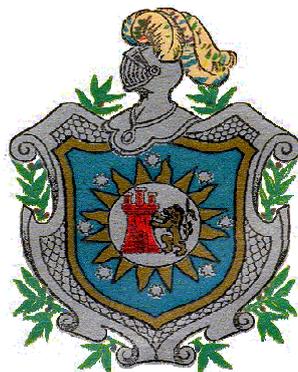


**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA-LEÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**



***“DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE VITAMINA C EN  
AGROALIMENTOS POR CROMATOGRFÍA LIQUIDA DE ALTA  
RESOLUCIÓN EN FASE REVERSA (HPLC-RP), PREVIA  
EXTRACCIÓN CON ÁCIDO METAFOSFÓRICO”***

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

**PRESENTADO POR:**

**BR. RYDER JOSE SANCHEZ MALTA**

**TUTORES:  
Dr. SERGIO JOSÉ LÓPEZ GRÍO.  
LIC. MARIA ERNESTINA SOTO SARRIA**

**LEON, SEPTIEMBRE DE 2008**

## **DEDICATORIA**

A Dios nuestro señor por iluminarme en el camino de la vida y darme la fortaleza y discernimiento para seguir adelante.

A mi abuelita **ELBA CARERA** por sus abnegados cuidados, consejos, compañía y comprensión siendo la fortaleza de mi formación personal.

A mí muy estimada y apreciada Madre **LIGIA DEL SOCORRO MALTA CARERA** la cual me dio todo su apoyo moral y económico para alcanzar mi formación académica, por apoyarme en los momentos más difíciles y por ser un ejemplo de superación.

A mis hijos: **Alicia Yanneth.**

**Axel Jose.**

**Ligia Amelia**

A mi Padre **ANTONIO NATIVIDAD SANCHEZ BARCENAS**

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis tutores: **Dr. SERGIO JOSÉ LÓPEZ GRÍO Y LIC. MARIA ERNESTINA SOTO SARRIA** por su valiosa, colaboración e incondicional apoyo en la elaboración de este documento ya que sin su aporte no hubiese sido posible el inicio y culminación de este sencillo pero significativo aporte al estudio de esta vitamina.

.

A mis **profesores y amigos** por brindarme sus conocimientos

A todas las personas que me apoyaron decididamente en mis años de estudiante.

## INDICE DE CONTENIDOS

<b>CONTENIDO</b>	<b>PÁGINA</b>
Resumen .....	1
I. Introducción .....	2
II. Objetivos .....	5
II.1 Objetivo General .....	5
II.2 Objetivos específicos .....	5
III. Marco teórico .....	6
III.1 Las vitaminas .....	6
III.1.1. Descripción .....	6
III.1.2. Características .....	6
III.1.2.1 Vitaminas liposolubles .....	6
III.1.2.2. Vitaminas hidrosolubles .....	7
III.2. La vitamina C .....	9
III.2.1 Definición .....	9
III.2.2 Características de la vitamina C .....	10
III.2.3 Funciones de la vitamina C .....	10
III.2.4 Aporte de vitamina C .....	11
III.2.4.1. Fuentes de origen animal .....	11
III.2.4.2. Fuentes de origen vegetal .....	11
III.2.4.3. Aportes suplementarios .....	11
III.2.5 Dosis diarias recomendadas de vitamina C .....	12
III.2.6 Deficiencia de vitamina C .....	12
III.2.7 Toxicidad de la vitamina C.....	13
III.2.8 Conservación de la vitamina C en los alimentos .....	13
III.3 Los agroalimentos .....	14
III.3.1. LA piña. ( <i>Ananas Comosus</i> ) .....	15
III.3.2. El tomate ( <i>Lycopersicon Esculentum</i> ) .....	15
III.3.3. El chiltomo O Pimiento ( <i>Capsicum Annuum</i> ) .....	16
III.3.4. La papa ( <i>Solanum Tuberosum</i> ) .....	17

---

III.3.5. El repollo ( <i>Brassica Oleracea</i> ) .....	17
III.3.6. El melocotón ( <i>Averrhoa Carambola</i> ) .....	18
III.3.7. La flor de jamaica ( <i>Hibiscus Sabdariffa L.</i> ) .....	19
III.4. Tratamiento de datos .....	20
III.4.1. Prueba de Bartlett .....	21
III.4.2. ANOVA de un factor .....	22
III.4.3. Correlación .....	23
III.4.4 Análisis de conglomerados .....	24
III.4.4.1. Medidas de disimilitud .....	25
III.4.4.2. Algoritmos de clasificación .....	25
III.4.4.3. Presentación de los resultados .....	25
III.4.4.4. Errores en la pendiente y ordenada en el origen de la recta de regresión .....	25
III.4.4.4.1. Cálculos de una concentración y su error aleatorio .....	27
III.5. Cromatografía líquida de alta resolución .....	30
III.6. Métodos utilizados para la determinación de vitamina C .....	32
IV. Materiales, equipos y metodología .....	33
IV.1. Equipos .....	33
IV.2. Materiales ..... I.....	33
IV.3. Reactivos .....	33
IV.4. Soluciones empleadas .....	34
IV.4.1. Solución extractante .....	34
IV.4.2. Solución madre de L-ácido ascórbico .....	34
IV.4.3. Soluciones para los puntos de la recta de regresión .....	34
IV.4.4. Fase móvil; acetato de potasio (0.1 M), pH 4.9 .....	34
IV.4.5. Metodología .....	35
IV.4.5.1. Selección de muestras .....	35
IV.4.5.2. Preparación de la muestra, extracción e inyección de la vitamina C .....	36
IV.4.5.2.1. Preparación de la muestra .....	36
IV.4.5.2.2. Extracción e inyección de la vitamina C .....	36
IV.4.6. Condiciones cromatográficas .....	37
V. Análisis de resultados .....	38

---

V.1. Determinación del contenido de ácido ascórbico extraídos de las muestras .....	38
V.2. Relación entre la concentración de vitamina C y la (DDR) de vitamina C .....	48
V.3. Estudio de las diferencias encontradas en el contenido de vitamina C .....	51
V.3.1. Test de Bartlett .....	51
V.3.2. ANOVA de un factor .....	54
V.3.3. Matriz de correlaciones .....	55
V.3.4. Análisis de componentes principales y dendogramas .....	57
VI. Conclusiones .....	60
VII. Recomendaciones .....	61
VIII. Bibliografía .....	62
IX. Anexos .....	64

## RESUMEN

En el presente trabajo, se determinó el contenido de vitamina C en siete muestras de agroalimentos: chiltomo, flor de jamaica, piña, papa, melocotón, tomate y repollo, las que fueron adquiridas en el mercado central de la ciudad de León. Las muestras analizadas fueron previamente sometidas a un pretratamiento de extracción con ácido metafosfórico con el fin de extraer la vitamina C para su determinación por la técnica de Cromatografía Líquida de Alta Resolución en Fase Reversa.

La aplicación del análisis de regresión lineal simple, reflejó evidentes diferencias entre las muestras analizadas. Los miligramos por cada 100 gramos de muestra, reflejó diferencias respecto al contenido encontrado en la bibliografía consultada. La relación del contenido de vitamina C respecto a la Dosis Diaria Recomendada (DDR) de esta vitamina, tomando como referencia porciones determinadas de las muestras, indicó que la mayoría incumple la DDR, excepto el chiltomo y la flor de jamaica.

La aplicación del test de Bartlett a todas las muestras, mostró heterocedasticidad de las varianzas excepto cuando se eliminaron tres de las muestras. El ANOVA de un factor indicó diferencias entre las medias de cuatro de las muestras, que mostraron homogeneidad de las varianzas.

La aplicación de herramientas de análisis multivariante tales como: análisis de correlación, análisis de componentes principales y análisis clasificatorio ascendente jerárquico, demostraron la existencia de similitudes entre las muestras objeto de este estudio, de forma que se obtuvieron tres agrupaciones, melocotón, papa y chiltomo, piña y repollo y jamaica y tomate, demostrando la utilidad de estas herramientas.

## I. INTRODUCCIÓN

Las vitaminas son sustancias orgánicas, de naturaleza y composición variada, imprescindibles en los procesos metabólicos que tienen lugar en la nutrición de los seres vivos, con lo cual obtienen buena salud, mejor actividad física y desenvolvimiento cotidiano. Las vitaminas no producen energía y por tanto no implican intercambio o generación de calorías.

Las vitaminas intervienen como catalizadores en las reacciones bioquímicas provocando la liberación de energía. En otras palabras, la función de las vitaminas es la de facilitar la transformación que siguen los sustratos a través de las vías metabólicas. Las vitaminas se clasifican entre otras formas, en dos grandes grupos según su capacidad de disolverse en agua o en cuerpos lípidos, en: hidrosolubles y liposolubles. Las vitaminas hidrosolubles son aquellas solubles en agua. Este grupo está conformado por las vitaminas del complejo B, la vitamina C y otros compuestos anteriormente considerados vitaminas como son el ácido fólico, pantoténico, la biotina y carnitina.

La vitamina C no es sintetizable por el organismo, por lo que se debe ingerir desde los alimentos que lo proporcionan, tales como: vegetales verdes o frutas cítricas. Así como en el caso de los hombres en que la vitamina C no es sintetizable por el organismo, los animales no pueden sintetizarlo tampoco, por tanto ningún alimento de origen animal cuenta con esta vitamina. La vitamina C participa en la formación y mantenimiento del colágeno, es antioxidante y ayuda a la absorción del hierro no hémico. La deficiencia o carencia de vitamina C puede producir o verse reflejada en diversas afecciones entre las que mencionamos: inflamación y sangrado de las encías, piel áspera y reseca, hematomas espontáneos, deficiencia en la cicatrización de heridas y sangrado nasal.

La vitamina C como ácido ascórbico se oxida fácilmente a ácido deshidroascórbico, llegando incluso a ser precursores de melanoidinas, por diversos arreglos y polimerizaciones, por lo que se utiliza (entre otros), como revelador fotográfico y como conservante. El ácido ascórbico y sus sales ascorbatos de sodio, potasio y calcio se utilizan de forma generalizada como antioxidantes y aditivos. Estos compuestos son solubles en agua por lo que no protegen a las grasas de la oxidación; para este propósito pueden utilizarse los ésteres del ácido ascórbico solubles en grasas con ácidos grasos de cadena larga (palmitato y estearato de ascorbilo).

Existen diferentes métodos analíticos utilizados para la determinación de la vitamina C, entre los cuales se mencionan: volumétrico, colorimétrico o UV-Vis, microfluorométrico y Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). Los primeros dos métodos carecen de especificidad y están sujetos a interferencias de la matriz, el tercero es específico para vitamina C total, el más utilizado es el HPLC, por su especificidad y selectividad.

La Cromatografía Líquida de Alta Resolución es una técnica cromatográfica de amplio y diversos usos. Esta técnica se basa en la separación de los componentes de una mezcla según su polaridad; donde el grado de retención depende de la naturaleza del compuesto, de la composición de la fase estacionaria y la fase móvil. Las fuerzas de interacción que intervienen en los procesos de separación de los compuestos, dependen de diversos factores entre los que podemos mencionar, la interacción de los grupos funcionales del compuesto a analizar y de la fase estacionaria, los factores estéricos y el pH entre otros. Mediante esta técnica es posible separar isómeros estructurales de los compuestos de forma que pueden ser diferenciados perfectamente uno de los otros.

El tiempo de retención se considera una propiedad identificativa característica de un compuesto en relación a una determinada fase móvil y estacionaria. Si se conoce el tiempo de retención de un compuesto se puede identificar y cuantificar su concentración, usando algunas de las propiedades del pico de este compuesto, tales como su altura o su área, respecto a la concentración conocida de estándares del mismo compuesto.

La Cromatografía Líquida de Alta Resolución en fase Reversa o RP-HPLC, se caracteriza por separar los compuestos en base a su polaridad. Esta técnica utiliza una fase estacionaria apolar y una fase móvil polar, y se utiliza cuando el compuesto de interés es poco polar. El compuesto apolar se asocia y es retenido por la fase estacionaria.

Bajo la denominación de agroalimentos se incluye una gran diversidad de alimentos de origen vegetal entre los que se mencionan: verduras, hortalizas, frutas, raíces, flores, brotes, tallos, etc., de frecuente consumo, ya sea crudos o cocinados. Son los alimentos que más contribuyen a la función reguladora del organismo.

Los agroalimentos son especialmente ricos en agua, hidratos de carbono y fibra. Tienen poca grasa y carecen de colesterol. Aportan una cantidad moderada de proteína de menor calidad que la de origen animal y contienen prácticamente casi todas las vitaminas y minerales.

Nicaragua por ser un país eminentemente agrícola, produce una gran cantidad de agroalimentos, incluyendo, frutas, verduras y hortalizas. Estos son consumidos por la población en su mayoría, aunque alguna cantidad es empleada para la exportación constituyendo una parte del potencial agroexportador del país.

En la actualidad, no existen estudios que ahonden en el análisis de los componentes principales de los alimentos, esto es los minerales, las proteínas y las vitaminas. Existen algunos laboratorios que se dedican a la determinación de algunos componentes entre los que están los del Ministerio Agroforestal (MAGFOR) o del Ministerio de Salud (MINSA), además de algunos privados. Sin embargo esto es más, con intenciones de cumplir requisitos de importadores que el de establecer un registro de los componente químicos de los agroalimentos.

En este sentido la UNAN-León, a través del Departamento de Química y su Laboratorio de Técnicas de Separación (LTS), ha venido desarrollando una línea de análisis en la determinación de los componentes químicos de los agroalimentos. Existen varios precedentes que apoyan lo antes dicho. La presente monografía se enmarca en esta línea de desarrollo del LTS.

## **II. OBJETIVOS**

### **II.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar el contenido de vitamina C en agroalimentos por Cromatografía Líquida de Alta Resolución en Fase Reversa (HPLC-RP), previa extracción con ácido metafosfórico.

### **II.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

1. Determinar el contenido de vitamina C en piña, tomate, chiltoma, papa, repollo, melocotón y flor de jamaica usando la técnica de HPLC-RP y análisis de regresión lineal simple.
2. Establecer el aporte nutricional de vitamina C de las muestras objeto de este estudio, relacionándolo con la DDR.
3. Aplicar herramientas análisis de comparación tales como: test de Bartlett, ANOVA, análisis de correlación, análisis de componentes principales y análisis clasificación ascendente jerárquico.

### **III. MARCO TEORICO**

#### **III.1 LAS VITAMINAS**

##### **III.1.1. DESCRIPCIÓN [1]**

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

Fue el bioquímico inglés Hopkins quien entre los años 1906 a 1912 propuso para las vitaminas el nombre de "factores accesorios de la alimentación". Esto debido a sus estudios del porqué se producían ciertas enfermedades, llegando a la conclusión de que las diferentes dolencias se generaban por la falta o carencia de algunas sustancias, las que luego se denominaron vitaminas.

Las vitaminas no producen energía y por tanto no implican intercambio o generación de calorías. Estas intervienen como catalizadores en las reacciones bioquímicas provocando la liberación de energía. En otras palabras, la función de las vitaminas es la de facilitar la transformación que siguen los sustratos a través de las vías metabólicas.

Tener una buena alimentación es indispensable para el desarrollo de todas nuestras habilidades físicas y mentales; además la deficiencia de vitaminas puede llevarnos a contraer enfermedades graves que podríamos corregir con una alimentación balanceada. La carencia de vitaminas se denomina Hipovitaminosis y el exceso de alguna de ellas puede producir Hipervitaminosis

##### **III.1.2. CARACTERÍSTICAS [1]**

Las vitaminas se clasifican entre otras formas, en dos grandes grupos según su capacidad de disolverse en agua o en cuerpos lípidos, en:

- a) HIDROSOLUBLES**
- b) LIPOSOLUBLES**

##### **III.1.2.1 VITAMINAS LIPOSOLUBLES: [2]**

Son aquellas solubles en cuerpos lípidos. En este grupo entran las vitaminas A, D, E y K. Las mismas son solubles en los cuerpos grasos, son poco alterables, y el organismo puede almacenarlas fácilmente. Dado que el organismo puede almacenarlas como reserva, su carencia estaría basada en malos hábitos alimentarios. En la Tabla III.1. se muestran algunas generalidades de las vitaminas liposolubles.

**Tabla III.1.** Generalidades de las vitaminas liposolubles. [2]

<b>Vitamina</b>	<b>Función en la que interviene.</b>	<b>Fuente</b>
<b>A</b>	Intervienen en el crecimiento, Hidratación de piel, mucosas pelo, uñas, dientes y huesos. Ayuda a la buena visión. Es un antioxidante natural.	Hígado, Yema de huevo, Lácteos, Zanahorias, Espinacas, Brócoli, Lechuga, Radiccio, Albaricoques, Damasco, Durazno, Melones, Mamón
<b>D</b>	Regula el metabolismo del calcio y también en el metabolismo del fósforo.	Hígado, Yema de huevo, Lácteos, Germen de trigo, Luz solar
<b>E</b>	Antioxidante natural. Estabilización de las membranas celulares. Protege los ácidos grasos.	Aceites vegetales, Yema de huevo, Hígado, Panes integrales, Legumbres verdes, Cacahuete, Coco, Vegetales de hojas verdes
<b>K</b>	Coagulación sanguínea.	Harinas de pescado, Hígado de cerdo, Coles, Espinacas

**III.1.2.2. VITAMINAS HIDROSOLUBLES [3]**

Son aquellas solubles en agua. Este grupo esta conformado por las vitaminas del complejo B, la vitamina C y otros compuestos anteriormente considerados vitaminas como son el ácido fólico, pantoténico, la biotina y carnitina.

Dentro de este grupo de vitaminas, las reservas en el organismo no revisten importancia, por lo que la alimentación diaria debe aportar y cubrir diariamente las necesidades vitamínicas. Esto, se debe justamente a que al ser hidrosolubles su almacenamiento es mínimo.

La necesidad de vitaminas hidrosolubles debe siempre tener en cuenta el nivel de actividad física del individuo, dado que el ejercicio activa numerosas reacciones metabólicas cuyas vitaminas son las coenzimas. Así se llega a una situación en la que para las actividades físicas intensas, existen riesgos de carencias y por tanto aparecen los suplementos. En la Tabla III.2. se muestran algunas generalidades de las vitaminas hidrosolubles.

**Tabla III.2.** Generalidades de las vitaminas hidrosolubles. [3]

<b>Vitamina</b>	<b>Función en la que intervienen</b>	<b>Fuente</b>
<b>B1</b>	Participa en el funcionamiento del sistema nervioso. Interviene en el metabolismo de glúcidos y el crecimiento y mantenimiento de la piel.	Carnes, yema de huevo, levaduras, legumbres secas, cereales integrales, frutas secas.

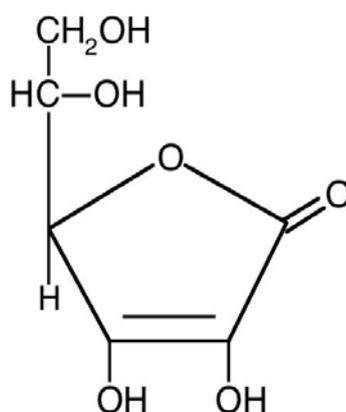
**Tabla III.2.** Generalidades de las vitaminas hidrosolubles (Continuación)

<b>B2</b>	Metabolismo de prótidos y glúcidos Efectúa una actividad oxigenadora y por ello interviene en la respiración celular, la integridad de la piel, mucosas y el sistema ocular por tanto la vista.	Carnes y lácteos, cereales, levaduras y vegetales verdes
<b>B3</b>	Metabolismo de prótidos, glúcidos y lípidos. Interviene en la circulación sanguínea, el crecimiento, la cadena respiratoria y el sistema nervioso.	Carnes, hígado y riñón, lácteos, huevos, en cereales integrales, levadura y legumbres
<b>Ácido Pantoténico</b>	Interviene en la asimilación de carbohidratos, proteínas y lípidos. La síntesis del hierro, formación de la insulina y reducir los niveles de colesterol en sangre.	Cereales integrales, hígado, hongos, pollo, brócoli.
<b>B6</b>	Metabolismo de proteínas y aminoácidos Formación de glóbulos rojos, células y hormonas. Ayuda al equilibrio del sodio y del potasio.	Yema de huevos, las carnes, el hígado, el riñón, los pescados, los lácteos, granos integrales, levaduras y frutas secas
<b>Biotina</b>	Cataliza la fijación de dióxido de carbono en la síntesis de los ácidos grasos. Interviene en la formación de la hemoglobina, y en la obtención de energía a partir de la glucosa.	Hígado vacuno, maníes, chocolate y huevos.
<b>Ácido fólico</b>	Crecimiento y división celular. Formación de glóbulos rojos	Carnes, hígado, verduras verdes oscuras y cereales integrales.
<b>Carnitina</b>	Interviene en el transporte de ácidos grasos hacia el interior de las células. Reduce los niveles de triglicéridos y colesterol en sangre. Reduce el riesgo de depósitos grasos en el hígado.	Principalmente en carnes y lácteos.
<b>B12</b>	Elaboración de células Síntesis de la hemoglobina Sistema nervioso	Sintetizada por el organismo. No presente en vegetales. Si aparece en carnes y lácteos.
<b>C</b>	Formación y mantenimiento del colágeno Antioxidante Ayuda a la absorción del hierro no hémico.	Vegetales verdes, frutas cítricas y papas

## III.2. LA VITAMINA C [4]

### III.2.1 DEFINICIÓN

La vitamina C en estado puro fue obtenida por Albert Szent-Györgyi en 1928, y, aunque en principio, la designó como ácido hexurónico, más tarde lo cambió por vitamina C. La vitamina C se describe como un polvo blanco, cristalino, muy soluble en agua, con un sabor muy similar al del zumo de naranja cuando se encuentra en solución. Asimismo, el vitamina C corriente se denomina, también como vitamina C, existiendo así mismo otra sustancia, denominada ácido D-ascórbico que es imagen especular de la anterior pero que no tiene la misma actividad de la vitamina C. En la Figura III.1. se muestra la conformación estructural del vitamina C.



*Figura III.1.* Conformación estructural de la vitamina C [6]

La vitamina C no es sintetizable por el organismo, por lo que se debe ingerir desde los alimentos que lo proporcionan: Vegetales verdes, frutas cítricas y papas. Así como en el caso de los hombres en que la vitamina C no es sintetizable por el organismo, los animales no pueden sintetizarlo tampoco, por tanto ningún alimento de origen animal cuenta con esta vitamina.

Respecto a cómo se absorbe la vitamina C en el organismo diremos que ésta es absorbida por un sistema de transporte activo localizado en el intestino y se reabsorbe a través de los riñones. Protege de la oxidación a las vitaminas A y vitamina E, como así también a algunas vitaminas del complejo B (tiamina, riboflavina, ácido fólico y ácido pantoténico). Si bien como con la mayoría de las vitaminas, los excesos se descartan por vía urinaria, el alerta radica en que como lo ingerido es un ácido, las dosis excesivas pueden rebasar la resistencia de la pared gástrica y su intensa recirculación renal puede afectar el riñón.

No es inocua la administración indiscriminada de vitamina C, dado que a medida que el organismo se satura, disminuye su absorción, y aportando grandes dosis, la suprime abruptamente. Por tanto si se continúa con dieta escasa en la vitamina, puede aparecer "escorbuto de rebote".

Adicionalmente al "escorbuto de rebote", a la intolerancia gástrica y renal, su consumo disminuye la cobalamina (vitamina B12), que es una sustancia sintetizada por el organismo.

### **III.2.2 CARACTERÍSTICAS DE LA VITAMINA C**

La vitamina C va ligada al verde de las hojas. Las verduras más ricas en vitamina C son los pimientos, el perejil, las espinacas, la coliflor, las acelgas, los calabacines, el repollo, la lechuga, y el tomate. [24]

Se destruye por la acción del calor; por lo tanto, es preferible consumir los alimentos que lo contienen en forma cruda o no demasiado cocidos. Además es soluble en agua y por lo tanto pasa al líquido de cocción. En contacto con el aire, se oxida y pierde actividad. La oxidación puede acelerarse por la presencia de hierro, cobre o PH alcalino. También se destruye en presencia del alcohol etílico. [4]

La vitamina C se elimina a las tres horas de ingerirla, por lo que debe tomarse varias veces al día. Se potencia en presencia de bioflavonoides (presentes en la capa blanca de los cítricos debajo de la piel), calcio y magnesio. [7]

La vitamina C ayuda a absorber el hierro, por lo tanto cuando llevemos a cabo una alimentación contra la anemia, o carencia de hierro, será conveniente tomar un zumo de naranja al terminar las comidas, de esta manera la biodisponibilidad del hierro se ve enormemente aumentada.[4]

### **III.2.3 FUNCIONES DE LA VITAMINA C [4]**

1. Mejora la visión y ejerce función preventiva ante la aparición de cataratas o glaucoma.
2. Es antioxidante, por lo tanto neutraliza los radicales libres, evitando así el daño que los mismos generan en el organismo.
3. Su capacidad antioxidante hace que esta vitamina elimine sustancias toxicas del organismo, como por ejemplo los nitritos y nitratos presentes en productos cárnicos preparados y embutidos. Los nitratos y nitritos aumentan la probabilidad de desarrollar cáncer.

4. Su virtud como antioxidante nos protege ante el humo del cigarrillo, y como mejora el sistema inmune, es también utilizada en pacientes sometidos a radio y quimioterapia.
5. Es antibacteriana, por lo que inhibe el crecimiento de ciertas bacterias dañinas para el organismo.
6. Reduce las complicaciones derivadas de la diabetes tipo II
7. Disminuye los niveles de tensión arterial y previene la aparición de enfermedades vasculares.
8. Tiene propiedades antihistamínicas, por lo que es utilizada en tratamientos antialérgicos, contra el asma y la sinusitis.
9. Ayuda a prevenir o mejorar afecciones de la piel como eccemas o soriasis.
10. Es cicatrizante de heridas, quemaduras, ya que la vitamina C es imprescindible en la formación de colágeno.
11. Aumenta la producción de estrógenos durante la menopausia, en muchas ocasiones esta vitamina es utilizada para reducir o aliviar los síntomas de sofocos y demás.
12. Mejora el estreñimiento por sus propiedades laxantes.
13. Repara y mantiene cartílagos, huesos y dientes.

#### **III.2.4 APORTE DE VITAMINA C [4]**

##### **III.2.4.1. FUENTES DE ORIGEN ANIMAL [4]**

La vitamina C no aparece en alimentos de origen animal.

##### **III.2.4.2. FUENTES DE ORIGEN VEGETAL [4]**

La gran mayoría de las frutas y verduras contienen vitamina C. Los que tienen mayor contenido de vitamina C son los pimientos, los cítricos, las coles, la coliflor, espinacas, las patatas (papas) frutas como el plátano, los mangos, la manzana, piña (ananá) y melón. Los escaramujos o rosa canina son la fuente más potente en vitamina C. Aproximadamente el 7% de su peso corresponde a la vitamina.

##### **III.2.4.3. APORTE SUPLEMENTARIOS [4]**

Existen en el mercado preparados farmacéuticos, que proporcionan cantidades específicas de vitamina C. Entre estos podemos tener: tabletas, tabletas efervescentes, cápsulas, tónicos, complementos vitamínicos, etc.

**III.2.5 DOSIS DIARIAS RECOMENDADAS DE VITAMINA C [4]**

En la tabla III.3. se muestra los datos de ingesta diaria recomendada (IDR) o dosis diaria recomendada (DDR) de vitamina C, para hombres y mujeres en diferentes rangos de edad desde 0 a 12 meses hasta mayores de 50 años. Estos datos fueron tomados del Departamento de Nutrición del IOM (Institute of Medicine: Instituto de Medicina) y USDA (United States Department of Agriculture: Departamento de Agricultura de Estados Unidos).

**Tabla III.3.** Dosis diaria recomendada (DDR) de vitamina C [4]

<b>Edad</b>	<b>Hombres (mg/día)</b>	<b>Mujeres (mg/día)</b>
0 a 12 meses	ND	
1 a 3 años	15	
4 a 8 años	25	
9 a 13 años	45	45
14 a 18 años	75	65
19 a 50 años	90	75
>50 años	90	75
Embarazo		80 a 85
Lactancia		115

**III.2.6 DEFICIENCIA DE VITAMINA C [4]**

La deficiencia o carencia de vitamina C (vitamina C) puede producir o verse reflejada en diversas afecciones entre las que mencionamos:

1. Inflamación y sangrado de las encías
2. Piel áspera y reseca
3. Hematomas espontáneos
4. Deficiencia en la cicatrización de heridas
5. Sangrado nasal
6. Dolor e inflamación articular
7. Anemia
8. Esmalte dental debilitado
9. La carencia más grave de vitamina C se conoce como escorbuto, que se observa con mayor frecuencia en ancianos y desnutridos. El escorbuto está caracterizado por un debilitamiento general del organismo, anemia, encías inflamadas y hemorragias.

Consumiendo una dieta variada y balanceada con un alto contenido de frutas y verduras, la dosis mínima de vitamina C, está absolutamente cubierta.

### III.2.7 TOXICIDAD DE LA VITAMINA C [4]

En la tabla III.4. se muestra el Límite Más Alto Tolerable (LMAT) o Ingesta Máxima Recomendada (IMR) de vitamina C, esto para hombres o mujeres mayores de 19 años.

Dosis elevadas (más de 1000 mg por día) pueden provocar dolores de cabeza y diarrea. Las dosis altas prolongadas pueden aumentar el riesgo de piedras en los riñones. La vitamina C aumenta la absorción de hierro para que las personas con alteraciones en la sangre, como hemocromatosis, talasemia o anemia sideroblástica, deban sobre todo evitarse dosis elevadas de esta vitamina. Las dosis elevadas pueden también diluir la sangre e interferir con fármacos anticoagulantes, análisis de sangre para la diabetes, y análisis de heces. El escorbuto de rebote puede producirse después de la supresión súbita de grandes dosis a largo plazo. Esto puede afectar a los hijos de embarazadas que suprimen súbitamente estas dosis altas

**Tabla III.4.** Ingesta Máxima Diaria de vitamina C

IMD mg/día
2000

### III.2.8 CONSERVACION DE LA VITAMINA C EN LOS ALIMENTOS [5]

Las pérdidas de vitamina C cuando se preparan y se conservan vegetales en el refrigerador durante 24 horas pueden ser del 45% en productos frescos y de un 52% en congelados.

Considerando un almacenamiento a una temperatura ambiente de 20°C, una legumbre verde pierde el 35% de su cantidad de vitamina C. Considerando un almacenamiento en una refrigeradora convencional a una temperatura de 4°C, la pérdida de vitamina C en un solo día es del 10%.

Considerar lo que se descarta y/o no se consume de muchas frutas y legumbres implica reconocer una gran pérdida de potencial vitamínico de los alimentos.

Al momento de la cocción, la pérdida de vitaminas es inevitable. El agua, el calor y el tiempo disminuyen el nivel vitamínico de cualquier porción por una oxidación acelerada del contenido. Esto no va a hacer que dejemos de hervir un vegetal, pero es útil conocerlo dado que su contenido vitamínico será notoriamente inferior al natural.

### III.3 LOS AGROALIMENTOS

Bajo la denominación de agroalimentos se incluye una gran diversidad de alimentos de origen vegetal: **verduras, hortalizas, frutas, raíces, flores, brotes, tallos, etc.**, de frecuente consumo en nuestro país, bien sea en crudo o cocinados; y algunos bien diferenciados en su composición química. Son los alimentos que más contribuyen a la función reguladora del organismo [26]

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 todas las vitaminas y minerales (aunque en el caso del hierro, éste sea de escasa biodisponibilidad). Los alimentos de origen vegetal carecen de retinol y vitaminas B12 y D. [24]

Una buena manera de aportar al organismo los elementos minerales y vitaminas que necesita es consumir diariamente un buen plato de ensalada y uno de fruta. Una buena manera puede ser también el tomar todos los días un jugo preparado en la licuadora, preferiblemente en ayunas, ya que la absorción es mejor cuando el estómago y el intestino están vacíos. No debemos pelar la fruta puesto que el mayor contenido de minerales y vitaminas se encuentra en la piel. Sí es conveniente lavarla bien para retirar los posibles restos de pesticidas. Otra buena medida es aprovechar el agua de cocer los alimentos para hacer caldos y sopas. [10]

Debemos tener en cuenta que la mayor parte de las vitaminas sintéticas no pueden sustituir a las orgánicas, es decir, a las contenidas en los alimentos o extraídas de productos naturales (levaduras, germen de trigo, etc.). Aunque las moléculas de las vitaminas de síntesis tengan los mismos elementos estructurales que las orgánicas, en muchos casos no tienen la misma configuración espacial, por lo que cambian sus propiedades.

Una dieta rica en vegetales es recomendada acompañada de frutas y granos, un estudio epidemiólogo encontró que una dieta con esta composición tiene una negativa asociación con el riesgo de enfermedades crónicas. Vitaminas antioxidantes en vegetales son algunos de los importantes nutrientes, además de otras vitaminas, minerales, flavanoides y fotoquímicos los cuales han sido reportados como contribuyentes de la salud.

### III.3.1. LA PIÑA. (*Ananas Comosus*) [11]

La piña es una fruta tropical originaria de Brasil. Allí la encontraron los españoles durante la conquista de América. Los indígenas la llamaban Ananas, que significa “fruta excelente”. Todos los países la llaman así excepto en España. La piña es una fruta de la familia de las *Bromeliáceas*, son plantas *herbáceas*, que necesitan de un clima tropical para crecer en su estado óptimo y además debe madurar en árbol, sino está ácida y no madura fuera. Los principales países productores de piñas son: China EEUU, Brasil, Filipinas, Costa Rica, Tailandia, México.

Existen una 1.400 especies de la familia de *Bromeliáceas* y 3 variedades de esta planta *herbácea*: *Sativus*, *Comosus* y *Lucidus*. Las clases más conocidas son: *Smoth Cayenne*, *Queen* (Australia y Sudáfrica), *Red Spanish* (Costa Rica y Cuba), *Pernambuco* (Brasil), *Enanas* (Baby Sudáfrica), *Amazonas* (Sudamérica).

La piña contiene un 85% de agua, hidratos de carbono y fibra. Es excelente para las dietas adelgazantes. La piña contiene: vitaminas: C mucha, B1, B6 y un poco de E, minerales: potasio, magnesio, yodo, cobre, manganeso. otros: ácido fólico, ácido cítrico, ácido málico, ácido oxálico, enzima bromelina.

El Contenido de vitamina C de la piña es por cada 100 g: 20 mg. [12]

### III.3.2. EL TOMATE (*Lycopersicon esculentum*) [13]

El **tomate** pertenece a la familia de las *Solanáceas* y necesita de climas templados, para crecer sin problemas. Fruto de la planta tomatara, de color rojo cuando está maduro. Es una hortaliza de riquísimas propiedades culinarias y para la salud. Es rico en vitaminas C y A. Investigaciones recientes muestran su capacidad de prevención de enfermedades como el cáncer con sustancia casi exclusivas como el licopeno. Entre sus propiedades, hay que destacar que es un excelente antioxidante, defensor de las paredes celulares de los tejidos y la piel, depurador de productos tóxicos (recomendable en dietas de adelgazamiento).

Existe una extraordinaria variedad y calidad de tomates. Entre otras se mencionan: *Tomate en rama*, *Tomate de pera*, (para conservas), *Tomate canario*, de sabor dulce, *Tomate cherry* (afutado), *Tomate verde*, (pulpa dura para ensaladas), *Tomate de Monserrat* (también ideal para ensaladas). Y el rey de pata negra: el tomate Raf. Hay sitios ya clásicos en las calidades: *Tomates Muchamiel*, *Tomates Mazarrón/Almería*, *Tomate canario*. Es posible comerlo todo el año.

En Centro América, especialmente en México, existe una variedad de tomate rojo, llamado *Jitomate*, especial para hacer salsas, zumos, guisados o crudos en ensalada, que se utiliza muchísimo.

El Tomate contiene: vitaminas C y A, del grupo B, PP y K, minerales: fósforo, hierro, calcio, magnesio, manganeso, zinc, cobre, potasio y sodio, bioflavonoides, licopeno y altas propiedades antioxidantes y por tanto un excelente aliado contra el cáncer.

El contenido de vitamina C del tomate es por cada 100 g: 23 mg [14]

### **III.3.3. EL CHILTOMO O PIMIENTO (*Capsicum annuum*) [15]**

El chiltomo o pimiento es originario de México, Bolivia y Perú. Llegaron a España en 1493, después del primer viaje de Cristóbal Colón a América. Los indígenas americanos los llamaban chili, pero los españoles y los portugueses los llamaron pimientos o pimientos de Brasil. A partir del siglo XVI se empezaron a cultivar en España y de ahí pasó a Italia y desde Italia llegó a Francia. Los portugueses se encargaron de hacerlos llegar al resto de Europa y al resto del mundo. Pero las variedades más grandes y carnosas dulces o poco picantes, que consumimos actualmente, empezaron a cultivarse a partir del siglo XX. El Pimiento pertenece a la familia de las *Solanáceas*, al género de las *Capsicum*, del que existen 2.300 especies, a ellas también pertenecen el tomate y la berenjena.

Existen muchas clases de pimientos, los hay verdes, amarillos y rojos. Los verdes son los más suaves y los rojos tienen el sabor más marcado. Los más utilizados son: Pimiento Morrón, Pimiento picante (grupo al que pertenecen los piquillos, los del Padrón, las Guindillas y los de Gernika), Choriceros, Ñoras, Pimiento dulce italiano. Se clasifican por su forma y tamaño en: de forma cuadrada, de los que existen 3 tipos: maravilla de California, Sitaki y Salsa. De forma alargada o rectangular, son los más consumidos y apreciados en el consumo diario: Reus y Lamuya.

El pimiento tiene un aporte calórico importante, mucha agua, fibra y casi no tiene grasas, por lo que se puede tomar en dietas de adelgazamiento. El pimiento contiene: vitaminas: C (muchísima, más que los cítricos) E, A, B1, B2, B3, B6, minerales: fósforo y magnesio, potasio, calcio, otros: ácido fólico, carotenos, capsantina, beta carotenos.

El contenido de vitamina C del chiltomo es por cada 100 g: 131 mg [16]

### III.3.4. LA PAPA (*Solanum tuberosum*) [17]

La papa es originaria del altiplano Andino en el siglo VIII a. J.C. Llegó a España con los conquistadores Españoles en 1570 y de España pasó al resto de Europa, a partir de 1593. A partir del s. XVIII es cuando se extiende de forma masiva sus cultivos y empieza a tener la importancia que se le da ahora. Es una planta herbácea, que pertenece a la familia de las *Solanaceae*. Necesita de un clima templado-frío, para cultivarse correctamente. Si hace demasiado frío le perjudica. Actualmente, los principales productores son: China, Rusia, India, EEUU, Ucrania, Polonia y Alemania, con tienen destinadas extensiones inmensas de cultivos.

La patata tiene más de 200 variedades y se clasifican por su color de piel y de carne, por sus yemas y por su forma y tamaño: Agria, Bartina, Bimonda, Cantante, Fábula, Frisa, Inca, Marka, Mundial, Incola, Obelix, Spunta y Xantia., son algunas de ellas. Según la clase a la que pertenecen y sus características, son mejores para hervir o son idóneas para freír. Hoy en día, en los supermercados, ya las venden seleccionadas, para una cosa o para otra.

La papa contiene un 82% de agua, pero muchas calorías, proteínas, almidón, fibra, Glúcidos, por lo que no es recomendable en las dietas de adelgazamiento. La papa contiene: vitaminas: C, A, B1, B2, B6, PP, minerales: un aporte de potasio increíble, también mucho de fósforo, y ya menos de magnesio, calcio, sodio, hierro, Otros: Niacina, ácido fólico, hidratos de carbono.

El contenido de vitamina C de la papa es por cada 100 g: 18 mg

### III.3.5. EL REPOLLO (*Brassica oleracea*) [18]

La Col o Repollo es originaria de Europa. Hay constancia que los Celtas, Griego y Romanos ya la consumían y estos últimos, lo utilizaban para los problemas intestinales, pulmonares y para incrementar la leche en las madres que estaban amamantando. También hay constancia de que los descubridores la llevaron a América, para plantar sus verduras y legumbres. Lo que no se sabe es si ya existía, porque en tierras Americanas existía un género llamado quelites, que englobaban muy montón de vegetales silvestres que los indígenas consumían. Las Coles de Bruselas son originarias del norte de Europa, concretamente del norte de Francia y de Bélgica, De ahí su nombre por Bruselas, por la capital de Bélgica. Y estas necesitan de un clima frío y húmedo para ser cultivadas. Los países que más la consumen son: Francia, Bélgica, Holanda, Alemania y Reino Unido.

La Col pertenece a la familia de las *Crucíferas* y se cultiva en campos. Existen muchas especies de este género, pero de la misma familia tenemos a las Coles de Bruselas, el Brecol, el Repollo y Coliflor. Necesitan de climas templados. Todas ellas contienen Azufre, que es un potente antioxidante.

Son más de 380 géneros y 3.000 especies, pero existen 3 variedades de coles que se comercializan: *Berza o Repollo verdi-blanco liso*: es la más común, *Col Blanca o de Milán, o Repollo Rizadoo Crespo o Col de Savoy, Col Lombarda o col roja o morada, Repollo chino o Akusai*. A la familia de las crucíferas, también pertenecen el grupo siguiente y decir, que todas poseen los mismos Componentes activos, pero con algunas diferencias de la una a la otra: **Coles de Bruselas** o Repollito de B.: se diferencian por tener más vitamina A, mucho potasio y calcio, fósforo, sodio y magnesio, **Brécol o Brócoli**: la variedad más consumida *Calabrés*. Hay que consumirlo rápidamente, sino se estropea. Tiene más vitamina A, C, potasio, calcio y hierro, magnesio, azufre, folatos, **Repollo**: destaca por su contenido en vitamina C, A, potasio, fósforo, magnesio, folatos, **Coliflor**: destaca por su contenido en fibra, vitamina C, Azufre y fósforo.

El repollo contiene 92% de agua, fibra, pocas calorías, hidratos de carbono, vitaminas: A, C, E y B, minerales: muy rico en azufre y potasio, fósforo, aluminio, calcio, fluor, bario, magnesio y bromo, otros: ácido fólico, niacina, biotina, mucílagos, quecetina, tirosina, leucina, cistina, ácido glutamínico, arginina, amoníaco, nitratos, lauteína.

El contenido de ácido ascórbico del repollo es por cada 100 g: 70 mg [19]

### III.3.6. EL MELOCOTON (*Averrhoa Carambola*) [20]

La carambola también llamada melocotón es una fruta exótica muy cotizada en los mercados internacionales, conocida popularmente como "fruta estrella". Pertenece a la familia de las Oxalidáceas. Además, en función de su procedencia, recibe distintos nombres: en la República Dominicana, "cinco dedos"; en Costa Rica, "tiriguro"; en Brasil, "caramboleiro" y en Venezuela, "tamarindo chino" o "tamarindo dulce". Es una fruta con una forma muy bonita, de gran empleo en la decoración de diversos platos exquisitos.

La carambola es una fruta originaria y propia de Indonesia y Malasia. Su cultivo se ha extendido a otros países tropicales de Asia y América. Los principales países productores hoy en día son Tailandia, Brasil, Colombia y Bolivia. La carambola y el bilimbín, ambas frutas de formas similares, son las dos únicas variedades que producen las plantas que pertenecen a la familia de las Oxalidáceas.

Su componente mayoritario es el agua. Contiene pequeñas cantidades de hidratos de carbono simples y aún menores de proteínas y grasas, por lo que su valor calórico es muy bajo. La pulpa de la carambola es rica en oxalato de calcio y fibra soluble. Contiene una cantidad moderada de provitamina A y de vitamina C. En cuanto a minerales, destaca su contenido en potasio. En menor proporción se encuentran ciertas vitaminas del grupo B y minerales como el calcio, de peor aprovechamiento que el que procede de los lácteos u otros alimentos que son buena fuente de dicho mineral.

El contenido de vitamina C del melocotón es por cada 100 g: 25.8 mg [21]

### **III.3.7. LA FLOR DE JAMAICA (*Hibiscus Sabdariffa L.*) [22]**

La rosa de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), también conocida como rosa de Abisinia o flor de Jamaica, es un hibisco de la familia de las Malváceas, originario de África tropical, desde Egipto y Sudán hasta Senegal, aunque, debido a sus propiedades medicinales, se cultiva con éxito en América Central y del Sur y en el sudeste asiático, incluido el sur de China.

Se trata de una planta herbácea anual que puede alcanzar de 3 a 5 metros de altura. Es propia de climas secos subtropicales, montanos, de matorral espinoso. Las hojas, tri o pentalobuladas, tienen unos 15 cm de longitud, alternas en el tallo, y las flores, de color rojo en la base y más pálido en los extremos, tienen de 8 a 10 cm de diámetro, aunque lo más destacable de la planta es el cáliz, carnoso y de un color rojo intenso, que se recoge en el momento en que alcanza un tono vinoso y se deja secar para su uso como infusión.

El contenido de vitamina C de la flor de jamaica es por cada 100 g: 17 mg en cálices [23]

### III.4. TRATAMIENTO DE DATOS

Para el tratamiento de los datos obtenidos del análisis de muestras de diversos orígenes, los laboratorios de servicio o investigación, suelen usar diferentes estrategias de tratamiento estadístico, de estos datos.

En este sentido los laboratorios, pueden utilizar una gran variedad de herramientas estadísticas definidas para usos generales o concretos. Una vez que los datos han sido obtenidos como mínimo por triplicado, se deben definir que o cual herramienta nos sirve para el propósito que nos hemos planteado. Así si nuestra intención es expresar el error o incertidumbre de la medida objeto de nuestro estudio, debemos identificar las fuentes de incertidumbre que afectan a la medida o mensurando y luego en base a un procedimiento establecido utilizar las herramientas adecuadas para tal fin. Pero si nuestro fin es estudiar la posible relación o asociación entre muestras de un mismo material debemos utilizar otras herramientas, también ya definidas.

En muchos casos el error o incertidumbre, puede ser expresado como la desviación estándar de las medidas o como el intervalo de confianza de las medidas. Esto aplicable cuando existan pocas fuentes que afecten a la medida. Sin embargo cuando existan muchas fuentes que la afecten, se debe considerar la aplicación de un protocolo que considere todas las fuentes, lo que convierte a este cálculo en algo muy complejo, pero que necesariamente debe hacerse. En algunos casos cuando se trabaje con rectas de regresión, la incertidumbre de la medida puede ser calculada usando la denominada: Incertidumbre de las predicciones, que toma en cuenta pendiente, las replicas, el numero de puntos de la recta, etc. lo cual nos da un valor de incertidumbre bastante acertado.

En el caso en que nuestro fin sea el comparar, relacionar o asociar muestras, podemos emplear diversas herramientas, entre las que se mencionan:

1. Comparación de varianzas a través de los test de Fisher, Bartlett o Levene.
2. Comparación de medias: respecto a un valor conocido, apareadas, distintas con varianzas iguales o diferentes, ANOVA de un factor o de dos o más factores.
3. Análisis de correlación.
4. Análisis de componentes principales
5. Análisis clasificadorio ascendente o Dendogramas

Existen diversos criterios a seguir para la aplicación de tal o cual herramienta, esto es el orden de aplicación Ramis Ramos y García Álvarez-Coque en su libro Quimiometría, recomiendan el uso de comparación de varianzas esto es la homocedasticidad o heterocedasticidad de estas, previo al empleo de ANOVA. Si se encuentran que son homocedasticidad se emplea ANOVA en caso contrario se debe buscar ésta para el empleo de ANOVA.

**III.4.1. PRUEBA DE BARTLETT [27]**

La prueba de Bartlett es la técnica que mas es usada para comparar las varianzas de varias muestras y para determinar si las muestras son iguales. Si hay igualdad esto se denomina homogeneidad u homocedasticidad de las varianzas En esta prueba los  $n_i$  en cada valor de X no necesitan ser iguales; sin embargo se recomienda que los  $n_i$  no sean menores que 3 y muchos de los  $n_i$  deben ser mayores de 5.

Para el desarrollo de la prueba de Bartlett se debe calcular inicialmente una varianza conjunta, definida como:

$$S^2 = \frac{\sum (n_i - 1)S_i^2}{\sum (n_i - 1)}$$

En donde se toman en cuenta todas las varianzas de las  $n_i$  muestras. Una vez obtenido su valor se calcula un factor de corrección definido por C [32]

$$C = \frac{1 + \sum_{i=1}^h \left( \frac{1}{n_i - 1} - \frac{1}{N - h} \right)}{3(h - 1)}$$

En donde N es el número total de datos, h es el número de series y N-h es número total de grados de libertad [32]

$$\chi^2 = \frac{1}{C} \left| (N - h) \ln S^2 - \sum_{i=1}^h (n_j - 1) \ln S_i^2 \right|$$

En esta prueba las hipótesis nula y alternativa son:

$$H_0 = S_1^2 = S_2^2 = S_3^2 = S_4^2 = S_5^2 = \dots S_i^2$$

$$H_1 = S_1^2 \neq S_2^2 \neq S_3^2 \neq S_4^2 \neq S_5^2 \neq \dots S_i^2$$

Se acepta  $H_0$  si:

$$\chi_{\text{cal}}^2 < \chi_{h-1,0.05}^2$$

Se rechaza en caso contrario.

### III.4.2. ANOVA DE UN FACTOR [28]

Análisis de varianza (**ANOVA**, según terminología inglesa) es una colección de modelos estadísticos y sus procedimientos asociados. El análisis de varianza sirve para comparar si las medias de un conjunto de datos numéricos son significativamente distintos a los valores de otro o más conjuntos de datos. El procedimiento para comparar estos valores está basado en la varianza global observada en los grupos de datos numéricos a comparar. Típicamente, el análisis de varianza se utiliza para asociar una probabilidad a la conclusión de que la media de un grupo de puntuaciones es distinta de la media de otro grupo de puntuaciones.

El ANOVA se basa en la descomposición de la variación total de los datos con respecto a la media global (SCT), que bajo el supuesto de que  $H_0$  es cierta con una cierta estimación obtenida a partir de toda la información muestral, en dos partes:

1. **Variación dentro de las muestras (SCD) o Intra grupos**, cuantifica la dispersión de los valores de cada muestra con respecto a sus correspondientes medias.
2. **Variación entre muestras (SCE) o Inter-grupos**, cuantifica la dispersión de las medias de las muestras con respecto a la media global.

Las expresiones para el cálculo de los elementos que intervienen en el Anova son las siguientes:

$$\text{Media Global: } \bar{X} = \frac{\sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} X_{ij}}{n}$$

$$\text{Variación Total: } SCT = \sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} (X_{ij} - \bar{X})^2$$

$$\text{Variación Intra-grupos: } SCD = \sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} (X_{ij} - \bar{X}_j)^2$$

$$\text{Variación Inter-grupos: } SCE = \sum_{j=1}^k (\bar{X}_j - \bar{X})^2 n_j$$

Siendo  $x_{ij}$  el  $i$ -ésimo valor de la muestra  $j$ -ésima;  $n_j$  el tamaño de dicha muestra y  $\bar{x}_j$  su media. Cuando la hipótesis nula es cierta  $SCE/K-1$  y  $SCD/n-K$  son dos estimadores insesgados de la varianza poblacional y el cociente entre ambos se distribuye según una  $F$  de Snedecor con  $K-1$  grados de libertad en el numerador y  $N-K$  grados de libertad en el denominador.

Por lo tanto, si  $H_0$  es cierta es de esperar que el cociente entre ambas estimaciones será aproximadamente igual a 1, de forma que se rechazará  $H_0$  si dicho cociente difiere significativamente de 1.

En esta prueba las hipótesis nula y alternativa son:

$$H_0 = \bar{X}_1 = \bar{X}_2 = \bar{X}_3 = \bar{X}_4 = \bar{X}_5 = \dots \bar{X}_i$$

$$H_1 = \bar{X}_1 \neq \bar{X}_2 \neq \bar{X}_3 \neq \bar{X}_4 \neq \bar{X}_5 \neq \dots \bar{X}_i$$

Se acepta  $H_0$  si:

$$F_{cal}^2 < F_{(h-1),(N-h), 0.05}^2$$

Se rechaza en caso contrario.

El ANOVA se basa en la comparación de la variabilidad media que hay entre los grupos con la variabilidad que hay dentro de los grupos.

Un método computacional conocido como tabla ANOVA facilita los cálculos. Se trata de disponer en forma de tabla ciertas cantidades que conducen a la obtención del F calculado. En la Tabla III.5. se muestra la tabla de resultados de ANOVA.

**Tabla III.5.** Tabla de ANOVA.

Variabilidad	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrados Medios	$F_{cal}$
Entre	$SCE = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (\bar{x}_i - \bar{x})^2$ $= \sum_{i=1}^k n_i (\bar{x}_i - \bar{x})^2$	$k - 1$	$MSE = \frac{SS_E}{k-1}$	$\frac{MSE}{MSD}$
Dentro	$SCD = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{x}_i)^2$ $= \sum_{i=1}^k (n_i - 1) x_i^2$	$n - k$	$MSD = \frac{SS_D}{n-a}$	
Total	$SCT = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{x})^2$	$n - 1$		

### III.4.3. CORRELACIÓN. [29]

El **coeficiente de correlación de Pearson** es un índice estadístico que mide la relación lineal entre dos variables cuantitativas. A diferencia de la covarianza, la correlación de Pearson es independiente de la escala de medida de las variables.

$$S_{xy} = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{n}$$

Donde:

$x_i$  y  $y_i$  Son las variables para  $n$  datos que intervienen en el estudio.

El valor del índice de correlación varía en el intervalo  $[-1, +1]$ :

1. Si  $S_{xy} = 0$ , no existe ninguna correlación. El índice indica, por tanto, una independencia total entre las dos variables, es decir, que la variación de una de ellas no influye en absoluto en el valor que pueda tomar la otra.
2. Si  $S_{xy} = 1$ , existe una correlación positiva perfecta. El índice indica una dependencia total entre las dos variables denominada *relación directa*: cuando una de ellas aumenta, la otra también lo hace en idéntica proporción.
3. Si  $0 < S_{xy} < 1$ , existe una correlación positiva.
4. Si  $S_{xy} = -1$ , existe una correlación negativa perfecta. El índice indica una dependencia total entre las dos variables llamada *relación inversa*: cuando una de ellas aumenta, la otra disminuye en idéntica proporción.
5. Si  $-1 < S_{xy} < 0$ , existe una correlación negativa

En realidad la correlación es una medida sobre el grado de relación entre dos variables, sin importar cual es la causa y cual es el efecto. La dependencia de la que se habla en este sentido es la dependencia entre la varianza de las variables.

#### III.4.4 ANÁLISIS DE CONGLOMERADOS. [30]

El **análisis de conglomerados**. Es una técnica multivariante que busca agrupar elementos (o variables) tratando de lograr la máxima homogeneidad en cada grupo y la mayor diferencias entre los grupos.

El **dendograma** es la representación gráfica que mejor ayuda a interpretar el resultado de un análisis de conglomerados.

##### III.4.4.1. MEDIDAS DE DISIMILITUD. [30]

Partimos de una matriz de información que contiene las observaciones de todas las variables sobre los diferentes elementos considerados y calculamos las diferencias entre dichos elementos mediante alguna de las medidas de disimilitud habituales: la **distancia**

**Euclidiana**  $\left( \sqrt{\sum_{j=1}^j (X_{ij} - X_{sj})^2} \right)$  su cuadrado, la **distancia de City-Block**  $\left( \sum_{j=1}^j |X_{ij} - X_{sj}| \right)$

### III.4.4.2. ALGORITMOS DE CLASIFICACIÓN. [30]

Para clasificar los elementos en clusters utilizaremos **algoritmos jerárquicos**, que pueden ser **acumulativos** (se forman grupos haciendo *clusters* cada vez más grandes) o **diminutivos** (partiendo de un solo grupo se separan los elementos en *clusters* cada vez más pequeños).

Entre los algoritmos jerárquicos acumulativos destacan los siguientes métodos:

1. **Método de las distancias mínimas:** se busca la mayor semejanza entre los elementos o grupos más cercanos.
2. **Método de las distancias máximas:** se calcula la mínima distancia entre los elementos más alejados.
3. **Método de las distancias medias:** se calcula la media de las distancias entre elementos.

### III.4.4.3. PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS.

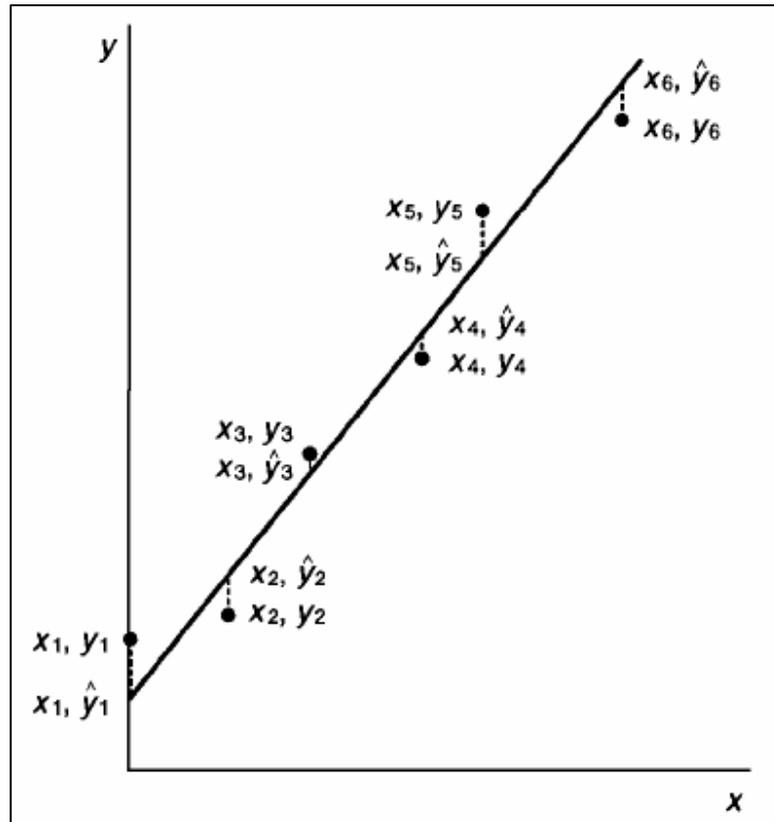
Para representar la estructura jerárquica de la formación de los conglomerados se utiliza el **dendograma**, un gráfico que tiene forma de árbol invertido. Así, a partir de los K elementos observados podemos identificar desde 1 hasta K, según el número de grupo que queramos obtener, sin más que realizar la segmentación horizontal adecuada. [31]

### III.4.4.4. ERRORES EN LA PENDIENTE Y ORDENADA EN EL ORIGEN DE LA RECTA DE REGRESIÓN [31]

Los errores aleatorios en los valores de la pendiente y ordenada en el origen son importantes, considerándose ahora las ecuaciones utilizadas para calcularlos. En primer lugar se debe calcular el estadístico  $S_{Y/X}$ , que estima los errores aleatorios en la dirección Y.

$$S_{Y/X} = \sqrt{\frac{\sum_i (Y_i - \hat{Y}_i)^2}{n-2}}$$

Se comprueba que esta ecuación utiliza los residuos de Y,  $Y_i - \hat{Y}_i$  donde los valores de  $\hat{Y}_i$  son los puntos sobre la recta de regresión calculada correspondiente a los valores individuales de X, es decir, los valores de Y “ajustados”(ver figura III.2.).



**Figura III.2.** Los residuos de Y de una regresión lineal.

El valor de  $\hat{Y}_i$  para un valor de X dado se calcula rápidamente a partir de la ecuación de regresión. La ecuación de cálculo de  $S_{Y/X}$  es claramente similar a la forma de la ecuación de la desviación estándar de una serie de medidas repetidas.

Sin embargo difiere en que las desviaciones,  $(Y_i - \bar{Y}_i)$ , se sustituyen por los residuos,  $(Y_i - \hat{Y}_i)$ , conteniendo el denominador el término  $n-2$  en lugar de  $n-1$ . En un cálculo de regresión lineal el número de grados de libertad es  $n-2$ . Esto refleja el hecho obvio que de dos puntos solo puede obtenerse una línea recta.

Una vez obtenido un valor de  $S_{Y/X}$ , se puede calcular  $S_b$  y  $S_a$ , las desviaciones estándar de la pendiente(b) y del intercepto (a). Estas vienen dadas por:

La desviación estándar de la pendiente:

$$S_b = \frac{S_{Y/X}}{\sqrt{\sum_i (X_i - \bar{X})^2}}$$

La desviación estándar del intercepto:

$$S_a = S_{Y/X} \sqrt{\frac{\sum_i X_i^2}{n \sum_i (X_i - \bar{X})^2}}$$

Nótese que el termino  $\sum_i (X_i - \bar{X})^2$  aparece en ambas ecuaciones.

Los valores de  $S_b$  y  $S_a$  se pueden utilizar de la manera usual para estimar los límites de confianza de la pendiente y del intercepto. Así pues los límites de confianza de la pendiente vienen dados por  $b \pm t_{(n-2)} S_b$ , donde el valor de  $t$  se obtiene para un nivel de confianza deseado y  $n-2$ , grados de libertad. Similarmente los límites de confianza para el intercepto vienen dados por  $a \pm t_{(n-2)} S_a$ .

#### III.4.4.4.1. CÁLCULOS DE UNA CONCENTRACIÓN Y SU ERROR ALEATORIO [31]

Una vez que han sido determinadas la pendiente y el intercepto de la recta de regresión, es fácil calcular la concentración (valor de  $X$ ) correspondiente a cualquier señal medida en el instrumento (valor de  $Y$ ). Sin embargo, también será necesario estimar el error asociado a la concentración calculada. El cálculo de un valor de  $X$  a partir de un valor dado de  $Y$  utilizando la ecuación de la recta de regresión, conlleva el uso tanto de la pendiente ( $b$ ) como del intercepto ( $a$ ) y, como es sabido ambos valores están sujetos a error. Además, la señal del instrumento derivada del material de ensayo también está sujeta a errores aleatorios. Como resultado, la determinación del error global en la concentración correspondiente es extremadamente compleja y muchos profesionales utilizan la siguiente fórmula aproximada:

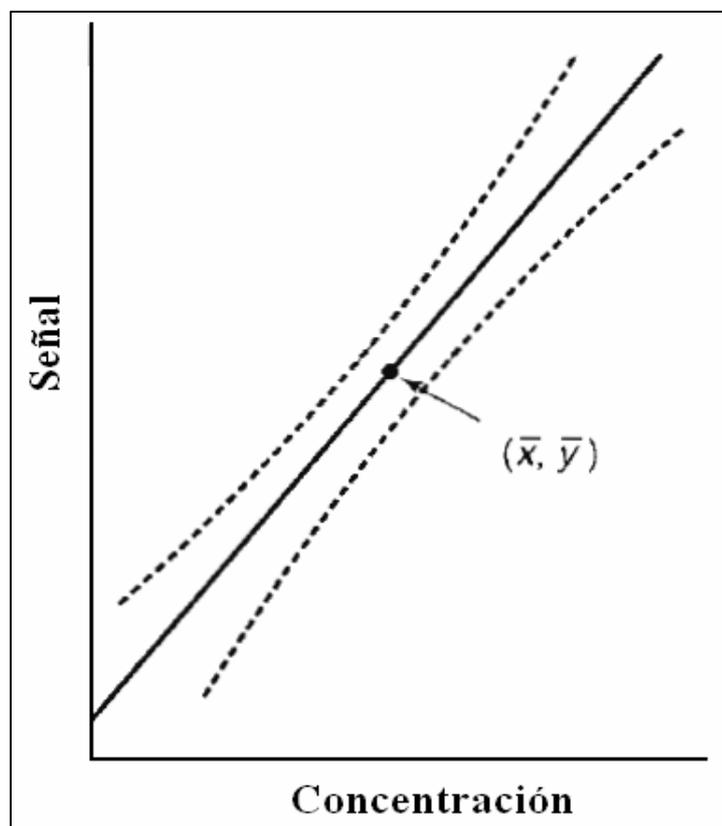
$$S_{X_0} = \frac{S_{Y/X}}{b} \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(Y_0 - \bar{Y})^2}{b^2 \sum_i (X_i - \bar{X})^2}}$$

En esta ecuación,  $Y_0$  es el valor experimental de  $Y$  a partir del cual se determina el valor de la concentración  $X_0$ ,  $S_{X_0}$  es la desviación estándar estimada de  $X_0$ , y los otros símbolos tienen su significado habitual. En algunos casos un analista puede realizar varias lecturas para obtener el valor de  $Y_0$ ; si se dispone de  $m$  lecturas, entonces la ecuación para  $S_{X_0}$  se convierte en:

$$S_{X_0} = \frac{S_{Y/X}}{b} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(Y_0 - \bar{Y})^2}{b^2 \sum_i (X_i - \bar{X})^2}}$$

Como se esperaba, la ecuación de  $S_{X_0}$  a partir de  $m$  lecturas se reduce a la ecuación de  $S_{X_0}$  más simple si  $m = 1$ . Los límites de confianza se calculan como  $X_0 \pm t_{(n-2)}S_{X_0}$ , con  $n-2$ , grados de libertad.

El análisis de la ecuación más simple de  $S_{X_0}$ , confirma que cuando  $Y_0$  se aproxima a  $\bar{Y}$ , el tercer término dentro del paréntesis se aproxima a cero, y  $S_{X_0}$  entonces se aproxima a un valor mínimo. La forma general de los límites de confianza para una concentración calculada se muestra en la figura III.3. En la práctica, un experimento de calibración de este tipo proporcionará los resultados más precisos cuando la señal medida en el instrumento corresponda a un punto próximo al centro de gravedad de la recta de regresión, también denominado centroide.



**Figura III.3.** Forma general de los límites de confianza para una concentración determinada utilizando una recta de regresión no ponderada.

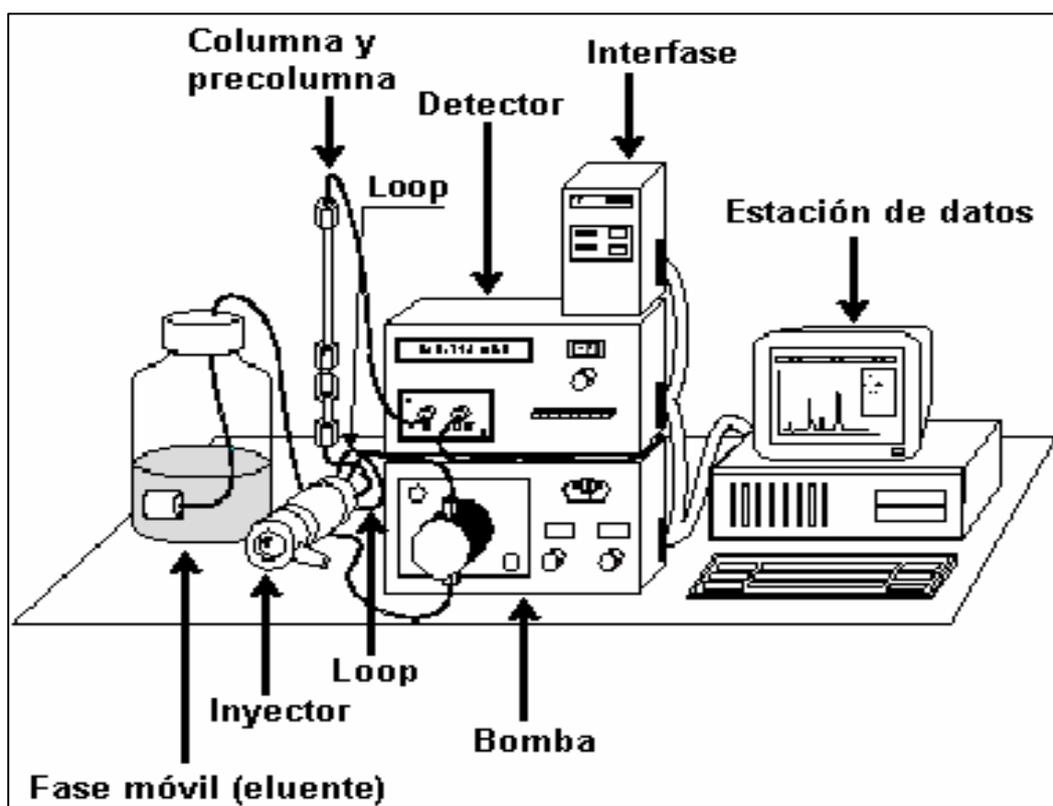
Si se desea mejorar (esto es, acercar) los límites de confianza, de las ecuaciones correspondientes a  $S_{X_0}$  en sus dos variaciones muestran que se pueden considerar al menos dos aproximaciones.

Se puede aumentar  $n$ , el número de puntos del calibrado de la recta de regresión, y/o se puede hacer más de una medida de  $Y_0$ , usando el valor medio de  $m$  de dichas medidas en el cálculo de  $X_0$  los resultados de tales procedimientos pueden ser evaluados considerando los tres términos dentro del paréntesis en las dos ecuaciones.

El efecto de  $n$ , el número de puntos de calibrado, sobre los límites de confianza en la determinación de la concentración es más complejo. Esto se debe a que se ha de tener en cuenta también los cambios que acompañan al valor de  $t$ . El uso de un gran número de muestras de calibrado supone la tarea de preparar muchos patrones exactos para solo incrementar marginalmente la precisión. Por otra parte, no es adecuado usar valores de  $n$  pequeños. En tales casos,  $1/n$  será más grande, y el número de grados de libertad  $n-2$ , se hará muy pequeño, necesitándose valores muy grandes de  $t$  en el cálculo de los límites de confianza. En muchos experimentos, seis puntos de calibrado serán suficientes; si es necesario el analista ganará precisión extra repitiendo medidas de  $Y_0$ .

### III.5. CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN [9]

La cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) es, dentro de las técnicas cromatográficas, la más utilizada. El proceso de separación cromatográfica puede definirse como la transferencia de masas entre una fase estacionaria y una móvil. La mezcla que contiene los compuestos a separar es disuelta e inyectada en una columna rellena de fase estacionaria a través de la cual es forzada a pasar por una fase móvil impulsada por la bomba de alta presión. Dentro de la columna la mezcla se separa en sus componentes en función de su interacción entre las dos fases. Esta separación puede ser modificada eligiendo adecuadamente tanto la fase móvil como la estacionaria, el flujo de la fase móvil o la temperatura de la separación. De esta forma la técnica de HPLC adquiere un alto grado de versatilidad difícil de encontrar en otras técnicas, siendo capaz de separar los componentes de una gran variedad de mezclas. En la Figura III.4. Se muestra el esquema de los componentes básicos de un equipo de HPLC. [9]



*Figura III.4.* Componentes básicos del sistema de cromatografía de alta eficacia (HPLC)

Hay diferentes modos de separación en la cromatografía líquida de alta eficacia. Entre ellos se encuentran

**1. Separación en Fase Normal (HPLC-NP)**

**2. Separación en Fase Reversa etc. (HPLC-RP).**

La Fase Normal funciona en base de hidrofobicidad y de lipofobicidad usando una fase estacionaria polar (generalmente silica) y una fase móvil menos polar (o no-polar como hexano, tetracloruro de carbono, benceno, etc.). Así los compuestos hidrofóbicos eluirán más rápidamente que los compuestos hidrofílicos. [9]

La Fase Reversa funciona en base de hidrofobicidad y de lipofobicidad. La fase estacionaria es no polar consiste empaques basados en silicona con las cadenas del n-alkil covalente limitadas. Por ejemplo, C-8 significa una cadena del octilo y una C-18 un ligando del octadecil en la matriz. Cuanto más hidrofóbica la matriz en cada ligando, mayor es la tendencia de la columna para conservar sus características hidrofóbicas. Así los compuestos hidrofílicos eluirán más rápidamente que los compuestos hidrofóbicos. [9]

La Fase Móvil es Polar (Agua, Soluciones "Amortiguadoras de pH", Acetonitrilo, Metanol, etc.).

### III.6. METODOS UTILIZADOS PARA LA DETERMINACIÓN DE VITAMINA C [8]

Existen diferentes métodos analíticos utilizados para la determinación de la vitamina C, entre los cuales tenemos los siguientes:

1. **Volumétrico:** El de valoración con el 2, 6-dicloroindofenol;
2. **El colorimétrico o UV-Vis:** utilizando 2, 4- dinitrofenilhidrazina;
3. **El microfluorométrico.**
4. **Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).**

Los primeros dos métodos carecen de especificidad y están sujetos a interferencias de la matriz, produciendo así alteración de la exactitud, el tercero es específico para vitamina C total y se utiliza en productos considerados como buenas fuentes de esa sustancia.

Los métodos cromatográficos que hasta hoy se conocen están limitados porque la vitamina C se presenta naturalmente, en muchos alimentos, como vitamina C (AA) y ácido deshidroascórbico (DHAA), por lo que requiere en muchos casos reducir el DHAA a AA y determinar el contenido total de AA.

## **IV. MATERIALES, EQUIPOS Y METODOLOGÍA**

### **IV.1. EQUIPOS**

1. Balanza analítica (Ohaus)
2. Campana extractora de gases (Labconco.)
3. Refrigeradora (Cetron)
4. Agitador Magnético (Selecta, Agimatic N)
5. Bomba de vacío (General electric)
6. pH-metro (Mettler Toledo, SevenEasy)
7. Baño Ultrasónico (BRANSON )
8. Sistema de cromatografía líquida de alta resolución compuesto por:
  - 8.1 Interfase (PE-NELSON)
  - 8.2. Bomba cuaternaria (PERKIN ELMER)
  - 8.3. Desgasificador (PERKIN ELMER)
  - 8.4. Detector UV-Vis LC 295 (PERKIM ELMER)
  - 8.5. Software TurboChrom Work Station.

### **IV.2. MATERIALES**

1. Desecador de vidrio (Pyrex)
2. Barras magnéticas, 25.4 mm (Fisher)
3. Balones aforados de 1000, 500, 250, 100, 50, 25 y 10 mL (Pyrex)
4. Beaker de 1000, 250, 100, 50 y 10 mL (Pyrex)
5. Matraces erlenmeyer de 600 y 100 mL (Pyrex)
6. Probeta de 100 mL (Pyrex)
7. Pipetas de 10, 5, 1 ml (pyrex)
8. Espátula (Fisher Scientific)
9. Pizeta de 500 mL (Fisher Scientific)
10. Jeringas descartable de 3 mL (Napro)
11. Jeringa de 2.5 mL (Hamilton)
12. Filtros de jeringa membrana de nylon 0.20  $\mu$ m (Fisherbrand)
13. Papel Filtro Whatman N° 4

### **IV.3. REACTIVOS**

1. Acido clorhídrico (Merck, Darmstadt, Alemania)
2. Acido acético (Fisher, New Jersey, USA)
3. Acido metafosfórico estabilizado (Fisher, New Jersey, USA)
4. Acetato de potasio (Fisher, New Jersey, USA)
5. Estándar de Acido ascórbico (Acrös)

#### **IV.4. SOLUCIONES EMPLEADAS**

##### **IV.4.1. SOLUCIÓN EXTRACTANTE.**

Pesar 34.276g de ácido metafosfórico disolver en agua y transferir a balón de 500ml, luego añadir 40ml de ácido acético glacial y aforar, filtrar solución en papel filtro Watman n.4.

##### **IV.4.2. SOLUCIÓN MADRE DE L-ACIDO ASCÓRBICO.**

Pesar 0.0502g de estándar de L-Ácido Ascórbico y aforarlo a 50ml protegido de la luz en papel de aluminio para obtener una concentración de 1000ppm

##### **IV.4.3. SOLUCIONES PARA LOS PUNTOS DE LA RECTA DE REGRESION.**

Se tomaron 0.15ml, 0.35ml, 0.6ml, 0.8ml de la solución de trabajo y estos se aforan a un volumen de 10ml con solución extractante para obtener concentraciones de 15ppm, 35ppm, 60ppm y 80ppm. Filtrar en micro filtros de jeringa con membrana de nylon de 0.20  $\mu\text{m}$  e inyectar 25 $\mu\text{l}$  para análisis

##### **IV.4.4. FASE MÓVIL; ACETATO DE POTASIO (0.1 M), pH 4.9.**

Pesar 9.875 g de acetato de potasio, disolver en 900 mL agua desionizada, ajustar el pH a 4.9 con ácido clorhídrico 0.1 N y aforar en balón de 1000 mL. Filtrar la solución a través de membrana de nylon de 0.45  $\mu\text{m}$ , y transferir a reservorio de HPLC, ultrasonificar por 30 min. para posterior uso en el análisis.

## IV.4.5. METODOLOGÍA

### IV.4.5.1. SELECCIÓN DE MUESTRAS.

En la selección de las muestras objetos de este estudio, primaron varios aspectos **EMPÍRICOS** y de importancia para el Laboratorio de Técnicas de Separación (LTS), entre los que se mencionan:

1. Permanencia en los mercados (tomate, chiltomo, repollo, papa)
2. Consumo
3. Accesibilidad
4. Precio

De esta forma se seleccionaron inicialmente 4 hortalizas estas fueron:

- a) Tomate,
- b) Chiltomo
- c) Repollo
- d) Papa

Posteriormente para darle un mayor realce y cubrir mejor el aspecto de agroalimentos se seleccionaron dos frutas, las que en ese momento estaban en existencia en el Mercado Central, estas fueron:

- a) Piña
- b) Melocotón

Finalmente se le adicionó una nueva muestra con la que se abarcara prácticamente el abanico de agroalimentos:

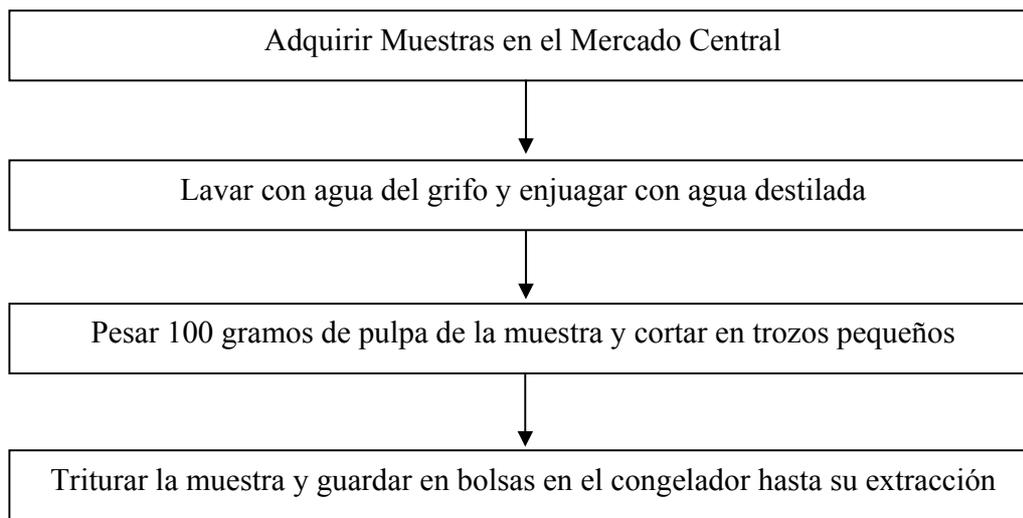
- a) Flor de Jamaica

De esta forma contamos con siete muestras en las que íbamos a estudiar su contenido de vitamina C.

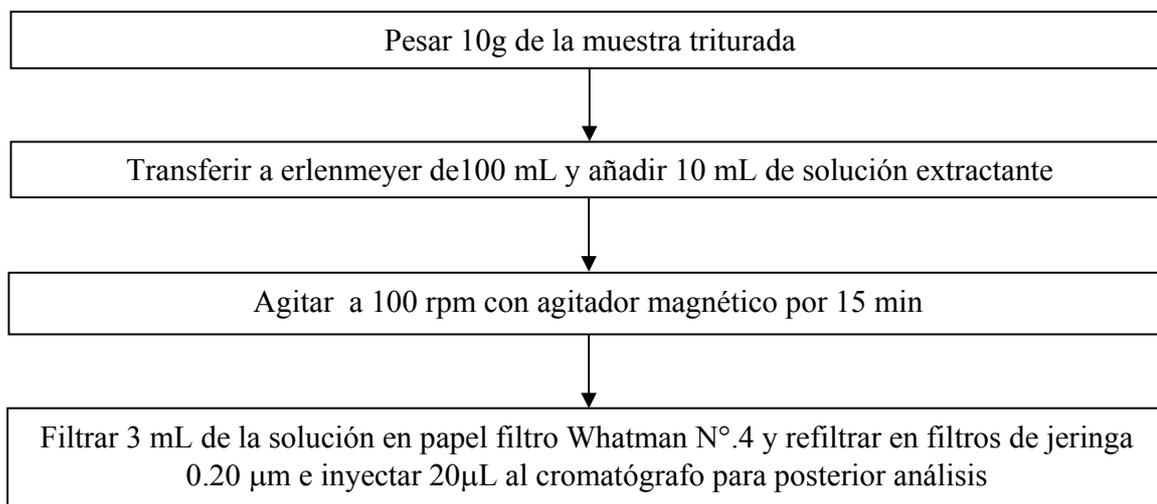
#### IV.4.5.2. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA, EXTRACCIÓN E INYECCIÓN DE LA VITAMINA C.

Una vez definidas las muestras a ser analizadas se procedió a preparar las muestras de las que posteriormente se extrajo y analizó la vitamina C. Los flujogramas de estos procedimientos de muestran en las figuras IV.4.5.2.1. y IV.4.5.2.2. Todos los procedimientos fueron llevados a cabo cuidadosamente sin exposición a la luz.

##### IV.4.5.2.1. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA



##### IV.4.5.2.2. EXTRACCIÓN E INYECCIÓN DE LA VITAMINA C



Todo este procedimiento fue realizado protegiendo la muestra de la luz y a temperatura ambiente. La relación de la solución de la muestra extraída fue 1:1. Todas las muestras fueron extraídas por triplicado.

#### IV.4.6. CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

Las condiciones cromatográficas empleadas en el análisis de la vitamina C en las muestras agroalimentarias se muestra en la Tabla IV.1.

*Tabla IV.1.* Condiciones cromatográficas empleadas en el análisis de la vitamina C

<b>TIPO</b>	<b>Fase-reversa rellena con C-18</b>
<b>COLUMNA</b>	MARCA MERCK RP-18 De 25 cm de largo con 4.2cm de diámetro interno. tamaño de partícula 5um
<b>Temperatura:</b>	ambiente
<b>Tiempo</b>	3 min.
<b>Inyección:</b>	20 µL
<b>Detección:</b>	254 nm
<b>flujo</b>	1.5 ml/min.
<b>Fase móvil</b>	Acetato de potasio 0.1M, PH 4.9

## V. ANÁLISIS DE RESULTADOS.

El análisis de las siete muestras de frutas y vegetales utilizadas en este estudio se realizó utilizando la técnica de HPLC en fase reversa previa extracción del ácido ascórbico con ácido metafosfórico 0.3 M en ácido acético. Se obtuvieron de esta forma un conjunto de datos perfectamente diferenciados entre sí, los que posteriormente fueron comparados utilizando algunas metodologías estadísticas diseñadas para este fin. Cabe destacar que los análisis del contenido de vitamina C en las muestras estudiadas fueron calculados utilizando análisis de regresión lineal y la incertidumbre de la determinación se calculó como la incertidumbre de las predicciones, (ver III:4.4.4.). Así mismo se usaron algunas herramientas de análisis multivariante para establecer posibles similitudes o asociaciones entre las muestras en relación con su contenido de AA según los resultados obtenidos. A continuación se muestran los análisis realizados.

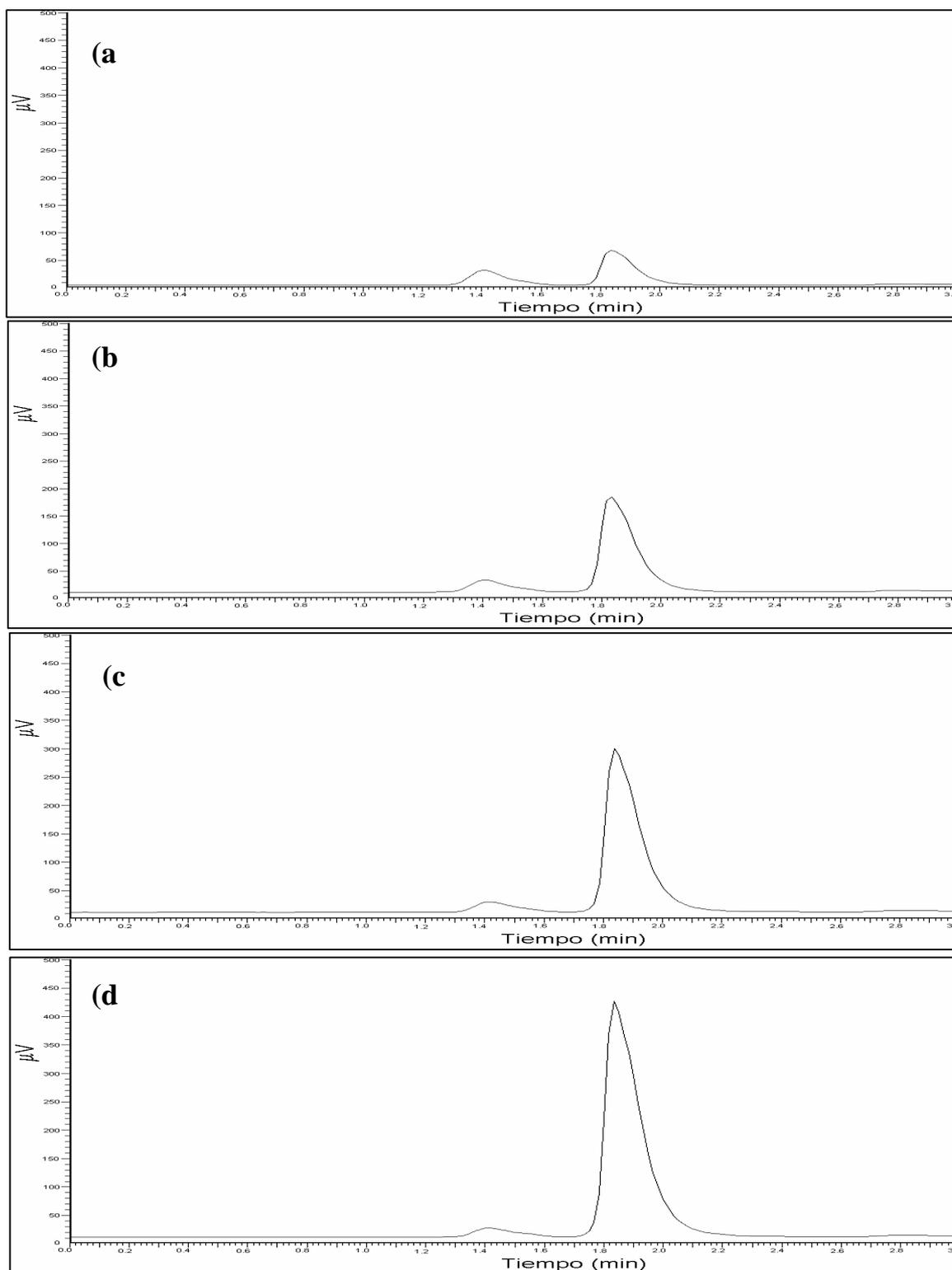
### V.1. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ACIDO ASCORBICO EXTRAIDAS DE LAS MUESTRAS.

En la Figura V.1 se muestran los cromatogramas de los estándares de Vitamina C como Vitamina C, inyectados según las condiciones mostradas en el apartado IV.5.2. Los niveles de concentración fueron inyectados por triplicado. Las medias de las áreas de los niveles son mostrados en la Tabla V.1.

**Tabla V.1.** Niveles de concentración de las inyecciones de Acido Ascórbico.

Nivel	Concentración (ppm)	Área
1	15.015	370114.140
2	35.035	1186900.300
3	60.06	2353619.577
4	79.079	3140481.000

Los niveles de concentración de Acido L-Ascórbico, mostrados en la Tabla V.1, fueron seleccionados sobre la base del criterio de la concentración esperada de este compuesto en las muestras agroalimentarias objeto de estudio, en relación a las concentraciones reportadas en la bibliografía revisada. Cabe destacar que se realizaron inyecciones previas que permitieron comparar los picos de la vitamina C en las muestras respecto a estándares de concentración conocida.



**Figura V.1.** Cromatogramas de los estándares usados en la elaboración de la recta de regresión. a) 15.015 ppm, b) 35.035 ppm, c) 60.06 ppm y d) 79.079 ppm, respectivamente

Tal y como se observa en la figura V.1., el tiempo de retención del Acido Ascórbico en los cromatogramas de los estándares fue reproducible, permitiendo establecer una clara diferencia e identificación de éste tanto en los estándares como en las muestras. Por otra parte es importante mencionar que en los cromatogramas de los estándares, se observaron dos picos, uno de ellos ubicado a 1.41 min. y el otro ubicado a 1.85 min., siendo el segundo pico quien experimenta un incremento a medida que aumenta la concentración del vitamina C, por lo que confirmamos que el segundo pico corresponde a la vitamina C y el primero corresponde a la solución extractante ya que permanece sin apenas variación en todos los niveles de concentración.

En la Figura V.2. se muestra la recta de regresión obtenida a partir de las medias de las áreas de los picos de los estándares mostrados en la Tabla V.1. En la Tabla V.2. se muestran los parámetros de ajuste al modelo lineal, observándose un  $r^2$  mayor de 0.999 lo que denota el buen ajuste de la recta de regresión al modelo lineal.

**Tabla V.2.** Parámetros de ajuste de la recta de regresión de los estándares de vitamina C

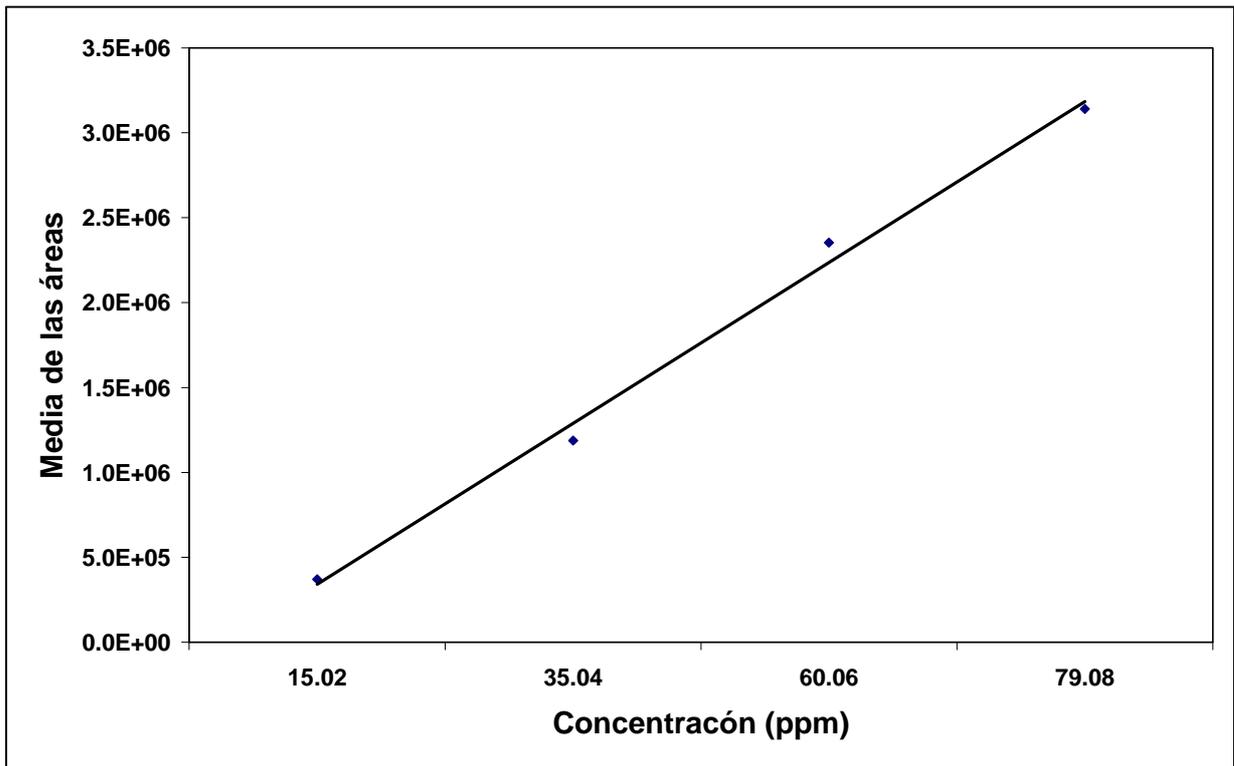
<b>Compuesto</b>	<b>A</b>	<b>b</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
vitamina C	-303616.142	43689.536	0.9993

Sobre la base de los resultados reflejados en la Tabla V.2., se obtuvo el modelo de la recta de regresión, la cual es:

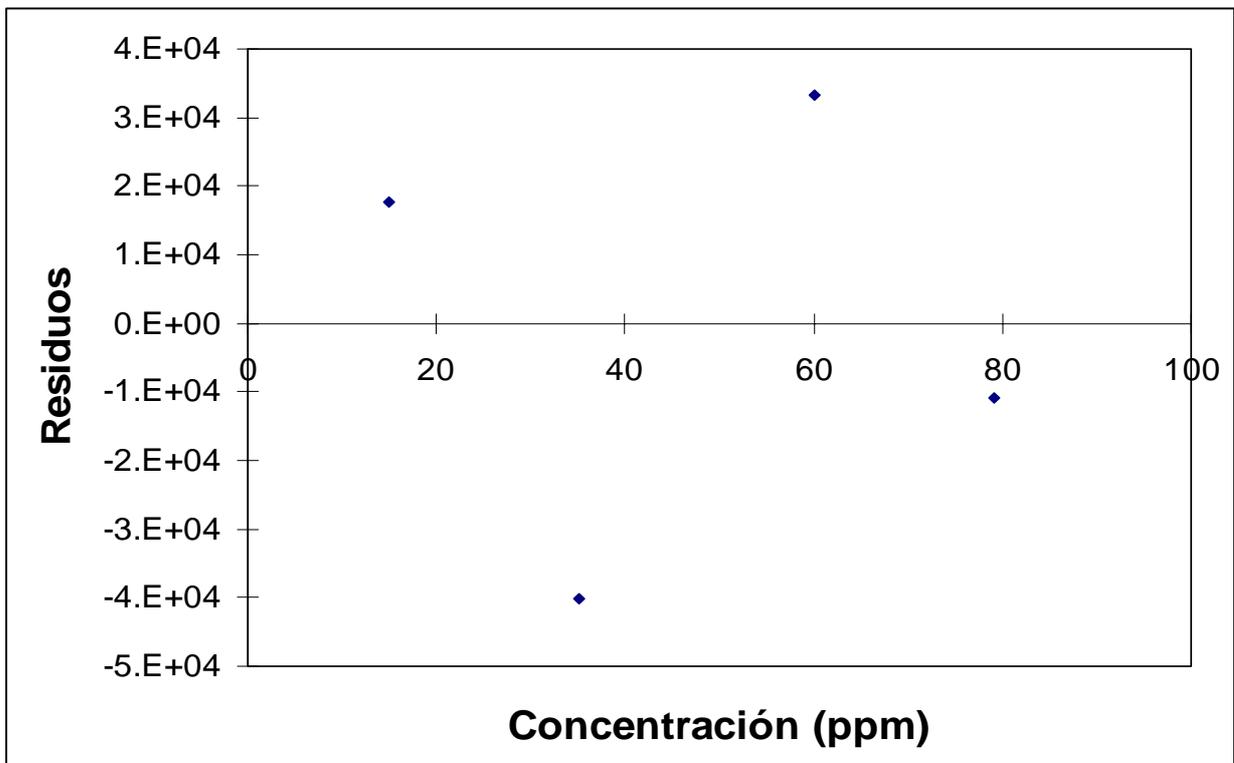
$$Y = (-303616.142) + (43689.536)X$$

Este modelo resultó de especial importancia para la determinación de la concentración de la vitamina C en las muestras objeto de este estudio.

En la Figura V.3. se muestra el grafico de los residuales obtenido a partir de la recta de regresión, tal y como se observa, la distribución claramente aleatoria de los residuos permite confirmar el comportamiento lineal de la recta de regresión obtenida a partir de los estándares de vitamina C.



*Figura V.2.* Recta de regresión de concentración vs. media de las áreas de los estándares de vitamina C.



*Figura V.3.* Grafico de los residuales obtenido a partir de la recta de regresión de vitamina C.

En las Figuras V.4., V.5. y V.6., se presentan los cromatogramas de las muestras agroalimentarias objeto de este estudio y que fueron sometidas al proceso de extracción con ácido metafosfórico. Cabe destacar que todos los cromatogramas mostrados en esta monografía tanto los de los estándares como los de las muestras fueron representados utilizando las mismas escalas, tanto del eje X (tiempo), como del eje Y (media de las áreas), esto con el fin de establecer un punto comparativo visual, que nos ayudara a comprender gráficamente las diferencias o similitudes entre éstos.

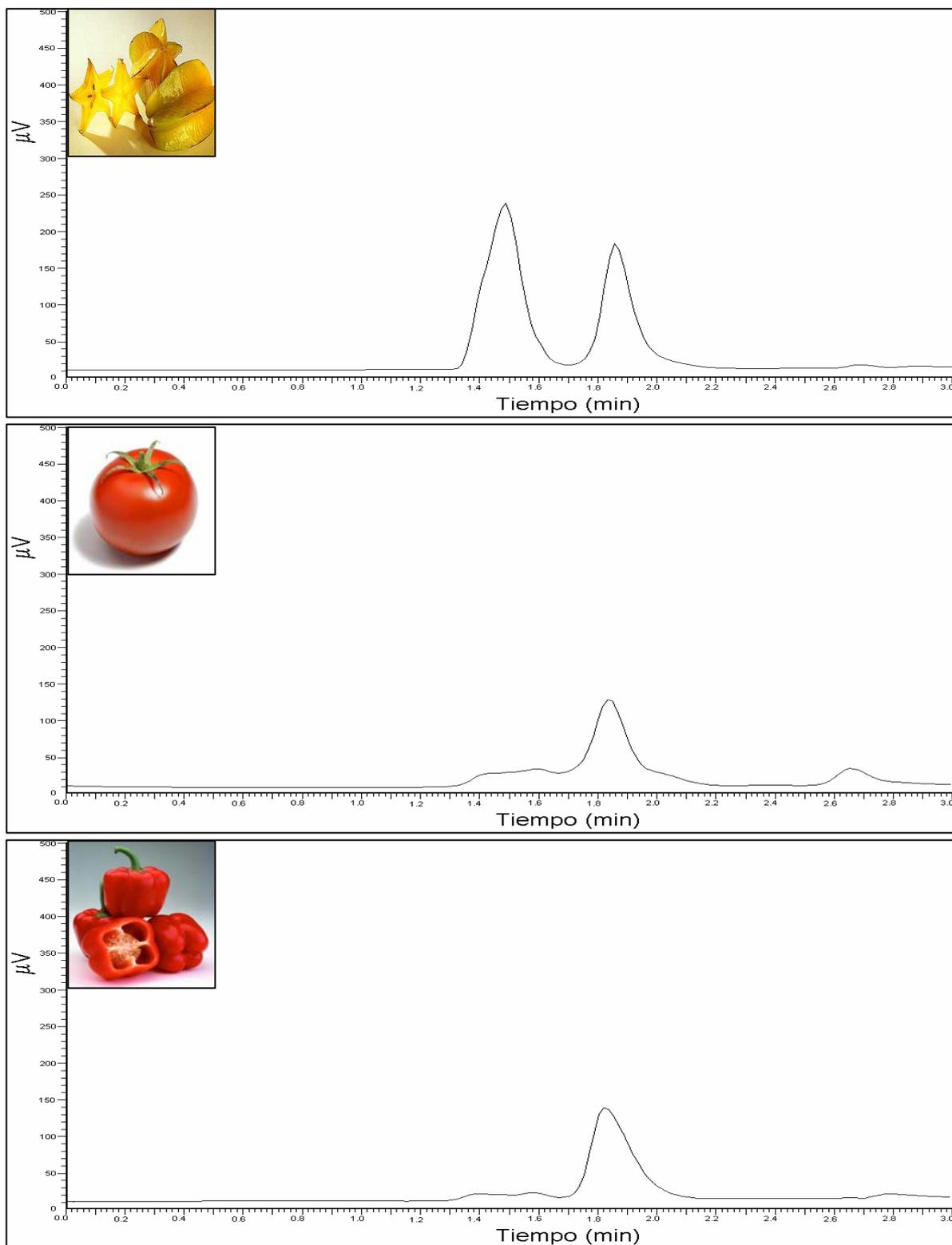
Tal y como se observa en las Figuras V.4., V.5. y V.6., todas las muestras de agroalimentos estudiados presentan el pico característico de la vitamina C, además de otros picos, que a nuestro parecer son de otros compuestos que en un sucesivo estudio podría ser interesante estudiar. Es importante mencionar que el desplazamiento de los tiempos de retención del pico de la vitamina C respecto al tiempo de retención del estándar no fue realmente significativo, lo que nos permitió establecer una efectiva identificación y cuantificación, del compuesto en las muestras analizadas.

Por otra parte es necesario remarcar que las muestras fueron inyectadas por triplicado, con el objeto de reproducir en mejores condiciones el comportamiento de los picos y los datos que de ellos se derivan. Así en la Tabla V.3. se observan las medias de los resultados de las áreas de los picos de las muestras de agroalimentos, así como también las concentraciones de vitamina C determinadas a partir del modelo de regresión mostrado en la tabla V.2.

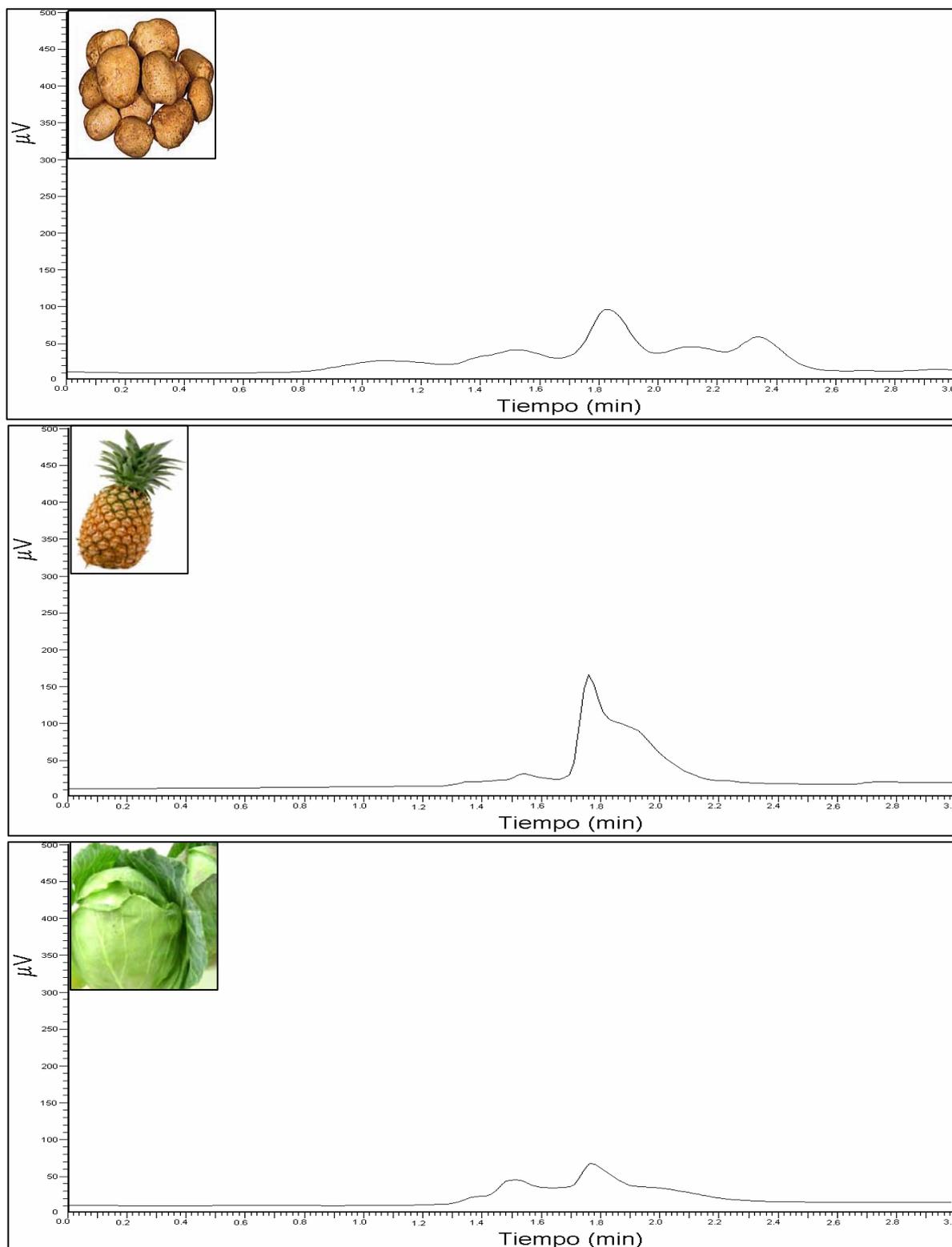
**Tabla V.3** Media de las áreas y concentraciones de vitamina C en mg/100g de muestra, se muestra así mismo las incertidumbres de las predicciones.

<b>Muestras</b>	<b>Media de las áreas</b>	<b>Concentración de las muestras (mg/100g)</b>		
<b>Melocotón</b>	1359898.57	37.33	+/-	0.74
<b>Tomate</b>	1200483.83	34.42	+/-	0.78
<b>Chiltoma</b>	1257637.11	884.10	+/-	19.06
<b>Papa</b>	952677.44	11.50	+/-	0.33
<b>Piña</b>	955372.1	72.02	+/-	2.05
<b>Repollo</b>	626251.69	10.64	+/-	0.45
<b>Jamaica</b>	1103915.32	321.78	+/-	7.93

En la Figura V.7, se muestra el grafico de barra de las concentraciones en mg/100g de vitamina C de todas las muestras analizadas.



**Figura V.4.** Cromatogramas de las muestras de: Melocotón, Tomate y Chiltomo.



**Figura V.5.** Cromatogramas de las muestras de: Papa, Piña y repollo.

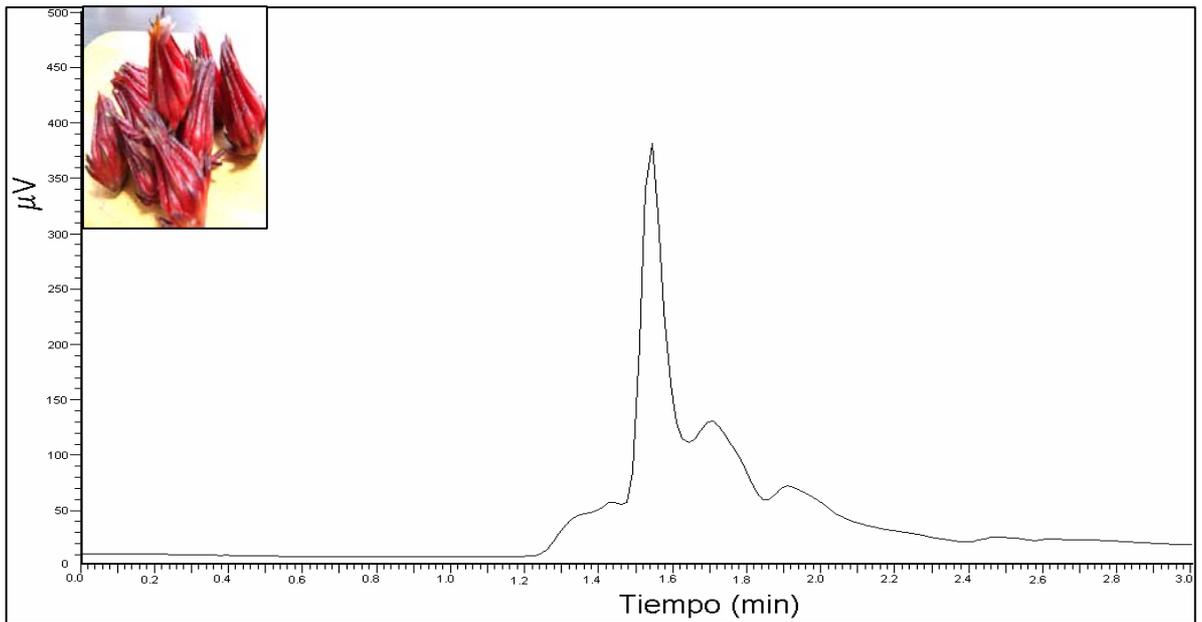


Figura V.6. Cromatogramas de la muestra de: Flor de Jamaica.

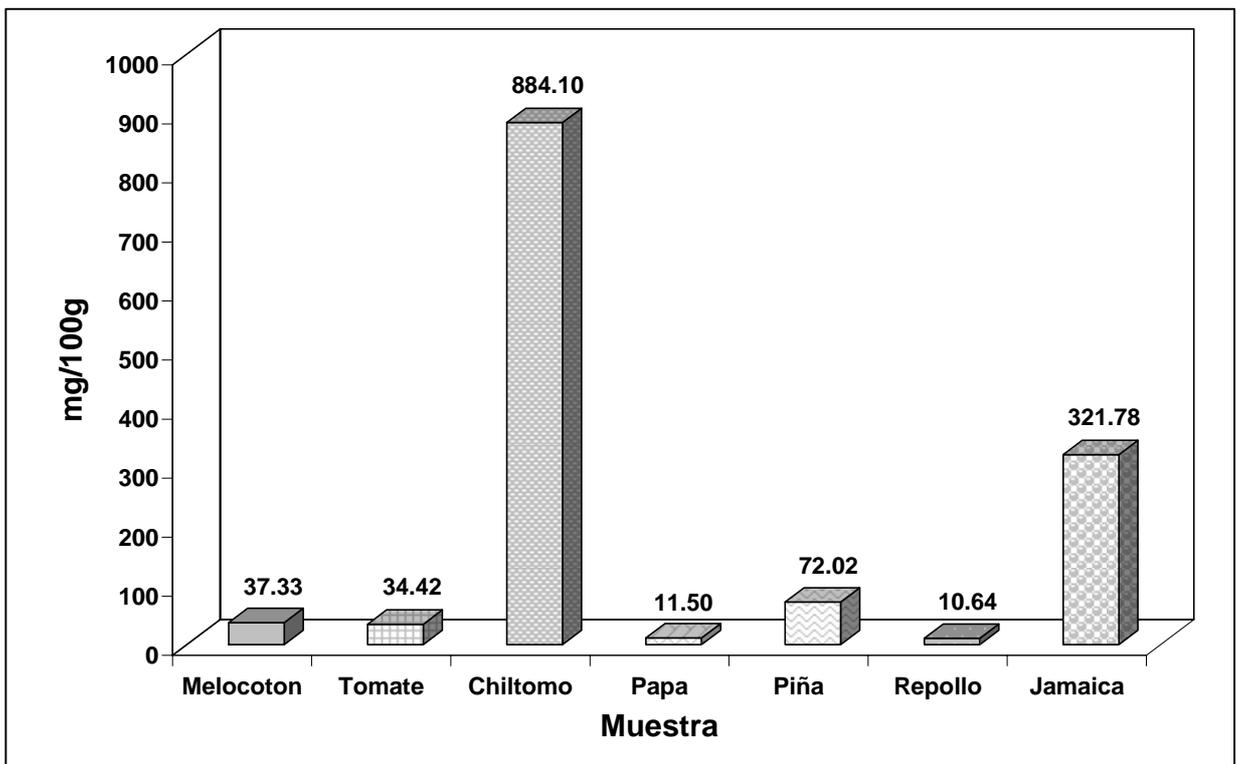
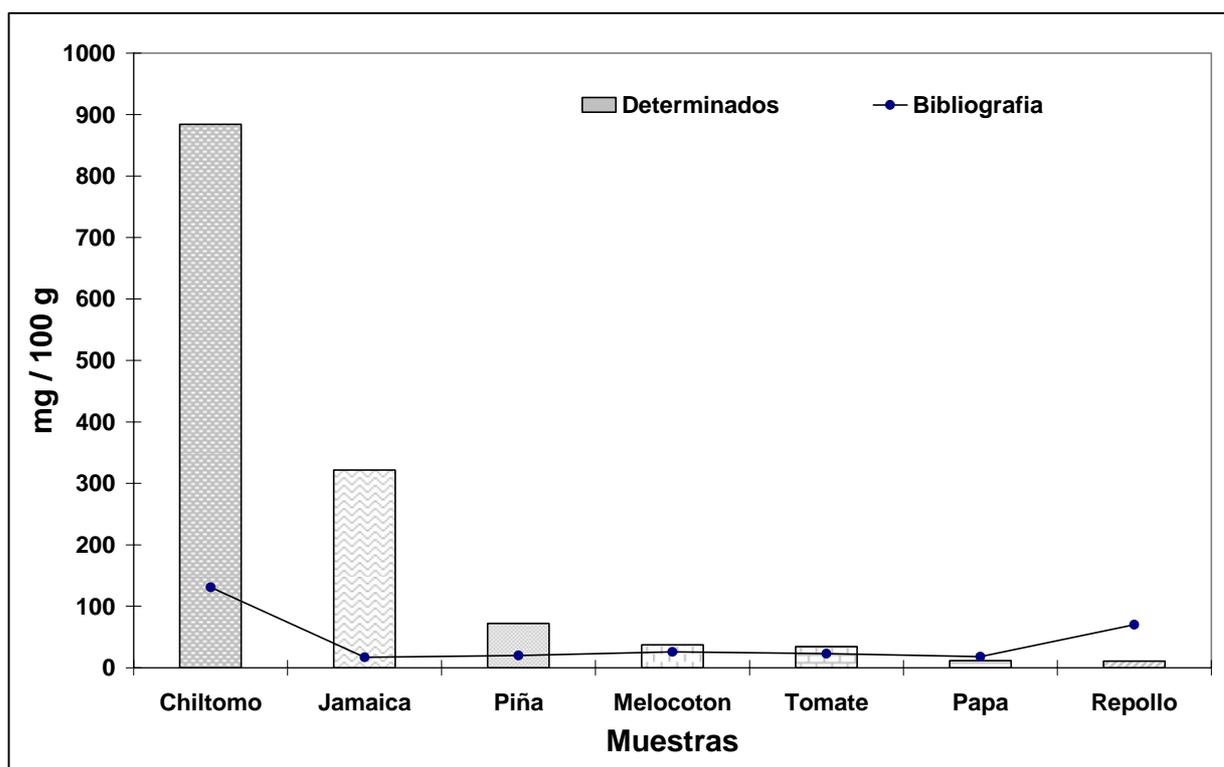


Figura V.7. Grafico de barras de las concentraciones de vitamina C, de las muestras, objetos de este estudio.

Una observación detallada de la figura V.7., permite distinguir diferencias entre las concentraciones de vitamina C presentes (en mg/100g) en todas las muestras estudiadas, esto es debido las diferencias de las concentraciones de las muestras.

Es posible también observar similitudes relativas en cuanto a su contenido de vitamina C, entre las muestras estudiadas, así la papa y el repollo presentan similares concentraciones de este ácido diferenciadas únicamente en 0.89 mg, por otra parte el melocotón y el tomate también presentan bastante similitud, diferenciándose en 2.81 mg. Cabe destacar que las muestras de chiltomo y flor de jamaica son las que presentaron las concentraciones más altas seguidas de la piña, las que no presentan similitudes en cuanto a su concentración.

En la Figura V.8. se muestra el grafico de barras de las concentraciones de vitamina C con el grafico de líneas de los mg de vitamina C reportados en la bibliografía.



**Figura V.8.** Grafico de barras de las concentraciones de vitamina C y de líneas de las concentraciones de vitamina C reportadas en la bibliografía.

Tal y como se puede observar en la Figura V.8. las muestras de chiltomo, jamaica y piña presentan mayores concentraciones de vitamina C respecto a lo reportado en la bibliografía, siendo mucho mayor en el caso del chiltomo. En el caso del melocotón y el tomate las diferencias observadas no son tan mayores respecto a las reportadas, mientras que en la caso de la papa y el repollo, son mucho menores que lo reportado, siendo menor la cantidad encontrada que la reportada en el caso del repollo. En la tabla V.3., se muestran las concentraciones de vitamina C determinadas en las muestras de este estudio, las concentraciones reportadas, la diferencia entre ellas, el porcentaje de diferencia y el signo del incremento.

**Tabla V.3.** Concentraciones de vitamina C, determinadas, reportadas, diferencia, porcentaje de diferencia y signo del incremento.

Muestras	Determinados (mg/100g)	Reportados mg/100g	Diferencia	% diferencia	Incremento
<b>Chiltomo</b>	884.10	131.0	753.10	675	+
<b>Jamaica</b>	321.78	17.0	304.78	<b>1893</b>	+
<b>Piña</b>	72.02	20.0	52.02	360	+
<b>Melocotón</b>	37.33	25.8	11.53	145	+
<b>Tomate</b>	34.42	23.0	11.42	150	+
<b>Papa</b>	11.50	18.0	<b>-6.50</b>	157	-
<b>Repollo</b>	10.64	70.0	<b>-59.36</b>	658	-

Una observación detallada de la Tabla V.3., permite establecer desde una mejor perspectiva lo mostrado en la Figura V.8., así en el caso de la Flor de Jamaica se obtuvo una mayor diferencia porcentualmente hablando entre lo determinado y lo reflejado en la bibliografía (1893%), seguido del chiltomo, la piña, el tomate y el melocotón. Sin embargo en el caso de la papa y el repollo, lo que se observó fue un decremento en la diferencia entre lo determinado y lo encontrado en la bibliografía, siendo mucho mayor en el caso del repollo (658%). Las diferencias observadas entre lo analizado y lo encontrado en la bibliografía, es debido a nuestro criterio a diferentes factores entre los que podemos mencionar:

1. Tipo de extracción de la vitamina C, y a que en la bibliografía no se reporta el tipo de tratamiento empleado.
2. Las condiciones de almacenaje, transporte y tratamiento de la muestra.
3. La técnica empleada.
4. Las condiciones ambientales, de reactivos y materiales empleados.

Razón por la cual no podemos realizar con certeza una comparación confiable entre lo que determinamos y lo que refleja la bibliografía. Esto sin embargo no demerita lo que determinamos, siendo quizás adecuado, realizar un estudio posterior que aune un seguimiento de campo y los estudios de laboratorio para tener un mejor punto de comparación, esto lo mencionaremos en las recomendaciones, posteriores de esta monografía.

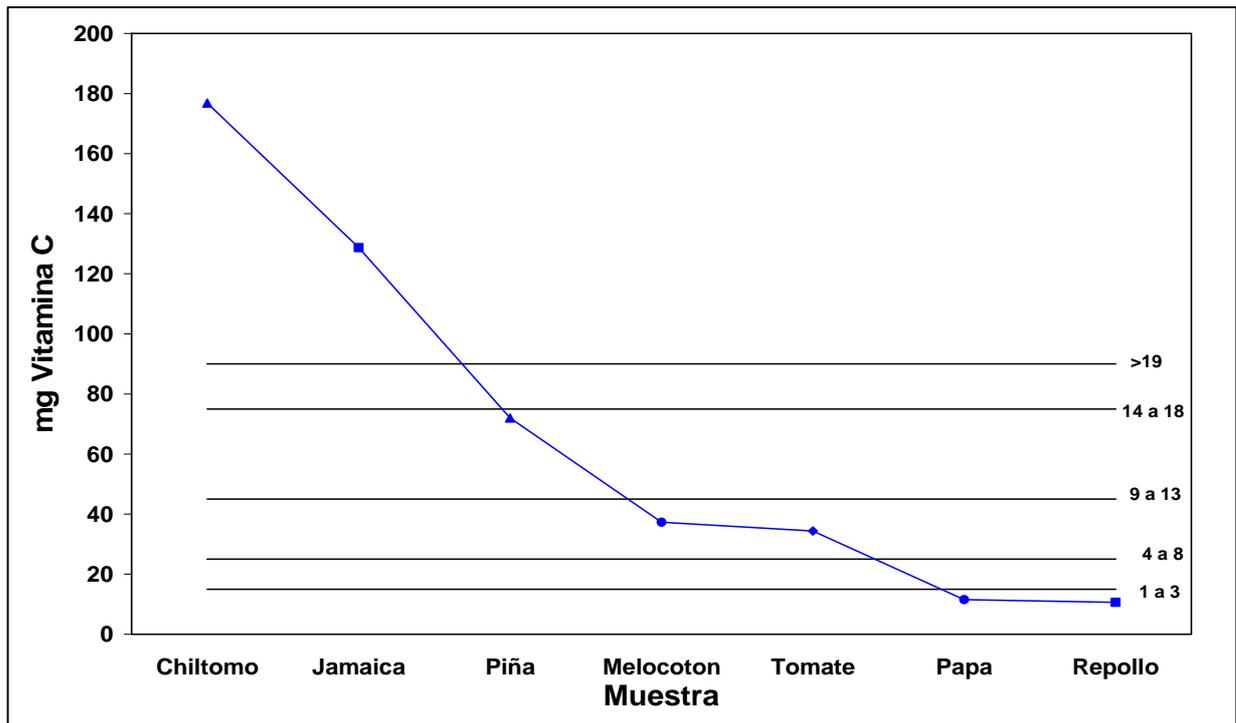
## **V.2. RELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE VITAMINA C Y LA DOSIS DIARIA RECOMENDADA (DDR) DE VITAMINA C.**

Desde hace mucho tiempo se ha establecido la importancia del aporte de vitamina C a la dieta de los seres humanos. Razón por la cual consideramos de importancia realizar una comparación empírica no estadística, entre el contenido de vitamina C que determinamos en nuestras muestras y las recomendaciones establecidas por nutriólogos referentes a la Dosis Diarias Recomendadas (DDR) y la ingesta máxima diaria (IMD), de esta vitamina, que nos proporcionara un punto de comparación útil y aplicado de nuestros resultados.

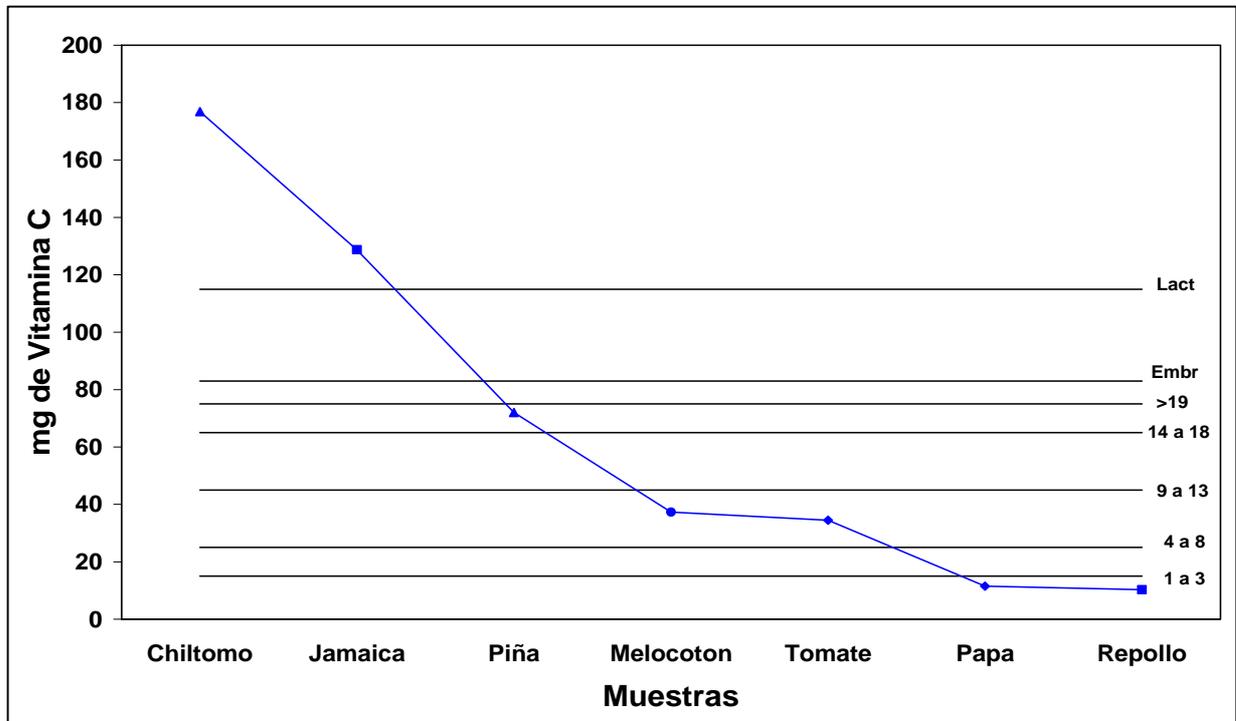
En la tabla III.3 se muestran los datos de la Dosis Diarias Recomendadas (DDR) de esta vitamina para diferentes segmentos de edad y sexo, mientras que en la tabla III.4., se muestra la ingesta máxima diaria (IMD) de esta vitamina. En la Figura V.9. y V.10., se muestran en forma de gráficos de líneas, nuestros resultados en relación a los rangos de edades de la DDR, en hombres y mujeres respectivamente.

Cabe destacar que no se reflejó en las figuras la línea correspondiente a la IMD, porque en definitiva, necesitaríamos consumir una porción mucho mayor de 100 g de las muestras objeto de este estudio para lograr superar la IMD. Si observamos las muestras estudiadas en algunos casos podríamos llegar a este extremo (consumir una porción mucho mayor de 100 g), tal es el caso de las frutas y quizás el repollo, pero en otras no, como el chiltomo, la flor de jamaica o la papa, ya que necesitarían un tratamiento previo, lo cual en muchos casos disminuiría su contenido de vitamina C.

Por otra parte en las figuras, se graficó (debido a su grandes contenidos de vitamina C), el contenido de 20 gramos de Chiltomo y 40 gramos de flor de jamaica, mientras que en los otros casos se tomó su contenido de vitamina C en 100 gramos de muestra.



**Figura V.9.** Grafico de líneas de la relación entre el contenido analizado de vitamina C y las DDR para diferentes segmentos de edad, de hombres.



**Figura V.10.** Grafico de líneas de la relación entre el contenido analizado de vitamina C y las DDR para diferentes segmentos de edad de mujeres.

Una observación superficial de las figuras V.9. y V.10., permite establecer que sólo las muestras de chiltomo y flor de jamaica, superan las DDR de todos los segmentos de edades tanto para hombres como para mujeres.

Para el resto de muestras el contenido de vitamina C en 100 gramos, es diferente, así el contenido de vitamina C en la piña es cercano al segmento de edad de 14 a 18 años en hombres y al de los mayores de 19 años en las mujeres. En los segmentos menores (1 a 3, 4 a 8 y 9 a 13 años) el aporte de 100 gramos de piña supera sus DDR. En el caso del melocotón (también llamado carambola), el aporte de 100 gramos de esta fruta, es superior a la DDR del segmento de 4 a 8 años, pero inferior a la DDR del segmento de 9 a 13 años, tanto en hombres como en mujeres, similar situación ocurre con el tomate. Tanto la papa como el repollo aportan muy poco a la DDR, siendo inclusive su aporte tan ínfimo que no alcanzan siquiera a la DDR del segmento de menor edad (1 a 3 años).

Debido a estas diferencias creímos oportuno elaborar una tabla que nos indicara cuantos gramos de las muestras se deben consumir para lograr satisfacer la DDR de vitamina C. En las Tablas V.4. y V.5., se muestran los gramos necesarios de las muestras de este estudio que debemos consumir para alcanzar la DDR, tanto para hombres como para mujeres.

**Tabla V.4.** Gramos de las muestras que se deben consumir para alcanzar la DDR en hombres.

<b>Hombres</b>	<b>1 a 3 años</b>	<b>4 a 8 años</b>	<b>9 a 13 años</b>	<b>14 a 18 años</b>	<b>&gt;19 años</b>
<b>Chiltomo</b>	1.70	2.83	5.09	8.48	10.18
<b>Jamaica</b>	4.66	7.77	13.98	23.31	27.97
<b>Piña</b>	20.83	34.71	62.48	104.14	124.96
<b>Melocotón</b>	40.18	66.97	120.55	200.92	241.10
<b>Tomate</b>	43.58	72.64	130.75	217.91	261.49
<b>Papa</b>	130.43	217.39	391.30	652.17	782.61
<b>Repollo</b>	140.99	234.98	422.97	704.95	845.94

**Tabla V.5.** Gramos de las muestras que se deben consumir para alcanzar la DDR en mujeres.

<b>Mujeres</b>	<b>1 a 3</b>	<b>4 a 8</b>	<b>9 a 13</b>	<b>14 a 18s</b>	<b>&gt; 19</b>	<b>Embarazo</b>	<b>Lactancia</b>
<b>Chiltomo</b>	1.70	2.83	5.09	7.35	8.48	9.39	13.01
<b>Jamaica</b>	4.66	7.77	13.98	20.20	23.31	25.79	35.74
<b>Piña</b>	20.83	34.71	62.48	90.25	104.14	115.24	159.68
<b>Melocotón</b>	40.18	66.97	120.55	174.13	200.92	222.35	308.07
<b>Tomate</b>	43.58	72.64	130.75	188.85	217.91	241.15	334.13
<b>Papa</b>	130.43	217.39	391.30	565.22	652.17	721.74	1000.00
<b>Repollo</b>	140.99	234.98	422.97	610.96	704.95	780.15	1080.93

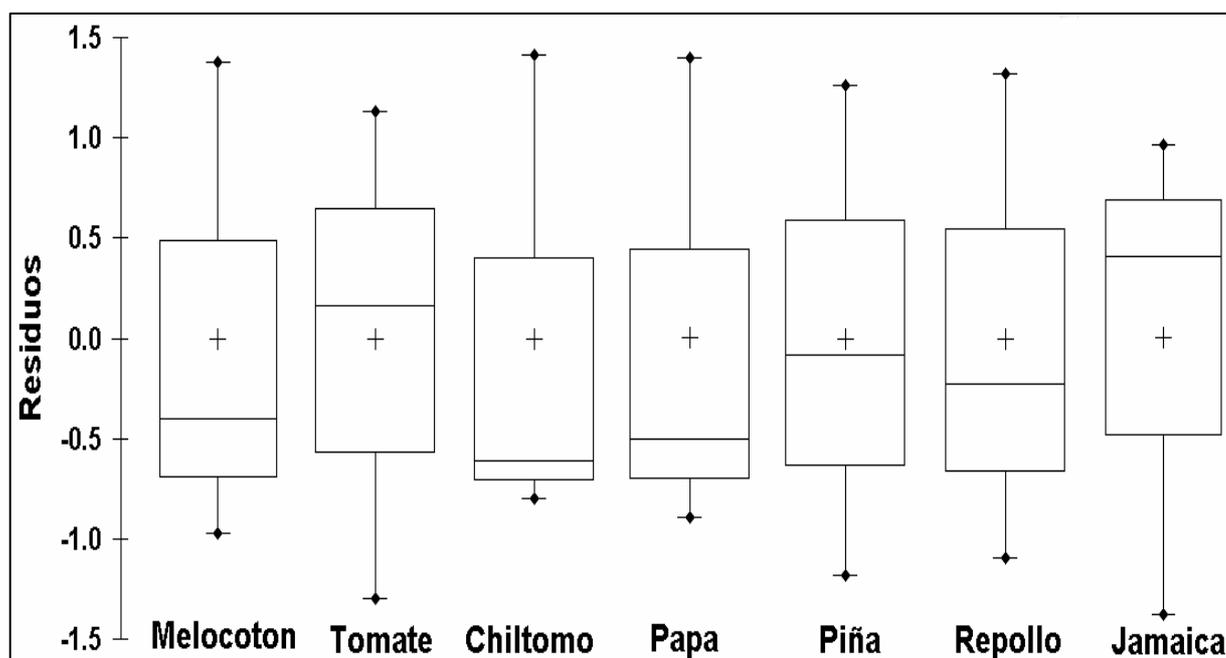
### V.3. ESTUDIO DE LAS DIFERENCIAS ENCONTRADAS EN EL CONTENIDO DE VITAMINA C EN LAS MUESTRAS.

Una vez que se obtuvieron los datos de las concentraciones de las muestra estudiadas en esta monografía y dado que se habían detectado evidentes diferencias en las concentraciones de vitamina C, consideramos oportuno realizar algunas pruebas estadísticas que nos proporcionaran una idea clara del porque se observaban estas diferencias. De esta forma decidimos seleccionar una metodología (ya aplicada en otras ocasiones por nuestros tutores), de análisis que nos permitiera alcanzar este fin.

#### V.3.1. TEST DE BARTLETT

Debido a que trabajamos con siete muestras de distintas características y dado que en la Figura V.7., observamos diferencias entre el contenido de vitamina C en las muestras, creímos necesario compararlas para confirmar las diferencias entre ellas. Para esto aplicamos una prueba de comparación de múltiples varianzas que nos ayudara a detectar la variabilidad o dispersión de las muestras, previo a una comparación de múltiples medias.

Como un paso previo a la comparación de varianzas, elaboramos los diagramas de cajas normalizados (dándoles el mismo peso) de las muestras. Para esto tomamos las replicas de las concentraciones expresadas en mg/100g y elaboramos los diagramas. En la Figura V.11., se muestran los diagramas de caja de las muestras.



*Figura V.11.* Gráfico de cajas de los resultados normalizados de las muestras.

Tal y como se observa en los gráficos de cajas de la Figura V.11., estos nos indican las diversas variabilidades entre las muestras, así las muestras de chiltomo, **papa, melocotón y flor de jamaica**, presentan bastante variabilidad, y las muestras de **tomate, piña y repollo**, las menores. Cabe destacar que la mayor variabilidad se observa en el chiltomo y la menor variabilidad en la piña. Esto es debido a los resultados de las replicas en las muestras implicadas y al algoritmo empleado por el software para realizar estos diagramas. Así en el caso del chiltomo la variabilidad de los resultados fue mayor y en el caso de la piña la variabilidad de los resultados no lo fue tanto (Ver Tabla IX.2 en Anexos).

Luego de realizados los diagramas de cajas, procedimos a realizar la prueba de Bartlett para comparar las varianzas y determinar si existen diferencias entre ellas, de hecho a la luz de los resultados obtenidos en los diagramas de cajas esperábamos encontrar diferencias entre ellas. Tal y como se ha indicado en el apartado III.4.1. y en acuerdo a nuestro estudio las hipótesis nula y alternativa que nos planteamos fueron las siguientes:

$$H_0 : S_{\text{Melocotón}}^2 = S_{\text{Chiltomo}}^2 = S_{\text{Papa}}^2 = S_{\text{Tomate}}^2 = S_{\text{Piña}}^2 = S_{\text{Repollo}}^2 = S_{\text{Flor de Jamaica}}^2$$

$$H_1 : S_{\text{Melocotón}}^2 \neq S_{\text{Chiltomo}}^2 \neq S_{\text{Papa}}^2 \neq S_{\text{Tomate}}^2 \neq S_{\text{Piña}}^2 \neq S_{\text{Repollo}}^2 \neq S_{\text{Flor de Jamaica}}^2$$

Aceptando  $H_0$  si:

$$\chi_{\text{cal}}^2 < \chi_{n-1,0.05}^2$$

En la Tabla V.6., se muestran los resultados del test de Bartlett aplicado a las replicas de los conjuntos de datos de las muestras.

**Tabla V.6.** Resultados del Test de Bartlett de las muestras

$\chi^2_{\text{Calculado}}$	33.546
$\chi^2_{\text{Tabla}}$	12.592
Grados de Libertad	6
$\alpha$	0.05

Como se puede observar en la Tabla V.6., el valor de  $\chi^2$  calculado es mayor que el valor de  $\chi^2$  tabulado por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta hipótesis alternativa, por lo que estadísticamente hablando al menos una de las muestras tiene una varianza diferente. Esto es que hay heterocedasticidad en las varianzas de las muestras.

Por esta razón realizamos diferentes ensayos, eliminando una muestra a la vez, en base a lo observado en los diagramas de cajas. Así se eliminó inicialmente la muestra de chiltomo, posteriormente la de flor de jamaica, luego la de piña y así sucesivamente: Se logró obtener homocedasticidad con cuatro muestras: melocotón, tomate, papa y repollo. Sin embargo la cantidad de información perdida considerando esta posibilidad es del 43%, muy alto si consideramos el conjunto total de muestras. En la Tabla V.7., se muestran los resultados de la prueba de Bartlett aplicado cuando se fueron eliminando muestras.

**Tabla V.7.** Resultados del Test de Bartlett con eliminación de muestras

<b>Parámetro</b>	<b>Sin eliminar</b>	<b>Eliminando chiltomo</b>	<b>Eliminando flor de jamaica</b>	<b>Eliminando piña</b>
$\chi^2$ Calculado	33.546	31.740	18.126	<b>6.832</b>
$\chi^2$ Tabla	12.592	11.070	9.488	<b>7.815</b>
<b>Grados de Libertad</b>	6	5	4	3
$\alpha$	0.05	0.05	0.05	0.05
<b>Conclusión</b>	Heterogéneas	Heterogéneas	Heterogéneas	Homogéneas

### V.3.2. ANOVA DE UN FACTOR

Seguido a la prueba de Bartlett, realizamos una prueba de ANOVA, sin embargo para tal planteamiento debíamos cumplir con una de las condiciones para su aplicación: *Homogeneidad de las varianzas u Homocedasticidad*, lo cual únicamente se cumplió cuando eliminamos tres de las muestras que contenían mayor concentración (chiltomo, flor de jamaica y piña).

Dado que nos habíamos planteado tal tarea, decidimos realizar el ANOVA a las muestras de melocotón, tomate, papa y repollo. Los resultados de esta prueba se muestran en la Tabla V.8.

**Tabla V.8.** ANOVA de un factor aplicado a las muestras de chiltomo, flor de jamaica y piña.

Origen de las variaciones	SC	GL	CMS	Fcal	Ftab
Entre grupos	1859.558	3	619.853	399.680	4.066
Dentro de los grupos	12.407	8	1.551		
Total	1871.965	11			

En base a lo planteado en el apartado III.4.2., en nuestro estudio las hipótesis nula y alternativa que nos planteamos fueron:

$$H_0 : \bar{X}_{\text{melocotón}} = \bar{X}_{\text{tomate}} = \bar{X}_{\text{papa}} = \bar{X}_{\text{repollo}}$$

$$H_1 : \bar{X}_{\text{melocotón}} \neq \bar{X}_{\text{tomate}} \neq \bar{X}_{\text{papa}} \neq \bar{X}_{\text{repollo}}$$

Aceptando  $H_0$  si:

$$F_{cal}^2 < F_{(n-1),(N-n), 0.05}^2$$

Rechazándola en caso contrario.

Tal y como se observa en la Tabla V.8., el Fcal es mayor que el Ftab, por lo que rechazamos la  $H_0$  y existe una alta probabilidad de que alguna de las muestras es significativamente diferente de las demás.

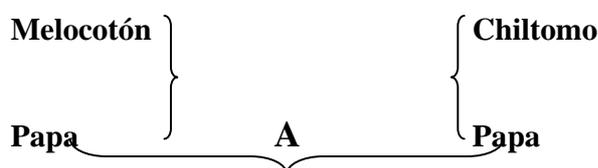
### V.3.3. MATRIZ DE CORRELACIONES

Con la intención de establecer la posible similitud u asociación entre las muestras estudiadas, decidimos obtener la matriz de correlaciones de las muestras. Creímos oportuno a la luz de los resultados del test de Bartlett y del ANOVA, incluir a todas las muestras objeto de este estudio debido, a que al eliminar al menos una de ellas se perdería información valiosa y necesaria para este estudio. En la Tabla V.7., se muestra el análisis de correlaciones de todas las muestras estudiadas.

*Tabla V.7.* Matriz de correlación de las muestras

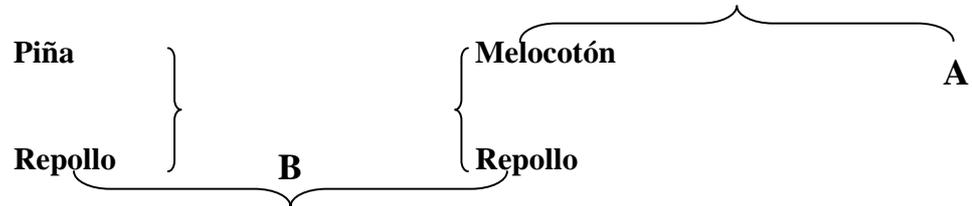
Variables	Chiltomo	Jamaica	Piña	Melocotón	Tomate	Papa	Repollo
<b>Chiltomo</b>	<b>1</b>						
<b>Jamaica</b>	0.736	<b>1</b>					
<b>Piña</b>	0.925	0.938	<b>1</b>				
<b>Melocotón</b>	0.987	0.836	0.975	<b>1</b>			
<b>Tomate</b>	0.845	<b>0.984</b>	0.985	0.920	<b>1</b>		
<b>Papa</b>	<b>0.997</b>	0.790	0.954	<b>0.997</b>	0.887	<b>1</b>	
<b>Repollo</b>	0.959	0.898	<b>0.995</b>	<b>0.992</b>	0.962	0.979	<b>1</b>

En la Tabla V.7., se observan diferentes grados de asociación entre las muestras, así el *melocotón* y la *papa* presentan una buena asociación con una correlación de **0.997**, mientras que el *chiltomo* y la *papa* presentan una similar correlación u asociación. Es de esperarse a nuestro criterio que se formen dos grupos asociados entre sí, uno entre *el melocotón y la papa* y otro entre *el chiltomo y la papa*. Sin embargo debido a que la papa es la muestra común en ambos casos, creemos que se deben formar dos grupos con una unión común entre ellos.

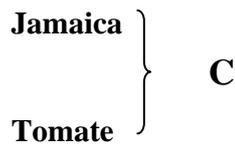


La *piña* y *el repollo* presentan buena asociación con una correlación de **0.995**, se espera por lo tanto que se forme un grupo entre estas dos muestras, a su vez el *repollo* y *el melocotón* presentan una correlación de **0.992**, por lo que se debe formar un grupo entre ellos.

Debido a que el melocotón es un puente de unión con los grupos anteriores se deben formar dos grupos uno entre la piña y el repollo y otro unido a los grupos formados por chiltomo, melocotón y papa.

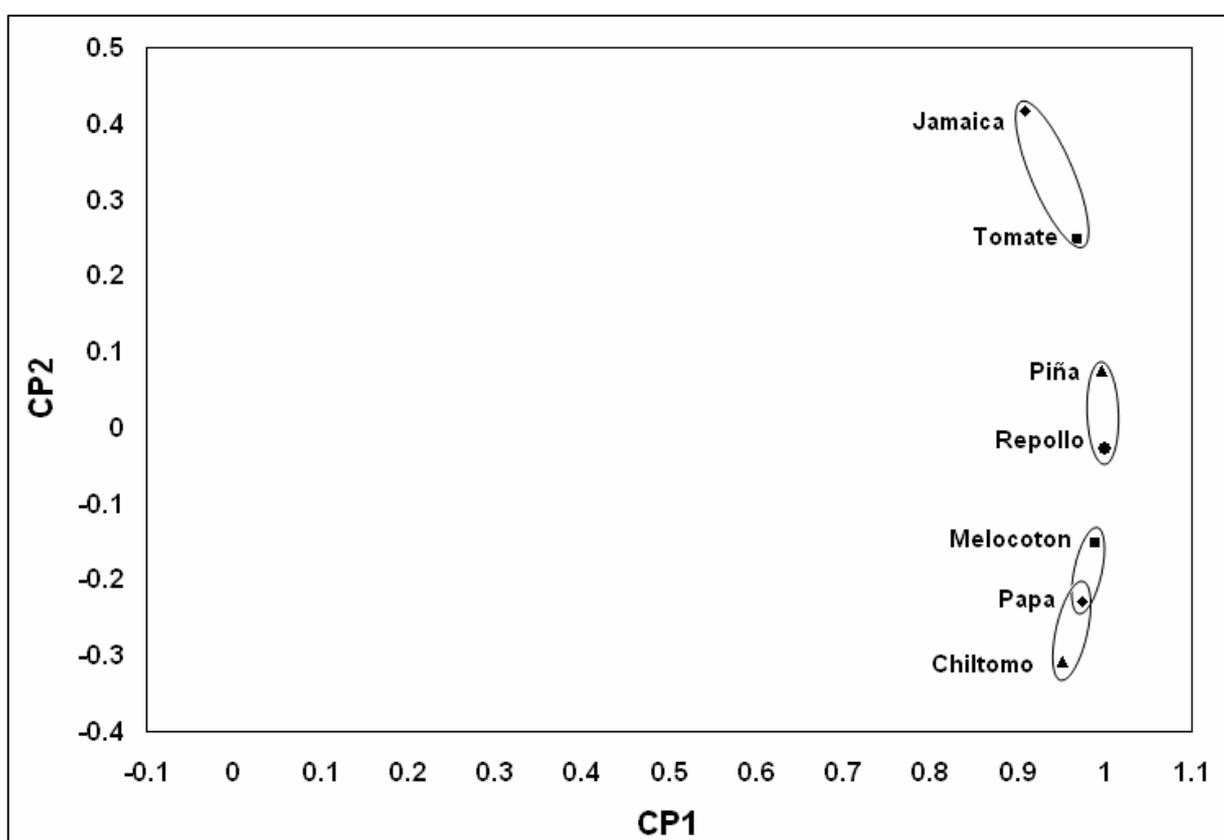


Finalmente la flor de jamaica y el tomate, presentan una correlación de **0.984**, formado otra asociación, que al no tener un vínculo o puente de unión, con las otras muestras forma un grupo separado de los otros grupos.



### V.3.4. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES Y DENDOGRAMAS

La confirmación de los resultados obtenidos en las matrices de correlaciones, puede ser realizada mediante el uso de herramientas de estadística multivariante, tal es el caso del *Análisis de Componentes Principales (ACP)* o mediante el denominado *Análisis de Clasificación Ascendente Jerárquica (ACJ)*, comúnmente denominado *Dendograma*. Estas herramientas son de gran utilidad para la visualización de múltiples variables tal es el caso de las muestras objetos de este estudio. En la Figura V.12. se muestra el gráfico de ACP de las muestras.

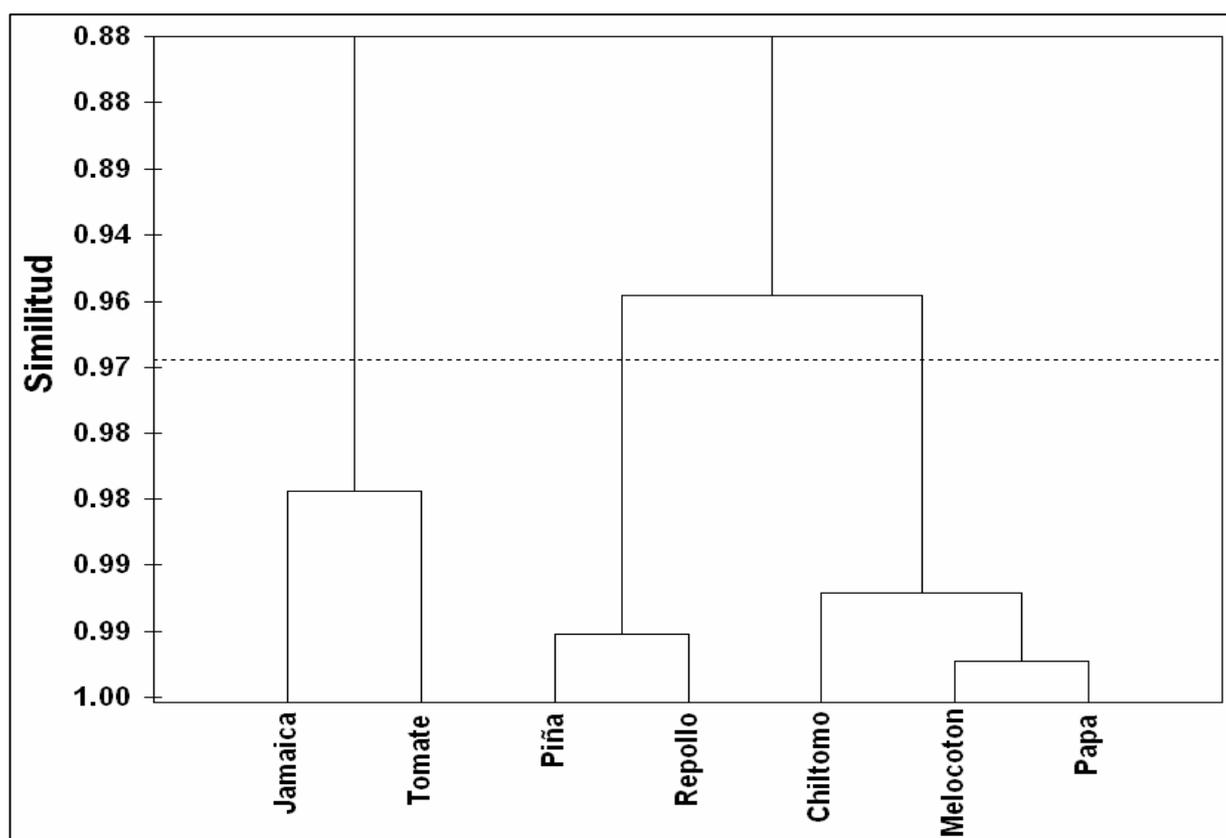


*Figura V.12.* Gráfico del análisis de componentes principales de las muestras.

De forma general podemos decir que el gráfico de análisis de componentes principales, ayuda a dilucidar asociaciones, agrupaciones y dependencias entre variables. Cabe destacar que este análisis también puede ser usado para disminuir la “frondosidad” de las matrices de variables múltiples, identificando asociaciones de variables las que posteriormente pueden ser descartadas en posteriores análisis disminuyendo la complejidad de los análisis.

Tal y como se observa en la Figura V.12, el análisis de componentes principales muestra resultados similares a lo observado en la matriz de correlaciones. De hecho las asociaciones o agrupaciones ya definidas en esta matriz, se observan claramente en el gráfico. Se observan así tres agrupaciones entre las que podemos mencionar la del *melocotón, la papa y el chiltomo*, la de la *piña y el repollo* y la de *jamaica y el tomate*.

Cabe destacar que los resultados del ACP, no necesariamente reflejan una relación de las muestras en lo referente a su contenido de vitamina C, si no más bien a las correlaciones entre las muestras. Por otro lado el algoritmo empleado en el ACP, las coordenadas de las observaciones, la carga factorial y los vectores propios, también influyen en los resultados observados en la Figura V.12. Sin embargo a pesar de esto, ésta herramienta resulta de gran importancia para determinar que variables se agrupan y de esta manera disminuir la alta complejidad de múltiples variables. En la Figura V.13., se muestran los resultados del (ACJ) o dendograma.



**Figura V.13.** Grafico del análisis de análisis de clasificación ascendente jerárquica de las muestras.

Tal y como se observa en la Figura V.13, el análisis de análisis de clasificación ascendente jerárquica muestra resultados similares a lo observado en la matriz de correlaciones y en el análisis de componentes principales. De hecho las asociaciones o agrupaciones ya definidas en estos dos análisis, se observan y se confirman claramente en este gráfico. Se observan así las mismas tres agrupaciones que encontramos en el análisis de componentes principales la del *melocotón, la papa y el chiltomo*, la de la *piña y el repollo* y la de *jamaica y el tomate*.

Si relacionamos el coeficiente de correlación con el porcentaje de similitud entre las muestras que conforman los grupos podemos decir que el grupo del *melocotón y la papa* forman un grupo con un porcentaje de similitud del **99.7%**, mientras que el *chiltomo y la papa* conforman un grupo con un porcentaje similar (**99.7%**).

Por otra parte la *piña y el repollo* conforman un grupo con un porcentaje de similitud del **99.5%**. Debido a que el *repollo y el melocotón* se relacionan también se conforma un nuevo grupo asociado al anterior con un porcentaje de similitud del **99.2%**, sin embargo debido a efectos de agrupamiento o acomodación al establecerse la unión con los grupos de papa, chiltomo y melocotón, esta se establece con un porcentaje de similitud del **96.4%**.

Cabe destacar que la jamaica y el tomate conforman un grupo independiente con un porcentaje de similitud del **98.4%**.

Finalmente es importante reflexionar sobre la importancia de estos análisis y su aplicación en la caso de múltiples variables. En nuestro caso la existencia de siete muestras con contenidos diversos de vitamina C, impide el empleo de herramientas de menor complejidad para su análisis, así las herramientas de análisis multivariante son de gran utilidad para tratar estos problemas. Falta mucho que aprender a este respecto, sin embargo la presente monografía es la segunda que ahonda en esta nueva línea, creemos que podemos seguir trabajando en esta línea y nos estamos preparando para la realización y consolidación de estudios de mayor complejidad, empleando herramientas de análisis multivariante. Sirve pues, la presente monografía como una base para estudios posteriores.

## VI. CONCLUSIONES

Una vez finalizados los análisis de los resultados de la presente monografía, creemos oportuno plantear las siguientes conclusiones:

1. Se logró determinar el contenido de vitamina C en siete muestras de agroalimentos usando la técnica de HPLC-RP y análisis de regresión lineal simple, con un pretratamiento previo de extracción con ácido metafosfórico. Se encontraron diversas concentraciones en las muestras estudiadas, siendo mayor en el chiltomo (884.10 mg/100g) y la menor en el repollo (10.64 mg/100g).
2. Se logró establecer el aporte nutricional de vitamina C 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 chiltomo y la flor de jamaica.
3. La aplicación de herramientas análisis de comparación nos indicó claras diferencias.
  - El test de Bartlett nos indicó heterogeneidad de las varianzas de todas las muestras. La eliminación de tres muestras (*chiltomo, jamaica y piña*) permitió conseguir la homogeneidad de las varianzas aunque esto condujo una pérdida de información importante.
  - El ANOVA, aplicado a las cuatro muestras que habían presentado homogeneidad (*melocotón, papa, repollo y tomate*), nos indicó diferencia entre las medias de los resultados de estas cuatro muestras.
  - El análisis de correlación nos indicó asociaciones entre tres grupos de muestras *melocotón, papa y chiltomo, piña y repollo y jamaica y tomate*.
  - El análisis de componentes principales corroboró los resultados obtenidos en el análisis de correlación, estableciendo grupos entre las muestras estudiadas.
  - El análisis clasificación ascendente jerárquico, produjo similares resultados a los obtenidos en el análisis de componentes principales y en el análisis de correlación, logrando perfectamente visualizar las agrupaciones detectadas.Estos resultados demuestran la validez de la utilidad de las herramientas de análisis estadístico en la comprensión de las diferencias o similitudes entre muestras.

## VII. RECOMENDACIONES

Una vez finalizada la presente monografía y considerando los resultados, dificultades y logros obtenidos durante su ejecución, creemos pertinente realizar las siguientes recomendaciones:

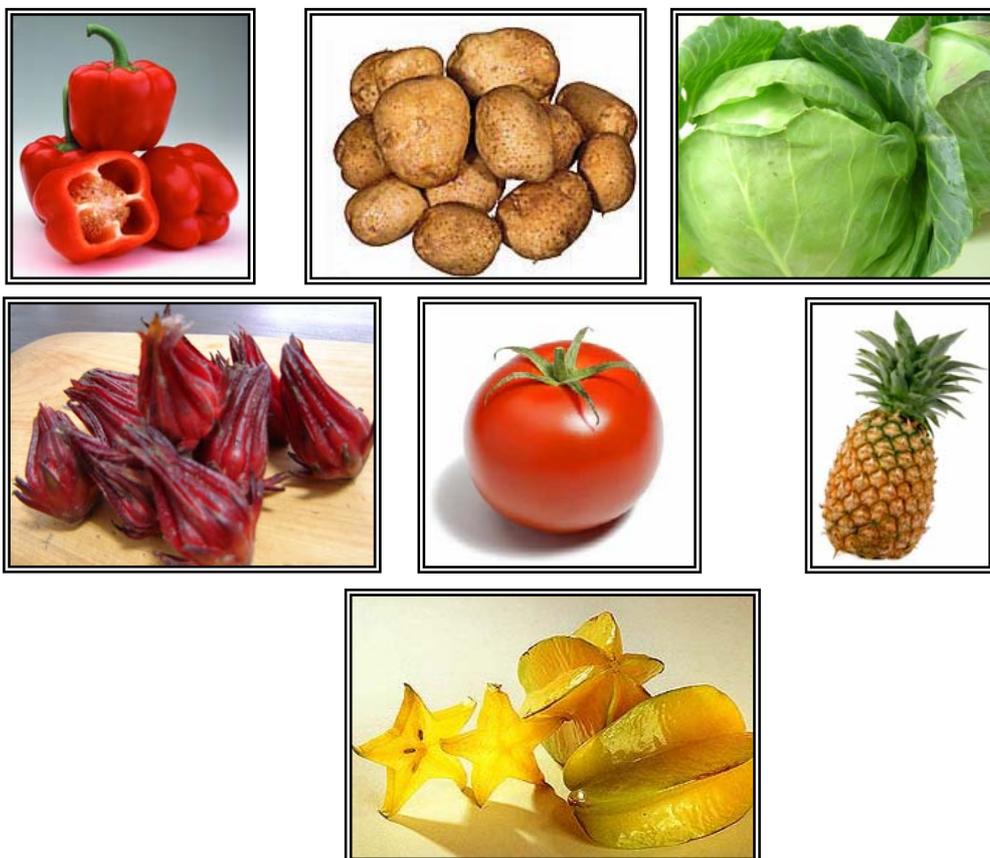
1. Realizar diferentes estudios de recuperación de la vitamina C en las muestras objeto de estudio.
2. Realizar un estudio de la influencia de las matrices en la determinación de la vitamina C.
3. Realizar un estudio de diferentes sistemas de extracción a fin de comparar nuestros resultados con estos estudios.
4. Extender el análisis a otros isómeros de la vitamina C tales como el ácido deshidroascórbico.
5. Mejorar las condiciones ambientales del Laboratorio de Técnicas de Separación, que permita una mayor estabilidad para los analitos objetos de estudio.
6. Realizar un estudio de validación del método ensayado, a fin de incorporarlo como análisis de rutina en el Laboratorio de Técnicas de Separación.

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Lic. Marcela Licata, Zonadiet, “las vitaminas”, <http://www.zonadiet.com/nutricion/vitaminas.htm>, 1999-2007, Lunes 12/11/07
2. Lic. Marcela Licata, Zonadiet, “vitaminas liposolubles” <http://www.zonadiet.com/nutricion/liposol.htm>, 1999-2007, Lunes 12/11/07
3. Lic. Marcela Licata, Zonadiet, “vitaminas hidrosolubles” <http://www.zonadiet.com/nutricion/hidrosol.htm>, 1999-2007, Lunes 12/11/07
4. Lic. Marcela Licata, Zonadiet, “la vitamina C” <http://www.zonadiet.com/nutricion/vit-c.htm>, 1999-2007, Lunes 12/11/07
5. Lic. Marcela Licata, Zonadiet, <http://www.zonadiet.com/nutricion/coccion.htm>, 1999-2007, Lunes 12/11/07
6. Son sustancias solubles en agua,”las vitaminas hidrosolubles” [http://essa.uncoma.edu.ar/academica/materias/morfo/ARCHIVOPDF6/PARTE6/VITAMINAS3\\_Vitaminas\\_hidrosolubles.pdf](http://essa.uncoma.edu.ar/academica/materias/morfo/ARCHIVOPDF6/PARTE6/VITAMINAS3_Vitaminas_hidrosolubles.pdf) . Pág. 1, Miércoles 14/11/2007
7. ácido ascórbico [http://www.bedri.es/Libreta\\_de\\_apuntes/A/AC/Acido\\_ascorbico.htm](http://www.bedri.es/Libreta_de_apuntes/A/AC/Acido_ascorbico.htm) Sábado 17/11/2007
8. Determinación de vitamina C por cromatografía líquida de alta resolución “HPLC” [http://www.itcr.ac.cr/publicaciones/tecnologia\\_marcha/pdf/tecnologia\\_marcha3/determinacion\\_de\\_vitamina\\_C\\_total\\_por\\_cromatografia.pdf](http://www.itcr.ac.cr/publicaciones/tecnologia_marcha/pdf/tecnologia_marcha3/determinacion_de_vitamina_C_total_por_cromatografia.pdf) Pág. 16 Viernes 30/10/2007
9. hplc, [http://es.wikipedia.org/wiki/Cromatograf%C3%ADa\\_l%C3%ADquida\\_de\\_alta\\_resoluci%C3%B3n](http://es.wikipedia.org/wiki/Cromatograf%C3%ADa_l%C3%ADquida_de_alta_resoluci%C3%B3n) Viernes 30/10/2007
10. frutas y verduras, <http://www.uned.es/pea-nutricion-y-dietetica-I/guia/cardiovascular/frutasy.htm> Lunes 12/11/2007
11. Piña, <http://www.euroresidentes.com/Alimentos/pina.htm> Jueves 01/11/2007
12. <http://frutas.consumer.es/documentos/frescas/pina/intro.php.pag> 3 Jueves 01/11/2007
13. Tomate, <http://www.euroresidentes.com/Alimentos/tomate.htm> Jueves 01/11/2007
14. <http://www.infoagro.com/hortalizas/tomate3.htm> Pág. 3. Jueves 01/11/2007
15. Pimiento, <http://www.euroresidentes.com/Alimentos/pimientos.htm> Jueves 01/11/2007
16. composición química del pimiento <http://fichas.infojardin.com/hortalizas-verduras/pimientos-aji-pimiento-morron-pimientos-morrones.htm> Jueves 01/11/2007
17. papa, <http://fichas.infojardin.com/hortalizas-verduras/patata-patatas-papa-papas.htm> Jueves 01/11/2007
18. Col, <http://www.euroresidentes.com/Alimentos/col.htm> Jueves 01/11/2007
19. Composición química del repollo <http://fichas.infojardin.com/hortalizas-verduras/repollo-repollos-col-repollo-hoja-lisa.htm> Jueves 01/11/2007
20. Frutas, <http://frutas.consumer.es/documentos/tropicales/carambola/intro.php> Jueves 01/11/2007

21. contenido nutricional de Averrhoa Carambola  bg1="lt1" Jueves 01/11/2007
22. Hibiscus sabdariffa, [http://es.wikipedia.org/wiki/Hibiscus\\_sabdariffa](http://es.wikipedia.org/wiki/Hibiscus_sabdariffa) Jueves 01/11/2007
23. Estudio de inteligencia de mercado, [http://www.cuentadelmilenio.org.ni/Documentos/PNR/2007/Flor\\_de\\_Jamaica.pdf](http://www.cuentadelmilenio.org.ni/Documentos/PNR/2007/Flor_de_Jamaica.pdf) Jueves 01/11/2007
24. <http://www.alimentacion-sana.com.ar/informaciones/novedades/verduras.htm> Lunes 12/11/07
25. Esquema de dibujo de cromatografía: <http://img1143.imageshack.us/img143/786/hplcschfe7.gif> Lunes 12/11/07
26. Frutas y verduras <http://www.uned.es/pea-nutricion-y-dietetica-I/guia/cardiovascular/frutasy.htm> Lunes 12/11/07
27. Prueba de homogeneidad de varianzas [http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/ciencias/2000352/lecciones\\_html/unidad2/leccion3/leccion-03-03-01-03.html](http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/ciencias/2000352/lecciones_html/unidad2/leccion3/leccion-03-03-01-03.html). Jueves 28/12/2007
28. Análisis de varianza con un factor(ANOVA). [www.ub.es/aplica\\_infor/spss/cap4-7.htm](http://www.ub.es/aplica_infor/spss/cap4-7.htm). Jueves 28/12/2007
29. Correlación: <http://dieumsnh.qFb.umieh.mx/estadistica/correlacion.htm>. Jueves 28/12/2007
30. Análisis Clasificadorio Ascendente. [www.anova/ra.es/.../curso%202004-05/Apuntes%20estadistica/Cluster.pdf](http://www.anova/ra.es/.../curso%202004-05/Apuntes%20estadistica/Cluster.pdf) Jueves 28/12/2007
31. James N. Miller-Jane C. Miller “Estadística y quimiometría para química analítica” capítulo 5 Isabel Capella Prentice Hall 4ª Edición, Madrid, España 2002. Pág. 120-125. Lunes 01/09/2008
32. Guillermo Ramis Ramos, María Celia García Álvarez-Coque. Quimiometría Carlos Seoane Prado, Editorial Síntesis, S.A. (Madrid España), Año 2001 Pág 70-72 Lunes 01/09/2008

## IX. ANEXOS



*Figura IX.1.* Muestras utilizadas en este estudio.



*Figura IX.2.* Equipo Cromatográfico utilizado para el análisis de vitamina C.

**Tabla IX.1** Áreas de los estándares de vitamina C utilizados para la recta de regresión.

Nivel	Concentración (g/100 mL)	Área
1	0.0022	370119.6
		370104.6
		370118.1
<b>Media</b>		<b>370114.1</b>
2	0.0037	1187506.8
		1186138.8
		1187055.3
<b>Media</b>		<b>1186900.3</b>
3	0.0059	2354223.8
		2352860.1
		2353774.8
<b>Media</b>		<b>2353619.6</b>
4	0.0081	3141082.3
		3139720.5
		3140640.2
<b>Media</b>		<b>3140481.0</b>

**Tabla IX.2** Áreas de las muestras de los agroalimentos que se analizaron y sus respectivos factores de dilución (FD).

MUESTRA	Áreas	FD
Melocotón	1318508.93	1
	1342967.20	
	1418219.58	
Tomate	1103441.31	1
	1212721.29	
	1285288.88	
Chiltomo	1294238.89	10
	1236943.72	
	1241728.71	
Papa	937340.02	1
	976756.72	
	943935.59	
Piña	1088995.96	5
	946452.82	
	830667.52	
Repollo	575736.32	1
	615707.11	
	687311.63	
Jamaica	999213.1	1
	1135145.06	
	1177387.79	



“A LA LIBERTAD POR LA UNIVERSIDAD”