasio	Calcio	Sodio	Magnesio
Tiempo migración (min)	3.394	4.686	4.854	5.127
Ancho del pico (s)	3.48	2.82	2.70	1.68
Longitud efectiva (cm)	47.0			
Longitud total del capilar (cm)	55.5			
Voltaje aplicado (kV)	20			

**Tabla X.5** Datos de concentración y área de las réplicas de la mezcla de cationes

Catión	Concentración	Área		
Potasio	0.9997	2.50	2.50	2.51
	4.9988	13.80	13.90	13.80
	9.9977	26.10	26.05	26.07
	14.9966	37.90	37.85	37.80
	19.9954	50.70	50.75	50.71
Calcio	0.9997	7.10	7.15	7.10
	4.9987	27.30	27.30	27.30
	9.9974	57.80	57.76	57.82
	14.9961	84.10	84.09	84.12
	19.9948	109.60	109.60	109.60
Sodio	0.9999	10.90	11.20	10.70
	4.9997	41.90	41.90	41.90
	9.9993	88.90	88.70	88.80
	14.9990	124.60	124.75	124.70
	19.9986	166.70	166.70	166.65
Magnesio	1.0090	17.20	17.40	17.10
	5.0453	81.20	81.20	81.20
	10.0900	161.80	162.10	161.80
	15.1359	239.10	240.10	239.20
	20.1812	318.10	318.30	318.40



**Tabla X.6** Datos de concentración y área de las réplicas de las muestras

Muestra	Catión	Área (mAU)			Muestra	Catión	Área (mAU)		
Banano	Potasio	38.90	36.80	36.10	Cebolla	Potasio	25.56	17.80	23.54
	Calcio	63.20	53.80	42.30		Calcio	16.40	12.30	13.70
	Sodio	26.50	23.90	22.50		Sodio	<b>9.30</b>	<b>10.60</b>	<b>6.10</b>
	Magnesio	154.10	148.30	148.90		Magnesio	<b>3.10</b>	<b>8.80</b>	<b>6.00</b>
Sandia	Potasio	49.40	12.92	34.60	Chiltoma	Potasio	30.80	29.90	29.10
	Calcio	31.20	31.90	18.20		Calcio	44.20	44.50	34.20
	Sodio	17.00	14.90	18.40		Sodio	39.70	33.30	33.00
	Magnesio	155.90	145.00	171.60		Magnesio	73.60	82.40	84.30
Papaya	Potasio	42.50	43.80	23.00	Tomate	Potasio	39.50	34.40	28.80
	Calcio	32.60	33.10	33.10		Calcio	58.50	57.60	50.80
	Sodio	32.60	33.10	33.10		Sodio	45.70	56.10	62.50
	Magnesio	28.30	38.50	24.20		Magnesio	67.00	73.60	79.10

Las áreas en negrita están fuera del rango de concentraciones de la recta de calibrado.

**Tabla X.7** Cantidad de muestras de frutas y vegetales usados

Muestra	Masa de las réplicas (g)			Masa Promedio (g)
Banano	15.3203	15.3162	15.3086	15.3150
Sandia	15.1398	15.1358	15.1341	15.1366
Papaya	16.4259	16.4217	16.4174	16.4217
Cebolla	15.0700	15.0636	15.0590	15.0642
Chiltoma	15.0143	15.0092	15.0050	15.0095
Tomate	14.9772	14.9734	14.9701	14.9736



**“A LA LIBERTAD POR LA UNIVERSIDAD”**