

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA-LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA



**“ESTUDIO PRELIMINAR DE LA COMPOSICIÓN
PROXIMAL, QUÍMICA Y NUTRICIONAL DE CÁLCICES DE
FLOR DE JAMAICA (*Hibiscus Sabdariffa L.*) RECOLECTADOS
EN LOS AÑOS 2006 Y 2007”**



MONOGRAFÍA
PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADA EN QUÍMICA
PRESENTADA POR
BR. FRANCISCA DEL SOCORRO POVEDA LACAYO
TUTORES
DR. SERGIO LÓPEZ GRÍO.
LIC. MARÍA ERNESTINA SOTO SARRIA
LEÓN, NICARAGUA, 10 DE ABRIL DEL 2008

DEDICATORIA

A Dios nuestro señor por dirigir mi vida en el camino del bien y por darme fortaleza y sabiduría para seguir creciendo cada día como persona, y llegar hasta este momento, uno de los más importantes de mi vida.

A mi Madre Rosa Lacayo, con mucho amor por darme la oportunidad de estar aquí cumpliendo una meta, por apoyarme en todo lo que necesite y por saber que con ella siempre podré contar.

A mis Hermanos Leslye y Rafael Poveda con mucho cariño.

*A mi Abuelito Antonio Poveda de manera muy especial y con mucho amor
(q.d.e.p)*

Nomina si nescis, perit et cognitio rerum.

(Si ignoras el nombre de las cosas, desaparece también lo que sabes de ellas)

Carlos Linneo en 1755.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios nuestro señor por darme la vida, y por haber estado presente en la realización y culminación de mi monografía, dándome: confianza, fortaleza, sabiduría, ánimo y seguridad

De manera muy especial a mi madre Rosa Lacayo, por su apoyo incondicional, moral y económico que siempre me ha brindado.

Al Dr. Sergio López quien con su conocimiento y dedicación me ayudo a la culminación de este trabajo monográfico.

A la Lic. María Ernestina Soto que dedico su tiempo y apoyo en la realización de este trabajo.

A todos mis amigos que también estuvieron dándome apoyo mis más sinceros agradecimientos.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CONTENIDO	PÁGINA
I. Resumen	1
II. Objetivos	2
III. Marco teórico	3
III.1 La flor de jamaica (<i>Hibiscus Sabdariffa L.</i>)	3
III.1.1. Descripción	3
III.1.2. Variedades	4
III.1.3. La Flor de Jamaica en Nicaragua	4
III.1.4. Usos de la Flor de Jamaica:	5
III.2. Análisis proximal	6
III.2.1. Humedad	7
III.2.2. Ceniza	7
III.2.3. Grasa	8
III.2.4. Proteínas	8
III.2.5. Fibra cruda	8
III.2.6. Carbohidratos	9
III.3. Macro y micro elementos	9
III.4. Dosis diaria recomendada (DDR) de minerales y otros compuestos	13
III.4.1. El Valor Energético	13
III.5. Métodos analíticos usados en plantas	14
III.6. Electroforesis Capilar	15
III.7. Incertidumbre de las Predicciones	17
IV. Materiales y métodos	19

IV.1. Equipos	19
IV.2. Materiales	20
IV.3. Reactivos	21
IV.4. Soluciones	22
IV.5. Métodos	24
IV.5.1 Pretratamiento de la muestra	24
IV.5.2- Determinación de Humedad	24
IV.5.3 Determinación de Ceniza	25
IV.5.4 Determinación de Grasa Bruta	26
IV.5.5 Determinación de Nitrógeno (Proteína Cruda)	27
IV.5.6 Determinación de Fibra Bruta	28
IV.5.7 Determinación de Carbohidratos	29
IV.5.8 Determinación de Contenido Energético	29
IV.5.9 Determinación de Hierro	30
IV.5.10 Determinación de Fósforo	32
IV.5.11 Determinación del Contenido de Cationes	34
IV.5.12 Determinación del Contenido de Aniones	36
V. Análisis de Resultados	38
V.1. Parámetros proximales en Flor de Jamaica	38
V.1.1. Determinación de Hierro y Fósforo	38
V.2. Cationes en Flor de Jamaica	44
V.3. Aniones en Flor de Jamaica	53
VI. Conclusiones	64
VII. Recomendaciones	65

VIII. Bibliografía	66
IX. Anexos	68
IX.1 Replicas del Porcentaje de Humedad en Muestras	68
IX.2 Replicas del Porcentaje de Ceniza en Muestras	68
IX.3 Replicas del Porcentaje de Fibra Bruta en Muestras	68
IX.4 Replicas del Porcentaje de Proteína Cruda en Muestras	68
IX.5 Replicas del Porcentaje de Grasa Bruta en Muestras	69
IX.6 Replicas del Porcentaje de Carbohidratos en Muestras	69
IX.7 Absorbancia (Abs) de Estándar de Hierro (Fe) a distintas concentraciones	69
IX.8 Replicas del Porcentaje de Hierro en Muestras	70
IX.9 Absorbancia (Abs) de Estándar de Fósforo (P) a distintas concentraciones	70
IX.10 Replicas del Porcentaje de Fósforo en Muestras	70
IX.11 Media de Áreas de Estándares de Cationes a distintas concentraciones	71
IX.12 Duplicado del Porcentaje de Cationes en Muestras	71
IX.13 Media de Alturas de Estándares de Aniones a distintas concentraciones	72
IX.14 Duplicado del Porcentaje de Aniones en Muestras	72

I- RESUMEN

En el presente trabajo monográfico se realiza un estudio de los parámetros proximales y químicos, así como del aporte nutricional de dos muestras de cálices de Flor de Jamaica, recolectadas en los años 2006 y 2007 en la periferia de la Ciudad de León, Nicaragua. Los parámetros proximales analizados fueron: humedad, ceniza, fibra, proteína, grasa, energía y carbohidratos, mientras que los parámetros químicos fueron: hierro, fósforo, potasio, sodio, calcio, magnesio, cloruro, sulfato, fluoruro y fosfato. El aporte nutricional de las muestras se discute tomando en consideración la Dosis Diaria Recomendada (DDR), es decir la dosis mínima que un ser humano debe consumir de un nutriente para mantenerse sano. Para la realización del estudio, se emplearon diversas técnicas analíticas, tales como Gravimetría, Volumetría, Colorimetría y Electroforesis Capilar. Los resultados obtenidos evidencian que la muestra del año 2006 presenta porcentajes mayores de humedad, fibra, fósforo, magnesio y fluoruro, mientras que la del 2007 revela porcentajes mayores de ceniza, proteína, grasa, hierro, carbohidratos, potasio, sodio, calcio, cloruro, sulfato y fosfato. En lo que respecta a los aspectos nutricionales, se encontró que la muestra del 2006 aportaba mayores porcentajes a la DDR de fibra, fósforo, magnesio y fluoruro, mientras que la muestra del 2007 aportaba mayores porcentajes a la DDR de los restantes elementos y compuestos estudiados, lo que nos lleva a inducir que la muestra del año 2007 es más aceptable nutricionalmente que la muestra del año 2006. Las diferencias observadas en los parámetros proximales y químicos, así como en el aporte nutricional de las muestras del año 2006 y 2007, son debidas a muchos factores, entre los que podemos mencionar, el tipo de suelo, la zona de cultivo, las condiciones de cultivo y cosecha, el almacenaje, la variedad, el tratamiento de secado y las condiciones ambientales, entre otros.

II- OBJETIVOS

II.1- OBJETIVO GENERAL

Estudiar parámetros proximales, químicos y nutricionales en cálices de Flor de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa L.*) recolectados en los años 2006 y 2007.

II.2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar el análisis proximal en cálices de Flor de Jamaica usando técnicas gravimétricas y volumétricas.
2. Determinar el contenido de Hierro y Fósforo en cálices de Flor de Jamaica, aplicando técnicas colorimétricas.
3. Aplicar la Electroforesis Capilar en modo de Zona para el análisis de cationes: potasio, sodio, calcio y magnesio y aniones bromuro, cloruro, sulfato, nitrito, nitrato, fluoruro y fosfato en cálices de Flor de Jamaica.
4. Relacionar los resultados obtenidos de las muestras de los años 2006 y 2007 con el aporte nutricional de los cálices de Flor de Jamaica en relación a la Dosis Diaria Recomendada.

III. MARCO TEÓRICO

III.1- LA FLOR DE JAMAICA (*Hibiscus Sabdariffa L.*)

III.1.1- DESCRIPCIÓN

La flor de Jamaica es una planta originaria de la India, se le conoce como: sarent, aleluya, y rosa de Jamaica. Esta planta se ha distribuido extensamente en zonas tropicales y subtropicales. Se dice que las semillas de esta planta fueron traídas a América por esclavos Africanos. Su clasificación taxonómica se muestra en la **Tabla III.1.** [22]

Tabla III.1. Clasificación taxonómica de la Flor de Jamaica

Reino:	<i>Vegetal</i>	División:	<i>Antophitas</i>
Subdivisión:	<i>Angiosperma</i>	Clase:	<i>Dicotiledónea</i>
Orden:	<i>Malvales</i>	Familia:	<i>Malvaceae</i>
Género:	<i>Hibiscus</i>	Especie:	<i>Sabdariffa L.</i>
Nombre científico:	<i>Hibiscus sabdariffa L</i>	Nombre vulgar:	<i>Jamaica</i>

La Jamaica es una planta arbustiva, anual de rápido desarrollo, con altura de 2.5 a 3.5 metros, que tiene forma de cuña, palmípedo nerváceo, se cubre de hoja empezando en la copa y en las ramas y soporta grandes axilas con flores. Por disponer de un sistema radicular desarrollado y profundo, muestra una gran adaptabilidad a diferentes tipos de suelos.

La raíz es cabelluda, pivotante, coriácea, grisácea e inodora. Las hojas son verdosas por arriba y amarillentas por abajo; alternas, lisas, con pecíolos largos y erguidos. Las flores son asilares de color amarillo claro, solitarias y casi sésiles y los cálices son casi persistentes, rojizos, el exterior está cortado profundamente en Licinio agudas derechas o encorvadas, el interior es más grande, semiquenquífido de color púrpura, consisten en cinco celdas capsuladas conteniendo semillas.

El fruto es seco, de cinco lóbulos, compuesto cada uno de tres láminas delgadas y oblongas lisas por dentro y erizadas por fuera, de pelos finos y picantes. Cada fruto encierra unos veinte granos negros y reniformes.

III.1.2- VARIEDADES

De acuerdo a la finalidad de explotación, existe una división de *Hibiscus sabdariffa L.* en tres grupos de variedades: [22]

1. **Productoras de fibra:** altísima y bhagalpuriensis
2. **Intermedias:** intermedius, albus y ruber, de las cuales se obtienen simultáneamente fibras y cálices.
3. **Productoras de cáliz:** archer, temprana, rico y victor.

Por otra parte, se menciona que las condiciones ambientales, el tipo de suelo y nutrición, pueden influir para que plantas de una misma variedad adquieran características muy particulares, de acuerdo al lugar donde se cultive. Por tal razón, las descripciones botánicas que de esta especie hacen algunos autores, difieren un poco entre sí.

Existen entre otras las siguientes 4 variedades comestibles:

1. **Rico**
2. **Víctor (Vencedor)**
3. **Archer**
4. **Temprana**

III.1.3- LA FLOR DE JAMAICA EN NICARAGUA

No existe en la bibliografía consultada referencias claras sobre la fecha de introducción de la Jamaica en Nicaragua ni quienes fueron los que la introdujeron, se sospecha que esta fue traída por los españoles, durante la colonia como una planta ornamental. [23, 24, 25, 26]

En Nicaragua la Jamaica dada sus características se cultiva en diferentes zonas con fines de exportación o para consumo interno. La Jamaica se cultiva principalmente en el Pacífico Norte, León y Chinandega, Pacífico Sur, Managua, Masaya, Carazo, Granada, Rivas e Isla de Ometepe y en alguna medida en la Región de Las Segovias, Nueva Segovia, Madriz y Estelí.

Los rendimientos de producción anual en el país llegan a ser de hasta 2000 libras de cálices por manzana, un rendimiento bastante bajo en comparación con los rendimientos obtenidos por productores de China, 3143 libras, o de la India 2358 libras, esto es debido entre otros factores a la utilización de variedades criollas, manejo rústico y falta de tecnología genética del cultivo. Por otro lado los costos de inversión en el país pueden alcanzar hasta los 500 dólares por manzana, un precio relativamente alto, dado que el precio en el mercado local se dispara hasta los 9 dólares el kilo un precio muy superior a los 3.5 dólares que alcanza en el mercado internacional. [23, 24, 25, 26]

En el país se cultivan principalmente las siguientes variedades: [23, 24, 25, 26]

1. **Criolla**
2. **Reina**
3. **Indonesia**

III.1.4- USOS DE LA FLOR DE JAMAICA:

La flor de jamaica tiene diversas aplicaciones, debido a su contenido importante de ácido hibisco, ácidos orgánicos (málico, cítrico y tartárico), así como al colorante rojo, que le confieren propiedades tales como: digestivas y tonificantes, laxantes suaves, diuréticas y emolientes. [1]

Los extractos de las flores de jamaica se emplean como colorantes naturales para los alimentos, en emulsiones para las bebidas y en la preparación de mermeladas y gelatinas de color rojo brillante de sabor ácido. La cocción de las flores también se usa como un sustituto del té o el café. Se le recomienda en la terapia del corazón, enfermedades de los nervios, presión sanguínea alta, fiebre, enfermedades hepáticas y calcificación de las arterias. Protege el sistema vascular humano e inhibe la enzima angiotensina y reduce la hipertensión. Es también útil como diurético y antibacteriano. Sus preparaciones pueden ser usadas como laxantes. La semilla constituye una fuente excelente de aceite de cocina. Los tallos tiernos, hojas y cálices se usan en la preparación de sopas y salsas. Los cálices se ocupan en preparados que se consumen como sustitutos de la carne. Las flores y frutos carnosos se utilizan en infusiones para aliviar los síntomas de bronquitis, la tos y el constipado. Actúa como antioxidantes y contribuye a las acciones anticancerígenas o cardioprotectivas.

Tiene un efecto antiespasmódico, reduce la hipertensión, es antimicrobiana y propicia la relajación del músculo uterino. Las hojas son emolientes y se usan comúnmente como diuréticas y sedativas, mientras que los frutos sirven para combatir el escorbuto. La infusión de los cálices se además como antiséptico intestinal y laxativo suave; es refrescante y útil en condiciones que propician el enojo, en enfermedades de los nervios y del corazón, de alta presión sanguínea y calcificación de las arterias. [2]

III.2- ANÁLISIS PROXIMAL.

El propósito principal de un análisis proximal es determinar, en un alimento o planta, el contenido de humedad, grasa, proteína y cenizas. Estos procedimientos químicos revelan también el valor nutritivo de un producto y como estos pueden ser combinado de la mejor forma con otras materias primas para alcanzar el nivel deseado de los distintos componentes de una dieta alimenticia tanto humana como animal. El análisis proximal es también un excelente procedimiento para realizar control de calidad y determinar si los productos terminados alcanzan los estándares establecidos por los productores y consumidores. [3]

El análisis proximal esta compuesto por un conjunto de análisis químicos de una muestra de interés entre los que se pueden mencionar:

1. Porcentaje de Humedad
2. Porcentaje de Ceniza
3. Porcentaje de Grasa
4. Porcentaje de Proteína
5. Porcentaje de Fibra Cruda
6. Porcentaje de Carbohidratos

Por otra parte se suelen incluir otros análisis químicos que complementan este análisis proximal entre los que se incluyen:

1. Porcentaje de Fósforo
2. Porcentaje de Hierro

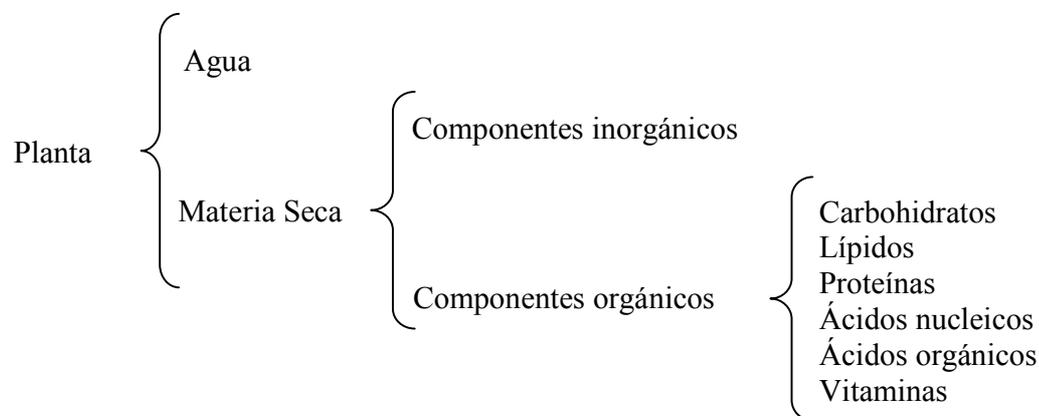
III.2.1- HUMEDAD

El agua se encuentra en las plantas en tres formas: como agua de combinación, como agua adsorbida y en forma libre, aumentando el volumen. El agua de combinación esta unida en alguna forma química como agua de cristalización o como hidratos. El agua adsorbida está asociada físicamente como una monocapa sobre la superficie de los constituyentes de las plantas. El agua libre es aquella que es fundamentalmente un constituyente separado, con facilidad se pierde por volatilización o por secado. [4]

III.2.2- CENIZA

La materia seca de las plantas está constituida por una fracción orgánica y otra inorgánica. El componente inorgánico está dado por los minerales que poseen el vegetal, principalmente potasio y silicio. Pero también, la mayoría de los compuestos orgánicos contienen elementos minerales como componentes estructurales, por ejemplo, las proteínas contienen azufre, y muchos lípidos y carbohidratos, fósforo. [5]

La composición de las plantas se puede sintetizar en el siguiente esquema:



La materia inorgánica que forma parte constituyente de las plantas (sales minerales) es lo que se denomina ceniza. Las cenizas permanecen como residuos luego de la calcinación de la materia orgánica de la planta, dicha calcinación debe efectuarse a una temperatura adecuada lo suficientemente alta como para que la materia orgánica se destruya totalmente, observando que la temperatura no sea excesiva para evitar que los compuestos inorgánicos sufran alteración (fusión, descomposición, volatilización, o cambio de estructura). [4]

III.2.3- GRASA

La grasa es una parte de los constituyentes de la materia orgánica de las plantas. También se le conoce como extracto de éter o lipídico. Es la porción de una planta que puede ser extraída por medio de un solvente orgánico, por lo general hexano. Los niveles de grasa se pueden interpretar como un indicador parcial del nivel energético que pueda tener un alimento pero de ninguna manera de su eficiencia total. [6]

Los ácidos grasos que constituyen a las grasas se pueden clasificar de manera general en ácidos grasos saturados y ácidos grasos insaturados. La función principal de los ácidos grasos en las plantas es la de servir de reservorio de energía alimenticia. Aunque también se le relaciona con un papel en la planta. Así por ejemplo, las plantas pertenecientes a la familia de las Boragináceas son ricas en ácidos grasos saturados e insaturados que tienen acción tóxica y/o repelente (frente a insectos herbívoros), herbicida y fungicidas. Además se ha comprobado la especificidad de acción de este tipo de compuestos existiendo una relación inversa entre la longitud de la cadena del ácido graso y su actividad biológica. [7]

III.2.4- PROTEÍNAS

Las proteínas son sustancias químicas que están compuestas de Amino Ácidos y que se pueden encontrar tanto en la plantas como en los animales, de ahí una de sus clasificaciones. Las proteínas son necesarias para la formación y renovación de los tejidos, constituyen del 10 al 15% del aporte alimenticio en el hombre. En la alimentación las proteínas de origen animal y vegetal son necesarias para asegurar el aporte de los aminoácidos esenciales y no esenciales indispensables en la síntesis de proteína que intervienen en la estructura y en la función de la célula del organismo. [4]

III.2.5- FIBRA CRUDA

Se refiere al residuo orgánico insoluble después de hervir la muestra en soluciones ácidas y alcalinas diluidas. La definición de fibra cruda es un intento para separar los carbohidratos más fácilmente digeribles de aquellos que no lo son. Las fibras son las partes de las plantas que no se pueden digerir por los seres humanos. Aunque no proporcionan nutrientes, son esenciales para la salud. Hay dos tipos principales de fibra: soluble e insoluble.

Las verduras, las frutas, los cereales y las legumbres contienen ambas. La fibra soluble es aquella que se disuelve en agua y forma un gel en el intestino, lo que permite la absorción más uniforme de la glucosa en el tracto digestivo, evitan el estreñimiento al reblandecer la materia fecal, ya que mejoran la motilidad intestinal. También contribuyen a reducir el nivel de colesterol sanguíneo, al disminuir la absorción intestinal. Otro beneficio de las fibras es que aumentan la sensación de saciedad y disminuyen el apetito. Se recomienda ingerir de 20 a 30gr de fibra diariamente. Se ha demostrado que una dieta rica en fibras puede proteger del cáncer de colon. La combinación de ambas fibras se conoce como fibra dietética. [8]

III.2.6- CARBOHIDRATOS

La fotosíntesis es la función por la cual las plantas verdes mediante la clorofila y en presencia de la luz solar, transforma el dióxido de carbono y el agua en sustancias hidrocarbonadas con desprendimiento de oxígeno. Esta ruta metabólica concluye con las síntesis de carbohidratos, a partir de dióxido de carbono y agua mediante el uso de la energía radiante de la luz solar. Las plantas almacenan carbohidratos y azúcares en las raíces, tallos y frutos. Las plantas al igual que los animales metabolizan los carbohidratos para realizar diversas funciones.

Los carbohidratos de las plantas se dividen en dos grupos: estructurales y no estructurales. Los primeros forman parte de la pared celular y entre éstos se encuentran la celulosa, la hemicelulosa y la pectina. Estos, son causantes de la fibrosidad de los alimentos, no están disponibles para el metabolismo energético de la planta, son insolubles en agua y poseen una fermentabilidad potencial lenta y limitada. Los segundos se almacenan en órganos vegetativos como raíces, rizomas, estolones, coronas y parte inferiores del tallo. Los principales no estructurales en los tejidos de las plantas son monosacáridos como glucosa y fructosa, disacáridos como sucrosa y maltosa y polisacáridos como almidones y fructanos. [9]

III.3- MACRO Y MICRO ELEMENTOS

Los macro y micro elementos son aquellos elementos químicos que en mayor o menor proporción son necesarios para el desarrollo de las plantas y que en general estas toman del suelo por las raíces y del aire por las hojas. Estos elementos se clasifican según el contenido cuantitativo en el tejido de las plantas reflejando su esencia biológica diferente. La vitalidad de cualquier organismo vivo no es posible sin macro y micro elementos.

Aunque se han identificado veinte elementos químicos en la mayor parte de las plantas, se ha visto que solamente dieciséis son realmente necesarios para un adecuado crecimiento una completa maduración de las plantas. A estos 16 elementos se les considera como los elementos esenciales.

Los elementos más importantes para el crecimiento de las plantas son los **macro elementos** o elementos principales tales como el nitrógeno, fósforo y potasio. Estos deberían ser suministrados a las plantas a través de fertilizantes. Le siguen los **meso elementos** o elementos secundarios tales como el calcio, magnesio y azufre. Finalmente le siguen los **micro elementos u oligo elementos** tales como el hierro, manganeso, boro, zinc, cobre y molibdeno. Estos están generalmente presentes en el suelo en cantidades suficientes y las plantas lo necesitan en dosis menores. Los macro, meso y micro elementos pueden ser adquiridos por las plantas a través del suelo. El nivel de estos elementos en el suelo nos puede indicar con bastante aproximación que tipo de cultivo podría ser cultivado en éste. Los Macro y Meso elementos y se expresan como % en la planta, mientras que los Microelementos se expresan como ppm.

Es necesario establecer que los elementos deben estar en proporciones relativamente equilibradas. El exceso de un elemento puede no aprovecharse e incluso puede bloquear la absorción de otro o convertirlo en tóxico. Las sales disueltas en el agua del sustrato (lo que incluye fertilizantes, restos de fertilizantes y sales aportadas por el agua de riego) se van acumulando y para cada planta existe un límite que si se supera produce síntomas desde puntas necrosadas en las hojas hasta la muerte de la planta. [10]

Las funciones de los macro, meso y micro elementos son las siguientes:

1. **Nitrógeno (N):** El rango del N en la materia seca es de **2.5 al 4%**. De este un 80 - 85% corresponde a la proteína y un 10% a los ácidos nucleicos. [13] De este modo, cuando una planta requiere fertilizantes, el 90% de lo requerido es Nitrógeno. Además de las proteínas cualquier parte de la planta contiene N. Este puede ser analizado en la planta como nitrato, nitrito, nitrógeno total y nitrógeno amoniacal.

2. **Potasio (K):** Tras el N es el segundo en importancia, estando entre un **3 al 5%** en la materia seca de la planta. Su función principal es el transporte dentro de la planta (savia), junto con otras funciones. Aún no se conoce con certeza el por qué las plantas requieren tanto K.
3. **Fósforo (P):** Es el más importante en contenido. Su función principal es participar en todos los procesos y reacciones energéticas de la planta. La cantidad requerida es muy pequeña, de modo que su concentración dentro del residuo seco es de un **1.2 al 1.3%**. Este puede ser analizado en la planta como fósforo total y como ión fosfato. Se han indicado también que el contenido de este macro elemento debe rondar entre el **0.07% y el 0.6%** [12] y entre el 0.1 y el 1.2% [13] en materia seca de plantas.
4. **Calcio (Ca):** Su concentración dentro del residuo seco es de un **3 al 4%**. Es el “ladrillo” de la estructura de la planta, formando parte de la pared celular, en conjunto con los carbohidratos. Se han indicado también que el contenido de este meso elemento debe rondar entre el **0.5 al 3.0%**. [13]
5. **Magnesio (Mg):** Tiene muchas funciones dentro de la planta, siendo la principal su participación en la fotosíntesis. En las células fotosintéticas los dos elementos principales son Mg y el hierro (Fe). Con escasez de Mg la planta se pone amarillenta. Su concentración dentro del residuo seco es de un **9%**. Se han indicado también que el contenido de este meso elemento debe rondar el **0.5%**. [13]
6. **Azufre (S):** Forma parte de la membrana celular. Su concentración dentro del residuo seco está entre un **1.5 al 2%**.
7. **Hierro (Fe):** Este compuesto forma parte de numerosos complejos orgánicos relacionados principalmente con los procesos de oxidorreducción de la planta. El contenido medio de hierro en la planta es del orden de **0.01%** sobre base seca. El hierro puede ser absorbido como ión ferroso (Fe^{2+}) o asociados a complejos orgánicos en forma de quelatos el ión ferrito (Fe^{3+}) debe ser reducido previamente a la absorción, lo que se realiza en la superficie externa de la membrana celular por suministro de electrones desde el interior de la célula. La absorción del hierro, como muchos otros elementos nutritivos, se realiza mediante actividad metabólica, siendo influida por la temperatura. También es afectada por la competencia con otros cationes, tales como cobre, cinc y manganeso.

8. **Cloro (Cl):** Las cantidades necesarias de cloro para la planta no es más que pocos ppm. aunque el contenido real oscila entre **0.2 - 2%** sobre materia seca. Es prácticamente imposible que se produzcas, en la práctica deficiencias de cloro. [13] Se han indicado también que el contenido de este micro elemento debe rondar el **0.01%**. [14]
9. **Sodio (Na):** En la naturaleza se encuentra como catión monovalente, se absorbe a los coloides de arcilla y a niveles elevados es capaz de desplazar al calcio y al potasio. su concentración dentro del residuo seco es de un **0.001%** Entre las funciones del sodio en las plantas encontramos las siguientes: Es un activador de las enzimas ATP-ásas en las plantas. Puede remplazar al potasio en las enzimas que intervienen en la síntesis del almidón, Es requerido por las especies vegetales que presentan metabolismo de fijación de carbono y estimula el crecimiento de las plantas a través del alargamiento celular. [14].
10. **Fluor (F):** Elemento químico utilizable provechosamente por la planta, aun sin serle indispensable. Tóxico en cantidades mayores a **0.01%**. En el pino el Flúor penetra por las estomas pero no es utilizado por la planta que lo almacena en las extremidades de las hojas a las que seca. Cuando este proceso alcanza un determinado nivel se pueden observar fuertes defoliaciones y pérdida de crecimientos que acaban con la vida de la planta.

III.4- DOSIS DIARIA RECOMENDADA (DDR) DE MINERALES Y VALOR ENERGÉTICO

Los nutricionistas han establecido una cantidad recomendable de nutrientes que deben ingerir los seres humanos para un correcto funcionamiento de sus sistemas. Esta cantidad recomendable suele definirse como dosis diaria recomendada (DDR). Estas dosis varían en dependencia del mineral que debe ser ingerido diariamente en la tabla III.2 se indican algunas dosis diarias recomendadas así como deficiencias de algunos minerales. [15]

Tabla III.2. Dosis diaria recomendada y déficit de algunos minerales y compuestos

Elemento	DDR	Déficit
Calcio	800 mg	Impulsos nerviosos, desactivación enzimática, contracción muscular y osteoporosis.
Fósforo	800 mg	Dolor en los huesos, falta de memoria, concentración, mala absorción del calcio.
Magnesio	280 – 350 mg	Debilidad muscular, descoordinación, letargo, depresión, irritabilidad y ataques cardíacos.
Sodio	0.5 g.	Calambres, sed, y debilidad muscular.
Potasio	2000 mg	Ataques cardíacos, apoplejías, sensación de debilidad, sed, confusión y cansancio.
Cloro	-	Vómitos prolongados o excesiva sudoración.
Azufre	0.6 mg	No establecido.
Hierro	10 – 15 mg	Disminución en la capacidad de trabajo, el rendimiento intelectual, la resistencia a las enfermedades, la temperatura corpórea y anemia.
Flúor	4.0 mg	Caries, problemas en la asimilación del calcio.
Proteínas*	56- 70* gr.	Desnutrición, disminución de las funciones a nivel enzimático y hormonal, depresión del sistema inmunológico, contracción muscular, etc.
Fibras	22 gr.	Disfunción del sistema digestivo,
Carbohidratos*	210-350* g	Malnutrición, cansancio, falta de energía, poca concentración, debilidad y somnolencia. El exceso provoca obesidad.
Grasas*	70* g	Malnutrición, falta de energía, debilidad, etc.

* Partiendo de un adulto saludable con un peso de 70 kg.

III.4.1- EL VALOR ENERGÉTICO

Es una medida de cuanta energía se obtiene al consumir una porción de un alimento. Se calcula a partir de la suma de la energía aportada por los carbohidratos, proteínas, grasas y alcoholes [22]. Se expresa en kilocalorías o kilojoule.

FACTORES DE CONVERSIÓN

- a) 1 gramo de proteínas aporta 4 kcal.- 17 kj b) 1g de carbohidratos aporta 4 kcal.- 17 kj
 c) 1g de grasa aporta 9 kcal.- 37 kj d) 1g de alcohol aporta 7 kcal.- 29 kj

III.5- MÉTODOS ANALÍTICOS USADOS EN PLANTAS

Existen diversos **manuales** en los que se mencionan los métodos analíticos que se pueden usar para el análisis, ya sea proximal o de constituyentes químicos de las plantas. Entre estos se pueden mencionar los siguientes:

1. **Métodos de análisis para suelos, plantas y aguas** de Homer D. Chapman y Parker F. Pratt.
2. **Métodos de análisis químico agrícola. Manual práctico** de Faithfull, N. T.
3. **Métodos oficiales de análisis de la AOAC Internacional**

Por otra parte los laboratorios de investigación y ensayo suelen realizar modificaciones de métodos de análisis de los manuales antes mencionados, implementando de esta forma, métodos de análisis adaptados a las condiciones ambientales y experimentales de los laboratorios. Estos métodos una vez validados pueden originar resultados técnicamente fiables y contrastables, similares a los obtenidos con los métodos normalizados.

En el caso de las plantas se pueden usar metodologías analíticas tales como:

1. **Gravimetría** para % de humedad, % ceniza y sulfatos.
2. **Extracción y gravimetría** para % de grasa.
3. **Espectrofotometría de UV-Visible** para hierro, fósforo total, carbohidratos, magnesio, calcio, vitamina A y vitamina E.
4. **Volumetría de complejación** para calcio y magnesio.
5. **Digestión y volumetría** para proteína y fibra cruda.
6. **Espectrometría de absorción atómica** para calcio, hierro y magnesio
7. **Espectrometría de emisión atómica** para sodio y potasio
8. **Cromatografía líquida de alta resolución** para vitaminas del complejo B, vitamina C y vitaminas A y E y aminoácidos.
9. **Cromatografía líquida iónica de alta resolución** para cationes y aniones.
10. **Electroforesis Capilar de zona** para cationes, aniones y ácidos orgánicos.
11. **Cromatografía micelar electrocinética (MECK)** para moléculas neutras y vitaminas
12. **Cromatografía de gases** para ácidos grasos.

III.6. ELECTROFORESIS CAPILAR

La Electroforesis Capilar (EC), es una técnica de separación que se basa en la diferencia de movilidad de las sustancias cargadas en un tampón bajo el influjo de un campo eléctrico. La separación de las sustancias se lleva a cabo en el interior de un tubo capilar, normalmente de sílice fundida, cuyas dimensiones oscilan entre 10 a 100 cm. de longitud y de 25 a 100 μm de diámetro interno, lleno de una solución tampón. Una fuente de alimentación de corriente continua suministra un elevado potencial y gracias a la conductividad eléctrica del tampón se origina una diferencia de potencial entre los extremos del capilar.

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

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

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

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

La conformación de un equipo básico de electroforesis capilar se muestra en la siguiente figura:

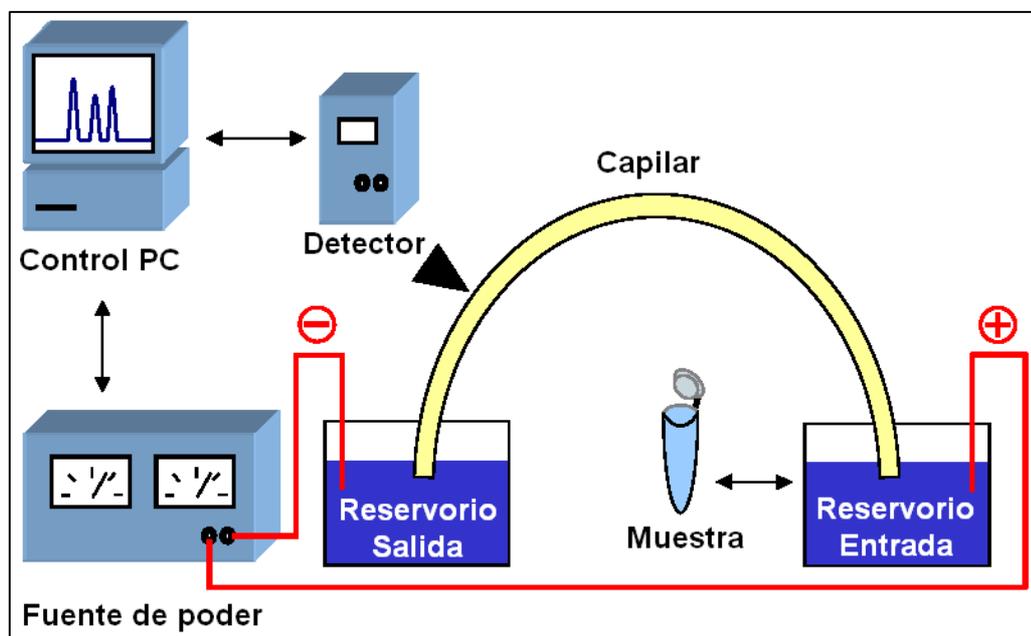


FIGURA III.1 Esquema de un equipo de electroforesis capilar.

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

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

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

Electroforesis capilar de zona: es una de las técnicas más importantes y más utilizada debido, probablemente a su simplicidad y elevado poder de separación., esta basada en la separación de los analitos según la relación carga/tamaño

En esta técnica la composición del tampón es constante en toda la zona de separación. El potencial aplicado hace que los diferentes componentes iónicos de la mezcla migren cada uno según su propia movilidad y se separen en zonas que puedan estar completamente resueltas o parcialmente solapadas. Entre las zonas completamente resueltas hay huecos ocupados por el tampón. Su principal inconveniente es que no permite separar los compuestos neutros

III.7- INCERTIDUMBRE DE LAS PREDICCIONES

Los resultados de los cationes y aniones, fósforo y hierro, cuantificados mediante técnicas de Electroforesis Capilar y Espectrofotometría UV-Visible, fueron calculados sobre la base de análisis de regresión. Por otra parte los otros parámetros proximales fueron determinados en general por gravimetría y volumetría. A cada resultado de los parámetros objetos de este estudio, le fue calculado el error de medida mediante los denominados intervalos de confianza.

En el caso específico de los parámetros proximales determinados por gravimetría y volumetría, el intervalo de confianza a ser determinado se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\bar{X} \pm \frac{t_{(0.05, n-1)} S}{\sqrt{n}}$$

Donde \bar{X} es la media de los porcentajes de los parámetros, t es la t de student a 95% de confianza y n-1 grados de libertad y S es la desviación estándar de los resultados.

En el caso de los parámetros determinados por recta de regresión la ecuación de cálculo utilizada fue:

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

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

$$S_1 = \sqrt{\frac{S_e^2}{b_1^2} \left[\frac{1}{m} + \frac{1}{n} \frac{(Y_1 - \bar{Y})^2}{b_1^2 \sum (X_i - \bar{X})^2} \right]}$$

Donde S_e^2 es la varianza de los residuos, b_1^2 es la pendiente al cuadrado de la recta, m son las lecturas de la muestra, n son los puntos de la recta de regresión, Y_1 la media de las lecturas de la muestra, \bar{Y} es la media de las lecturas de recta de regresión, X_i las concentraciones individuales de la recta de regresión y \bar{X} es la media de las concentraciones de la recta de regresión. S_e^2 se calcula como:

$$S_e^2 = \frac{\sum (Y_i - \hat{Y})^2}{n - 2}$$

Donde \hat{Y} es la predicción de las lecturas de la recta de regresión.

IV- MATERIALES Y MÉTODOS

IV.1- EQUIPOS

1. Balanza analítica (Ohaus, EP 210)
2. Balanza analítica (Sartorius, MC1 AC 210 S)
3. Horno de convección (Thelco, 130)
4. Horno Mufla (Heraeus, MR170E)
5. Campana extractora de gases (Labconco.)
6. Refrigeradora (Cetron, CF28**1ABA/BTC)
7. Agitador Magnético (Selecta, Agimatic N)
8. Espectrofotómetro (Shimadzu, UV 1203)
9. Molino (GE Motors & Industrial Systems, 5KH39 Q N 5525 A)
10. Equipo digestor Kjeldhal (Burdinola, OR-ST 1200)
11. Equipo Kjeldhal (Selecta, Ponitrol)
12. Digestor con 8 puertos (Büchi, 430)
13. Digestor con 6 puertos (Büchi, 425)
14. Equipo de extracción Soxhlet (Gerhardt, 173100)
15. Bomba de vacío (Edwards, E2M5 27102)
16. Trampa refrigerante de condensación (Savant, RT490)
17. Baño termostatzado (MGW Lauda, DLK 15)
18. Rotavapor (Heidolph, 4000)
19. Baño Maria (Yamato, BM-42)
20. pH-metro (Mettler Toledo, SevenEasy)
21. Electroforesis Capilar (Agilent, G1600AX)
22. Ultrasonido (Sonorex, TK 30)
23. Bureta Digital 25 mL (Easy calibración brand)

IV.2- MATERIALES

1. Desecador de vidrio (Pyrex)
2. Capsulas de aluminio (Fisherbrand)
3. Crisoles de porcelana (Fisherbrand)
4. Pinzas de crisoles de porcelana (Fisherbrand)
5. Pinzas de capsulas de porcelana (Fisherbrand)
6. Tubos kjeldahl de 300 mL (Pyrex)
7. Vidrio reloj 4 in de diámetro (Pyrex)
8. Embudo de espiga, de 150 mm de espiga, 60° (Pyrex)
9. Brazo soporte de embudo (Fisher)
10. Celdas semimicro descartables 1.5 mL (Fisherbrand)
11. Barras magnéticas, 25.4 mm (Fisher)
12. Tapón de hule (Fisher)
13. Soporte universal (Fisher)
14. Dedal de extracción de celulosa (Whatman)
15. Condensadores (Pyrex)
16. Balón de destilación de 3 bocas 500 mL (Pyrex)
17. Refrigerantes, Codos, soportes, clanes (Kimax)
18. Perlas de ebullición y mangueras.
19. Balones aforados de 1000, 500, 250, 100, 50, 25 y 10 mL (Pyrex)
20. Beaker de 250, 100, 50 y 10 mL (Pyrex)
21. Matraces erlenmeyer de 300 mL (Pyrex)
22. Probeta de 100 y 50 mL (Pyrex)
23. Espátula (Fisher Scientific)
24. Pizeta de 500 mL (Fisher Scientific)
25. Termómetro enviro-safe 200° C (VWR)
26. Jeringas descartable de 3 mL (Napro)
27. Jeringa de 2.5 mL (Hamilton)
28. Filtros de jeringa membrana de nylon 0.20 µm (Fisher)
29. Viales 1 mL (Agilent)

IV.3- REACTIVOS

1. Acido clorhídrico (Merck, Darmstadt, Alemania)
2. Hidroxilamina (Fisher, New Jersey, USA)
3. O-Fenantrolina (Merck, Darmstadt, Alemania)
4. Nitrato de magnesio (Merck, Darmstadt, Alemania)
5. Hidróxido de Sodio (Fisher, New Jersey, USA)
6. Acido Nítrico (Fisher Chemical, New Jersey, USA)
7. Molibdato de amonio tetrahidratado (Merck, Darmstadt, Alemania)
8. Vanadato de amonio (Merck, Darmstadt, Alemania)
9. Acido sulfúrico (Merck, Darmstadt, Alemania)
10. Peróxido de hidrogeno (Merck, Darmstadt, Alemania)
11. Éter de petróleo (EMD Chemicals, New Jersey, USA)
12. Mezcla de aniones: 1000 ppm de Bromuro, Fluoruro, Cloruro, Nitrito, Nitrato, Sulfato y 2000 ppm de Fosfato(Agilent Technologies, Suiza)
13. Tampón de aniones inorgánicos (Agilent Technologies, Suiza)
14. Tampón de cationes inorgánicos (Agilent Technologies, Suiza)
15. Cloruro de sodio (Merck, Darmstadt, Alemania)
16. Cloruro de calcio (Merck, Darmstadt, Alemania)
17. Cloruro de potasio (Fisher, New Jersey, USA)
18. Nitrato de magnesio (Merck, Darmstadt, Alemania)
19. Cloruro de amonio (Fisher, New Jersey, USA)
20. Fosfato mono-básico de sodio (Fisher, New Jersey, USA)
21. Fosfato mono básico de potasio (Fisher, New Jersey, USA)
22. Ftalato ácido de potasio (Fisher, New Jersey, USA)

IV.4- SOLUCIONES

1. SOLUCIÓN DE HIDRÓXIDO DE SODIO AL 35 %

Disuelva 350g de NaOH en 1 L de agua desionizada.

2. SOLUCIÓN DE ÁCIDO BÓRICO AL 2%

Disuelva 20 g de H_3BO_3 en 500 mL de agua desionizada. Añada 10 mL de indicador mixto y suficiente ácido clorhídrico diluido hasta que el color azulado se debilite hacia el rosa. Luego afores a 1 L con agua desionizada.

3. SOLUCIÓN ETANOLICA DE FENOLFTALEINA 0.1 %

Pesar 0.1 g de fenolftaleína y llevar a volumen con etanol en matraz de 100 mL.

4. SOLUCIÓN “ESTANDARIZADA” DE HIDRÓXIDO DE SODIO 0.1 M

Pesar 4 g de hidróxido de sodio y llevar a 1 L en matraz aforado. Pesar 410 mg de ftalato ácido de potasio, disolverlo en 20 mL de agua destilada, agregar 2 gotas de fenolftaleína 0.1% y valorar con la solución de hidróxido de sodio 0.1 M hasta observar cambio de color de incoloro a rosa.

5. SOLUCIÓN VALORADA DE ÁCIDO CLORHÍDRICO 0.1 N

Diluya a 1 L con agua desionizada 8.4 mL de HCl concentrado (P. esp. 1.19) y valore con solución estandarizada de hidróxido de sodio 0.1 M.

6. SOLUCIÓN DE ACIDO SULFÚRICO AL 1.25%

Tomar 3.4 mL de H_2SO_4 y lo llevamos a 500 mL.

7. SOLUCIÓN DE NAOH AL 1.25 %

Tomar 6.25 g de NaOH y lo llevamos a 50 mL.

8. SOLUCIÓN “MADRE” DE HIERRO

Disuelva 3.512 g de sulfato de hierro y amonio en agua, agregar 2 gotas de HCl concentrado y diluir a 500 mL.

9. SOLUCIÓN “ESTÁNDAR” DE HIERRO

Tomar 10 mL de la solución madre de hierro y llevar a un litro.

10. SOLUCIÓN DE HIDROXILAMINA

Disolver 10 g de cloruro de hidroxilamina en agua y diluir a 100 mL. Guardar en un frasco ámbar y refrigerar.

11. SOLUCIÓN “TAMPÓN” DE ACETATO

Disolver 8.3 g de acetato de sodio anhidro previamente secado a 100 °C por 1 hora en agua, agregar 12mL de ácido acético y diluir a 100 mL.

12. SOLUCIÓN DE O-FENANTROLINA

Disuelva 0.1 g de o-fenantrolina en 80 mL de agua caliente (Temperatura de 80 °C) y llevarla a volumen de 100 mL.

13. SOLUCIÓN DE NITRATO DE MAGNESIO AL 50 %

Disuélvase 50 g de Mg (NO₃)₂ en agua y llévase a volumen de 100 mL.

14. SOLUCIÓN MOLIBDATO DE AMONIO-VANADATO DE AMONIO EN ACIDO NITRICO

Disolver 22.5 g de vanadato de amonio en 400 mL de agua fría. Disolver aparte 1.25 g de vanadato de amonio en 300 mL de agua hirviendo. Mezcle la solución de vanadato de amonio con la de molibdato de amonio, enfríese a temperatura ambiente. Añádase 250 mL de HNO₃ concentrado y dilúyase a 1 litro.

15. SOLUCIÓN “ESTÁNDAR” DE FOSFATO

Disuélvase 0.2195 g de fosfato acido de potasio y dilúyase a un litro. Esta solución contiene 50 ppm de fósforo.

16. SOLUCIÓN DE POTASIO 1000PPM

Disolver 0.0953 g de cloruro de potasio en agua y llevar a 50 mL.

17. SOLUCIÓN DE SODIO 1000PPM

Disolver 0.1271 g de cloruro de sodio en agua y llevar a 50 mL.

18. SOLUCIÓN DE CALCIO1000PPM

Disolver 0.1384g de cloruro de calcio en agua y llevar a 50mL.

19. SOLUCIÓN DE MAGNESIO 1000PPM

Disolver 0.4181 g de cloruro de magnesio en agua y llevar a 50mL.

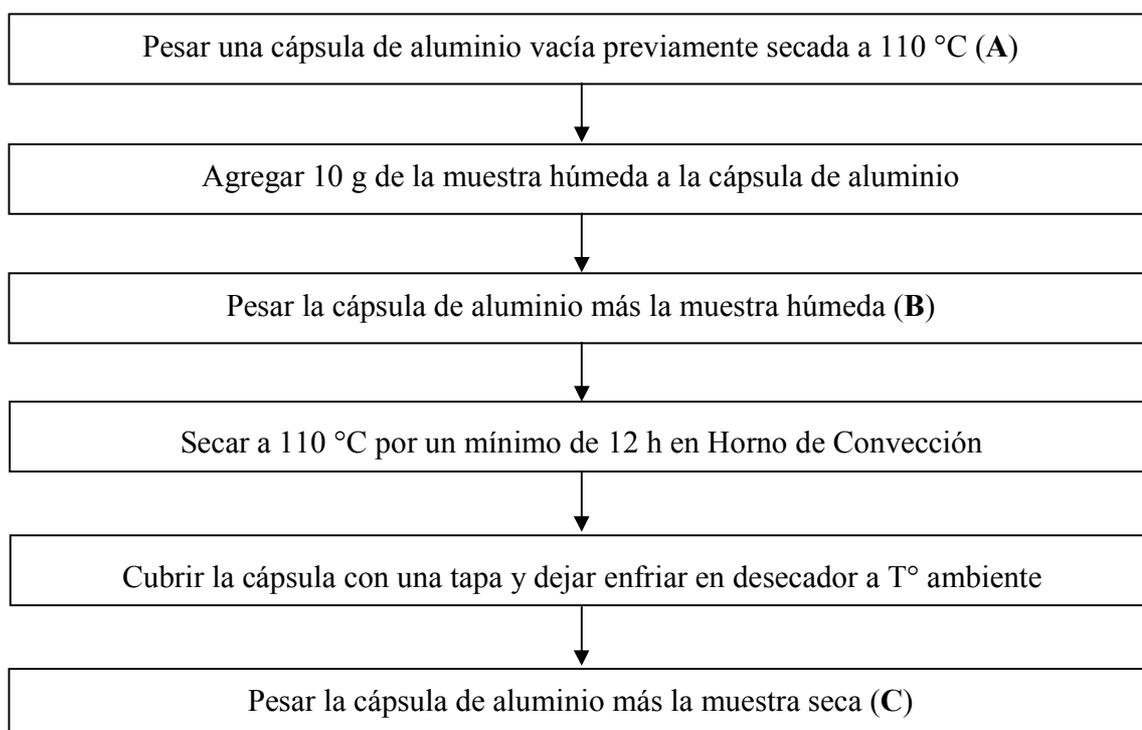
IV.5- MÉTODOS

IV.5.1- PRETRATAMIENTO DE LA MUESTRA

Los cálices de *Hibiscus Sabdariffa L.* recolectados en el año 2006 fueron donados por un profesor del Departamento de Agroecología de la UNAN-León, estos fueron entregados deshidratados. En cambio los cálices recolectados en el año 2007 se obtuvieron en el Mercado Central de la ciudad de León provenientes de la zona rural. Estos fueron lavados para su posterior secado en horno de convección a 60 °C por 48 h.

Ambas muestras de cálices de flor de jamaica, fueron trituradas en molino para obtener partículas finas, las que fueron utilizadas para todos los análisis realizados.

IV.5.2- DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

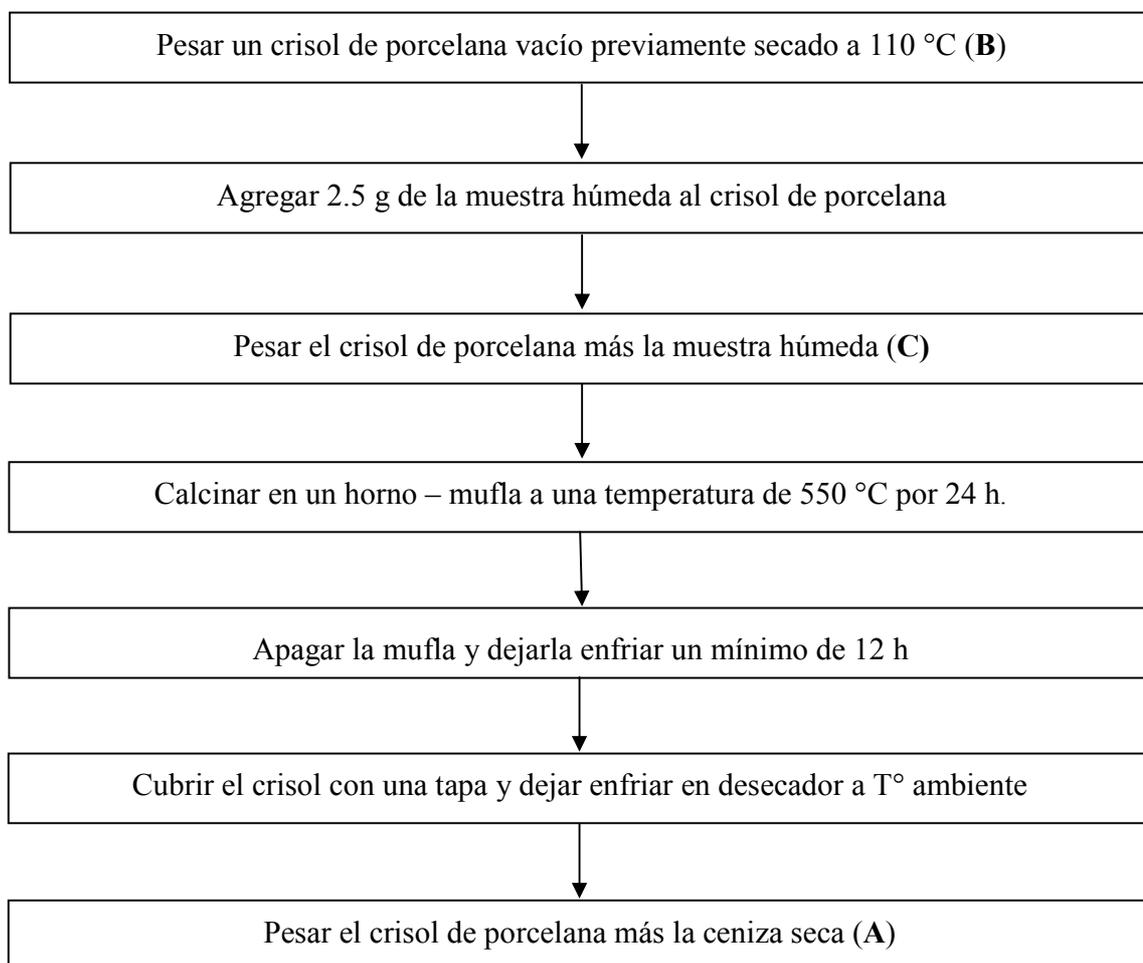


Cálculo para determinar % de humedad:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{[(B - A) - (C - A)]}{B - A} \times 100$$

Donde:
A = Masa, en gramos, de la capsula de aluminio vacía
B = Masa, en gramos, de la capsula de aluminio mas la muestra húmeda.
C = Masa, en gramos, de la capsula de aluminio mas la muestra seca.
100 = Factor para convertir a porcentaje

IV.5.3- DETERMINACIÓN DE CENIZA



Cálculo para determinar el % de ceniza:

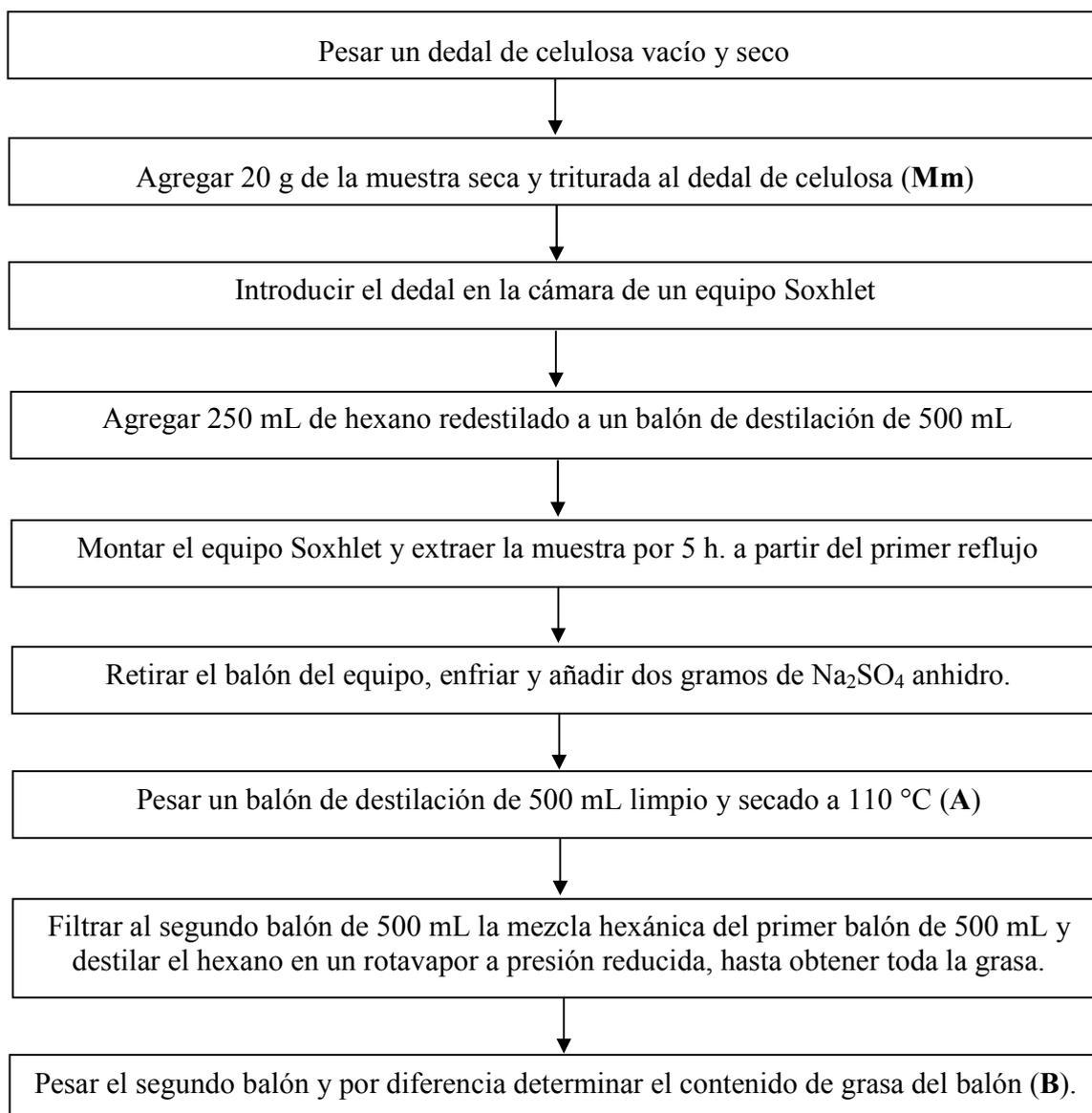
$$\% \text{ Ceniza} = \frac{(A - B)}{(C - B)} \times 100$$

Donde: **A** = Masa, en gramos, del crisol mas ceniza.

B = Masa, en gramos, del crisol vacío.

C = Masa, en gramos, del crisol mas la muestra húmeda.

IV.5.4- DETERMINACIÓN DE GRASA BRUTA



Cálculo para determinar el % de grasas y aceite:

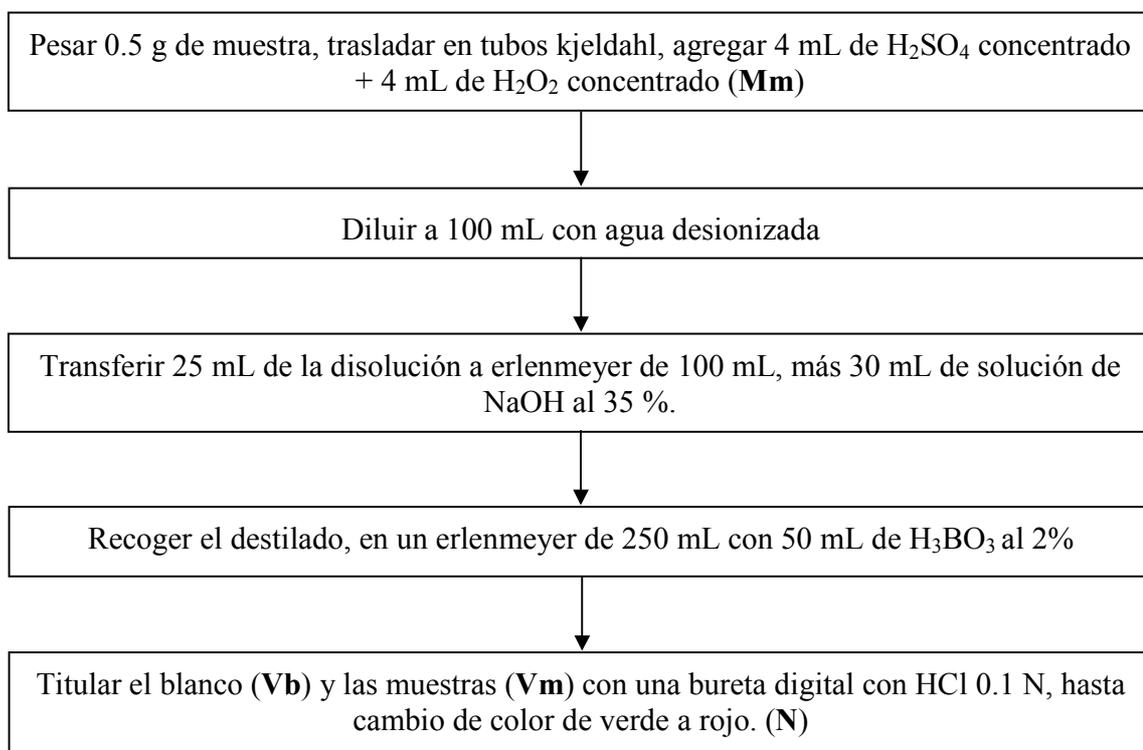
$$\% \text{ grasa bruta} = \frac{\mathbf{B} - \mathbf{A}}{\mathbf{M}_m} \times 100$$

Donde: \mathbf{M}_m = Masa, en gramos de la muestra.

\mathbf{A} = Masa, en gramos del balón de destilación de 500 mL vacío (Segundo balón).

\mathbf{B} = Masa, en gramos, de la grasa obtenida.

IV.5.5- DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO (PROTEÍNA CRUDA)



Cálculo para determinar el % de nitrógeno total

$$\% \text{ NT} = 4 \left[(V_m - V_b) \times N \times 14 \times \left(\frac{100}{M_m} \right) \right]$$

Donde: V_m = Volumen, en mililitros, de HCl gastados en la titulación de la muestra.

V_b = Volumen, en mililitros, de HCl gastados en la titulación del blanco.

N = Normalidad del ácido empleado en la titulación.

14 = 1 mL de HCl 1N equivale a 14 mg de NH_4^+ .

M_m = Masa de la muestra en miligramos.

100 = Factor para convertir los resultados a por ciento.

4 = Factor para calcular el contenido total de nitrógeno analizado en la muestra.

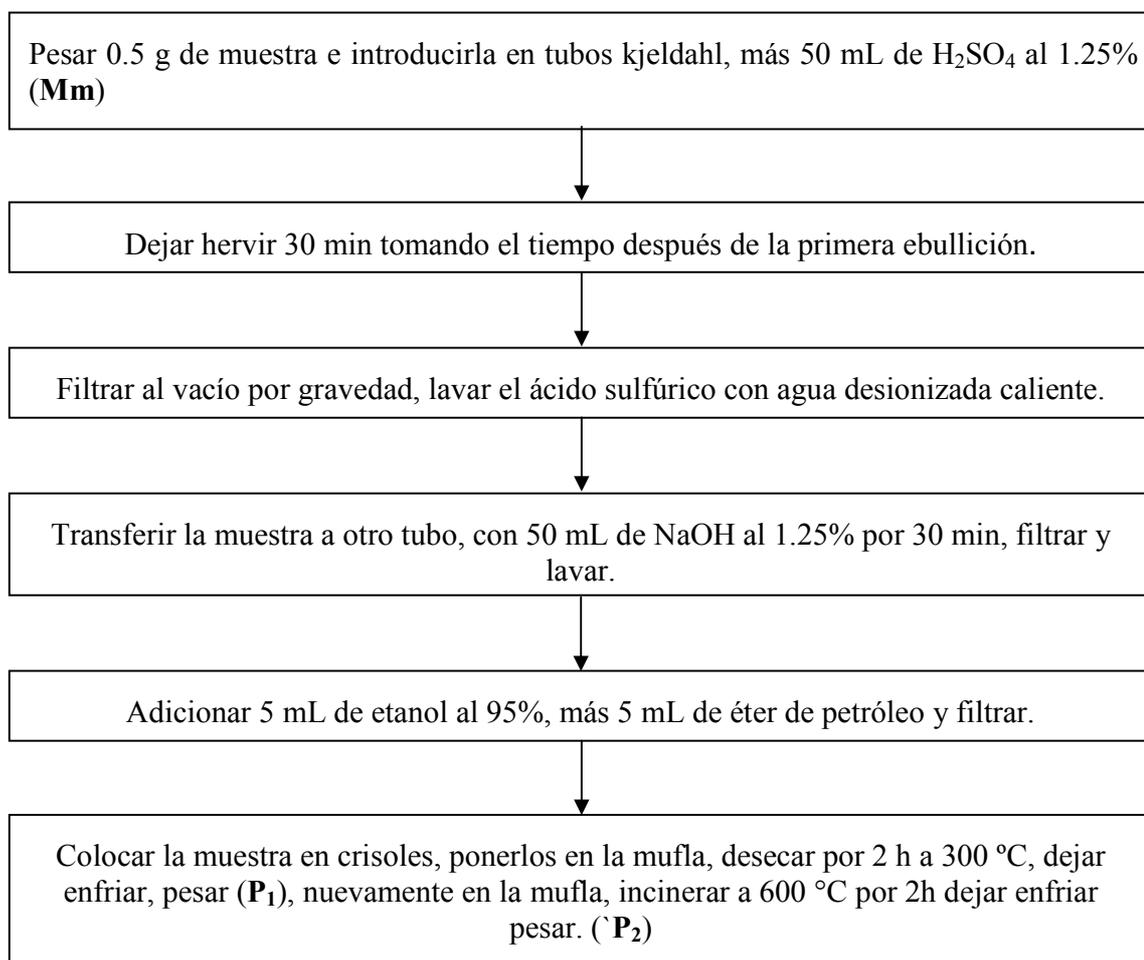
Cálculo para determinar el % de Proteína Cruda:

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ NT} \times 6.25$$

Donde: % NT = Porcentaje de nitrógeno total

6.25 = factor de conversión de nitrógeno a proteína

IV.5.6- DETERMINACIÓN DE FIBRA BRUTA



Calculo para determinar el % de fibra bruta:

$$\% \text{ Fibra} = \frac{[(P_1 - P_2)]}{M_m} \times 100$$

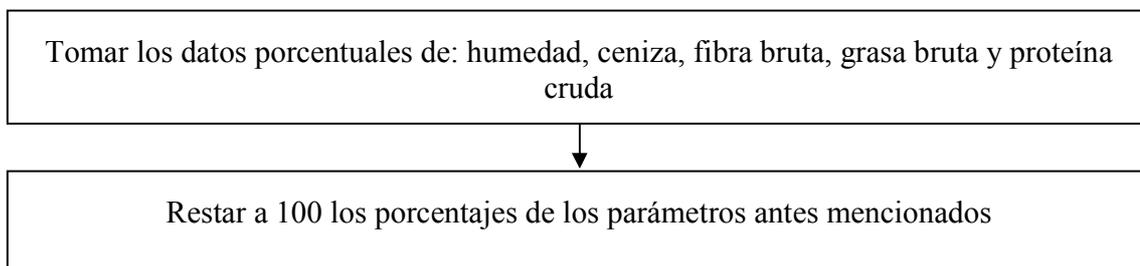
Donde, P_1 = Masa, en gramos, del material después de secado al horno.

P_2 = Masa, en gramos, de las cenizas.

M_m = Masa, en gramos, de la muestra.

100 = Factor para convertir a porcentaje.

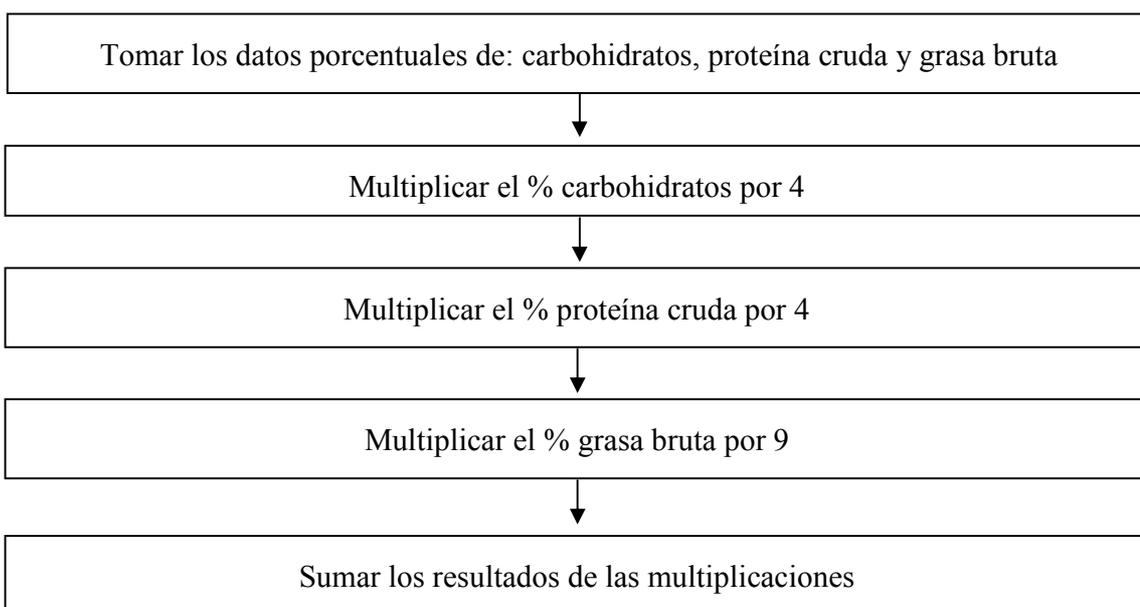
IV.5.7- DETERMINACIÓN DE CARBOHIDRATOS



Cálculo para determinar el % de Carbohidratos.

$$\% \text{ Carbohidratos} = 100 - \% \text{ Humedad} - \% \text{ Ceniza} - \% \text{ Fibra bruta} - \% \text{ Grasa bruta} - \% \text{ Proteína cruda}$$

IV.5.8- DETERMINACIÓN DE CONTENIDO ENERGETICO

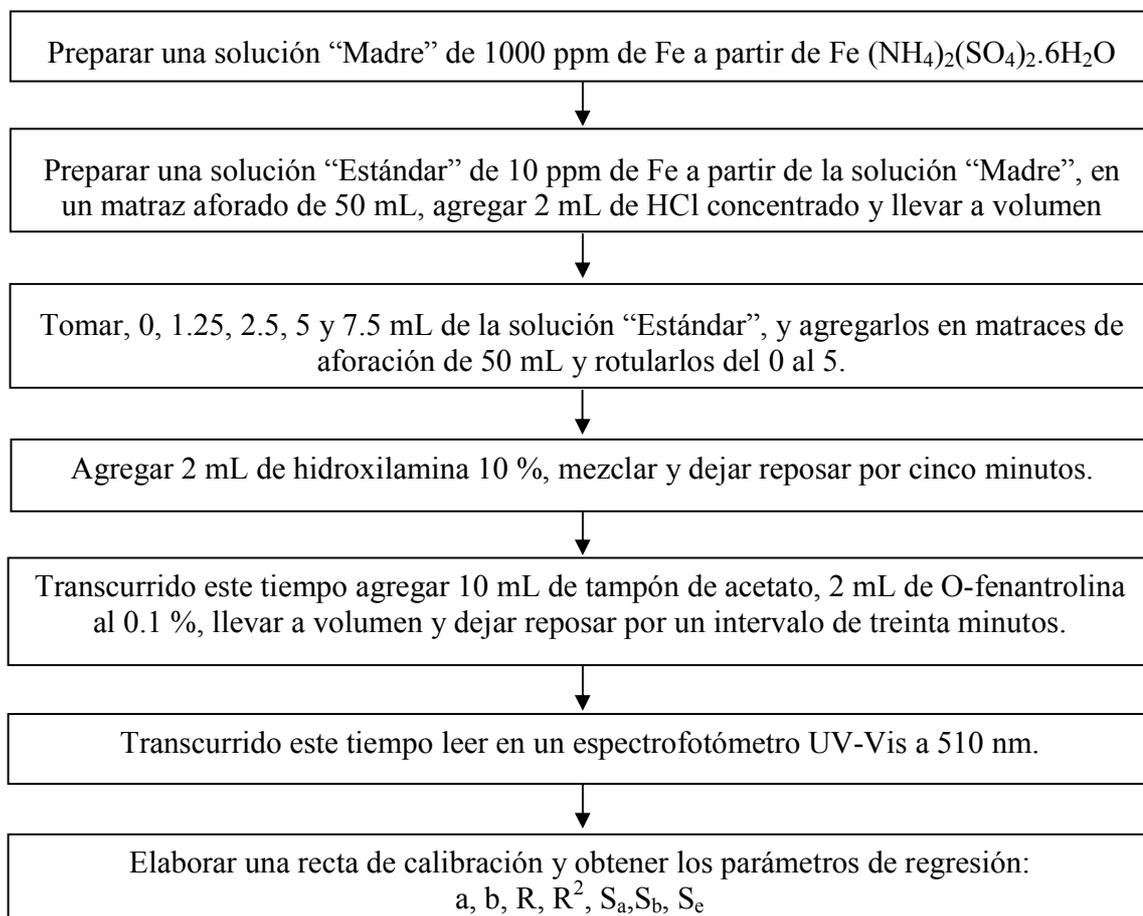


Cálculo para determinar las Kcal.:

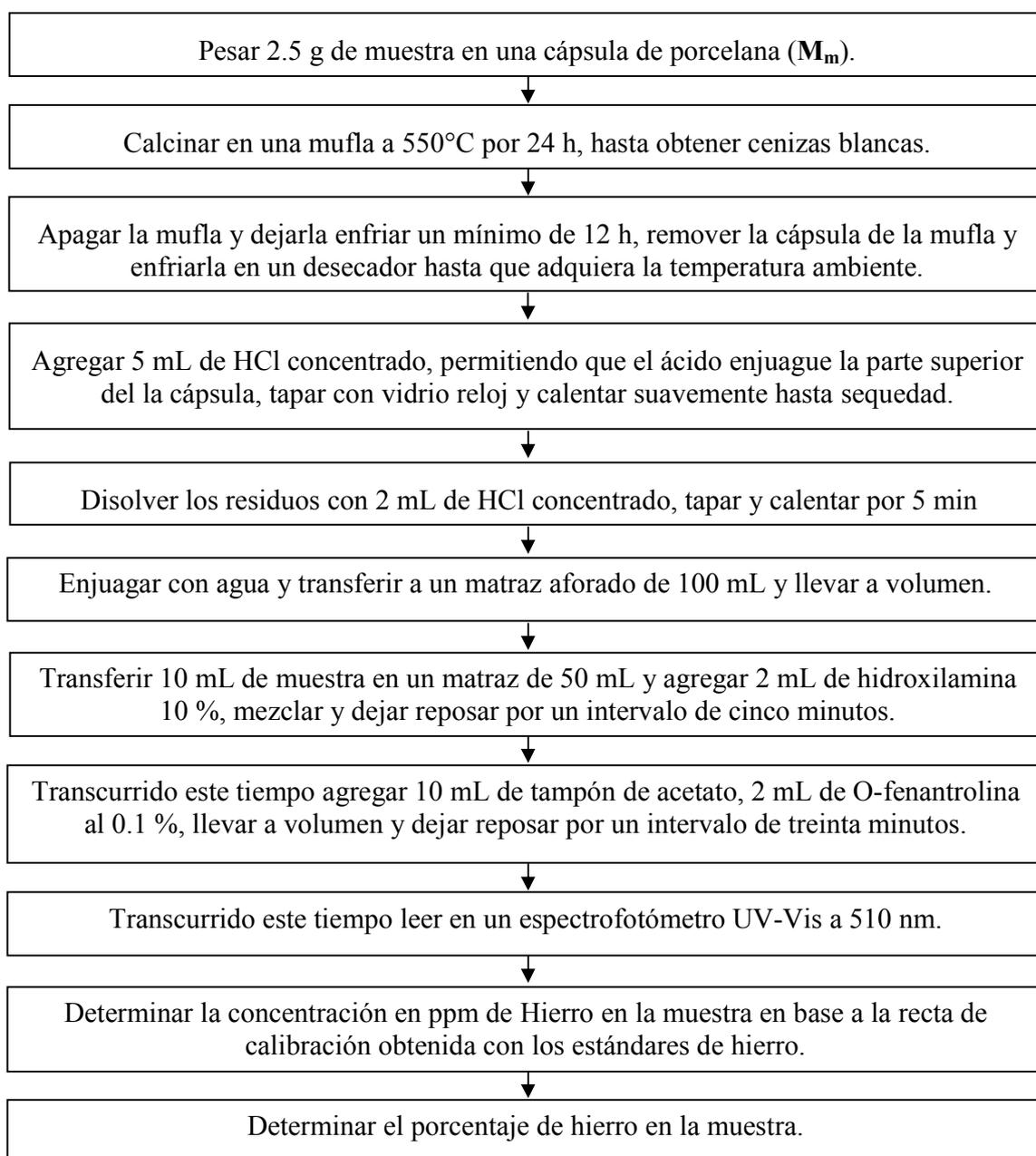
$$\text{Kcal} = (\% \text{ Carbohidrato} * 4) + (\% \text{ Proteína cruda} * 4) + (\% \text{ Grasa bruta} * 9)$$

IV.5.9- DETERMINACIÓN DE HIERRO

ESTANDARES



MUESTRA



Cálculo para determinar el % de hierro (Fe):

$$\% \text{ Fe} = \left(\frac{\text{C} \times \text{FD}}{\text{M}_m \times 100} \right)$$

Donde: **C** = Concentración, en ppm, de hierro en la muestra.

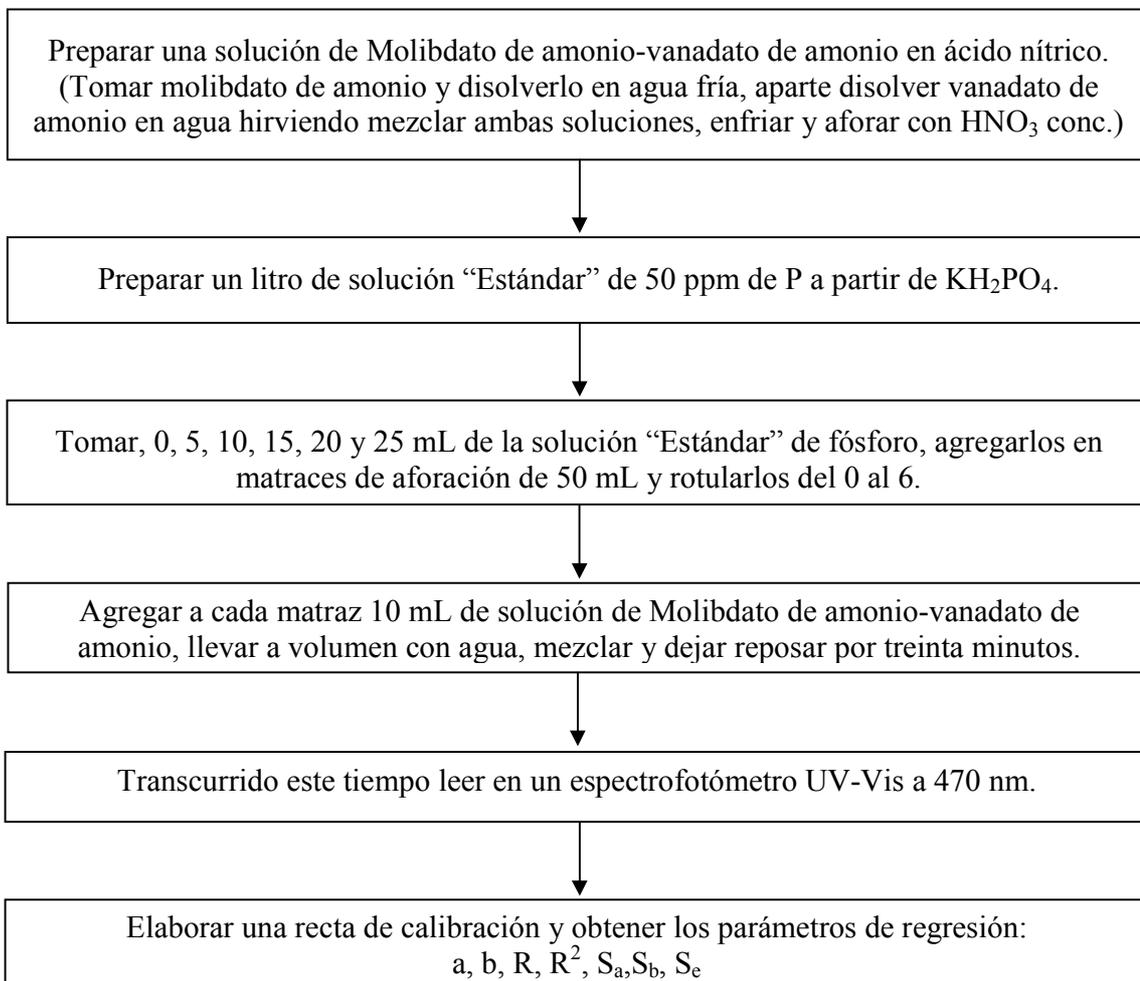
FD = Factor de dilución.

M_m = Masa, en gramos, de la muestra

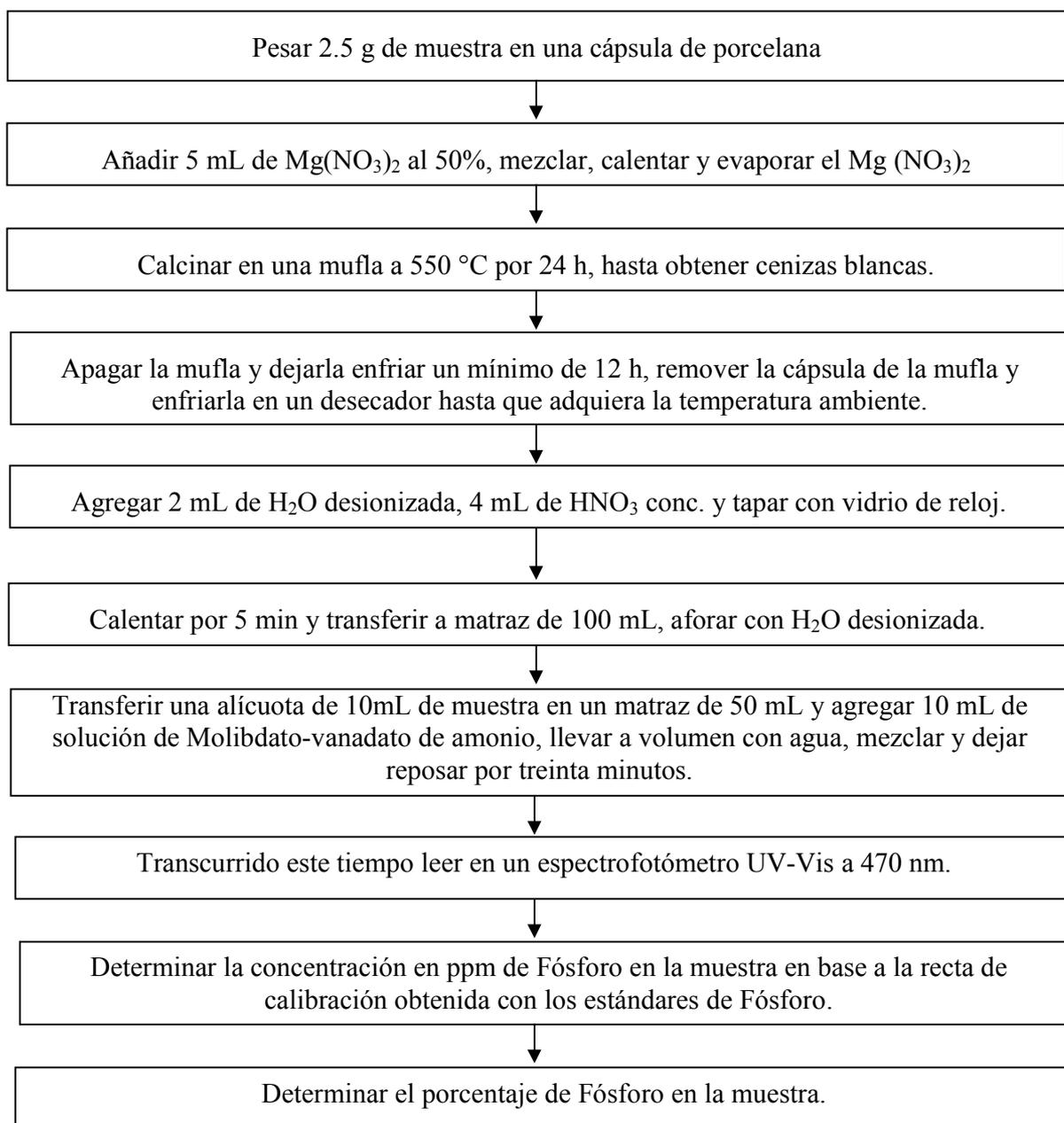
100 = factor de conversión de mg a gramos.

IV.5.10- DETERMINACIÓN DE FÓSFORO

ESTANDARES



MUESTRA



Cálculo para determinar el % de fósforo (P):

$$\% P = \left(\frac{C \times FD}{M_m \times 100} \right)$$

Donde: C = Concentración, en ppm, de fósforo en la muestra.

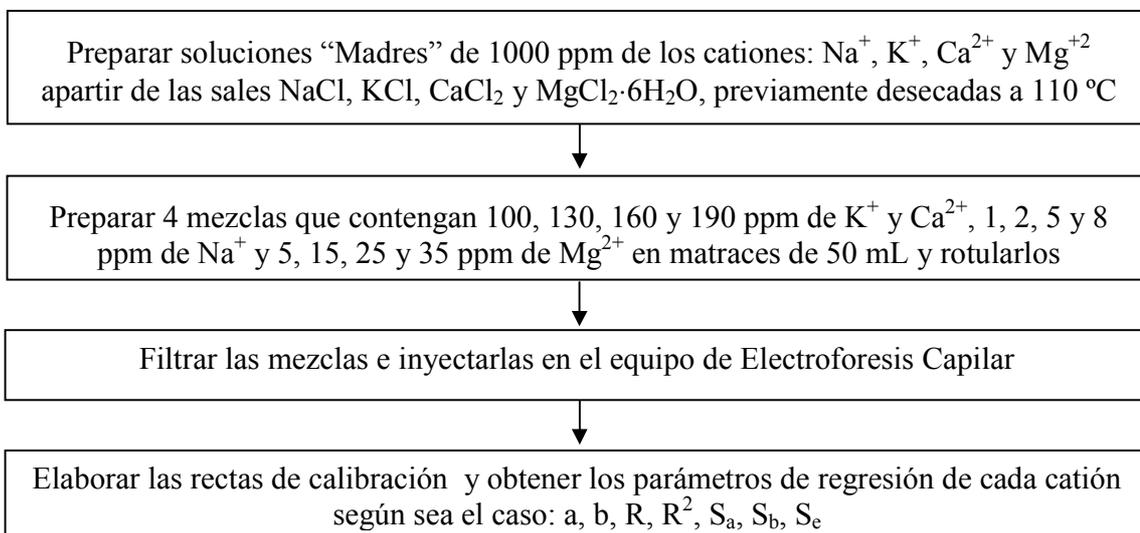
FD = Factor de dilución.

M_m = Masa, en gramos, de la muestra

100 = factor de conversión de mg a gramos.

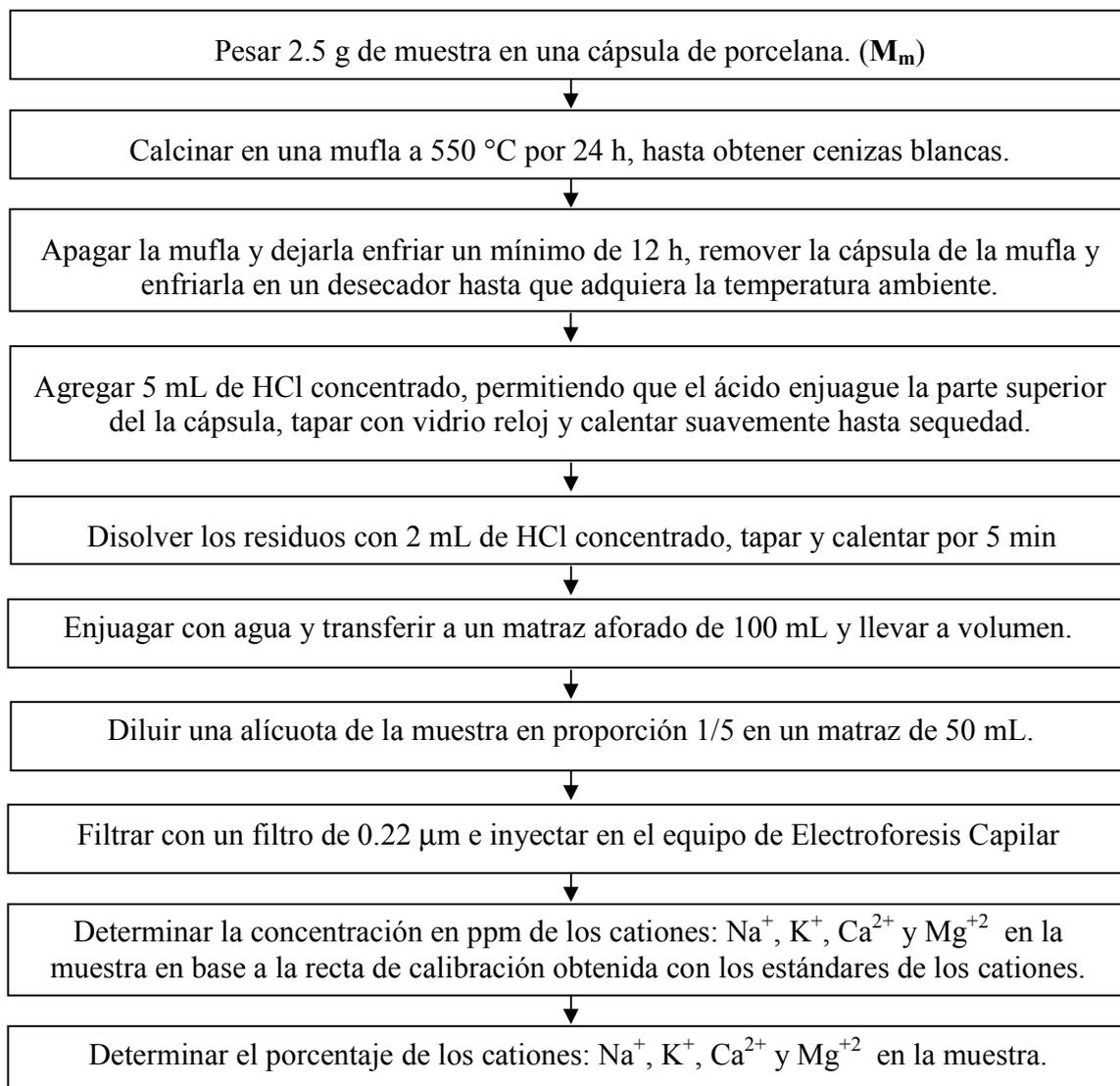
IV.5.11- DETERMINACIÓN DE: Na⁺, K⁺, Ca²⁺ y Mg⁺²

ESTANDARES



CONDICIONES ELECTROFORÉTICAS PARA CATIONES	
Tampón:	Tampón de cationes inorgánicos (Agilent)
Temperatura:	25 °C
Voltaje:	25 kV
Inyección:	250 mbar
Detección:	Señal 340/10 nm, referencia 210/10 nm

MUESTRA



Cálculo para determinar el % de los cationes: Na⁺, K⁺, Ca²⁺ y Mg⁺²

$$\% C = \left(\frac{C \times FD}{M_m \times 100} \right)$$

Donde: **C** = Concentración, en ppm, de cada catión en la muestra.

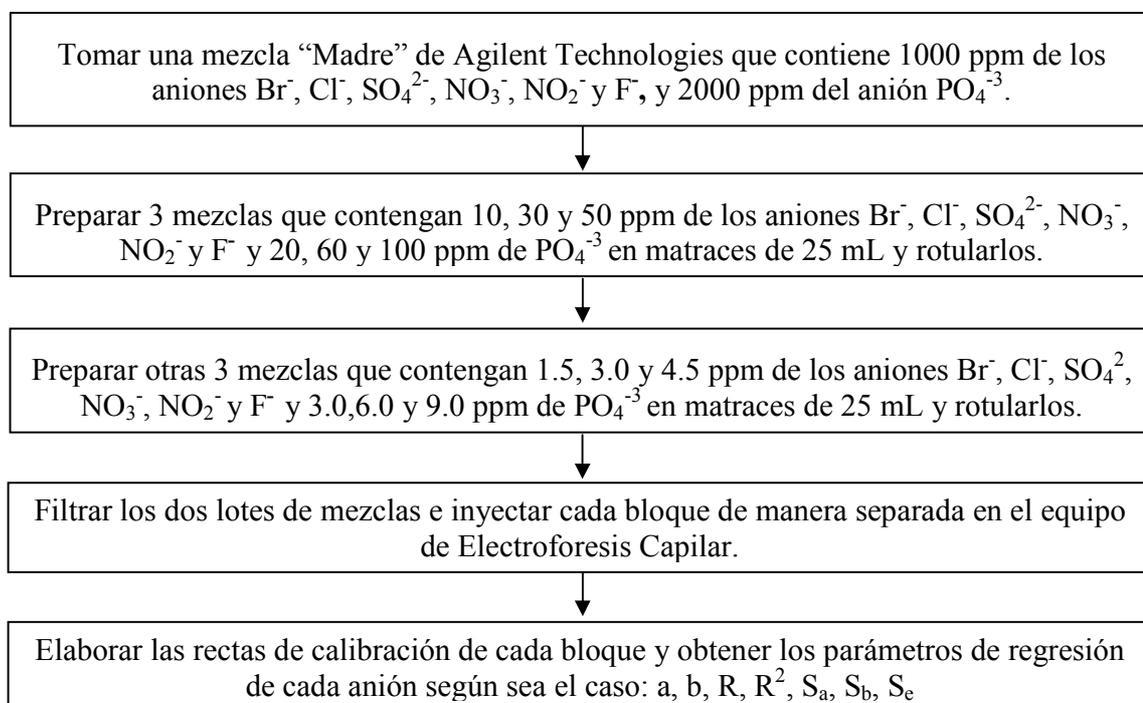
FD = Factor de dilución.

M_m = Masa, en gramos, de la muestra

100 = factor de conversión de mg a gramos.

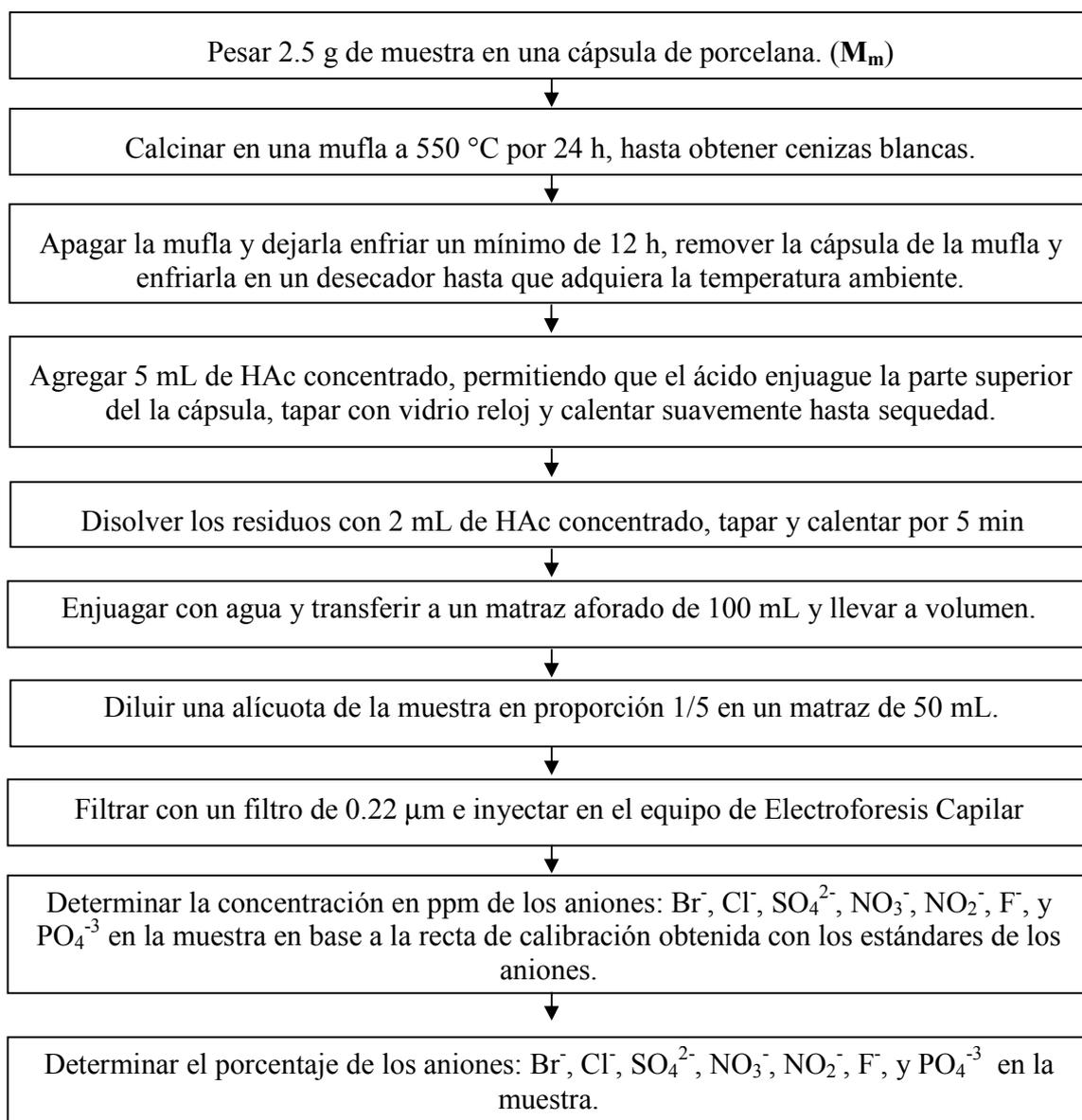
IV.5.12- DETERMINACIÓN DE: Br⁻, Cl⁻, SO₄²⁻, NO₃⁻, NO₂⁻, F⁻, y PO₄⁻³

ESTANDARES



CONDICIONES ELECTROFORÉTICAS PARA ANIONES	
Tampón:	Tampón de aniones inorgánicos (Agilent, Suiza)
Temp.:	30 °C
Voltaje:	-25 kV
Inyección:	250 mbar
Detección:	Señal 350/10 nm, Referencia 200/10 nm

MUESTRA



Cálculo para determinar el % de los aniones: Br⁻, Cl⁻, SO₄²⁻, NO₃⁻, NO₂⁻, F⁻, y PO₄⁻³

$$\% A = \left(\frac{C \times FD}{M_m \times 100} \right)$$

Donde: A = Concentración, en ppm, de cada anión en la muestra.

FD = Factor de dilución.

M_m = Masa, en gramos, de la muestra

100 = factor de conversión de mg a gramos.

V- ANÁLISIS DE RESULTADOS.

V.1- PARÁMETROS PROXIMALES EN FLOR DE JAMAICA

V.1.1- DETERMINACIÓN DE HIERRO Y FÓSFORO

En la tabla V.1 se muestran los rangos de concentración utilizado en la construcción de las rectas de calibración para el hierro y el fósforo mientras que en la tabla V.2 se muestran los parámetros de ajustes de las rectas de hierro y fósforo.

Tabla V.1 Concentración (ppm) de Hierro y Fósforo para Rectas de Regresión

Niveles	Hierro	Fósforo
1	0.00	0.00
2	0.25	5.00
3	0.50	10.00
4	1.00	15.00
5	1.50	20.00
6	-	25.00

Tabla V.2 Parámetros de ajustes de las rectas de regresión de Hierro y Fósforo.

Elementos	a	b	r ²
Hierro	0.0287	0.1955	0.9998
Fósforo	0.0250	0.0172	0.9991

Los niveles de concentración de hierro y fósforo fueron tomados, en base a trabajos realizados con anterioridad que nos indicaban cuales eran los niveles necesarios para determinar la concentración de estos elementos en las muestras de flor de jamaica.

Loa parámetros de ajustes de las rectas de regresión permite establecer una excelente linealidad para los dos elementos siendo en los dos casos mayor que 0.999 indicándonos la posibilidad de utilizar las rectas de regresión para la Determinación de la concentración de estos elementos en las muestras de flor de jamaica.

En las figuras V.1 y V.2 se muestran las rectas de regresión obtenidas para estos dos elementos y de las cuales se obtuvieron los parámetros de ajustes mostrados en la tabla V.2.

Los resultados de la concentración de hierro y fósforo encontrados en las muestras de flor de jamaica objeto de este estudio se muestra en la tabla V.3

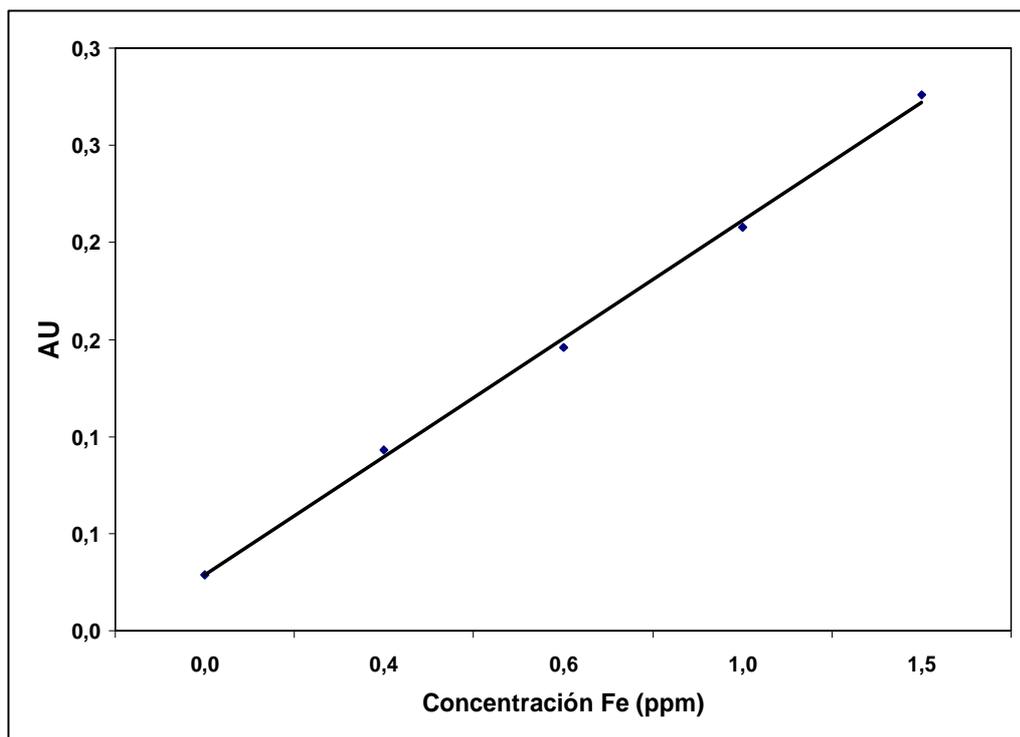


Figura V.1. Recta de regresión obtenida para el hierro a niveles de concentración mostrados en la tabla V.1.

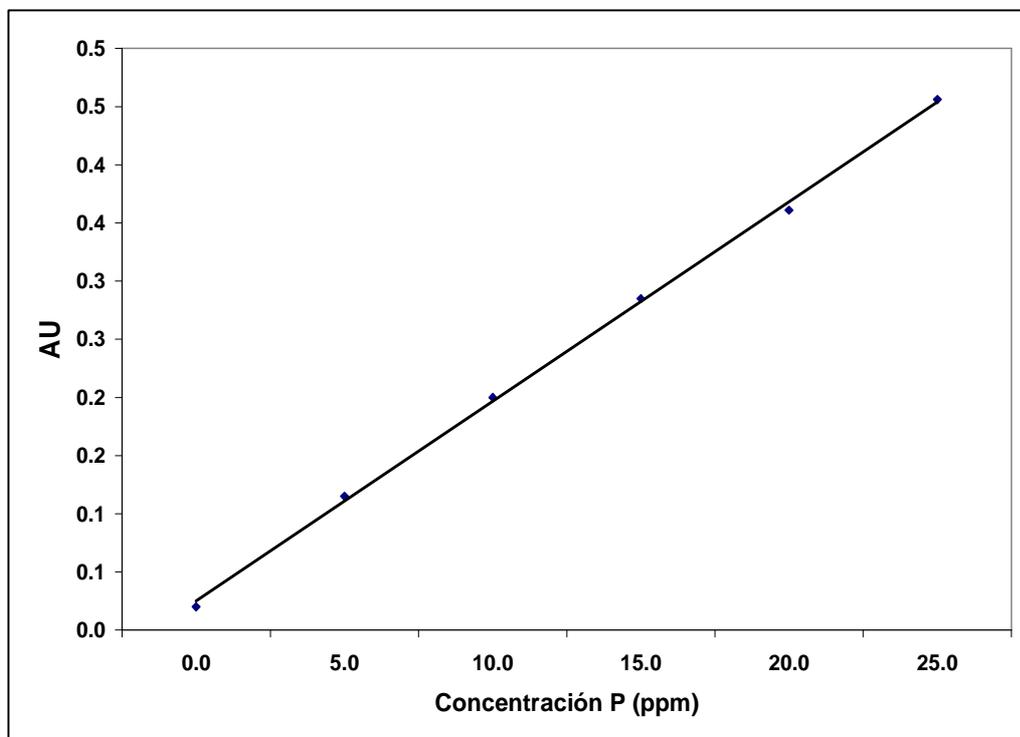


Figura V.2. Recta de regresión obtenida para el fósforo a niveles de concentración mostrados en la tabla V.1.

Los datos obtenidos de los ensayos proximales, hierro, fósforo y valor energético realizados a las muestras de los cálices de flores de Jamaica de los años 2006 y 2007, se muestran en la tabla V.3, los resultados por triplicado se presentan en anexos (tabla IX.1 a la IX.10). En las figuras V.3 y V.4. muestran estos resultados en forma de gráficos de barras.

Tabla V.3. Resultados de parámetros proximales en las muestras de los años 2006 y 2007.

	2006 (%)			2007 (%)		
Humedad	11.1056	+/-	0.0038	3.5222	+/-	0.0029
Ceniza	12.2135	+/-	0.0298	13.9396	+/-	0.0207
Fibra	14.9953	+/-	0.3577	13.9872	+/-	0.4212
Proteína	4.9815	+/-	0.3875	7.0045	+/-	0.2859
Grasa	0.3468	+/-	0.0402	0.7298	+/-	0.0585
Carbohidratos	56.3574	+/-	0.1654	60.8167	+/-	0.1899
Hierro	0.0043	+/-	2.2000E-05	0.0050	+/-	2.2000E-05
Valor Energético (Kcal)	248.4766	+/-	1.3264	277.8529	+/-	1.5102
Fósforo	0.6511	+/-	0.0077	0.4088	+/-	0.0075

Una observación detallada de los gráficos V.3 y V.4, permite establecer diferencias entre los parámetros proximales de las muestras de los años 2006 y 2007. Cabe mencionar que las muestras presentan diferentes porcentajes de los parámetros proximales razón por lo cual es difícil relacionarlos para descubrir determinadas tendencias. Sin embargo al relacionar estos en comparación con el año de recolección encontramos interesantes diferencias. Así en el caso de los parámetros *humedad, fibra y fósforo* la muestra correspondiente al año **2006** presenta mayores porcentajes en relación a la muestra del año 2007, por otra parte la muestra del año **2007** presenta mayores porcentajes en los parámetros *ceniza, proteína, grasa, hierro y carbohidratos*, los cuales se obtienen restándole a 100 todos los parámetros excepto energía, hierro y fósforo.

Los resultados mostrados en la tabla V.3, revelan diferencias evidentes con los obtenidos en otros estudios realizados [18, 19, 20 y 21], así por ejemplo en el caso de la *humedad* esta fluctúa entre 9.2 y 15.4%, en estos estudios, pero en nuestro caso esta varió entre el 3.5% para la muestra del 2007 al 11.1% para la del 2006, sólo la muestra del 2006 entra en el rango de los estudios realizados. Lo que probablemente se deba al tipo de tratamiento de secado aplicado a la muestra del 2007 el que es diferente al aplicado a la muestra del 2006.

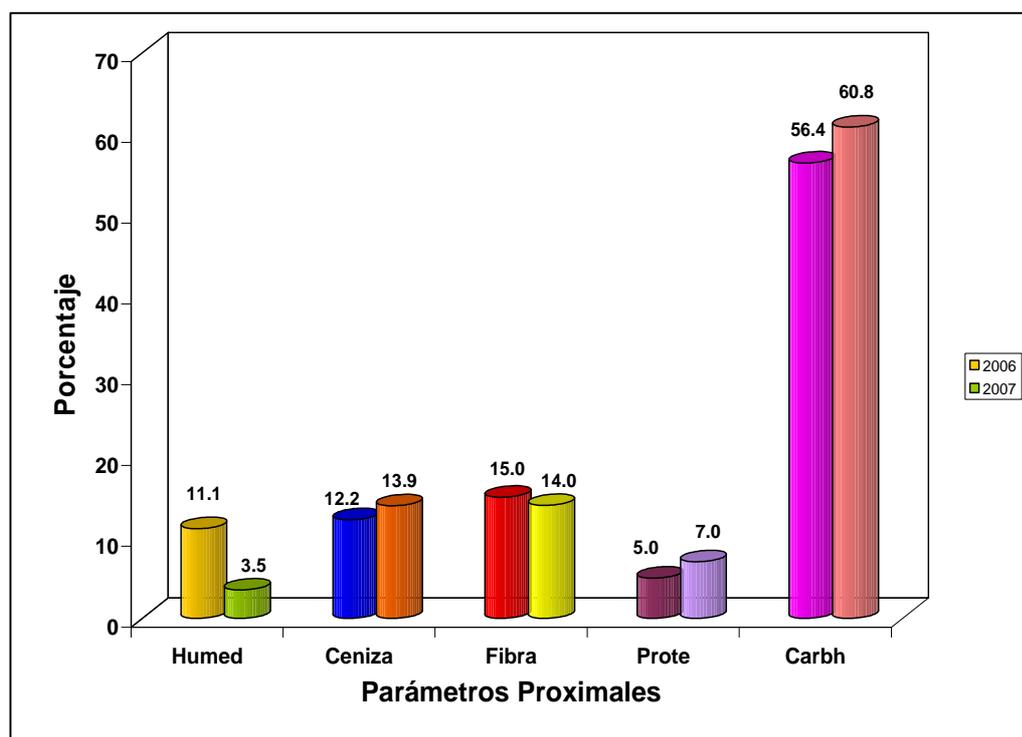


Figura V.3. Grafico de porcentaje de parámetros proximales, de las muestras de flor de Jamaica de los años 2006 y 2007.

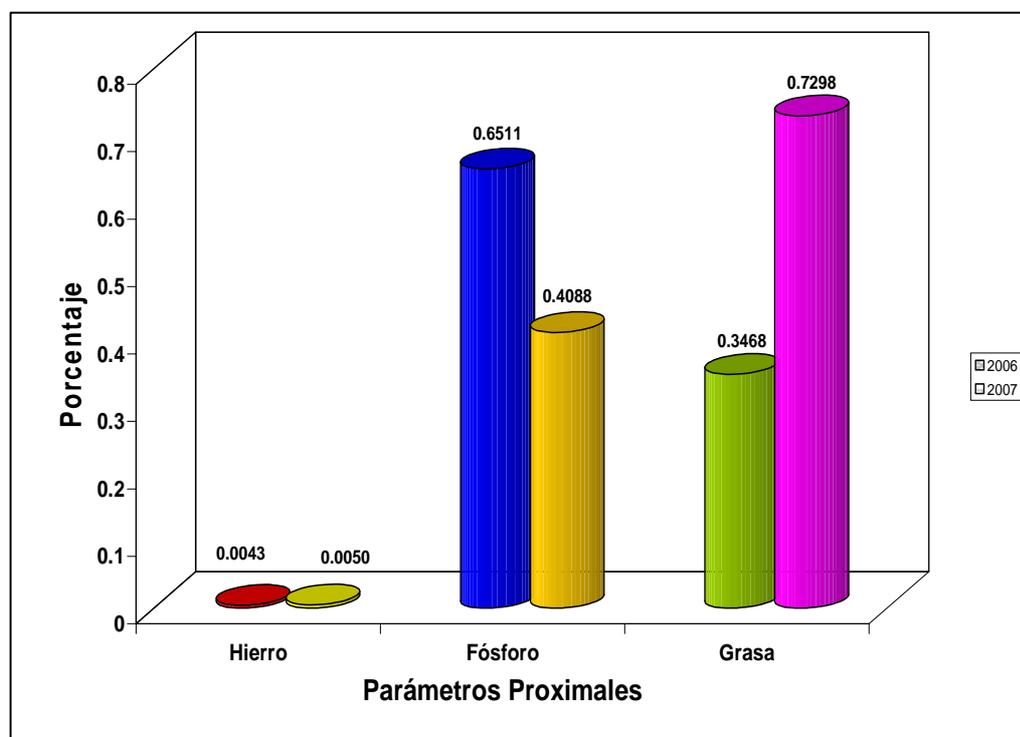


Figura V.4. Grafico de porcentaje de parámetros proximales de las muestras de flor de Jamaica de los años 2006 y 2007.

Por otra parte en lo relativo a la **proteína** esta varió entre el 1.1 y el 5.8% en los estudios encontrados, pero en nuestro caso esta varió entre el 5.0% para la muestra del 2006 al 7.0% para la del 2007, al igual que en el caso de la **humedad** la muestra del 2006 se acerca a los resultados de los estudios realizados, no así la del 2007. Dado que en este caso se partió de un material foliar similar consideramos que el tratamiento de secado no tiene influencia en estos resultados y la muestra del 2007 presenta mayores contenidos de proteína que la 2006.

Los resultados anteriores nos indican, que no es razonable comparar nuestros resultados con los reflejados en la bibliografía. Por esta razón y dado que contábamos con los resultados proximales de dos muestras originarias de la periferia de la Ciudad de León, en teoría similares, decidimos realizar una comparación de estos parámetros mediante análisis de varianza de un factor, para establecer diferencias entre los parámetros proximales de ambas muestras. Las hipótesis nula y alternativa planteadas en este caso fueron:

$$H_0 : \bar{X}_{\text{humedad}} = \bar{X}_{\text{ceniza}} = \bar{X}_{\text{fibra}} = \dots = \bar{X}_{\text{fosforo}}$$

$$H_1 : \bar{X}_{\text{humedad}} \neq \bar{X}_{\text{ceniza}} \neq \bar{X}_{\text{fibra}} \neq \dots \neq \bar{X}_{\text{fosforo}}$$

Aceptándose H_0 si $F_{\text{cal}} < F_{\text{tab}}$, con un 95% de nivel de confianza. Los resultados del ANOVA de un factor realizado se muestran en la tabla V.4.

Tabla V.4. ANOVA de parámetros proximales

Origen de las varianzas	SC	GL	MC	Fcal	Ftab
Entre grupos	15910.16	7	2272.88	707.67	2.25
Dentro de los grupos	128.47	40	3.212		
Total	16038.63	47			

La tabla V.4, muestra que el F calculado es mayor que el F tabulado, por lo que hay elementos suficientes como para rechazar la posibilidad de similitud entre las medias de los parámetros comparados, al nivel de confianza elegido al 95%. Esto indica que los parámetros proximales, tienen diferencias entre si, tal y como habíamos observado en los gráficos V.3. y V.4.

En nuestro país al igual que en muchos otros no existe una normativa clara sobre los requerimientos de calidad de la Flor de Jamaica para el consumo interno y su exportación. Existen algunos criterios en la bibliografía referentes al contenido de humedad y ceniza. Siendo el porcentaje máximo de humedad del 12% y el 11% para la ceniza. Si observamos los resultados obtenidos en nuestro estudio tanto para la muestra del 2006 como la del 2007 los porcentajes de humedad se adecuan al porcentaje máximo requerido y en lo que respecta a la ceniza las muestras analizadas no cumplen con el requerimiento máximo.

Las diferencias observadas en los parámetros proximales son debidas a muchos factores, entre los que podemos mencionar, el tipo de suelo, la zona de cultivo, las condiciones de cultivo y cosecha, el almacenaje, la variedad, el tratamiento de secado y las condiciones ambientales, entre otros. Creemos que estos factores influyen en las características de las muestras analizadas, lo que explica las diferencias observadas.

Si relacionamos nuestros resultados con aspectos nutricionales, como la Dosis Diaria Recomendada (DDR), podemos encontrar algunos aspectos llamativos. En lo que se refiere a las dosis diarias recomendadas para los minerales **hierro y fósforo** nuestros resultados indican (partiendo de una porción de 10 gramos), que la muestra del 2006 aportaría un 4.3% de la DDR del hierro, mientras que la del 2007 aportaría un 4.9%, en lo referente al fósforo la muestra del 2006 aportaría un 8.1% de la DDR para este mineral, mientras que la del 2007 aporta un 5.1%. Estos resultados nos llevan a inducir que la muestra del 2006 se puede recomendar nutricionalmente en lo que respecta a su contenido de fósforo, mientras que en el caso del hierro dado que la diferencia no es significativa para las dos muestras, ambas pueden ser recomendadas.

En lo que respecta a la **fibra, proteína, grasa y carbohidratos** (partiendo de una porción de 10 gramos), nuestros resultados indican que la muestra del 2006 aportaría un 2.38%, 2.27%, 0.05% y 2.00%, mientras que la muestra del 2007 aportaría un 2.22%, 3.18%, 0.1% y 2.18%, respectivamente para los compuestos antes mencionados. Estos resultados nos llevan a inducir que la muestra del 2006 se puede recomendar nutricionalmente en lo que respecta a su contenido de fibra, mientras que la del 2007 se puede recomendar nutricionalmente en lo que respecta a su contenido de proteína, grasa y carbohidratos. Cabe destacar que la muestra del 2007, aportaría un mayor porcentaje a la DDR además de un mayor valor energético, en relación a la muestra del 2006. Aunque su aporte no sería significativo si solo se tomara esta por sí sola, ya que debe ir acompañada por otros alimentos que complementarían la DDR, para un adulto.

V.2- CATIONES EN FLOR DE JAMAICA

En la tabla V.5. se muestran las concentraciones usadas para la cuantificación de los cationes: potasio, sodio, calcio y magnesio, inyectados en las condiciones electroforéticas indicadas en el apartado IV.5.9.

Tabla V.5. Rango de Concentración (ppm) de los estándares de cationes estudiados.

Cación	Concentración (ppm)			
	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 4
Potasio	100	130	160	190
Sodio	1	2	5	8
Calcio	100	130	160	190
Magnesio	5	15	25	35

Los rangos de concentración fueron seleccionados sobre la base del criterio de concentración esperada de los cationes en las muestras objeto de estudio y que tuvieron su origen en inyecciones previas de las muestras y de estándares de concentración conocida. En anexos (tabla IX.11 y IX.12) presentamos las medias de los resultados duplicados de cationes.

La figura V.5. muestra los electroferogramas de las mezclas de los estándares de los cationes, observándose que los tiempos de migración de los cationes en los electroferogramas obtenidos, permite establecer una clara diferencia e identificación entre estos. Por otra parte la posición de los picos en los electroferogramas es coincidente con lo publicado por el fabricante del instrumento [16], ya que el orden de la posición de los picos fue K^+ , Na^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2} .

Es importante mencionar que la posición de los picos es consecuencia directa de la movilidad electroforética de los cationes estudiados en el interior del capilar, la que depende entre otros factores del tipo de Tampón, del voltaje aplicado, de la temperatura de análisis, de la longitud efectiva del capilar, del tipo de molécula o ión, del tamaño de la molécula o ión y de la carga del ión.

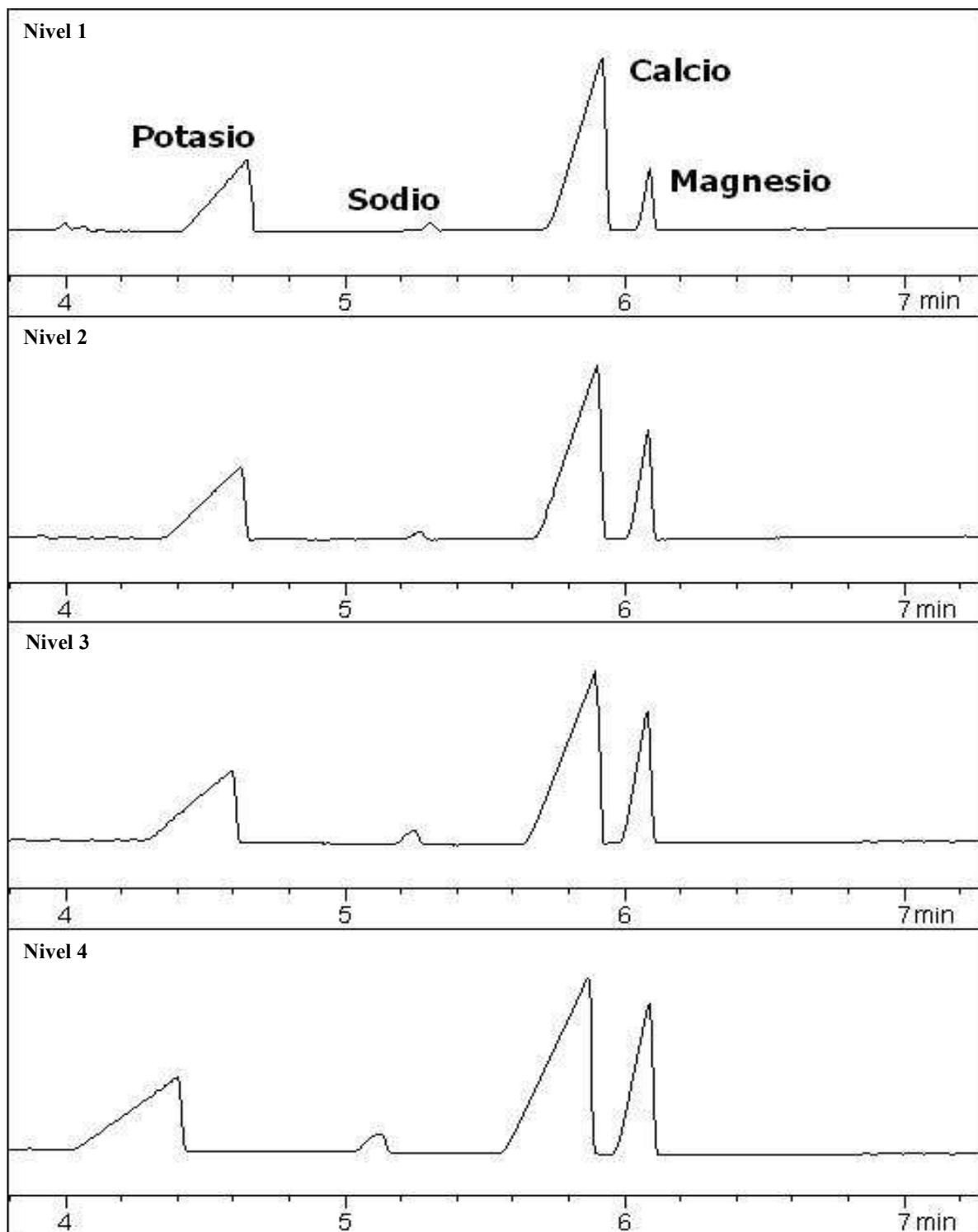


Figura V.5. Electroferogramas de las mezclas de estándares de los cationes: potasio, sodio, calcio y magnesio, a cuatro niveles de concentración, inyectadas con las condiciones electroforéticas mostradas en el apartado IV.5.9.

En la tabla V.6., se muestran los valores de los parámetros de ajuste de las rectas de regresión de los cuatro cationes estudiados, obtenidas en los rangos de concentración mencionados en la tabla V.5. En esta se puede observar que el ajuste de las rectas fue excelente siendo el r^2 en la todos los casos mayores o cercano al 0.999, salvo para el caso del sodio. Cuyo valor fue de 0.9952. Estos valores nos indican la bondad del ajuste de las rectas, razón por la cual podemos utilizarlas para la determinación de la concentración de los cuatro cationes presentes en las muestras de flor de Jamaica de los distintos años de recolección.

En el caso del sodio, el pobre ajuste observado es debido entre otras causas al protocolo de limpieza empleado para el capilar durante el análisis. Este protocolo indica el acondicionamiento previo del capilar con NaOH, para lograr el regeneramiento de la pared interna del capilar de sílice fundida (adecuación de los grupos silanoles). Aunque se emplea un extenso proceso de limpieza posterior con agua y electrolito de fondo, creemos que dicho proceso no es lo suficientemente efectivo como para mejorar las propiedades de migración del catión sodio. Este comportamiento nos obligó a utilizar solo tres puntos de ajuste para este catión aunque esto no mejoró notablemente su ajuste. Por otra parte el proceso de tratamiento previo del capilar permitió mejorar el comportamiento de migración de los otros cationes estudiados, lo que tiene relación con el mejor ajuste obtenido por estos otros cationes.

Tabla V.6. Parámetros de ajuste de las cuatro rectas de regresión de los estándares de cationes estudiados.

Cationes	a	b	r^2
Potasio	-0.0110	0.0014	0.9999
Sodio	0.0003	0.0023	0.9891
Calcio	-0.0046	0.0021	0.9988
Magnesio	-0.0005	0.0041	0.9997

En las Figuras V.6 a V.9, se muestran las rectas de regresión obtenidas para los cationes, potasio, sodio, calcio y magnesio y de las cuales se obtuvieron los parámetros de ajuste mostrados en la tabla V.6.

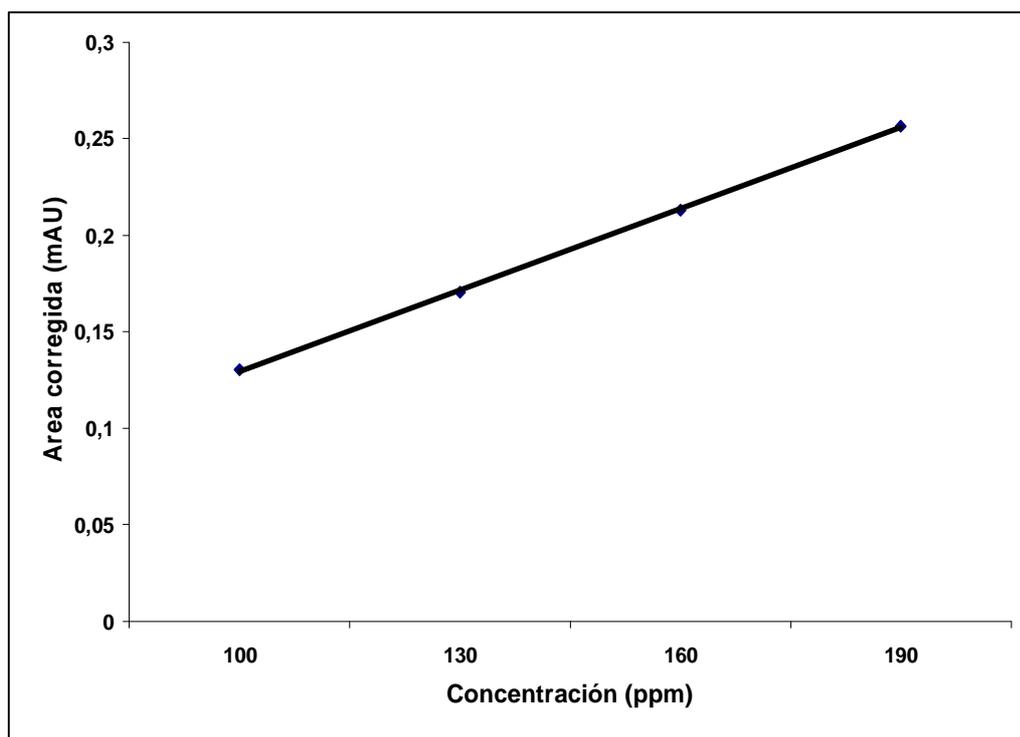


Figura. V.6 Recta de regresión obtenida para el catión potasio, a niveles de concentración mostrados en la tabla V.5.

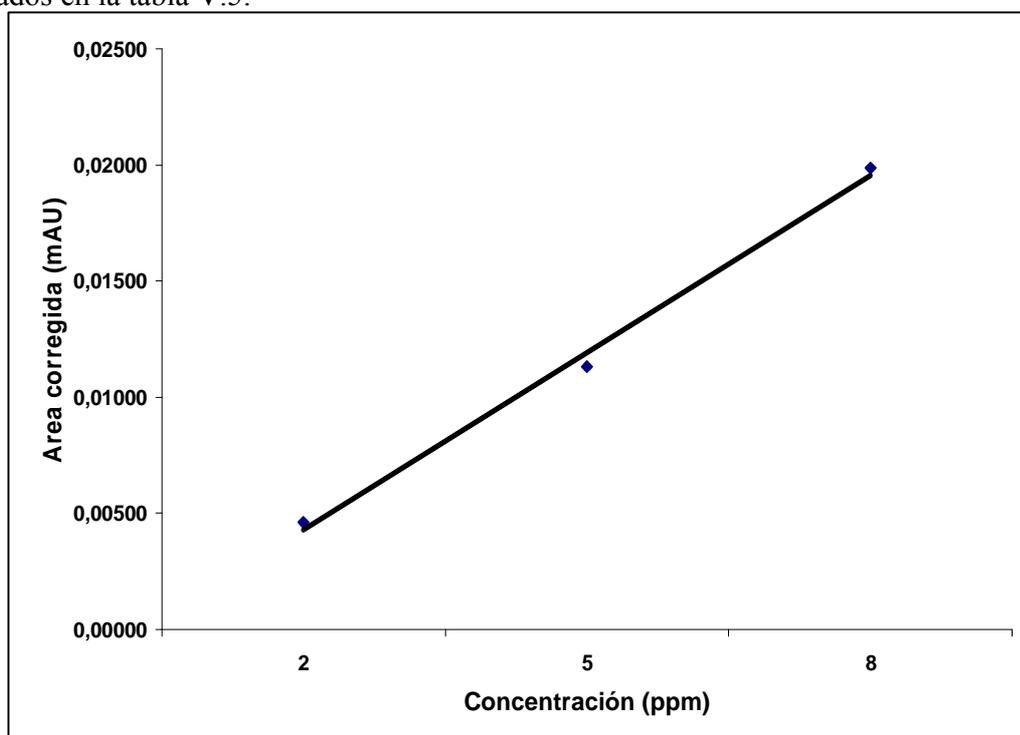


Figura. V.7. Recta de regresión obtenida para el catión sodio, a niveles de concentración mostrados en la tabla V.5.

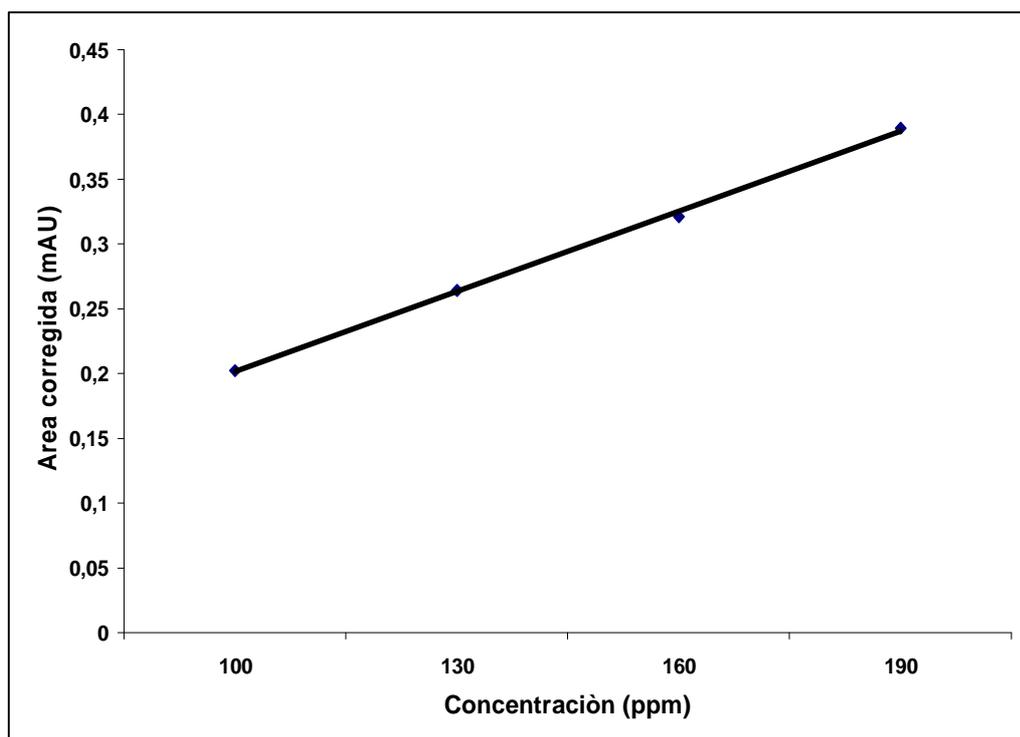


Figura. V.8. Recta de regresión obtenida para el catión calcio, a niveles de concentración mostrados en la tabla V.5.

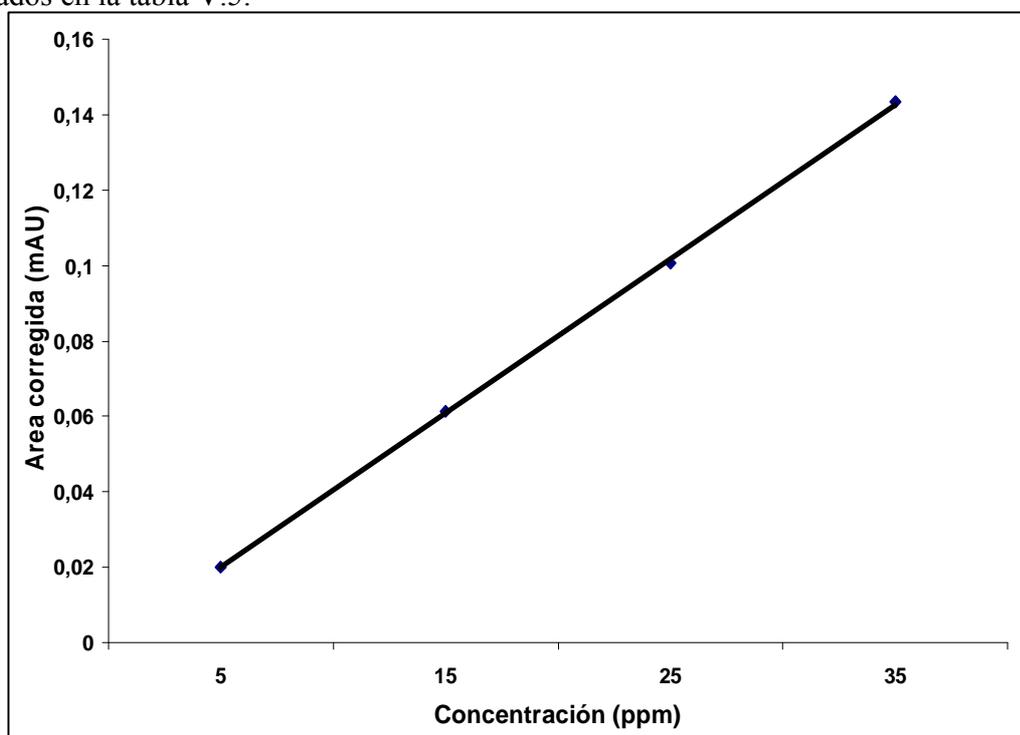


Figura. V.9. Recta de regresión obtenida para el catión magnesio, a niveles de concentración mostrados en la tabla V.5.

En las Figuras V.10. y V.11., se muestran los electroferogramas de las muestras de flor de Jamaica de los años 2006 y 2007 respectivamente, en los que se indican los cationes encontrados en relación a los estándares considerados en el estudio. Todos los electroferogramas mostrados se graficaron sin indicar las escalas de absorbancia con el fin de tener un punto comparativo de los picos que presentan las muestras de flor de Jamaica estudiadas en condiciones más o menos iguales.

Tal y como se observa en los electroferogramas de las muestras de flor de Jamaica, las dos presentan picos característicos correspondientes a los cationes potasio, sodio, calcio y magnesio.

Cabe mencionar que una observación detallada de los electroferogramas permite establecer una clara diferencia entre las muestras de flor de Jamaica estudiadas, por la altura observada entre los picos. Por otra parte el desplazamiento de los tiempos de migración de los picos de los cationes encontrados respecto a los tiempos de migración de los estándares no fue realmente significativo, lo que permitió su efectiva identificación y cuantificación.

En las figuras V.10. y V.11. se muestran los electroferogramas de las muestras estudiadas, mientras que en la tabla V.7. se muestran los resultados de la concentración en porcentaje de los cationes en las muestras de los años 2006 y 2007, obtenidas a partir de los parámetros de regresión de la tabla V.6, por otra parte en la Figura V.12, se muestran los resultados de la tabla V.7, en forma de gráficos de barras.

Tabla. V.7. Valores de porcentaje de cationes en Flor de Jamaica en los años 2006 y 2007.

	2006			2007		
K⁺	2.7913	+/-	0.0229	3.1471	+/-	0.0233
Na⁺	0.0609	+/-	0.0130	0.1061	+/-	0.0117
Ca²⁺	2.1273	+/-	0.0554	2.6307	+/-	0.0474
Mg²⁺	0.3039	+/-	0.0073	0.2493	+/-	0.0076

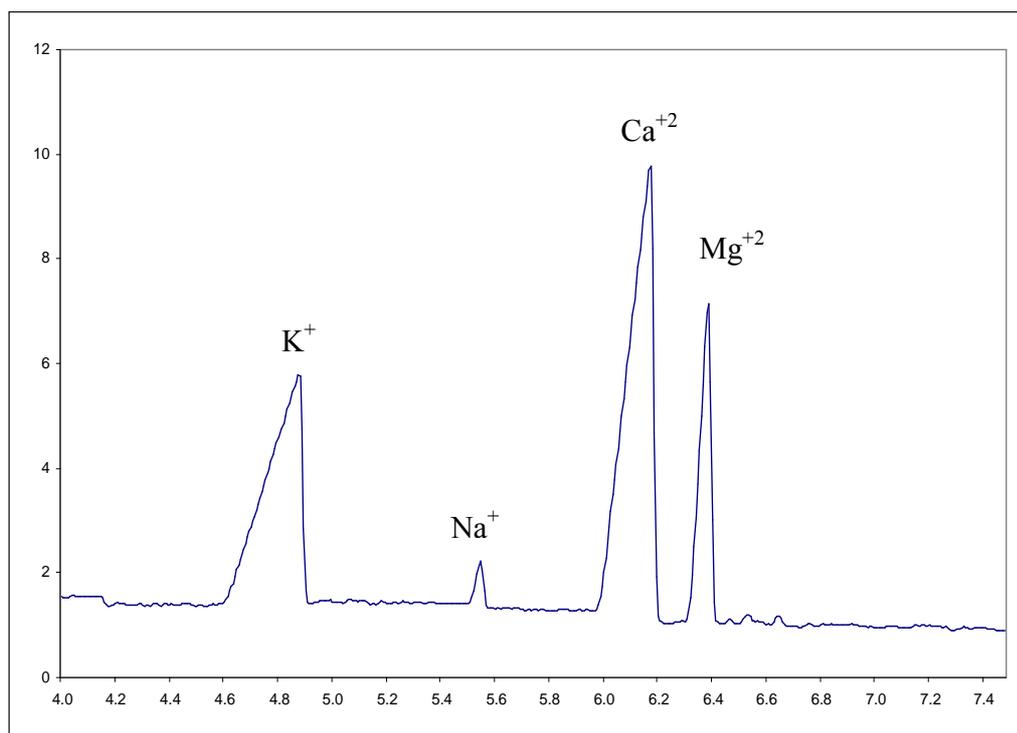


Figura. V.10 Electroferograma de una muestra de flor de Jamaica del año 2006, diluida 1/5 con agua desionizada.

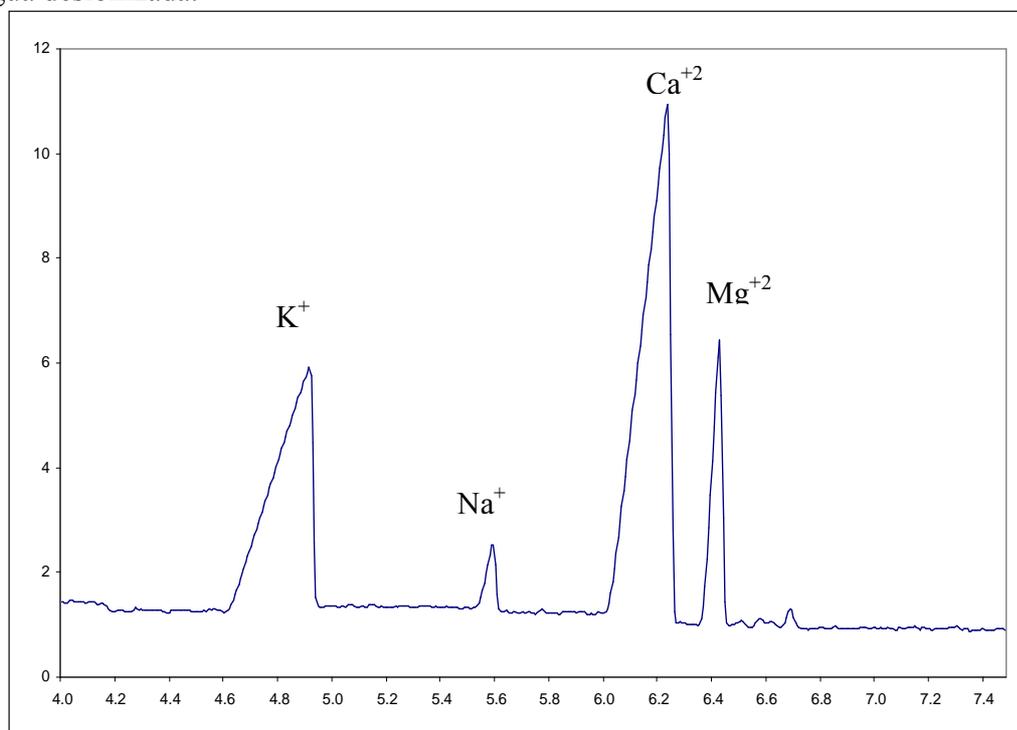


Figura. V.11 Electroferograma de una muestra de flor de Jamaica del año 2007, diluida 1/5 con agua desionizada.

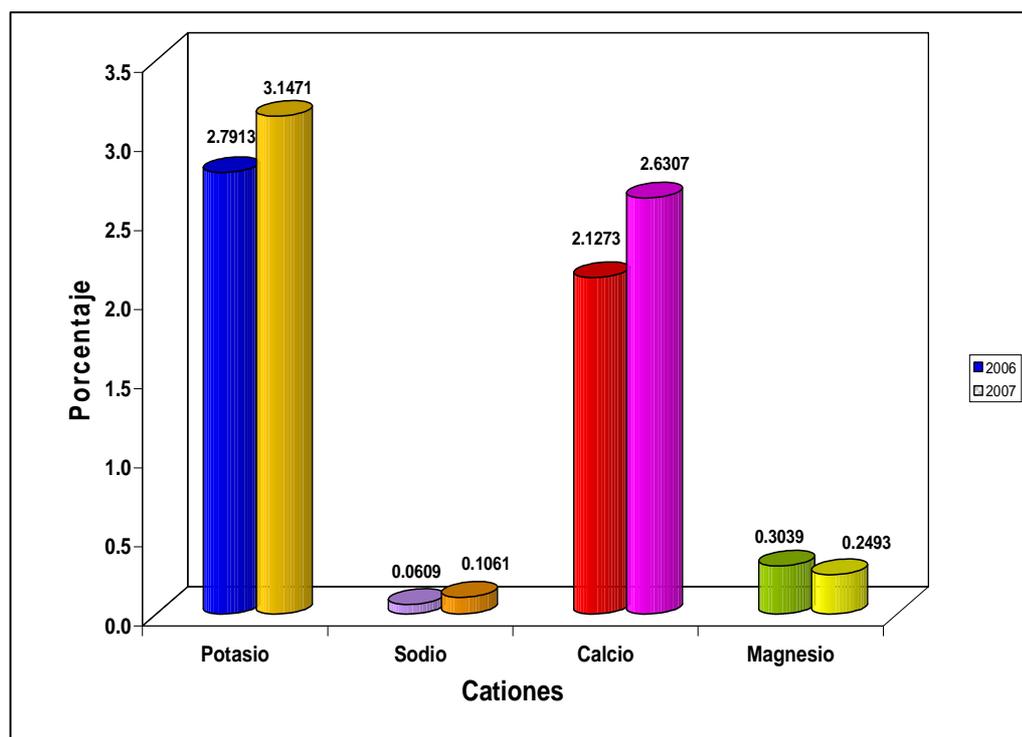


Figura. V.12. Gráfico de porcentaje de los cationes presentes en las muestras de flor de Jamaica de los años 2006 y 2007.

Una observación detallada de la figura V.12, permite establecer la existencia de diferencias entre los porcentajes de los cationes, presentes en las muestras 2006 y 2007. En el caso de la muestra del año 2007 esta presenta mayores porcentajes de **potasio**, **sodio** y **calcio**, mientras que la muestra del año 2006 contiene mayores porcentajes de **magnesio**.

Las diferencias observadas en el contenido de cationes de las muestras estudiadas (2006 y 2007), es debida a diversos factores, entre los que podemos mencionar, tipo de suelo, zona de cultivo, condiciones de cultivo y cosecha, almacenaje, variedad, tratamiento de secado y condiciones ambientales, entre otros. Estos factores influyen decididamente en las características de las muestras analizadas, lo que explica las diferencias observadas.

Los resultados mostrados en la tabla V.7, revelan diferencias evidentes con los obtenidos en otros estudios realizados [18, 19, 20 y 21], lo que nos lleva a descartar una posible comparación de nuestros resultados con estos. Cabe destacar que en estos estudios únicamente se analizó el **calcio**, mientras que el **magnesio** únicamente fue mencionado en uno de ellos. En lo que respecta al calcio se informa un intervalo entre los 150 a los 1280 mg por cada 100 g de cálices. En nuestro caso el contenido de calcio fluctuó entre los 2127 y 2631 mg por cada 100 g para las muestras 2006 y 2007 respectivamente.

Por otra parte en la figura V.12, se observan diferencias entre los cationes en las muestras objeto de este estudio, razón por la que decidimos realizar una comparación estadística de los parámetros para confirmar estas diferencias observadas. Para esto seleccionamos el análisis de varianza de un factor. Las hipótesis nula y alternativa planteadas en este caso fueron:

$$H_0 : \bar{X}_{K^+} = \bar{X}_{Na^+} = \bar{X}_{Ca^{+2}} = \bar{X}_{Mg^{+2}}$$

$$H_1 : \bar{X}_{K^+} \neq \bar{X}_{Na^+} \neq \bar{X}_{Ca^{+2}} \neq \bar{X}_{Mg^{+2}}$$

Aceptándose H_0 si $F_{cal} < F_{tab}$, con un 95% de nivel de confianza. Los resultados del ANOVA de un factor realizado se muestran en la tabla V.8.

Tabla V.8. ANOVA de los cationes.

Origen de las variaciones	SC	GL	MC	Fcal	Ftab
Entre grupos	25.65	3	8.55	265.56	3.49
Dentro de los grupos	0.39	12	0.03		
Total	26.04	15			

La tabla V.8, muestra que el F calculado es mayor que el F tabulado, por lo que hay elementos suficientes como para rechazar la posibilidad de similitud entre las medias de los parámetros comparados, al nivel de confianza elegido al 95%. Esto indica que los cationes muestran diferencias entre si, tal y como habíamos observado en el figura V.12.

Si relacionamos los resultados de los cationes con la Dosis Diaria Recomendada (DDR), podemos encontrar algunos aspectos interesantes. Si partimos de una porción de 10 gramos de las muestras podemos dilucidar los aportes nutricionales de las muestras 2006 y 2007. A este respecto podemos decir que la muestra del año 2006 aporta un 14.0%, 1.2%, 26.6% y 9.7% de la DDR de los elementos potasio, sodio, calcio y magnesio, mientras que la del 2007 aporta un 15.7%, 2.1%, 32.9% y 7.9% para los mismos elementos. Estos resultados nos llevan a inducir que la muestra del 2007 presenta mayores aportes nutricionales de los elementos potasio, sodio y calcio, mientras que la del 2006 presenta mayores aportes nutricionales del elemento magnesio. Siendo mas recomendable la muestra del 2007 que la del 2006 en lo relativo a su aporte a la DDR de estos elementos. Aunque su aporte no sería significativo si solo se tomara esta por si sola, ya que debe ir acompañada por otros alimentos que complementarían la DDR, para un adulto.

V.3- ANIONES EN FLOR DE JAMAICA

En la tabla V.9 se presenta el rango de concentraciones usadas para la cuantificación de los aniones: bromuro, cloruro, sulfato, nitrito, nitrato, fluoruro y fosfato, inyectados en las condiciones electroforéticas indicadas en el apartado IV.5.10.

Tabla V.9. Rango de Concentración (ppm) de los estándares de los aniones estudiados.

Nivel	CONCENTRACIÓN(ppm)						
	Bromuro	Cloruro	Sulfato	Nitrito	Nitrato	Fluoruro	Fosfato
1	10	10	10	10	10	1.5	20
2	30	30	30	30	30	3.0	60
3	50	50	50	50	50	4.5	100

En la tabla V.9. se presentan las concentraciones usadas para la elaboración de las rectas de regresión de cada catión, fue necesario preparar dos rangos de concentraciones, uno alto y otro bajo, el rango alto fue utilizado para determinar la concentración de bromuro, cloruro, sulfato, nitrito, nitrato y fosfato, mientras que el rango bajo fue usado para determinar la concentración de fluoruro, dado el perfil de concentración observado en la muestra y su relación respecto a un nivel de concentración conocida. En anexos se muestran las medias de los resultados por duplicado de aniones (tabla IX.13 y IX.14).

En la figuras V.13 y V.14. se muestran los electroferogramas de las mezclas de los estándares de los aniones, permitiendo observar los tiempos de migración de los aniones en los electroferogramas obtenidos, lo cual hace posible establecer una clara diferencia e identificación entre estos, que esta en correspondencia con el orden de migración de los aniones reflejado en la publicación hecha por el fabricante del instrumento usado [16].

Cabe mencionar que como en el caso de los cationes la posición de los picos es consecuencia directa de su movilidad electroforética en el interior del capilar, la que depende entre otros factores del tipo de tampón, del voltaje aplicado, de la temperatura de análisis, de la longitud efectiva del capilar, del tipo de molécula o ión, del tamaño de la molécula o ión y de la carga del ión.

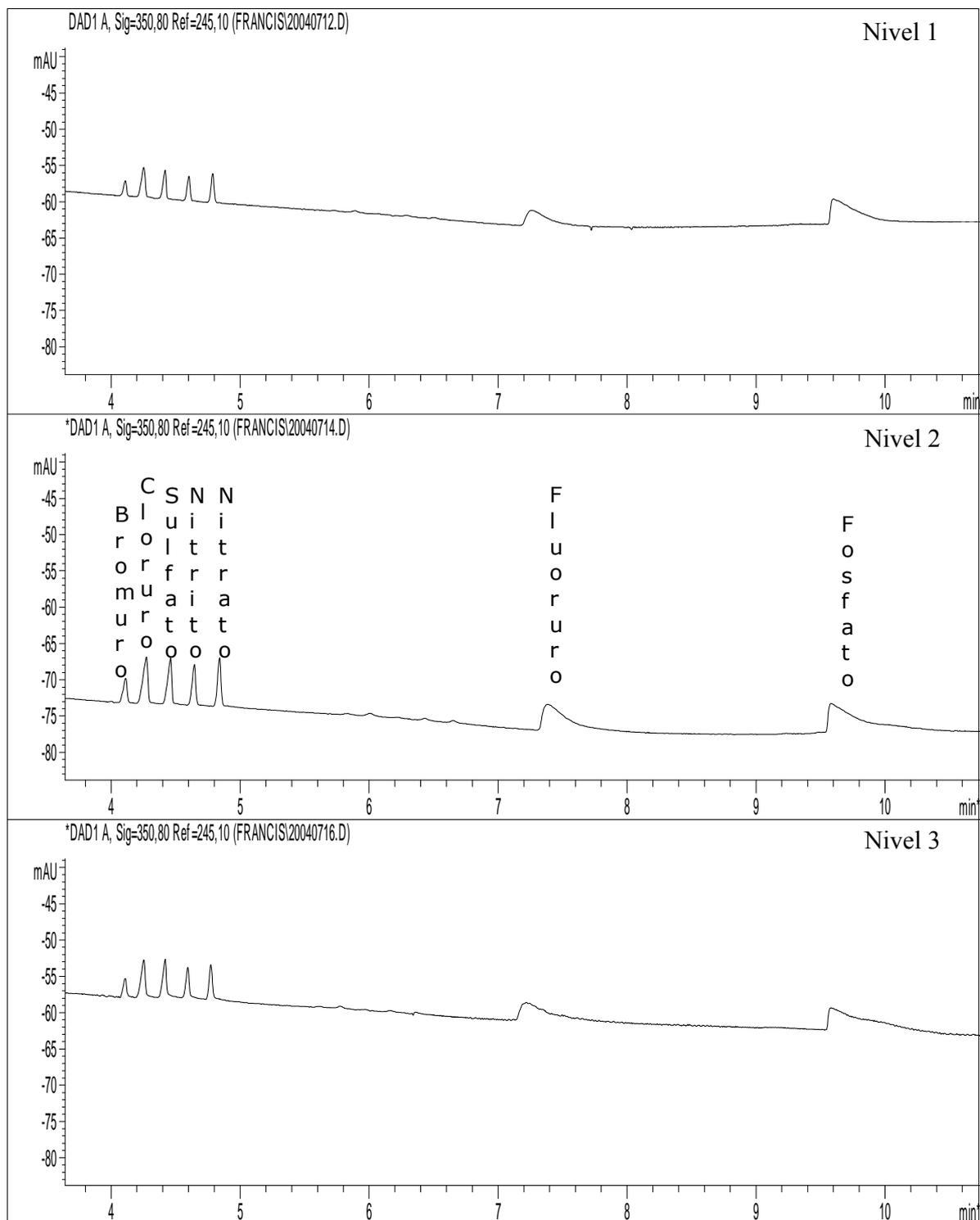


FIGURA V.13. Electroferogramas de estándares de los aniones: bromuro, cloruro, sulfato, nitrito, nitrato, fluoruro y fosfato, usados para la cuantificación de *bromuro, cloruro, sulfato, nitrito, nitrato y fosfato* a los tres niveles de concentración dados en la tabla V.9.

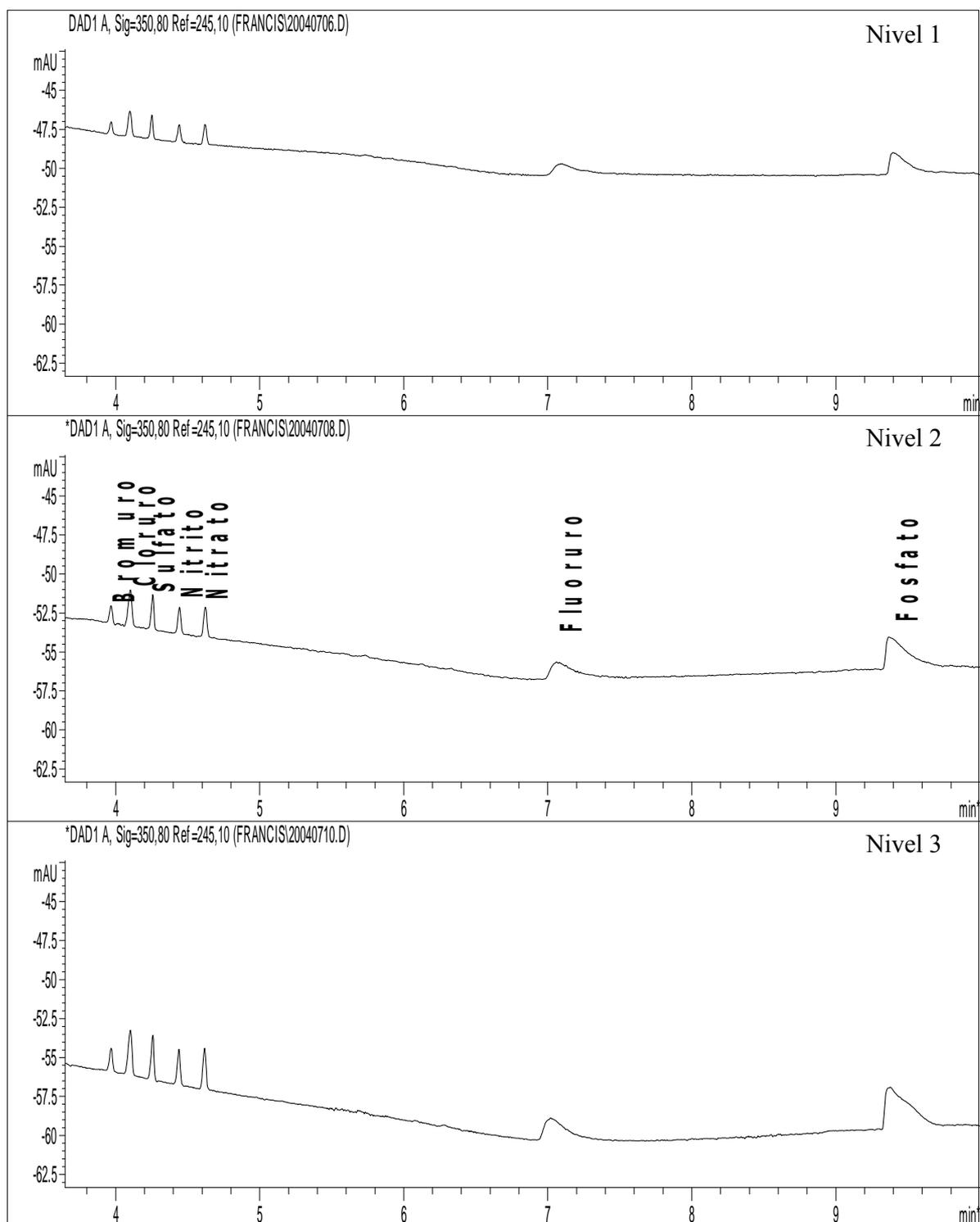


FIGURA V.14. Electroferogramas de estándares de los aniones: bromuro, cloruro, sulfato, nitrito, nitrato, fluoruro y fosfato, usados para la cuantificación de *fluoruro* a los tres niveles de concentración dado en la tabla V.9.

En la tabla V.11., se muestran los valores de los parámetros de ajuste de las rectas de regresión de los siete aniones estudiados a los niveles mencionados anteriormente. Obtenidas en los rangos de concentración mencionados la tabla V.9. En esta se puede observar que el ajuste de las rectas fue aceptable siendo el r^2 en la mayoría de los casos cercano al 0.999, salvo para el caso bromuro, cloruro y fluoruro. Estos valores nos indican la bondad del ajuste de las rectas, razón por la cual podemos utilizarlas para la determinación de la concentración de los aniones presentes en las muestras de flor de Jamaica de los años 2006 y 2007.

Tabla V.11. Parámetros de ajuste de las siete rectas de regresión de los estándares de aniones estudiados.

Aniones	a	b	r^2
Bromuro	1.7818	0.0317	0.9931
Cloruro	3.4058	0.0606	0.9965
Sulfato	3.5669	0.0575	0.9997
Nitrito	2.8145	0.0568	0.9982
Nitrato	3.3247	0.0675	0.9981
Fluoruro	0.3932	0.2160	0.9960
Fosfato	2.8708	0.0096	0.9999

En las Figuras V.15. a V.21., se muestran las rectas de regresión obtenidas para los estándares de los aniones: bromuro, cloruro, sulfato, nitrito, nitrato, fluoruro y fosfato, y de las cuales se obtuvieron los parámetros de ajuste mostrados en la tabla V.11.

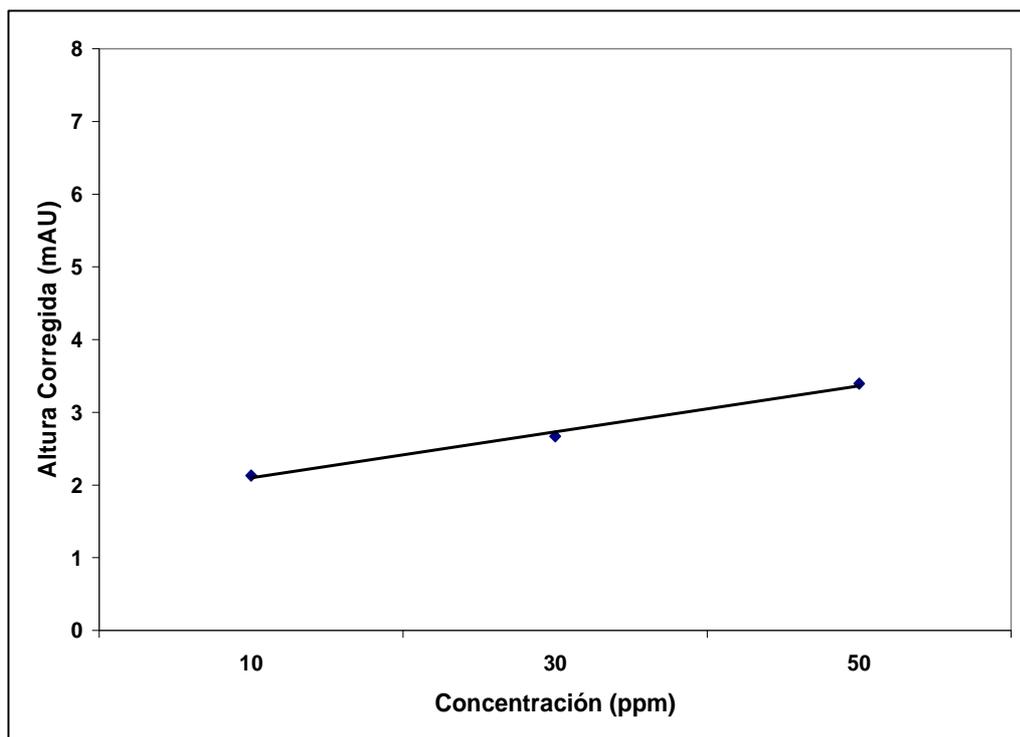


Figura. V.15. Recta de regresión obtenida para el anión bromuro, a los niveles de concentración mostrados en la tabla V.9.

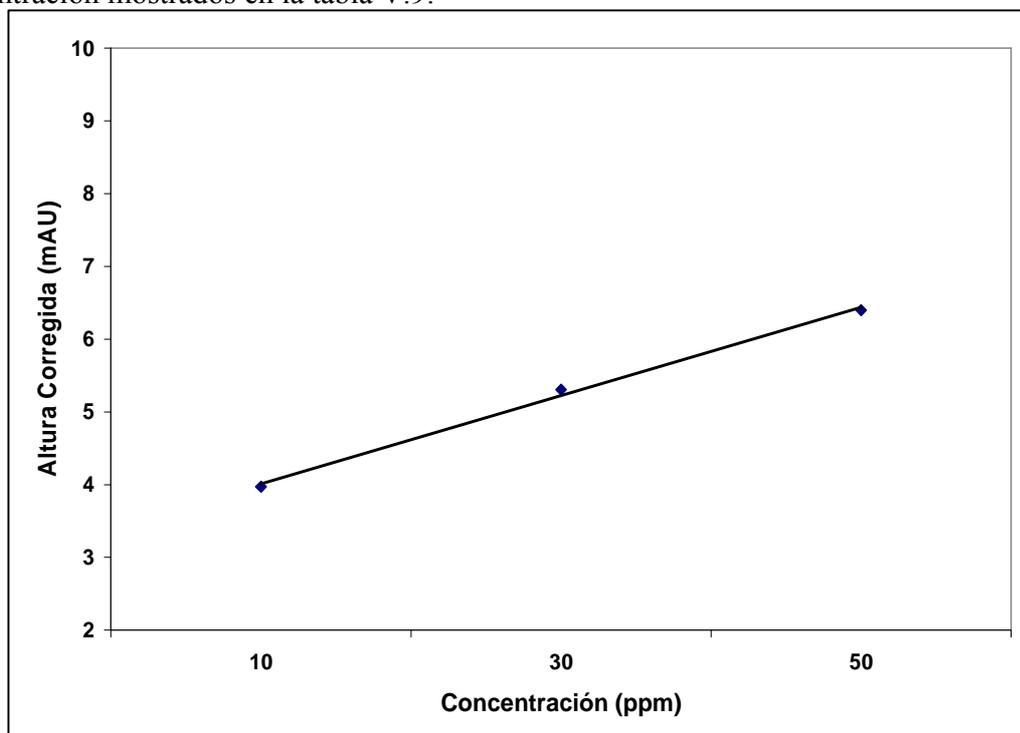


Figura. V.16. Recta de regresión obtenida para el anión cloruro, a los niveles de concentración mostrados en la tabla V.9.

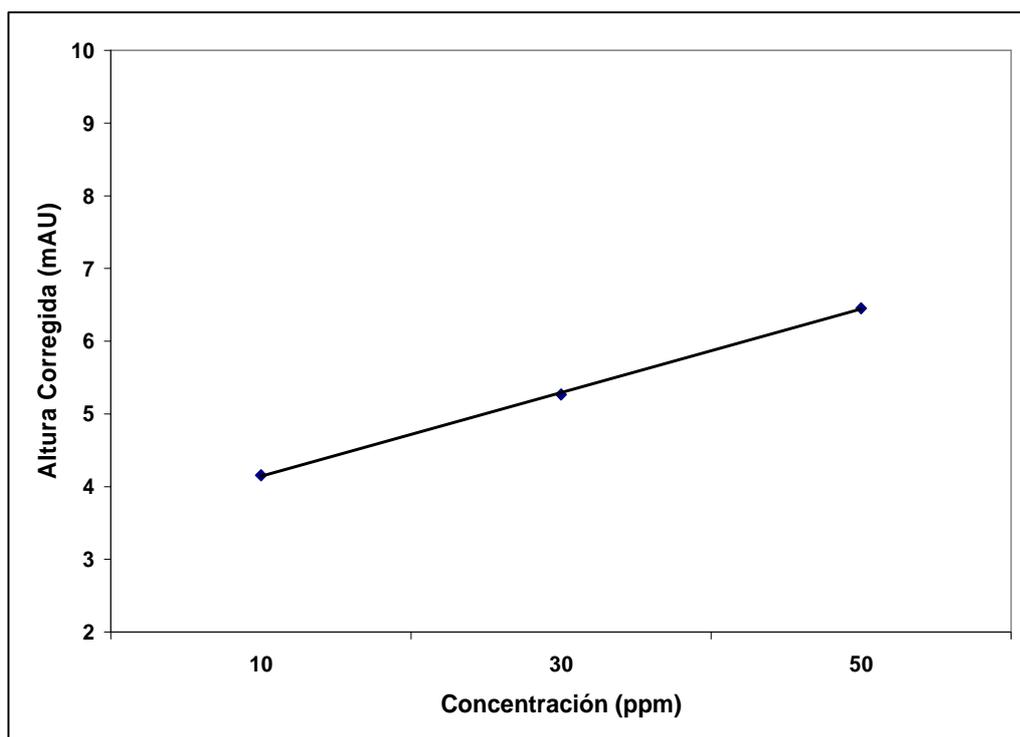


Figura. V.17. Recta de regresión obtenida para el anión sulfato, a los niveles de concentración mostrados en la tabla V.9.

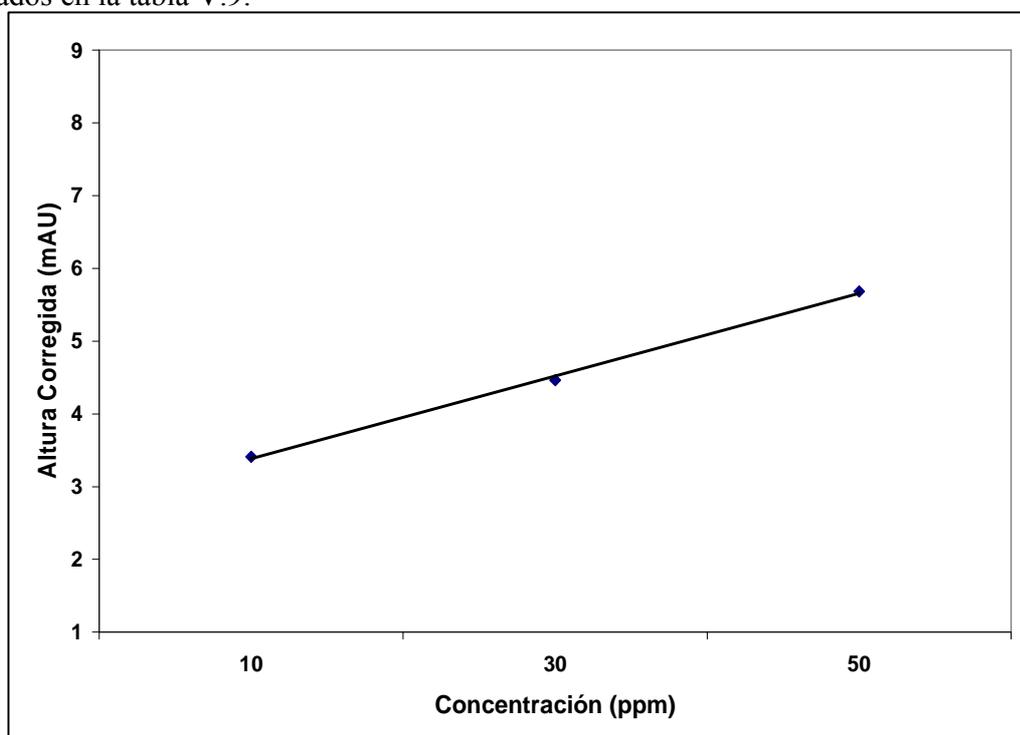


Figura. V.18. Recta de regresión obtenida para el anión nitrito, a los niveles de concentración mostrados en la tabla V.9.

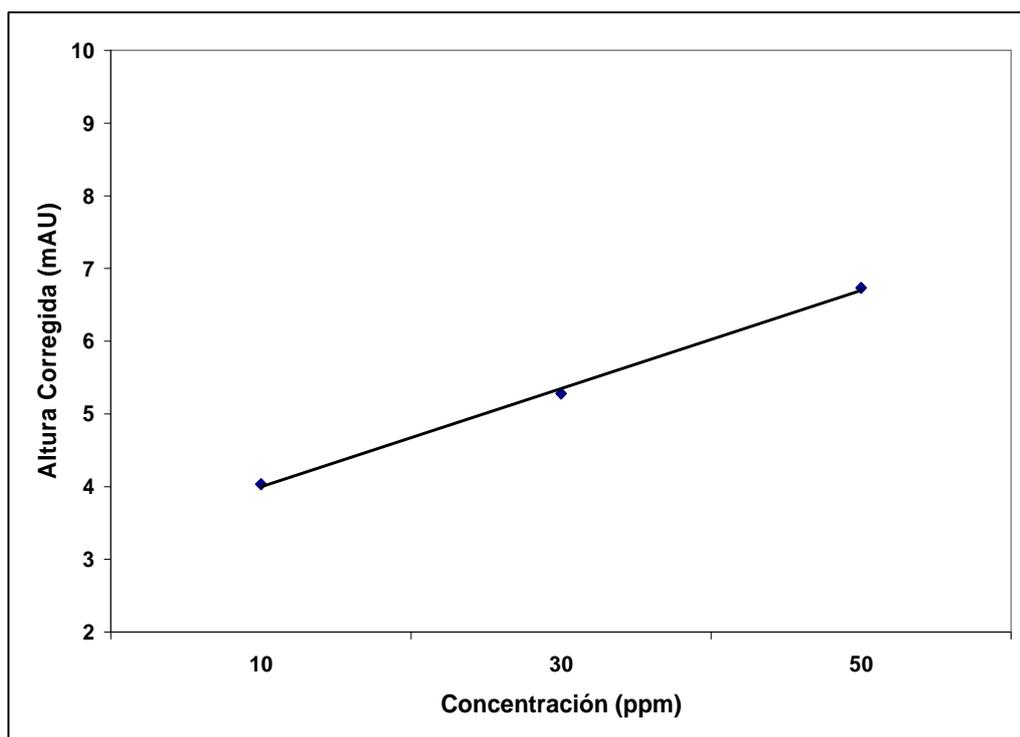


Figura. V.19. Recta de regresión obtenida para el anión nitrato, a los niveles de concentración mostrados en la tabla V.9.

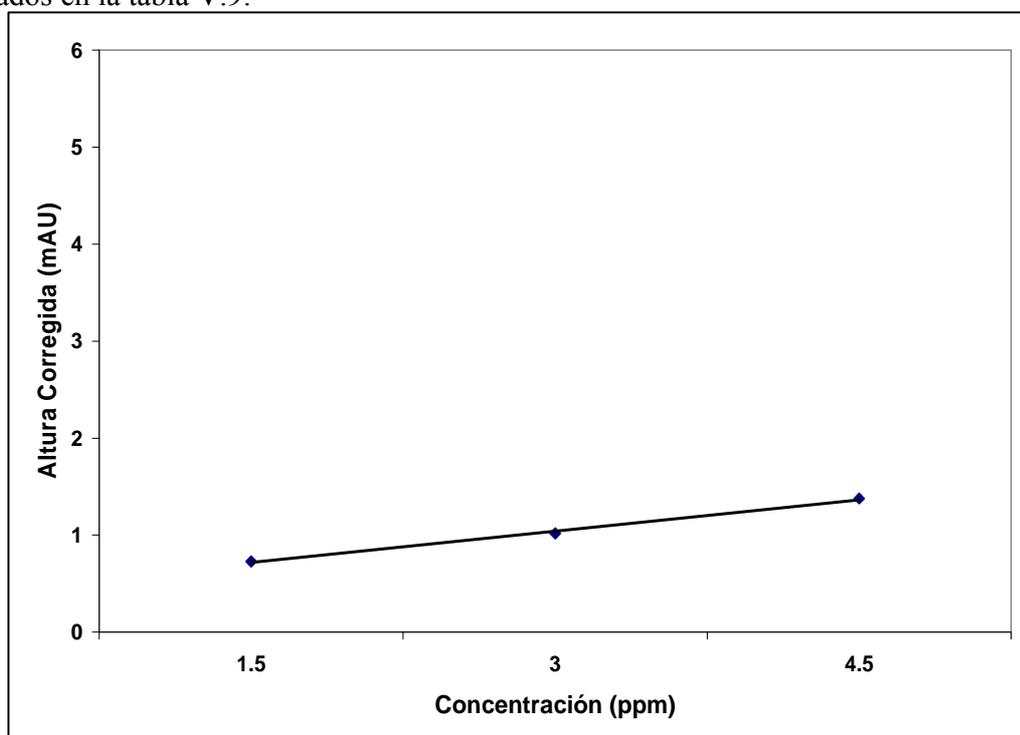


Figura. V.20. Recta de regresión obtenida para el anión fluoruro a los niveles de concentración mostrados en la tabla V.9.

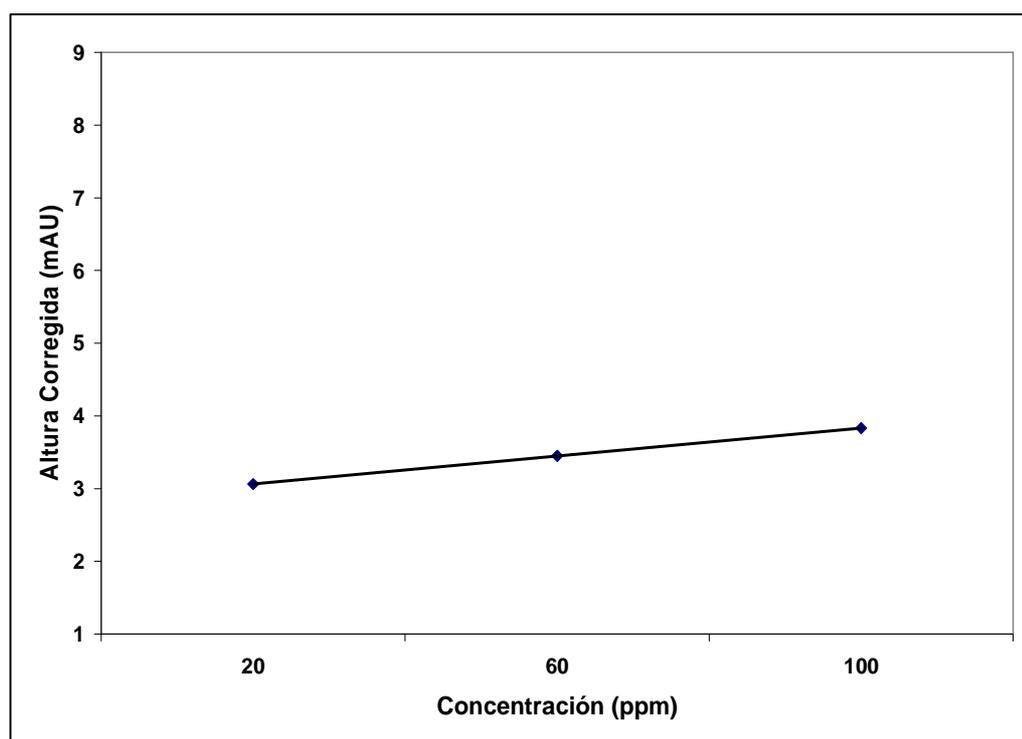


Figura. V.21. Recta de regresión obtenida para el anión fosfato a niveles de concentración mostrados en la tabla V.9.

En las Figuras V.22. y V.23., se muestran los electroferogramas de las muestras de flor de Jamaica de los años 2006 y 2007 respectivamente, en los que se indican los aniones encontrados en relación a los estándares considerados en el estudio. Mientras que en la tabla V.12. se muestran los resultados de la concentración en porcentajes de los aniones en las muestras de los años 2006 y 2007, obtenidas a partir de los parámetros de regresión de la tabla V.11, por otra parte en la Figura V.24, se muestran los resultados de la tabla V.12, en forma de gráficos de barras.

Tabla V.12. Valores de porcentaje de aniones en Flor de Jamaica en los años 2006 y 2007.

	2006			2007		
	Valor	+/-	Valor	Valor	+/-	Valor
Cl⁻	0.4736	+/-	0.0675	0.9277	+/-	0.0777
SO₄²⁻	0.7852	+/-	0.0210	1.0862	+/-	0.0272
F⁻	0.0308	+/-	0.0066	0.0262	+/-	0.0070
PO₄³⁻	0.3662	+/-	0.0064	0.8516	+/-	0.0053

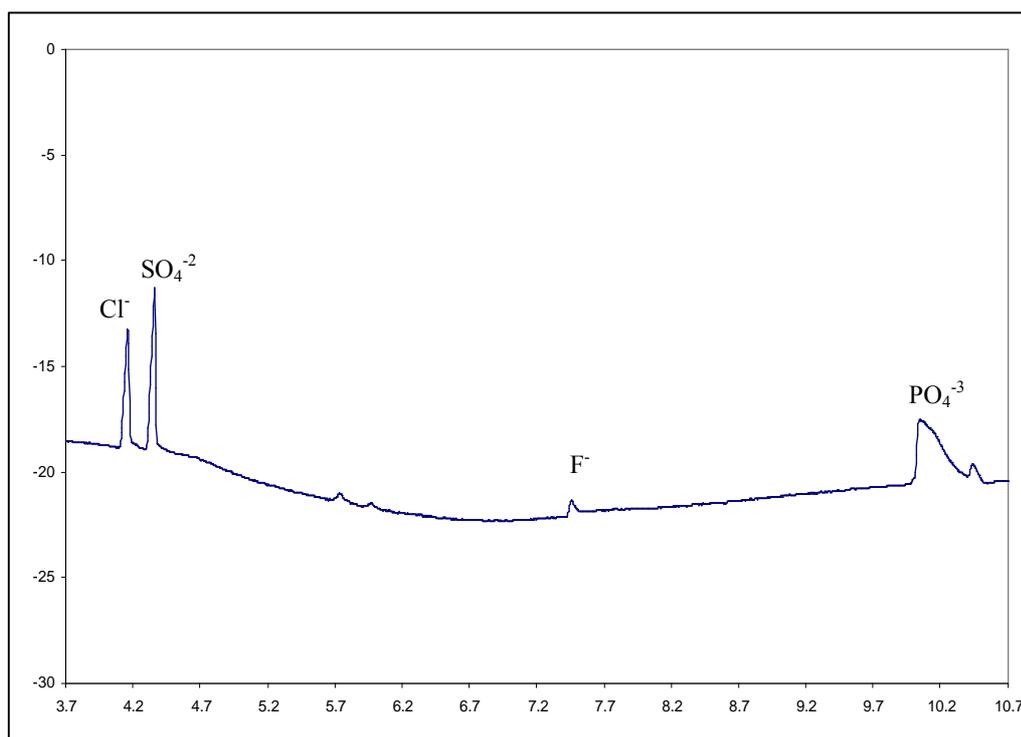


Figura. V.22. Electroferograma de una muestra de flor de Jamaica del año 2006, diluida 1/5 con agua desionizada.

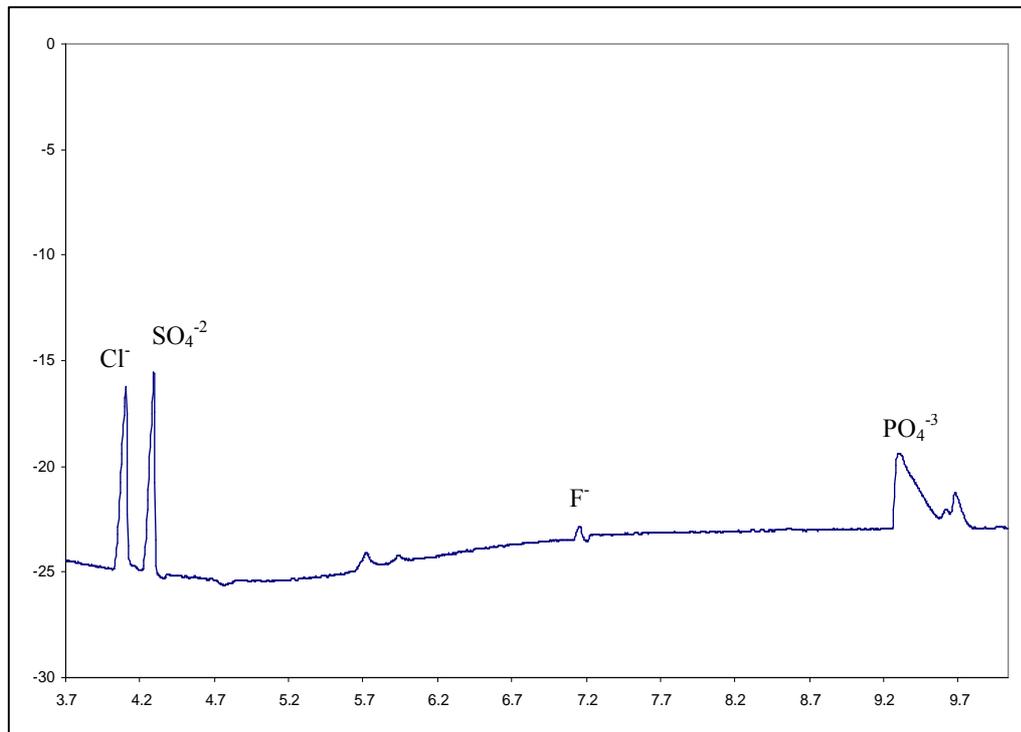


Figura. V.23. Electroferograma de una muestra de flor de Jamaica del año 2007, diluida 1/5 con agua desionizada.

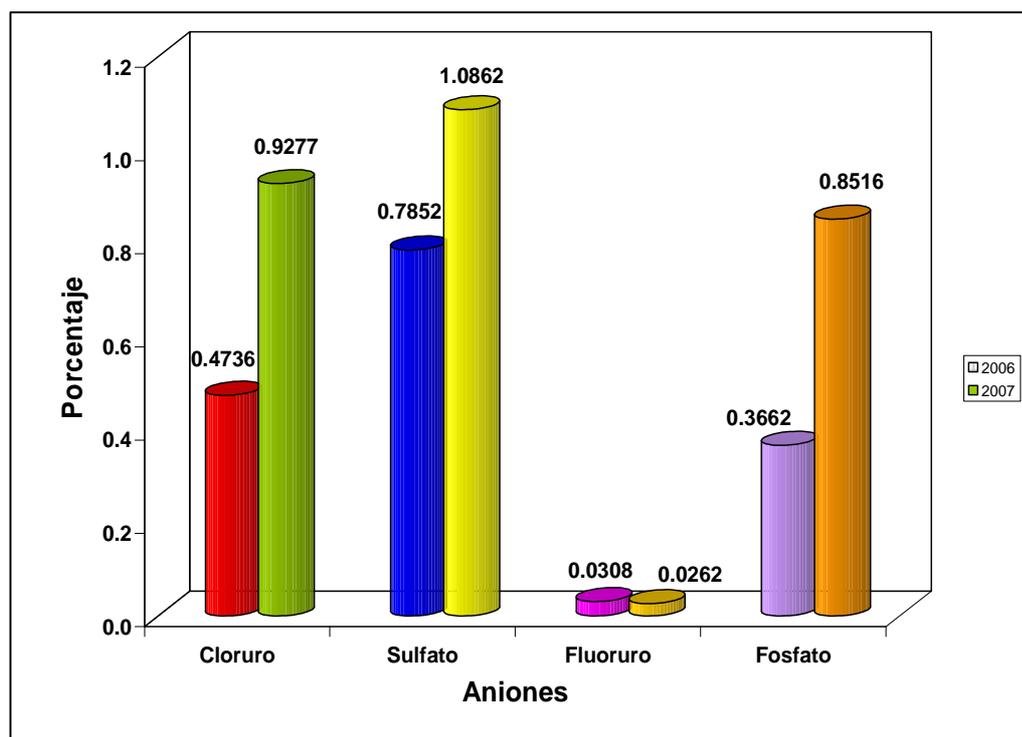


Figura. V.24. Gráfico de porcentaje de los aniones presentes en las muestras de flor de Jamaica de los años 2006 y 2007.

Tal y como se observa en los electroferogramas de las muestras de flor de Jamaica, las dos presentan picos característicos correspondientes a los aniones: cloruro, sulfato, fluoruro y fosfato. Cabe mencionar que una observación detallada de los electroferogramas permite establecer una clara diferencia entre las muestras de flor de Jamaica estudiadas, por la altura observada entre los picos. Por otra parte el desplazamiento de los tiempos de migración de los picos de los aniones encontrados respecto a los tiempos de migración de los estándares no fue realmente significativo, lo que permitió su efectiva identificación y cuantificación.

Una observación detallada de la figura V.24. indica que al igual que en el caso de los parámetros físico-químicos y cationes, existen diferencias entre los porcentajes de los aniones presentes en las muestras 2006 y 2007. En el caso de la muestra del año 2007 esta presenta mayores porcentajes de **cloruro**, **sulfato** y **fosfato**, mientras que la muestra del año 2006 contiene mayores porcentajes de **fluoruro**.

Las diferencias observadas en el contenido de aniones de las muestras estudiadas (2006 y 2007), consideramos que es debida al igual que en el caso de los parámetros físico-químicos y cationes, a diversos factores, entre los que podemos mencionar, tipo de suelo, zona de cultivo, condiciones de cultivo y cosecha, almacenaje, variedad, tratamiento de secado y condiciones ambientales, entre otros. Estos factores influyen decididamente en las características de las muestras analizadas, lo que explica las diferencias observadas.

En la bibliografía consultada no hay evidencia de estudios de aniones que puedan ser referentes de comparación con nuestros resultados. Razón por la cual no podemos establecer comparaciones con otros estudios. Por otra parte en la figura V.24., se observan diferencias entre los aniones en las muestras objeto de este estudio, razón por la que decidimos realizar una comparación estadística de los parámetros para confirmar estas diferencias observadas. Para esto seleccionamos el análisis de varianza de un factor. Las hipótesis nula y alternativa planteadas en este caso fueron:

$$H_0 : \bar{X}_{Cl^-} = \bar{X}_{SO_4^{2-}} = \bar{X}_{F^-} = \bar{X}_{PO_4^{3-}}$$

$$H_1 : \bar{X}_{Cl^-} \neq \bar{X}_{SO_4^{2-}} \neq \bar{X}_{F^-} \neq \bar{X}_{PO_4^{3-}}$$

Aceptándose H_0 si $F_{cal} < F_{tab}$, con un 95% de nivel de significancia. Los resultados del ANOVA de un factor realizado se muestran en la tabla V.13.

Tabla V.13. ANOVA de los aniones.

Origen de las variaciones	SC	GL	MC	Fcal	Ftab
Entre grupos	1.78	3	0.59	13.38	3.49
Dentro de los grupos	0.53	12	0.04		
Total	2.32	15			

La tabla V.13 muestra que el F calculado es mayor que el F tabulado, por lo que hay elementos suficientes como para rechazar la posibilidad de similitud entre las medias de los parámetros comparados, al nivel de confianza elegido de 95%. Esto indica que los aniones muestran diferencias entre si, tal y como habíamos observado en el gráfico V.24.

Si relacionamos los resultados de los aniones con la Dosis Diaria Recomendada (DDR), podemos encontrar algunos aspectos interesantes. Si partimos de una porción de 10 gramos de las muestras podemos dilucidar los aportes nutricionales de las muestras 2006 y 2007. A este respecto podemos decir que la muestra del año 2006 aporta el 100%, 77% y 1.5% de la DDR de los elementos azufre, fluoruro y fósforo, mientras que la del 2007 aporta el 100%, 65.5% y 3.5% para los mismos elementos. Estos resultados nos llevan a inducir que la muestra del 2007 presenta mayores aportes nutricionales de los elementos azufre y fósforo, mientras que la del 2006 presenta mayores aportes nutricionales del elemento fluor. Siendo mas recomendable la muestra del 2007 que la del 2006 en lo relativo a su aporte a la DDR de estos elementos. Aunque su aporte no sería significativo si solo se tomara esta por si sola, ya que debe ir acompañada por otros alimentos que complementarían la DDR, para un adulto. En lo que respecta al elemento cloro, no hay una DDR que nos ayude a establecer comparaciones de su aporte nutricional en las dos muestras de estudio

VI- CONCLUSIONES

Una vez finalizadas todas las actividades experimentales y una vez realizado el análisis de los resultados concluimos que:

1. Se determinaron los parámetros proximales humedad, ceniza, fibra, proteína, grasa y carbohidratos en dos muestras de flor de Jamaica de los años 2006 y 2007, por gravimetría y volumetría. Se determinó que la muestra del año 2006 presentaba mayores porcentajes de humedad y fibra, mientras que la muestra del 2007 presentaba mayores porcentajes de ceniza, proteína, grasa, y carbohidratos.
2. Se determinó hierro y fósforo en dos muestras de flor de Jamaica de los años 2006 y 2007, por espectrofotometría UV-Vis. Se determinó que la muestra del año 2006 presentaba mayor porcentaje de fósforo, mientras que la muestra del 2007 presentaba mayor porcentaje de hierro.
3. Se determinaron los cationes potasio, sodio, calcio y magnesio, y los aniones cloruro, sulfato, fluoruro y fosfato en dos muestras de flor de Jamaica de los años 2006 y 2007, mediante Electroforesis Capilar de Zona. Se determinó que la muestra del año 2006 presentaba mayores porcentajes de magnesio y fluoruro, mientras que la muestra del 2007 presentaba mayores porcentajes de potasio, sodio, calcio, cloruro, sulfato y fosfato.
4. En lo que respecta a los aspectos nutricionales, se determinó que una porción de 10 gramos de la muestra del 2006 aportaría un 2.38%, 2.27%, 0.05%, 2.00%, 4.3%, 8.1%, 14.0%, 1.2%, 26.6%, 9.7%, 100%, 77% y 1.5% de la DDR de fibra, proteína, grasa, carbohidratos, hierro, fósforo, potasio, sodio, calcio, magnesio, azufre, fluoruro y fósforo respectivamente. Mientras que una porción igual de la muestra del 2007 aportaría un 2.22%, 3.18%, 0.1%, 2.18%, 4.9%, 5.1%, 15.7%, 2.1%, 32.9%, 7.9%, 100%, 65.5% y 3.5% de la DDR de fibra, proteína, grasa, carbohidratos, hierro, fósforo, potasio, sodio, calcio, magnesio, azufre, fluoruro y fósforo respectivamente. A este respecto podemos decir que la muestra del año 2007 es más aceptable nutricionalmente que la muestra del año 2006, ya que un 69% de los parámetros analizados del año 2007 presentaban un mayor aporte a la DDR que los parámetros del año 2006. Cabe destacar que no se obtuvo la DDR del cloruro, razón por la cual no se pudo establecer comparación alguna con este anión.

VII- RECOMENDACIONES

Una vez finalizado la presente monografía y a la luz de los resultados obtenidos consideramos oportuno realizar las siguientes recomendaciones:

1. Realizar la validación de los métodos optimizados para el análisis de cationes y aniones por Electroforesis Capilar, para cumplir con los estándares mínimos de calidad.
2. Ampliar la cantidad de parámetros físico – químicos y la cantidad de muestras de flor de Jamaica a ser analizadas, con lo cual se lograría una mayor perspectiva del comportamiento de estos en relación al tipo de suelo, zona de cultivo, condiciones de cultivo y cosecha, almacenaje, variedad, tratamiento de secado y condiciones ambientales, entre otros.
3. Establecer una coordinación con productores que operan en Nicaragua, con esta flor para realizar un estudio a mayor profundidad.
4. Realizar un estudio exhaustivo de los componentes de la materia de los ácidos grasos que contiene la flor y semillas de flor de Jamaica

VIII- BIBLIOGRAFÍA

1. Catálogo Ultra de la empresa Deshidratadora Nacional de Alimentos, S.A. de C.V. DNA, <http://www.cosmos.com.mx/ultra/1358/>
2. Carvajal O., Waliszewski S. y Infanzón R.M. “Los usos y maravillas de la jamaica” <http://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol19num2/articulos/jamaica/index.html>
3. Macarena Izaurieta S.J. “ANÁLISIS PROXIMAL EN HARINAS DE PESCADO” Departamento de Ciencias de los Alimentos y Tecnología Química Facultad de Ciencias Química y Farmacéuticas Universidad de Chile, <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB482S/AB482S12.htm>
4. Gerardo, Alimentos, <http://www.monografias.com/trabajos/alimentos/alimentos.shtml>, Centro de tesis 1997, Lunes 12/11/07
5. Ing. Zoot Tabaré Bassi, Cátedra de manejo de pasturas, <http://mejorpasto.com.ar/UNLZ/2004/TX4.htm>, España, Zamora, Lunes 12/11/07.
6. Vargas C. Control de calidad para alimentos balanceados para animales, <http://www.sian.info.ve/porcinos/congresos/XI Congreso/cesar.htm>
7. Santana O., Las Plantas y las Grasas, <http://www.jardinactual.com/articuloshtm2.php?articulo=297>
8. La esquina de las flores, Principales nutrientes, http://www.esquinadelasflores.com.ar/i_nutri_06.htm
9. Rony Tejos M. Pastos nativos, Caracterización y Manejo, http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/pastos_nativos/capitulo7.pdf
10. Asociacio Bonsái Llevant, Nutrientes: <http://www.bonsaillevant.org/nutrientes.htm>.
11. Fertilizantes líquidos, Wikipedia, [http://es.wikipedia.org/wiki/Fertilizantes_líquidos](http://es.wikipedia.org/wiki/Fertilizantes_l%C3%BAquidos)
12. Importancia de los macroelementos N,P,K, <http://www.forosmarihuana.org/foro+marihuana/viewtopic.php?p=280&sid=a02cb96bd7f03983f2c8f5bddcb7fcc4>
13. Fertilidad del Suelo, <http://ar.geocities.com/agrotecnica1/page21.html>
14. Moyeja Santana J. J., NUTRICIÓN VEGETAL (III), http://www.saber.ula.ve/db/ssaber/Edocs/pubelectronicas/boletin_divulgativo/num60ano30/articulo4.pdf
15. La esquina de las flores. Principales Nutrientes http://www.esquinadelasflores.com.ar/i_nutri_05.htm
16. HP ^{3D}Capillary Electrophoresis System, Application compendium. Hewlett Packard. Editado por Gordón Ross y María Serwe. Germany. Pág., 94 y 98.
17. Quimiometría. Guillermo Ramis Ramos, María Celia García Álvarez-Coque. Editorial síntesis, S.A. Vallehermoso, Madrid.
18. Carvajal O., Waliszewski S. y Infanzón R.M. “Los usos y maravillas de la jamaica” <http://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol19num2/articulos/jamaica/index.html>

19. Jamaica,
<http://www.sdr.gob.mx/beta1/contenidos/CadenasAgropecuarias/docs/981148.235.138.1327-07-2007JAMAICA.pdf>
20. Hibisco Agricultura Orgánica en el Trópico y Subtrópico, Asociación Naturland - 1ª edición 2000,
http://www.naturland.de/fileadmin/MDB/documents/Publication/Espanol/hibisco_2005.pdf
21. Morton, J., Roselle, Fruits of warm climates 1987,
<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/roselle.html>
22. Comité Estatal de Sanidad de Puebla. Recomendaciones para el Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades en Jamaica. México 2005. Consultado 9 de noviembre de 2006
<http://www.cesavep.org/OPF-RE-05.pdf>
23. Maricely Linarte, El Nuevo Diario, Edición 9277 (13/06/2006) Managua, Nicaragua “Promueven cultivo de Rosa de Jamaica en Masaya”
<http://impreso.elnuevodiario.com.ni/2006/06/13/departamentales/21634> Consultado 9 de noviembre de 2006
24. Trinchera de la noticia edición digital (16/05/2005). Managua, Nicaragua. “Variedad de Rosa de Jamaica calificada para mercados EE.UU.”
http://www.trinchera.com.ni/cronologico/2005/mayo/mayo_16/nacionales.html
Consultado el 10 de marzo de 2006.
25. Servicio de Información Mesoamericano sobre Agricultura Sostenible, Flor de Jamaica lista para el mercado del té. Managua, Nicaragua, 16 de mayo de 2005.
<http://www.simas.org.ni/noticia.php?idnoticia=1584> Consultado el 10 de marzo de 2006
26. Servicio de Información Mesoamericano sobre Agricultura Sostenible, Rosa de Jamaica crece en Los Pueblos, Managua, Nicaragua, 14 de junio de 2006.
<http://www.simas.org.ni/noticia.php?idnoticia=2963> Consultado el 10 de marzo de 2006

IX- ANEXOS

Tabla IX.1 Replicas del Porcentaje de Humedad en Muestras

Replica	Año de Recolección	
	2006	2007
1	11.1059	3.5209
2	11.1069	3.5229
3	11.1039	3.5229

Tabla IX.2 Replicas del Porcentaje de Ceniza en Muestras

Replica	Año de Recolección	
	2006	2007
1	12.2255	13.9463
2	12.2135	13.9303
3	12.2015	13.9423

Tabla IX.3 Replicas del Porcentaje de Fibra Bruta en Muestras

Replica	Año de Recolección	
	2006	2007
1	14.9671	14.0203
2	15.0234	13.9540
3	14.9953	13.9872

Tabla IX.4 Replicas del Porcentaje de Proteína Cruda en Muestras

Replica	Año de Recolección	
	2006	2007
1	4.9510	7.0270
2	5.0120	6.9820
3	4.9815	7.0045

Tabla IX.5 Replicas del Porcentaje de Grasa Bruta en Muestras

Replica	Año de Recolección	
	2006	2007
1	0.3281	0.7533
2	0.3549	0.7298
3	0.3573	0.7062

Tabla IX.6 Replicas del Porcentaje de Carbohidratos en Muestras

Replica	Año de Recolección	
	2006	2007
1	56.4224	60.7321
2	56.2893	60.8810
3	56.3605	60.8369

Tabla IX.7 Absorbancia (Abs) de Estándar de Hierro (Fe) a distintas concentraciones

Concentración de Fe (ppm)	Absorbancia
0.00	0.028
0.00	0.028
0.00	0.027
0.25	0.077
0.25	0.078
0.25	0.077
0.50	0.126
0.50	0.127
0.50	0.129
1.00	0.226
1.00	0.226
1.00	0.227
1.50	0.320
1.50	0.321
1.50	0.320

Tabla IX.8 Replicas del Porcentaje de Hierro en Muestras

Replica	Año de Recolección	
	2006	2007
1	0.241	0.273
2	0.240	0.272
3	0.241	0.273

Tabla IX.9 Absorbancia (Abs) de Estándar de Fósforo (P) a distintas concentraciones

Concentración de P (ppm)	Absorbancia
0.00	0.020
0.00	0.020
0.00	0.019
5.00	0.113
5.00	0.113
5.00	0.120
10.00	0.200
10.00	0.198
10.00	0.201
15.00	0.285
15.00	0.284
15.00	0.287
20.00	0.364
20.00	0.356
20.00	0.363
25.00	0.449
25.00	0.459
25.00	0.459

Tabla IX.10 Replicas del Porcentaje de Fósforo en Muestras

Replica	Año de Recolección	
	2006	2007
1	0.305	0.201
2	0.302	0.200
3	0.306	0.200

Tabla IX.11 Media de Áreas de Estándares de Cationes a distintas concentraciones

Catión	Concentración (ppm)	Área (mAU)
Potasio	100	1.30E-01
	130	1.71E-01
	160	2.13E-01
	190	2.57E-01
Sodio	1	3.47E-03
	2	4.62E-03
	5	1.13E-02
	8	1.98E-02
Calcio	100	2.02E-01
	130	2.65E-01
	160	2.21E-01
	190	3.90E-01
Magnesio	5	2.20E-02
	15	6.14E-02
	25	1.01E-01
	35	1.43E-01

Tabla IX.12 Duplicado del Porcentaje de Cationes en Muestras

Catión	Replica	Año de Recolección	
		2006	2007
Potasio	1	2.7969	3.1705
	2	2.7858	3.1237
Sodio	1	0.0608	0.1060
	2	0.0609	0.1062
Calcio	1	2.1311	2.6421
	2	2.1235	2.6192
Magnesio	1	0.3017	0.2507
	2	0.3062	0.2478

Tabla IX.13 Media de Alturas de Estándares de Aniones a distintas concentraciones

Aniones	Concentración (ppm)	Altura (mAU)
Bromuro	10	2.129
	30	2.671
	50	3.396
Cloruro	10	3.971
	30	5.308
	50	6.397
Sulfato	10	4.154
	30	5.269
	50	6.455
Nitrito	10	3.411
	30	4.464
	50	5.685
Nitrato	10	4.034
	30	5.281
	50	6.734
Fluoruro	1.5	0.729
	3.0	1.018
	4.5	1.377
Fosfato	10	3.063
	30	3.450
	50	3.834

Tabla IX.14 Duplicado del Porcentaje de Aniones en Muestras

Anión	Replica	Año de Recolección	
		2006	2007
Cloruro	1	0.4868	0.9338
	2	0.4604	0.9216
Sulfato	1	0.7912	1.0909
	2	0.7793	1.0816
Fluoruro	1	0.0316	0.0262
	2	0.0299	0.0261
Fosfato	1	0.3714	0.8548
	2	0.3611	0.8484



“A LA LIBERTAD POR LA UNIVERSIDAD”