

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

Determinación de calcio, hierro, sodio y potasio en cinco variedades de fréjol: canario, bayo, blanco, rojo y negro, por espectrofotometría de absorción atómica de llama.

Disertación previa a la obtención del título de Licenciada en Ciencias Químicas con
mención en Química Analítica

ELIZABETH PATRICIA PAVÓN UNDA

Quito, 2014

CERTIFICACIÓN

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas, con mención en Química Analítica, de la candidata Elizabeth Patricia Pavón Unda ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Fecha:

Dr. Ramiro Gallegos

DEDICATORIA

Fruto de lo que soy y de lo que llegaré a ser, se debe a lo que ustedes han forjado en mí. Su apoyo, compañía y amor me han permitido culminar una etapa más en mi vida.

Dedico principalmente este trabajo a mi familia: Juan, Patricia, Omar, Fifi, Mishel y al amor de mi vida: Andrés...

A mi padre que siempre me ha guiado en el sendero de la vida, educación, aquel sabio que me ha acogido y me ha apoyado en este largo camino.

A mi madre que es sinónimo de fortaleza y emprendimiento, aquella persona que me escucha y me alienta.

A mi hermano que está presente con sus ocurrencias y me ha ayudado intelectualmente a lo largo de la carrera universitaria.

A mi hermana mayor que es un ejemplo a seguir, tenaz, decidida y amorosa.

A mi hermana menor que con su dulzura alegra nuestros días.

Y al amor, a Andrés Frozen Andrade, que ha estado en los momentos más duros y se ha ganado mi corazón por completo.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco principalmente a mi familia por ser el pilar fundamental en mi vida, aquellos que me han soportado, me han apoyado y me aman incondicionalmente. Les agradezco porque ustedes me han permitido culminar mi profesión y nunca dudaron de mis capacidades.

A Andrés Andrade, amor de mi vida, por llegar y cambiarlo todo, por ser motivación y apoyo en todo momento, por estar en las derrotas y alegrías, por ser sincero, por ser lo más bello. A mis amigas más allegadas: Geova, Adri y Paolita, quienes siempre han estado pendientes de mí. A mi amigo cercano Diego por apoyarme y alentarme a seguir adelante. A mis compañeras de universidad: Vale, Pame y Jess que estuvieron presentes en los desvelos y tras noches a lo largo de la carrera.

A todos mis profesores, en especial al Dr. Ramiro Gallegos, quien siempre impartió sus conocimientos de una manera concreta y concisa, además de ser muy paciente conmigo durante toda la realización de esta disertación.

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por proporcionar los medios necesarios para la realización de esta disertación.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue realizar la determinación de calcio, hierro, sodio y potasio en cinco variedades de fréjol: canario, bayo, blanco, rojo y negro, mediante espectrofotometría de absorción atómica de llama. Se realizó un muestreo aleatorio en cinco lugares diferentes de la ciudad de Quito: supermercados y mercados populares. En todos los parámetros analizados se utilizó únicamente fréjol de grano seco. Se inició con la homogeneización de las muestras utilizando un molino, seguido de la digestión en microondas. Para los parámetros estudiados se utilizaron los métodos descritos en la 18^a edición de *Official Methods of Analysis of AOAC International (Association Of Official Analytical Chemists)*. Se determinó el contenido de humedad utilizando el método oficial 32.1.03, la determinación de hierro se realizó usando el método 999.10, mientras que, para la determinación de calcio, potasio y sodio se usó el método 985.35. Se evaluaron los resultados experimentales obtenidos utilizando las siguientes herramientas estadísticas: media, desviación estándar, prueba t de Student, análisis de varianza y prueba de Tukey. Los resultados experimentales para las cinco variedades de fréjol variaron de acuerdo a los siguientes rangos: 11,70-12,60 % corresponde al porcentaje de humedad; 69,94-122,89 mg/100g correspondiente a la concentración de calcio; 4,61-5,34 mg/100g de hierro; 8,36-12,77 mg/100g de sodio y 1192,62-1239,13 mg/100g de potasio. Mediante la prueba t, se compararon únicamente los resultados obtenidos del porcentaje de humedad, la concentración de calcio y hierro para las variedades de fréjol canario, bayo, blanco y rojo, los cuales presentaron diferencias estadísticamente significativas con los datos proporcionados por la tabla de composición de los alimentos ecuatorianos. En lo que se refiere al análisis de varianza entre variedades se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el porcentaje de humedad, la concentración de calcio y hierro entre las

variedades estudiadas. Utilizando la prueba Tukey se demostró específicamente las variedades que difieren entre sí: para el porcentaje de humedad el fréjol blanco difiere del fréjol bayo y rojo; para la concentración de calcio el fréjol blanco difiere del fréjol canario, bayo y negro, además el fréjol negro difiere con todas las variedades estudiadas; y finalmente para la concentración de hierro el fréjol blanco difiere con el fréjol negro. Para el análisis de varianza entre muestras se determinó que al menos una muestra difiere estadísticamente de las demás con un 95 % de confianza para el porcentaje de humedad, la concentración de calcio, hierro, sodio y potasio, a excepción de la concentración de potasio del fréjol negro, el cual no presenta diferencias significativas. En conclusión, se encontró que todos los parámetros analizados de todas las variedades, difieren estadísticamente entre sí, y al mismo tiempo, que dentro de la misma variedad, se encuentran diferencias significativas entre las cinco muestras analizadas, demostrando que la variedad y la muestra son factores que afectan los valores nutricionales del fréjol. Además con los resultados obtenidos se observó que el fréjol blanco tiene mayor contenido de humedad, mientras que, el fréjol negro es la variedad que contiene mayor concentración de minerales. En consecuencia a que los resultados experimentales presentaron diferencias significativas con los datos de la composición de los alimentos ecuatorianos, se comprobó que es necesaria su actualización.

ABSTRACT

The purpose of this research was to perform the minerals concentration of calcium, iron, sodium and potassium in the canario, bayo, white, red, and black by absorption spectrophotometry flame. It was carried out an aleatory sample taking in five different places in Quito: in popular markets and supermarkets. In all analyzed parameters used only bean dry grain. Started with the homogenization of the samples of using a mill, then of the microwave digestion. For the studied parameters were used the methods that described in the Official Methods of Analysis of AOAC International (*Association of Official Analytical Chemists*) 18th edition methods. The humidity content was determined using the official method 32.1.03, the iron determination was performed using the method 999.10 while that, for the calcium, potassium and sodium was used 985.35 method. Experimental results were evaluated using the following statistics tools: arithmetic mean, standard deviation, Student's t test, analysis of variance, and Tukey test. The experimental results for the five varieties bean according to the following ranges 11,70-12,60 % corresponds to humidity percentage 69,94-122,89 mg corresponding to calico concentration 4,61-5,34 mg/100g of iron; 8,36-12,77 mg/100g of sodium and 1192,62-1239,13 mg/100g of potassium. With the Student t test was comparing only got results of the humidity percentage, calcium and iron concentration for the variables of canario, bayo, white and red beans, which showed statistics significant differences with the data provided to the composition table of ecuatorian food. Analysis of variance between varieties found statistically significant differences in humidity percentage. The concentration of calcium and iron varieties studied, using turkey test show varieties that differ, for the humidity percentage the white bean differs to bayo and red bean for the concentration of calcium, white bean differ to canario bean, bayo and black, at that the black bean differ with all

studied varieties, finally for the iron concentration, white bean differ with the black bean, for the variance analysis between samples were determined that at least one sample statistically differ with the another one with 95 % of confidence for the humidity percentage, calcium percentage, iron, sodium and potassium with the exception of the potassium concentration of black bean, which no doesn't show meaning differences. To conclude, found that all analyzed parameters to all varieties, differ statistically each other at the same time, that inside the same varieties, significant differences were found between the five samples that have been analyzed, showing that the variety and the sample are factors that affects to nutritional values of bean. Further with the results that we got we could see that the white bean have higher humidity content, while , black bean is which more minerals concentration go, accordingly that experimental results presented significates differences with data of the Ecuadorian food composition, could verify that your update is required.

INTRODUCCIÓN

El fréjol ha formado parte del consumo humano directo a lo largo de la historia e incluso actualmente forma parte fundamental de la alimentación y nutrición mundial. Es uno de los alimentos más consumidos no solo por su rico sabor, sino por el grado de nutrientes proteicos y calóricos que aporta, además de su bajo costo comparado con proteínas de origen animal. Según la Food and Agriculture Organization (FAO), esta leguminosa ocupa el octavo lugar entre las leguminosas sembradas en el planeta, y por ende es una de las de mayor consumo [1].

El fréjol es altamente consumido en países latinoamericanos como Cuba, México, Costa Rica, Guatemala, Panamá, Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, Brasil, y muy apetecido en Europa, Estados Unidos y Japón. Su gran adaptabilidad y crecimiento en todo tipo de suelo [1], en diferentes climas, especialmente en los elevados, húmedos y fríos son responsables de que esta gramínea haya trascendido de tal manera en el planeta [2]. Se han hallado restos arqueológicos de cultivos de fréjol desde el norte de México hasta Argentina; incluso se han encontrado variedades de fréjol en Perú que datan de hace 10000 años [3].

Para la población ecuatoriana el fréjol constituye una de las principales fuentes de proteína y carbohidrato [4]. Su consumo se efectúa tanto en fresco (grano seco y verde), como en enlatados [1]. Con estos antecedentes, resulta de suma importancia el estudio

exhaustivo de sus componentes, siendo una de las leguminosas más consumidas en el país.

Las tablas de composición nutricional muestran detalladamente los macro y micronutrientes de los cuales están conformados los alimentos y su cantidad. La tabla de composición de los alimentos ecuatorianos fue realizada en 1965 [5], teniendo en cuenta que en el transcurso de aproximadamente 50 años la composición de los alimentos y la vida cotidiana ha variado, es indispensable su actualización.

Tener en el país tablas de composición nutricional actualizadas otorga al consumidor el conocimiento exacto de los nutrientes que contiene cada alimento, lo que consecuentemente permite establecer una dieta adecuada de acuerdo a los requerimientos de cada individuo, mejorando de esta manera la salud individual y por tanto la salud colectiva.

Ya que los minerales afectan directamente a la nutrición y consecuentemente a la salud, esta disertación determinó la concentración de calcio, hierro, sodio y potasio en cinco variedades de fréjol: canario, bayo, blanco, rojo y negro mediante espectrofotometría de absorción atómica de llama. Para lo que se usó como preparación de la muestra la digestión por microondas, al ser una técnica rápida, eficiente, en la que existe menor pérdida de analitos y menor consumo de reactivos.

Teniendo en cuenta que en la Escuela de Ciencias Químicas se llevó a cabo el estudio del análisis proximal de esta leguminosa, el estudio de minerales permite completar la información nutricional para conocer exactamente la variabilidad de sus componentes, los cuales se ven afectados por factores ambientales, prácticas agrícolas, genética, suelo, uso de fertilizantes, plaguicidas, agua, etc.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 QUÍMICA DE LOS ALIMENTOS

Según el Código Alimentario Español un alimento es: “toda aquella sustancia o producto de cualquier naturaleza, sólido o líquido, natural o transformado, que por sus características, aplicaciones, componentes, preparación y estado de conservación se utiliza para la nutrición humana”. Mientras que, la alimentación es el proceso de elección, preparación e ingesta de los alimentos; el cual es un proceso voluntario y consciente [6].

Los nutrientes son sustancias químicas, contenidas en los alimentos, que el organismo necesita para realizar las funciones vitales. El proceso por el cual el organismo extrae estos nutrientes se denomina nutrición. La cual a su vez involucra una serie de procesos fisiológicos que permiten al organismo aprovechar las sustancias contenidas en los alimentos, para incorporarlas a sus propios órganos y tejidos. Estos procesos fisiológicos son involuntarios y comienzan por la digestión, seguido de la absorción y el transporte, lo que permite que los nutrientes lleguen hasta los órganos y tejidos para su posterior aprovechamiento [6].

Los alimentos están compuestos por macro y micronutrientes, dentro de los macronutrientes se encuentran las proteínas, lípidos y carbohidratos, mientras que, los micronutrientes están constituidos por minerales y vitaminas. Dependiendo de los componentes químicos, los alimentos presentan diversas características y consecuentemente una amplia gama de funciones que influyen directamente en la salud humana.

La cuantificación de estos componentes se realiza con el objetivo de identificar y determinar las características químicas de los principios de los productos alimenticios, los cuales afectan directamente a la salud humana. En consecuencia, los estudios de la relación entre la alimentación y la salud han hecho que aumente el interés por el análisis de los componentes biológicamente activos, aditivos y contaminantes [7].

El conocimiento específico de cuáles son los requerimientos del organismo hará que la alimentación sea una herramienta fundamental para mejorar el rendimiento físico e intelectual. Al determinar los componentes de los alimentos se puede desarrollar una dieta balanceada que aporte todos los nutrientes para satisfacer las necesidades del ser humano [8]. Aunque hay que tener en cuenta que la selección de la calidad de los alimentos dependerá de factores educacionales, económicos y socioculturales, lo cual afectará directamente a la nutrición [6].

1.2 TABLA DE COMPOSICIÓN DE LOS ALIMENTOS

Las tablas de composición de los alimentos engloban datos cualitativos y cuantitativos de los macro y micronutrientes que componen un alimento. El conocimiento de los nutrientes que conforman a los alimentos permite establecer una dieta que cumpla con todos los requerimientos de cada individuo, tomando en cuenta sus hábitos y actividades diarias.

Existe consenso en los expertos en nutrición y alimentación acerca de la importancia de tomar en cuenta la región en que el alimento se produce, cuando se informa sobre la composición química de los alimentos [9]. Ya que los productos cosechados dependerán del clima, altitud, suelo y condiciones en lo que se los cultiva. Esto hace que la ingesta, y por tanto, la dieta varíe según el lugar en donde el individuo vive.

Consecuentemente las tablas de composición de los alimentos deberían ser diferentes en cada país. Ya que si se utilizan tablas extranjeras, se hace difícil comparar alimentos que pueden parecer similares, pero que en realidad son diferentes; o puede suceder que simplemente la tabla no incluya el alimento de interés [10].

Este tema ha adquirido relevancia, especialmente cuando se trata de la composición de microminerales en un alimento. En efecto, la concentración específica de estos nutrientes depende en gran parte de la concentración de microminerales del suelo en que

se ha cultivado o producido el alimento. Por ello, resulta imprescindible identificar el origen regional de los alimentos consumidos por la población y especificar el valor correspondiente de cada componente. Además, contar con estudios de composición química de especies comestibles tradicionales incentiva a promover el consumo nacional y la exportación de tales productos como una fuente potencial de divisas [9].

La composición química de los alimentos consumidos en un país experimenta cambios a lo largo del tiempo. Esto se debe a los avances en el desarrollo genético de nuevas variedades de alimentos y a los nuevos procesos tecnológicos que se aplican en la elaboración de los productos alimentarios. Estas consideraciones apoyan la necesidad de ir modificando la información de la composición química y no sólo adicionar la nueva información a la ya existente [9]. Además las tablas de composición de los alimentos sólo permanecen vigentes durante un período de tiempo, porque se introducen nuevos productos, otros desaparecen, o cambian los hábitos alimenticios [10].

Tomando en cuenta todas las ventajas que acarrea tener una tabla nacional de composición química de los alimentos y sabiendo que las condiciones de cultivo han variado a través del tiempo desde la última tabla realizada en el país, resulta obligatorio actualizarla con los datos de los alimentos consumidos actualmente y su composición.

1.3 HUMEDAD

Todos los alimentos, incluyendo los deshidratados, contienen cierta cantidad de agua. El agua influye en todo tipo de alimentos: sean estos deshidratados, rehidratados o congelados; por lo que, es de suma importancia conocer las propiedades físicas y químicas del agua, ya que muchas transformaciones positivas y negativas están relacionadas directamente con ella. El agua es un factor determinante en la inhibición y propagación de las diferentes reacciones que pueden aumentar o disminuir la calidad nutritiva y sensorial de los alimentos. El agua no tiene un valor energético porque no sufre cambios químicos durante su consumo, es por esto que en ocasiones no se considera un nutriente; sin embargo, sin ella no podrían llevarse a cabo las reacciones bioquímicas propias de la vida [8].

Para el análisis de alimentos resulta de suma importancia estudiar la presencia de agua, ya que esto afecta directamente las características del producto, variando aspectos como la apariencia, textura y consecuentemente la calidad.

El análisis de humedad cuantifica la cantidad de agua que posee un alimento, es un método gravimétrico en el cual se pesa la muestra húmeda y se la somete a una determinada temperatura durante un tiempo específico, para después pesarla una vez seca. Con estos datos también se puede determinar la cantidad de materia seca, restando del peso total de la muestra el contenido de agua o humedad.

Controlar el contenido de humedad en los alimentos permite evitar el desarrollo de microorganismos o afectaciones en la textura, además es motivo para que cambie la aceptación de un alimento. Incluso, el control y el ajuste del contenido de humedad se utiliza como técnica de conservación, ya que éste afecta la estabilidad del alimento [10].

La determinación de humedad en granos es el factor de mayor importancia en la prevención del deterioro de granos almacenados. El almacenar granos húmedos genera un ambiente propicio para el desarrollo de hongos y bacterias, los cuales en su proceso respiratorio incrementan la temperatura del granel y la pérdida de materia seca con la consecuente pérdida de calidad. Además, al aumentar la temperatura se genera un ambiente que permite el desarrollo de otros agentes indeseables, principalmente insectos, cuya actividad causa pérdidas económicas [11].

1.4 NUTRIENTES INORGÁNICOS

En la corteza terrestre se encuentran de modo natural noventa elementos químicos. Se sabe que veinte y cinco de ellos son esenciales para la vida, los cuales están presentes en las células. En consecuencia, se espera que los alimentos contengan estos elementos esenciales, al ser derivados de animales o vegetales vivos [12]. Un elemento es esencial para la vida si su eliminación en la dieta o en otra ruta de exposición a un organismo conduce a un deterioro constante y reproducible de una función fisiológica [13].

Los micronutrientes son sustancias imprescindibles para la vida, aunque sus necesidades se midan a veces en cantidades muy pequeñas (milésimas o millonésimas de gramo). A este grupo pertenecen los minerales y las vitaminas.

Los minerales se encuentran en los alimentos en concentraciones relativamente bajas. Dependiendo de la concentración en los alimentos, se clasifican en: mayoritarios, trazas y ultratrazas [12]. Los elementos mayoritarios están presentes en mayor proporción en los tejidos y deben consumirse en cantidades superiores a 100 mg por día, incluyen calcio, fósforo, magnesio, sodio, potasio y cloro. Mientras que, los elementos traza se requieren en cantidades menores a los 100 mg por día; los cuales incluyen al hierro, yodo, zinc, selenio, cobre, flúor, plomo y magnesio. Los elementos ultratrazas incluyen molibdeno, vanadio, níquel, cromo, cobalto, silicio, estaño, boro, antimonio, arsénico, bromo y litio. Aunque, conforme avanzan las investigaciones médicas, esta lista se va ampliando constantemente [14].

Dentro de los minerales existe un grupo que se requiere en cantidades inferiores al resto y es conocido como oligoelementos, por ejemplo el cobre, cromo, cobalto, magnesio y molibdeno. Son elementos que se deben digerir en cantidades mínimas al día, en algunos casos, menos de 1 mg. A menudo la cantidad diaria ingerida de este tipo de minerales se mide en microgramos. Los oligoelementos son esenciales para el ser humano. No se puede vivir sin ellos, al menos si la carencia se prolonga durante un largo tiempo. La presencia de estos minerales es imprescindible para que se lleven a cabo ciertas reacciones químicas esenciales en el organismo, y no pueden ser sustituidos

por otros elementos. Los oligoelementos desempeñan un papel importante en la producción de neurotransmisores, sustancias bioquímicas que envían mensajes a través del sistema nervioso, y en la formación de hormonas esenciales segregadas por las glándulas tiroideas y suprarrenales. Además, tienen la capacidad de quemar carbohidratos y grasas para obtener energía. Junto a otros nutrientes, los oligoelementos contribuyen al crecimiento, la reproducción y el mantenimiento del cuerpo en el transcurso de los años [15].

Los minerales suponen del 4 al 5% del peso corporal y son esenciales para una amplia gama de funciones metabólicas [6]. Son un caso especial de nutrientes porque se necesitan en muy bajas concentraciones; sin embargo, su presencia resulta vital para el adecuado funcionamiento del cuerpo humano. La función de los minerales es estructural y reguladora, por lo tanto, su deficiencia puede producir cambios en las reacciones metabólicas del organismo lo que genera severos daños en la salud humana [16].

1.4.1 CALCIO

El calcio conforma aproximadamente el 2% del peso total del cuerpo humano, lo que equivale de 1000 a 1500 g en un adulto, por lo que, es el mineral más abundante en el organismo. El calcio se encuentra distribuido mayoritariamente en la estructura ósea y en menos porcentaje en fluidos celulares y en el interior de los tejidos. Su adecuada

absorción se ve favorecida por la acción de la vitamina D, la lisina, la arginina, la lactosa y condiciones que tengan el pH ácido [8].

El calcio es indispensable para mantener en buen estado la masa ósea, permite realizar los movimientos de los músculos y durante la circulación de la sangre actúa sobre los vasos sanguíneos. Interviene en gran número de transformaciones y mecanismos, como la activación enzimática y la transmisión de impulsos nerviosos. Además ayuda a disminuir la tensión arterial y el colesterol, previniendo enfermedades cardiovasculares. Es necesario para la formación de coágulos sanguíneos y mantiene la piel en buen estado. Las bajas ingestas de calcio están relacionadas con diversas enfermedades crónicas como la osteoporosis, hipertensión y algunas formas de cáncer [6]. La osteoporosis es una de las enfermedades en las que se ha centrado la atención debido al déficit de calcio, ya que un gran porcentaje de la población la padece y otro tanto se encuentra en alto riesgo de que la desarrolle; la osteoporosis es causada por la pérdida de masa ósea, en la cual se genera un mayor riesgo de fracturas [12].

Los niveles adecuados de ingesta de calcio oscilan entre 210 mg/día para lactantes hasta 1300 mg/día para los adolescentes [12]. Según el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), un adulto promedio que consume aproximadamente 2000 calorías diarias, debería ingerir aproximadamente 1100 mg de calcio por día [17].

1.4.2 HIERRO

El hierro es el cuarto elemento más abundante en la corteza terrestre y es un nutriente esencial. El cuerpo humano contiene entre 2,5 a 4 g de hierro [12]. Está presente en los alimentos en dos formas: como Fe hemo presente en la res, pollo, pescado, y como Fe no-hemo o inorgánico presente en los granos, leguminosas y vegetales en general [8].

El hierro participa en el metabolismo o se almacena principalmente en el hígado, bazo y médula ósea. Además desempeña papeles clave en los sistemas biológicos, incluyendo el transporte de oxígeno a los tejidos mediante la hemoglobina y la mioglobina e interviene en la respiración y el metabolismo energético [12]. Es indispensable para oxidar la glucosa y convertirla en energía. El hierro sirve para activar el grupo de vitaminas B, estimula la inmunidad y la resistencia física, por lo que, resulta de suma importancia para los deportistas. Su deficiencia provoca anemia ferropénica, en la cual existe déficit de glóbulos rojos o se producen glóbulos rojos muy pequeños [6].

1.4.3 SODIO

El sodio es el sexto elemento más abundante en la corteza terrestre, formando parte de grandes depósitos subterráneos de cloruro de sodio. Es un metal alcalino (grupo IA de la

tabla periódica), capaz de ceder su electrón de valencia para formar cationes monovalentes. Se encuentra en la naturaleza en forma de sales [12]. El sodio está presente en fluidos extracelulares, huesos y en el interior de las células [18].

El sodio regula el reparto de agua al cuerpo, además, está implicado en la regulación de la presión sanguínea y en el transporte de numerosos nutrientes al interior de la célula. Junto al potasio y mediante el mecanismo de bomba sodio-potasio interviene en la transmisión de los impulsos nerviosos a los músculos y en la contracción muscular. Además el sodio se encarga del equilibrio ácido-base y la absorción de nutrientes por las membranas, ya que contribuye a mantener la presión osmótica durante el proceso digestivo [6]. Su deficiencia es rara, ya que la ingesta suele ser superior a los requerimientos. Una ingesta excesiva de sodio provoca infartos, hipertensión arterial y enfermedad coronaria [19].

La ingesta de sodio varía ampliamente en las poblaciones, oscilando aproximadamente entre 1,2 a 5,9 g/día [18]. Se recomienda que la ingesta mínima de sodio sea de 500 mg/día [12].

1.4.4 POTASIO

El potasio se clasifica como un metal alcalino (grupo IA de la tabla periódica), capaz de ceder su electrón de valencia para formar cationes monovalentes. Se encuentra en la

naturaleza en forma de sales, formando parte de minerales compuestos tales como la silvita y la carnalita [12]. El potasio regula el contenido de agua en las células y su movimiento, impidiendo que existan fugas. Además interviene en la construcción de proteínas, en el movimiento del miocardio y activa los sistemas enzimáticos. Junto al calcio y magnesio, contribuye en la regularización de todas las funciones celulares y en la excitabilidad del corazón, del sistema nervioso y de los músculos [19].

Su deficiencia es rara, ya que la ingesta suele ser superior a los requerimientos. Una dieta rica en potasio ayuda a mantener la presión arterial saludable y a evitar los calambres. La USDA recomienda que un adulto promedio consuma 4000 mg aproximadamente de potasio por día [17].

1.5 FRÉJOL

Al fréjol se lo conoce como alubias, caraotas, chícharos, fabas, fréjoles, frijoles, frijones, habichuelas, judías, pochas o porotos. Es la semilla comestible de una leguminosa del género *Phaseolus* [1]. La familia de las leguminosas pertenecen al grupo de las legumbres. Las leguminosas están conformadas de una vaina dentro de la cual se encuentran las semillas que en la mayoría de los casos son la parte útil del fruto, son ricas en aminoácidos esenciales y contienen entre el 20 y 30 % de proteínas [20].

Además de sus variados nutrientes, las leguminosas contienen otros compuestos como polifenoles, α -galactósidos e isoflavonas, los que previenen una serie de enfermedades, entre las cuales se encuentra el cáncer. La presencia de estos compuestos hace que las leguminosas tengan propiedades de alimentos funcionales, los cuales son alimentos que poseen beneficios extras aparte de su contenido nutricional [10].

1.5.1 CLASIFICACIÓN Y VARIEDADES ANALIZADAS

Según el modo de crecimiento el fréjol se clasifica en dos categorías: volubles o trepadores, y arbustivos o de mata. Entre los volubles se encuentran especies de fréjol de color rojo, bayo, amarillo o canario, de grano grande o pequeño. En el caso de los arbustivos se tienen especies de color blanco, negro, rojo moteado, rosa moteado y canario [10].

1.5.1.1 FRÉJOL BLANCO

El fréjol blanco tiene una textura delicada, lo que le otorga un sabor cremoso al ser cocido. Es rico en una proteína llamada faseolamina que inhibe la absorción de carbohidratos en aproximadamente 20 %, lo que reduce considerablemente las calorías ingeridas. Este fréjol aportan minerales como calcio, hierro, potasio, así como vitamina E y K [22].

1.5.1.2 FRÉJOL ROJO

El fréjol rojo es una fuente única de nutrientes, contiene una mezcla de fibra soluble que contribuye a la buena función gastrointestinal, ya que, pueden ser digeridos muy lentamente. Además controla los niveles de colesterol y es una elección saludable para diabéticos o personas que busques estabilizar los niveles de azúcar en la sangre. Los investigadores del departamento de agricultura de Estados Unidos han demostrado que los fréjoles rojos tienen una de las más altas concentraciones de antioxidantes que cualquiera de otros alimentos. Los antioxidantes son necesarios para proteger las células de los efectos perjudiciales de los radicales libres, que a su vez puede reducir el riesgo de cáncer, enfermedades del corazón y otras enfermedades [21].

1.5.1.3 FRÉJOL CANARIO

El fréjol canario es un grano de color amarillo azufrado, de suave textura y sabor agradable. Es rico en proteínas, carbohidratos, fibra, minerales y vitaminas.

1.5.1.4 FRÉJOL NEGRO

El fréjol negro es un grano de tamaño regular y ovalado. Proporciona vitaminas y minerales, antioxidantes y ácidos grasos omega, los cuales reducen la presión arterial y

mejoran la función cerebral y la piel. En América Latina son muy consumidos, especialmente en Cuba.

1.5.1.5 FRÉJOL BAYO

Este tipo de fréjol se muestra como un grano grande ovalado, aplanado y de color beige crema, blanco, o café claro. Debido a su suave textura y su sabor agradable, es un fréjol muy demandado.



Figura 1.1. Imágenes de las variedades de fréjol analizadas (blanco, rojo, canario, negro y bayo) [23]

1.5.2 COMPOSICIÓN NUTRITIVA DEL FRÉJOL

La composición nutritiva de los fréjoles incluye un alto contenido de proteínas y fibra, además de ser una gran fuente de minerales. Los minerales presentes en el fréjol son: zinc, hierro, cobre, fósforo, potasio, sodio, magnesio y calcio. Las ventajas de consumir fréjol son su capacidad de satisfacer el apetito sin brindar al cuerpo una gran cantidad de calorías, además de la elevada cantidad de folatos que presenta y el contenido equilibrado en vitaminas del grupo B.

Tabla 1.1. Contenido nutricional del fréjol por cada 100 gramos [25]

Valor energético	332 cal	Calcio	228 mg
Fibra	4,3 g	Fósforo	407 mg
Grasas	1,8 g	Hierro	5,5 mg
Proteínas	19,2 g	Sodio	24 mg
Carbohidratos	61,5 g	Potasio	1406 mg
Magnesio	140 mg	Zinc	2,79 mg

1.5.3 CONSUMO DEL FRÉJOL EN EL ECUADOR

En el Ecuador se prefieren los fréjoles de semilla grande y redonda conocidos como bolones. Los fréjoles más apetecidos son los de colores claros, destacándose el fréjol canario (color amarillo azufrado), seguido del bayo (color crema) y finalmente el blanco; en la mayoría de los casos los ecuatorianos consumen el fréjol en forma de menestras [10].

Debido a la creciente demanda del mercado colombiano, el fréjol rojo ha tomado mucha importancia inclusive en la alimentación ecuatoriana; se lo consume en forma de menestra y cuando está tierno en ensaladas [1]. De igual manera el fréjol negro se ha introducido en el país por el potencial alimenticio e industrial que tiene, ya que junto con el fréjol rojo, se expenden principalmente como enlatados. En Ecuador, el fréjol se cultiva tanto en la Sierra, como en la Costa y escasamente en la Amazonía. Cabe resaltar que cerca del 90 % del área cultivada en el país se encuentra en la Sierra; sector en donde se cultiva aproximadamente más del 80 % junto con el maíz [10].

1.5.4 VENTAJAS DE CONSUMIR FRÉJOL

La diabetes se caracteriza por presentar altos niveles de glucosa en la sangre, resultado de una defectuosa segregación y/o la acción de la insulina. El fréjol es una leguminosa

con bajo índice glicémico, ya que contiene carbohidratos complejos, incluidos la fibra y el almidón, los cuales son resistentes a la digestión [25]. El índice glicémico presente en el fréjol es particularmente benéfico para personas diabéticas.

El consumo de fréjol ayuda a disminuir el colesterol LDL, responsable de causar algunas enfermedades del corazón, ya que contiene mucha fibra soluble. El fréjol es un alimento con alto contenido de hierro; por lo que, su consumo ayuda a combatir enfermedades como la anemia. El consumo de fréjol disminuye la ansiedad de comer; por lo tanto, contribuye a no aumentar de peso [26].

Según estudios epidemiológicos se ha encontrado que grupos humanos que consumen fréjol presentan menor mortalidad por cáncer de próstata y de mama. Además reduce el riesgo de cáncer de colon, hasta en un 50 %. Esta capacidad se atribuye a componentes como la fibra, ácido fólico, isoflavonas, lecitina, ácido fítico, etc.

1.6 ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA DE LLAMA

Los principios teóricos de la absorción atómica fueron establecidos en 1840 por Kirchhoff y Bunsen en sus estudios del fenómeno de autoabsorción en el espectro de los metales alcalinos y alcalino térreos. La base de la espectrofotometría de absorción atómica (EAA) la planteó Kirchhoff al formular su ley general: “cualquier materia que

pueda emitir luz a una cierta longitud de onda también absorberá luz a esa longitud de onda”. El significado práctico de esto fue recién desarrollado en 1955 por el australiano Walsh, apareciendo los primeros instrumentos comerciales a principios de 1960 [27].

El átomo está constituido por un núcleo, de un número determinado de electrones que llenan ciertos niveles de energía. La configuración electrónica más estable de un átomo corresponde al estado fundamental. Si un átomo en este estado absorbe una determinada energía, éste experimenta una transición hacia un estado particular de mayor energía (estado excitado). Como este estado es inestable, el átomo regresa a su configuración inicial, emitiendo una radiación de una determinada frecuencia. La radiación emitida al regresar desde el estado excitado al estado fundamental, ocurrirá a una longitud de onda específica para cada elemento, conocida como longitud de onda de resonancia [27].

La frecuencia de la energía radiante emitida corresponde a la diferencia de energía entre el estado excitado (E_1) y el estado fundamental (E_0) como se encuentra descrito en la ecuación de Planck:

$$E = E_1 - E_0 = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (1.1)$$

Donde:

h = constante de Planck

ν = frecuencia

c = velocidad de la luz

λ = longitud de onda

En absorción atómica interesa medir la absorción de esta radiación de resonancia al hacerla pasar a través de un conjunto de átomos libres en estado fundamental. Los cuales, absorberán parte de la radiación en forma proporcional a su concentración atómica.

1.6.1 LEY DE LAMBERT-BEER

La relación entre absorción y concentración se encuentra definida en la Ley de Lambert-Beer. La ley explica que existe una relación exponencial entre la transmisión de luz a través de una sustancia y la concentración de la misma.

Para los análisis en absorción atómica se realizan dos mediciones de la cantidad de luz absorbida en las mismas condiciones (longitud de onda específica, elemento, etc.). En la primera se mide la cantidad de luz cuando se coloca un blanco, a la cual se denomina I_0 . Y la segunda medida es aquella procedente de las muestras o de los patrones de calibración, a la cual se denomina I [28].

La comparación que siempre se hace implica la relación entre la medida de las muestras o patrones, con la medida del blanco, conocida como transmitancia.

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (1.2)$$

Donde:

T = transmitancia

I = intensidad de la luz de la muestra o patrones

I₀ = intensidad de la luz del blanco

A partir de la ecuación 1.2, el porcentaje de la transmitancia se define como:

$$\% T = T \times 100 \quad (1.3)$$

El logaritmo negativo de la transmitancia, conocido como absorbancia (A), se define como:

$$A = -\log \frac{I}{I_0} = -\log T \quad (1.4)$$

La absorbancia de una muestra es proporcional a la concentración de la sustancia que absorbe la luz incidente. Experimentalmente, se muestra que:

$$A = a \times b \times C \quad (1.5)$$

Donde:

a = constante que es una propiedad de la sustancia por sí misma así como de la longitud de onda de medida

b = longitud de paso óptico a través de la cual la luz viaja hacia la muestra

C = concentración de la sustancia que absorbe la luz

Cuando las magnitudes de b son cm y de C son moles/L, las magnitudes de a serán L/mol.cm, en cuyo caso se le da el símbolo de ϵ . A ϵ se le denomina coeficiente de extinción molar o absorptividad molar y depende de la medida de la longitud de onda. En resumen, a estas magnitudes:

$$A = \epsilon \times b \times C \quad (1.6)$$

1.6.2 INSTRUMENTACIÓN

La espectrofotometría de absorción implica la medida de la fracción de luz de una longitud de onda dada que pasa a través de una muestra y permite detectar y determinar cuantitativamente átomos libres. Las llamas de combustión proporcionan un medio muy simple para convertir las soluciones de sustancias inorgánicas en átomos libres [29].

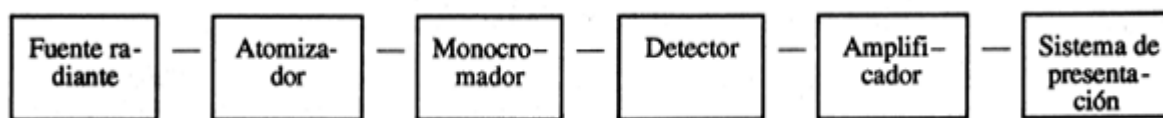


Figura 1.2. Componentes básicos de un equipo de absorción atómica [27]

Inicialmente la solución que contiene el analito es aspirada vía un nebulizador dentro de la llama donde se evapora el solvente y los sólidos remanentes se separan en átomos [27]. En la llama se generan los átomos libres de los elementos presentes, para formar moléculas monoatómicas estables que serán excitadas por el haz de luz de una longitud de onda específica. El paso de la luz a través de un monocromador o un filtro selecciona la longitud de onda para el análisis. Las moléculas excitadas serán detectadas y finalmente cuantificadas [28].

La muestra por sí sola no emite luz, por lo que se debe incluir una fuente de radiación como se muestra en la Figura 1.2. La más común para las mediciones de absorción atómica es la lámpara de cátodo hueco, que consiste en un cilindro relleno con un gas inerte dentro del cual se encuentra un cátodo (construido con el metal a analizar) y un ánodo. Al aplicar un cierto potencial a través de los electrodos esta fuente emite el espectro atómico del metal del cual está construido el cátodo [27].

Se puede utilizar atomizadores con y sin llama para producir átomos libres del metal en el haz de la radiación. El atomizador con llama está compuesto de un nebulizador y un

quemador. La solución de la muestra es convertida primero a un fino aerosol, y luego llevada a la llama que entrega la energía suficiente para evaporar el solvente y descomponer los compuestos químicos resultantes en átomos libres en su estado fundamental. Las mezclas de gases más usados para producir la llama adecuada son: aire/acetileno y óxido nitroso/acetileno. Generalmente, la elección dependerá de la temperatura requerida para la disociación de los compuestos y de las características químicas del elemento a determinar [27].

Los espectrofotómetros de absorción atómica poseen generalmente monocromadores de red con montaje de Littrow o de Czerny-Turner. Estos monocromadores permiten aislar una línea de resonancia del espectro emitido por la lámpara de cátodo hueco. Como detector, se emplea un fotomultiplicador que produce una corriente eléctrica, la cual es proporcional a la intensidad de la línea aislada por el monocromador. Un amplificador selectivo amplifica la señal pasando luego a un dispositivo de lectura que puede ser un voltímetro digital o un registrador u otros.

La absorción atómica es el método más empleado para la determinación de metales por su especificidad, sensibilidad y facilidad de operación. Probablemente es la técnica más ampliamente utilizada para el análisis de metales en alimentos debido a su simplicidad, alto rendimiento de muestras y el costo relativamente bajo de su instrumentación. Permite la determinación de la mayoría de los elementos traza en los alimentos en el rango de mg/kg con una precisión de 0,3-1 % (a absorbancias > 0,1-0,2) y una exactitud de aproximadamente 0,5-5 % [27].

1.6.3 INTERFERENCIAS

Aunque la absorción atómica de llama no es una técnica muy susceptible a los efectos de la matriz, pueden encontrarse interferencias. Existen tres tipos de interferencias, entre las cuales encontramos: físicas, de ionización y químicas.

Las interferencias físicas pueden ocurrir debido a cambios en la viscosidad de la solución, lo que influye en su velocidad de aspiración dentro de la llama y, por lo tanto, en la cantidad de analito en la llama. Los errores debido a interferencias físicas se pueden reducir mediante la compatibilización de la matriz [27].

Las interferencias de ionización se encuentran cuando el grado de ionización del analito en la llama es diferente para las muestras que para los estándares debido a que los átomos e iones no absorben en la misma línea espectral. Los elementos alcalinos y alcalinotérreos se ven especialmente afectados por esta interferencia. Las interferencias de ionización pueden ser reducidas al agregar un supresor de la ionización, el cual proporciona una alta concentración de electrones para suprimir la ionización del analito. Por ejemplo la adición de cesio para el análisis de sodio y potasio [27].

Las interferencias químicas son causadas a menudo por aniones que forman compuestos de baja volatilidad como por ejemplo óxidos refractarios (B, Al, Fe o V), fosfatos y sulfatos (Mg, Ca). En algunos casos, tales interferencias pueden eliminarse al agregar

un agente liberador que reacciona de preferencia con las especies que interfieren y evita su reacción con el analito. Por ejemplo, se puede agregar óxido de lantano como agente liberador en la determinación de calcio para reducir la interferencia del sulfato o fosfato. En casos donde no pueda eliminarse la interferencia, deberá emplearse la técnica de adición de estándar para obtener resultados exactos [27].

1.7 FUNDAMENTOS TEÓRICOS DE LA VALIDACIÓN

1.7.1 ESTADÍSTICA BÁSICA

La validación de un método analítico es un paso fundamental para asegurar que los resultados sean confiables, para lo que se utilizan fundamentos estadísticos que permiten determinar si el método es adecuado para los fines previstos [30]. Existen diversos estadísticos que permiten evaluar los resultados obtenidos, para ello se calcula por ejemplo: el promedio, desviación estándar, coeficiente de variación, etc.

1.7.1.1 PROMEDIO

El promedio o media se calcula para encontrar el valor representativo de un conjunto de datos. Se define por la siguiente fórmula:

$$\bar{x} = \frac{\sum_i^n x_i}{n} \quad (1.7)$$

Donde:

\bar{x} = Promedio

x_i = Valores de los resultados individuales

n = Tamaño de muestra

1.7.1.2 DESVIACIÓN ESTÁNDAR

La desviación estándar expresa el grado de distanciamiento que existe entre un conjunto de datos y su promedio. Además permite conocer la precisión de un análisis. Se define por la siguiente fórmula:

$$s = \sqrt{\sum_i^n \frac{(x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (1.8)$$

Donde:

s = Desviación estándar

x_i = Valor de cada resultado individual

\bar{x} = Media de los resultados

n = Tamaño de muestra

El valor obtenido en $n-1$ de la ecuación 1.8 indica los grados de libertad. El cuadrado de la desviación estándar es la varianza. La desviación estándar relativa o coeficiente de variación se expresa como porcentaje en relación al valor promedio y se expresa en la siguiente ecuación:

$$CV = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad (1.9)$$

Donde:

CV = Coeficiente de variación

s = Desviación estándar

\bar{x} = Promedio

1.7.1.3 LÍMITES DE CONFIANZA

Las pruebas de significación estadística se utilizan para comparar variables de distintas muestras. Lo que permite aceptar o rechazar la hipótesis nula (H_0), la cual afirma que no existen diferencias significativas entre las variables, trabajando con un intervalo de confianza determinado. Generalmente, y si no se establece lo contrario, se utilizará un intervalo de confianza del 95 %. Si se rechaza la hipótesis nula, se acepta la hipótesis

alterna (H_1), la cual demuestra que sí existen diferencias significativas dentro de este intervalo de confianza [30].

- **PRUEBA t**

La distribución t de Student determina con cierto nivel de confianza si hay diferencia significativa entre el valor teórico y el valor experimental. Se utiliza cuando el tamaño de la muestra es pequeño. Es una aproximación a la distribución Normal, ya que, toma en cuenta el número de observaciones en la muestra [30]. La fórmula es la siguiente:

$$t = \frac{|\bar{x} - \mu|}{s} \sqrt{n} \quad (1.10)$$

Donde:

t = Valor que será comparado con el tabulado en la distribución t de Student.

\bar{x} = Promedio de la muestra

μ = Valor teórico

s = Desviación estándar de la muestra

n = Tamaño de la muestra

El valor t calculado se compara con el valor $t_{\alpha, n-1}$ en la tabla de la distribución de Student con el nivel de significación $\alpha = 0.05$ (cuando el nivel de confianza es 95 %) con $n-1$ grados de libertad. Si el valor de t calculado es menor que el tabulado se acepta la hipótesis nula, de lo contrario se acepta la hipótesis alterna [30].

- **PRUEBA DE TUKEY**

La prueba HSD (Honestly Significant Difference por sus siglas en inglés) de Tukey se realiza después de obtener un análisis de varianza significativo. El ANOVA nos indica que al menos una de las medias difiere de las otras, pero no determina cual es exactamente; además, no se sabe el número de las medias que difieren o si son todas las que difieren entre sí. La prueba de Tukey realiza múltiples comparaciones entre los distintos pares de medias [30]. La fórmula para calcular la HSD es:

$$HSD = q * \sqrt{\frac{S_w^2}{b}} \quad (1.11)$$

Donde:

HSD = Diferencia Honestamente Significativa

q = Valor encontrado en la tabla de Tukey al 95 % de confianza según los grados de libertad correspondientes.

S_w^2 = Media de cuadrados dentro de los grupos

n = Número de repeticiones por grupo

Después de determinar la HSD se calcula la diferencia entre cada par de medias. Si esta última es mayor que la HSD, se considera que hay una diferencia significativa.

- **ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)**

El análisis de varianza es una herramienta estadística que permite comparar más de dos factores que intervienen en el análisis de una muestra para determinar si existen diferencias significativas. Además, permite determinar si las diferencias entre las medias muestrales revelan las verdaderas diferencias entre las poblaciones. Estas diferencias pueden ser causadas por factores controlables o por variaciones dentro del método [30].

Si se acepta la hipótesis nula, se concluirá que las diferencias entre las medias muestrales se deben a factores aleatorios, y por tanto, pertenecen a una misma población. Si se rechaza la hipótesis nula se observará que las diferencias entre los valores medios de la muestra son demasiado grandes como para deberse únicamente a factores aleatorios, por lo que, las muestras analizadas no provendrían de una misma población.

Para el estudio ANOVA se utiliza la varianza, que es la desviación estándar elevada al cuadrado y que por lo tanto, también nos indica la dispersión de los datos individuales con respecto al promedio.

Como se analizan dos factores, se tienen dos grupos de datos diferentes. Cada grupo posee un promedio, y por lo tanto, se puede calcular la varianza de cada dato con respecto a su promedio, la cual se conoce como varianza dentro de los grupos (DCM_W ó s^2_w). Cuando se consideran todos los datos dentro de un mismo grupo se tiene una media total (media grupal). Si este resultado se toma como un dato individual, se puede calcular la varianza con respecto a la media total. Esta es la varianza entre grupos (DCM_B ó s^2_b) [30].

Para determinar si la diferencia es significativa, se calcula el valor F de la distribución de Fisher, el cual se calcula a partir de la relación DCM_B/DCM_W . El valor calculado se compara con el valor proporcionado por la tabla de la distribución F al 95 % de confianza. Si el valor de F calculado es mayor al tabulado, la hipótesis nula se rechaza, comprobando que existen diferencias significativas entre las medias.

La Tabla 1.2. muestra todas las fórmulas utilizadas en el ANOVA:

Tabla 1.2. Fórmulas utilizadas en el análisis de varianza simple

VARIACIÓN	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	F
Entre grupos	$h - 1$	$SDC_B = n \sum_{i=1}^k (\bar{x}_i - \bar{x})^2$	$DCM_B = \frac{SDC_B}{h - 1}$	$\frac{DCM_B}{DCM_W}$
Dentro de los grupos o error	$h(n - 1)$	$SDC_W = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{ni} (x_{ij} - \bar{x}_i)^2$	$DCM_W = \frac{SDC_W}{n - 1}$	
Total	$hn - 1$	$SDC_T = SDC_B + SDC_W$		

Donde:

h = Número de grupos

n = Número de réplicas por grupo

x_{jk} = Valor de cada réplica

\bar{x}_j = Media de cada grupo

\bar{x} = Media total

1.7.1.4 ELEMENTOS DE LA ECUACIÓN

La ecuación de una línea recta viene dada por $y = a + bx$. En donde a es la ordenada al origen y b es la pendiente. El coeficiente de correlación indica el nivel de bondad del ajuste de la ecuación a partir de los datos obtenidos. En la Tabla 1.3 se presentan las fórmulas para calcular los elementos de la ecuación:

Tabla 1.3. Fórmulas utilizadas para calcular los elementos de la ecuación

Coefficiente de correlación	Pendiente	Ordenada al origen
$R = \frac{\sum[(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2 \sum(y_i - \bar{y})^2}}$	$b = \frac{\sum[(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sum(x_i - \bar{x})^2}$	$a = \bar{y} - b\bar{x}$

Donde:

x_i = Valor de x cada resultado individual

\bar{x} = Media de los resultados de x

y_i = Valor de y cada resultado individual

\bar{y} = Media de los resultados de y

1.7.1.5. ERROR ESTÁNDAR

El error estándar viene dado en la estimación de x, por las lecturas de y, por la pendiente o por la ordenada al origen. Este estadístico permite evaluar la linealidad de una ecuación.

La Tabla 1.4 muestra las fórmulas utilizadas para calcular el error estándar:

Tabla 1.4. Fórmulas utilizadas para calcular el error estándar

Estimación de x	$S_{x/y} = \frac{S_{y/x}}{b}$
Lecturas de y	$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \bar{y})^2}{n - 2}}$
Pendiente	$S_b = \frac{S_{y/x}}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2}}$
Ordenada al origen	$S_a = S_{y/x} \times \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{n \times \sum (x_i - \bar{x})^2}} = S_b \times \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{n}}$

Donde:

n = número de datos

1.7.2 VALIDACIÓN

Existen dos tipos de validaciones, las cuales incluyen: validación retrospectiva y validación prospectiva. En la validación retrospectiva se utilizan resultados experimentales que se disponen con anterioridad; mientras que, si es un método nuevo, se realiza una validación prospectiva, en la cual se generan datos experimentales a través de su análisis [30]. Para obtener los resultados necesarios de una validación se estudian los siguientes parámetros estadísticos.

1.7.2.1 SELECTIVIDAD

La selectividad es el grado en el que método permite cuantificar y cualificar específicamente al analito, a pesar de cualquier interferencia que podría existir. La prueba de selectividad consiste en analizar un mínimo de tres blancos, tres estándares y tres muestras. Los estándares a analizar deben ser de concentración conocida del analito de interés. Con los datos obtenidos se debe comparar las respuestas obtenidas para cada caso y determinar si existen diferencias significativas entre estándares y muestras con respecto exclusivamente al analito. Al encontrar algún tipo de diferencia, estas deberán ser eliminadas [30].

1.7.2.2 LINEALIDAD

La linealidad es la capacidad de un método, dentro de un determinado intervalo, de dar respuestas o resultados proporcionales a la cantidad de analito determinado en la muestra de estudio. Con fin de determinar el rango lineal se realizan gráficos de la concentración versus la respuesta, conocidos como curvas de calibración. Dicha curva se establece durante un número de días, utilizando blancos y estándares de concentración conocida (en general, se utiliza un mínimo de 4 estándares). Con los resultados obtenidos y al construir el gráfico se podrá observar el comportamiento de la curva y establecer cualitativamente el rango lineal, para finalmente establecer el comportamiento lineal del método de la curva de calibración [30].

1.7.2.3 PRECISIÓN

El grado de precisión está estrechamente relacionado con la imprecisión y se calcula como la desviación estándar de los resultados. La precisión podrá establecerse en términos de repetibilidad y reproducibilidad.

- **REPETIBILIDAD**

Es aquella precisión que se relaciona con el método que analiza parámetros en idénticas condiciones, en el mismo laboratorio, con el mismo analista, utilizando el mismo equipamiento dentro de intervalos cortos de tiempo.

- **REPRODUCIBILIDAD**

Es la precisión llevada a cabo con un método que analiza parámetros en condiciones diferentes (laboratorio, analista, equipo, etc).

1.7.2.4 SENSIBILIDAD

En una regresión lineal la sensibilidad corresponde a la pendiente de la recta de calibración. Cuando un método es sensible una pequeña variación de concentración genera una gran variación en la respuesta. La sensibilidad permite observar la capacidad

de respuesta instrumental frente a una determinada cantidad de analito, lo que permite a su vez estudiar el comportamiento de un instrumento en el tiempo [30].

1.7.2.5 LÍMITES

- **VALOR CRÍTICO**

También conocido como LC, se da cuando el valor de la concentración real del analito presente en el material analizado es mayor a la concentración del material testigo.

- **LÍMITE DE DETECCIÓN**

Conocido como LOD, se da cuando el valor de la concentración del material testigo es mayor a la concentración del analito presente en el material analizado.

1.7.2.6 RECUPERACIÓN

La recuperación es la fracción de la sustancia agregada a la muestra antes del análisis (muestra fortificada), la cual permite estudiar el rendimiento de un método analítico referente al método de extracción y la cantidad del analito existente en la muestra original; este parámetro se encuentra intrínsecamente relacionado con las características de la matriz de la muestra.

1.7.2.7 PRUEBA DE COCHRAN

Esta prueba se realiza para evaluar la igualdad de varianzas en las muestras analizadas, es un parámetro que opera específicamente sobre las varianzas poblacionales, se utiliza la fórmula:

$$Q_c = \frac{s^2_{\max}}{\sum s^2} \quad (1.12)$$

Donde:

Q_c = Valor que será comparado con el tabulado en la tabla de coc

s^2_{\max} = Mayor varianza

$\sum s^2$ = Sumatoria de varianzas

En esta prueba se compara la mayor varianza con la sumatoria de las demás varianzas, en este caso la hipótesis nula es que las varianzas son homogéneas para lo cual se compara el valor obtenido con un estadístico tomado de la tabla teórica, en este caso se acepta la hipótesis nula si el valor obtenido es menor al valor teórico.

CAPÍTULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 MUESTRAS

El muestreo que se llevó a cabo fue aleatorio y se realizó en cinco lugares diferentes de la ciudad de Quito, que incluyeron supermercados y mercados populares. En cada sitio se adquirieron las cinco variedades de fréjol: canario, bayo, blanco, rojo y negro; obteniendo 1 Kg de cada muestra. La recolección se realizó durante cinco días diferentes, estableciendo un día en específico para cada sitio. En todos los casos se usaron muestras de fréjol en grano seco. En total se realizó el análisis de 25 muestras por triplicado.

2.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

EQUIPOS

- a) Molino de micro-operación continua MF 10 basic IKA® Werke

MATERIALES

- a) Bolsas plásticas ziplock ® medianas
- b) Muestras de cada variedad de fréjol

PROCEDIMIENTO

- Moler los granos de fréjol utilizando el molino de micro-operación continua, lo que permitirá conseguir una muestra homogénea.
- Limpiar adecuadamente el molino después de moler cada muestra.
- Evitar el sobrecalentamiento, tomando un tiempo prudente entre la molienda de cada muestra.
- Colocar la muestra molida en una bolsa ziplock (con cierre hermético) para los posteriores análisis.
- Etiquetar cada muestra con el lugar y la variedad de fréjol.
- Conservar a temperatura ambiente.

2.3 MÉTODOS

Se realizó el análisis del contenido de humedad en cada muestra y la determinación de minerales, que incluyó: calcio, hierro, sodio y potasio, utilizando la técnica de espectrofotometría de absorción atómica de llama. Cada análisis se realizó por triplicado en cada una de las 25 muestras.

Los métodos utilizados fueron los descritos por la AOAC [31]. Para el contenido de humedad se utilizó el método oficial 32.1.03, para la determinación de hierro se usó el

método 999.10, mientras que, para la determinación de calcio, potasio y sodio se usó el método 985.35. A continuación se describen cada uno de los métodos usados.

2.3.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD (AOAC 32.1.03)

La humedad se determina pesando una cantidad conocida de muestra en un crisol (previamente tarado), la cual se somete a 130 ± 3 °C durante una hora en una estufa. Se mide la variación de masa, causada por la pérdida de agua por evaporación y la eliminación de sustancias volátiles a dicha temperatura.

EQUIPOS

- a) Estufa Binder ® FD 115
- b) Balanza analítica Mettler Toledo ® ML204, max 220 g, d=0,1 mg

MATERIALES

- a) Crisoles de acero inoxidable con tapa
- b) Desecador de vidrio de 30 cm de diámetro que contiene sílica gel con CoCl_2 como indicador de humedad
- c) Espátula de acero inoxidable

PROCEDIMIENTO

- Tarar los crisoles con su respectiva tapa a 130 °C durante cuatro horas.
- Dejar enfriar los crisoles con su tapa en un desecador.
- Pesar un crisol con su tapa (P_i).
- Pesar con exactitud aproximadamente 2 g de muestra bien homogenizada en el crisol (P_m).
- Colocar el crisol en la estufa, teniendo en cuenta que la tapa no cubra completamente el crisol.
- Secar el contenido a 130 ± 3 °C durante una hora, tomando el tiempo desde que la temperatura sea realmente 130 °C.
- Transferir el crisol al desecador y pesar en el momento en el que el crisol haya alcanzado la temperatura ambiente (P_f).

CÁLCULOS

$$\%H = \frac{P_i + P_m - P_f}{P_m} \times 100 \quad (2.1)$$

Donde:

H = Humedad

P_i = Peso del cápsula + tapa

P_m = Peso muestra

P_f = Peso de la muestra después de secada + la cápsula + tapa

2.3.2 DIGESTIÓN DE LAS MUESTRAS PARA LA DETERMINACIÓN DE MINERALES (AOAC 999.10)

La radiación por microondas eleva la temperatura de las muestras, lo que permite la descomposición de la matriz y facilita la liberación de los analitos de interés. En este proceso se controlan condiciones como la presión y la temperatura en la que trabaja el microondas. La técnica permite que exista menor pérdida de analitos, menor consumo de reactivos, además de ser rápida y eficiente. El proceso completo de digestión dura aproximadamente una hora.

EQUIPOS

- a) Microondas CEM Innovators in Microwave Technology, MDS-2000
- b) Balanza analítica Mettler Toledo ® ML204, max 220 g, d=0,1 mg
- c) Campana de extracción

MATERIALES

- a) Carrusel para el microondas
- b) Viales de teflón
- c) Espátula de acero inoxidable

- d) Probetas graduadas de vidrio
- e) Vasos de precipitación
- f) Embudos
- g) Pipetas
- h) Balones de aforo

REACTIVOS

- a) Ácido nítrico concentrado
- b) Agua oxigenada 35 %
- c) Agua desmineralizada

PROCEDIMIENTO

- Pesar aproximadamente 0,5 g de muestra en cada vial.
- Agregar 5 mL de ácido nítrico concentrado y 2 mL de agua oxigenada 35 %.
- Armar el carrusel, teniendo en cuenta que en el vial con mayor cantidad de muestra se coloque la válvula encargada de controlar la presión.
- Seleccionar las opciones que permitan la digestión de las muestras con el procedimiento AOAC 12.
- Esperar a que se lleve a cabo la digestión y que la presión del sistema sea 0,000 psi.

- Transvasar el contenido de cada vial a balones aforados de 25 mL, llevando a volumen utilizando agua desmineralizada.

Lavado de los viales:

- Colocar los viales y las tapas en un recipiente con agua caliente.
- Dejarlos durante un día y lavarlos.

2.3.3 DETERMINACIÓN DE MINERALES

La muestra digestada es absorbida y dirigida a la llama, en la cual se generan los átomos libres de los elementos presentes. Dichos átomos se excitan por un haz de luz, procedente de una lámpara con una longitud de onda específica dependiendo del elemento a analizar. Los átomos excitados serán detectados y finalmente cuantificados.

EQUIPOS

- a) Atomic Absorption Spectrometer Perkin Elmer ® AAnalyst 400
- b) Compresor de aire
- c) Balanza analítica Mettler Toledo ® ML204, max 220 g, d=0,1 mg

MATERIALES

- a) Muestras digestadas
- b) Balones de aforo
- c) Embudos
- d) Pipetas volumétricas y automáticas
- e) Piseta
- f) Vasos de precipitación

REACTIVOS

- a) Gas acetileno
- b) Agua desmineralizada
- c) Estándares de: calcio de 250 mg/L, de hierro de 250 mg/L, de sodio de 50 mg/L y de potasio de 100 mg/L
- d) Ácido nítrico 0,1 M
- e) Ácido clorhídrico concentrado
- f) Óxido de lantano
- g) Cloruro de cesio

PROCEDIMIENTO GENERAL

- Prender en el siguiente orden los componentes del equipo de absorción atómica: computador, equipo, gases y extractor de gases.
- Abrir el software WinLab32AA seleccionando la técnica de llama.

- Elegir el metal a analizar y calentar la lámpara respectiva.
- Esperar a que la energía de la lámpara se mantenga constante.
- Permitir que los gases ingresen al sistema.
- Encender la llama del mechero.
- Analizar el blanco, seguido de la curva de calibración (concentraciones específicas para cada metal) y finalmente de las muestras.
- Guardar e imprimir los resultados.
- Limpiar el capilar, cerrar los gases, purgar las vías y apagar la lámpara y el extractor de gases.
- Cerrar el software.
- Apagar en el siguiente orden los componentes del equipo: computador, equipo, gases y extractor.

CONDICIONES DEL EQUIPO

Las condiciones usadas experimentalmente para la determinación de calcio, hierro, sodio y potasio en fréjol son específicas para cada mineral analizado, y son las recomendadas por el espectrofotómetro de absorción atómica. En la Tabla 2.1 se describen las condiciones en las que se debe analizar cada elemento.

Tabla 2.1. Condiciones experimentales usadas en el espectrofotómetro de absorción atómica

	Calcio	Hierro	Sodio	Potasio
Longitud de onda (nm)	422,67	248,33	589,00	766,49
Ancho del slit (mm)	2,7/0,6	1,8/1,35	1,8/0,6	2,7/0,45
Ruido relativo	1	1	1	1
Concentración característica (mg/L)	0,062	0,04	0,007	0,02
Comparación de sensibilidad (mg/L)	3	2	0,3	1
Linealidad (mg/L)	5	3	0,5	1

CÁLCULOS

$$C = \frac{R \times df \times 25}{m} \quad (2.2)$$

Donde:

C = Concentración

R = Respuesta del equipo

df = Factor de dilución

m = Peso de la muestra

2.3.3.1 DETERMINACIÓN DE CALCIO (AOAC 985.35)

Al analizar calcio, la presencia de fosfatos y sulfatos produce una disminución de la señal, por lo que, es necesario agregar cloruro de lantano como agente liberador. El calcio con el fosfato forman el fosfato de calcio, el cual se transforma en pirofosfato de calcio, que es relativamente estable en una llama aire/acetileno. De este modo la cantidad de átomos libres de calcio generados en la llama será menor que la obtenida con una solución de calcio de igual concentración [27]. Al blanco se trata del mismo modo que la muestra, agregando cloruro de lantano al 0,1 % y aforando con ácido nítrico 0,1 M. A continuación se describe el procedimiento para la determinación de calcio:

A. SOLUCIÓN DE CLORURO DE LANTANO

- Disolver 58,65 g de óxido de lantano en 250 mL de ácido clorhídrico concentrado (hacerlo lentamente por las paredes del vaso y en la campana de extracción porque es una reacción exotérmica)
- Aforar a 1 L utilizando agua desmineralizada. Solución estable por seis meses.

B. SOLUCIÓN MADRE

- Utilizar el estándar de calcio de concentración 250 mg/L.
- Medir 25 mL y aforar a 100 mL utilizando ácido nítrico 0,1 M.

C. CURVA DE CALIBRACIÓN

- Pipetear la cantidad exacta para obtener estándares de 0,25 mg/L, 0,50 mg/L, 0,75 mg/L, 1,00 mg/L y 1,25 mg/L de concentración.
 - Agregar el 0,1 % de cloruro de lantano (utilizar 1 mL cuando el volumen de aforo es 100 mL)
 - Preparar el blanco agregando 0,1 % de cloruro de lantano en un balón aforado de 100 mL.
 - Aforar todos los balones (blanco y curva) con ácido nítrico 0,1 M.
-
- Diluir las muestras agregando 1 mL de volumen de los balones provenientes de la digestión, agregar 0,1 % de cloruro de lantano y aforar hasta 25 mL utilizando ácido nítrico 0,1 M.
 - Realizar las lecturas respectivas.

2.3.3.2 DETERMINACIÓN DE HIERRO (AOAC 999.10)

Para la determinación de hierro las muestras digestadas se leen directamente. En este mineral el blanco es ácido nítrico 0,1 M. A continuación se describe el procedimiento para la determinación de hierro:

A. SOLUCIÓN MADRE

- Utilizar el estándar de hierro de concentración 250 mg/L.
- Medir 25 mL y aforar a 100 mL utilizando ácido nítrico 0,1 M.

B. CURVA DE CALIBRACIÓN

- Pipetear la cantidad exacta para obtener estándares de 0,125 mg/L, 0,250 mg/L, 0,500 mg/L, 1,000 mg/L y 1,500 mg/L de concentración.
 - Aforar cada punto en balones aforados de 100 mL con ácido nítrico 0,1 M.
 - Utilizar ácido nítrico 0,1 M como blanco.
-
- Realizar la lectura de las muestras provenientes de la digestión directamente.

2.3.3.3 DETERMINACIÓN DE SODIO (AOAC 985.35)

Ya que el sodio es un elemento propenso a sufrir interferencias de ionización se agrega un supresor de la ionización, el cual proporciona una alta concentración de electrones. En la determinación de sodio se usa cloruro de cesio como supresor [27]. Al blanco se trata del mismo modo que la muestra, agregando cloruro de cesio al 0,5 % y aforando con ácido nítrico 0,1 M. A continuación se describe el procedimiento para la determinación de sodio:

A. SOLUCIÓN DE CLORURO DE CESIO

- Pesar 12,7 g cloruro de cesio.
- Aforar a 100 mL utilizando agua desmineralizada. Solución estable por seis meses.

B. SOLUCIÓN MADRE

- Utilizar el estándar de sodio de concentración 50 mg/L.
- Medir 5 mL y aforar a 100 mL utilizando ácido nítrico 0,1 M.

C. CURVA DE CALIBRACIÓN

- Pipetear la cantidad exacta para obtener estándares de 0,050 mg/L, 0,100 mg/L, 0,125 mg/L, 0,250 mg/L y 0,500 mg/L de concentración.
 - Agregar el 0,5 % de cloruro de cesio (utilizar 5 mL cuando el volumen de aforo es 100 mL)
 - Preparar el blanco agregando 0,5 % de cloruro de cesio en un balón aforado de 100 mL.
 - Aforar todos los balones (blanco y curva) con ácido nítrico 0,1 M.
-
- Diluir las muestras agregando 1 mL de volumen de los balones provenientes de la digestión, agregar 0,5 % de cloruro de cesio y aforar hasta 25 mL utilizando ácido nítrico 0,1 M.

- Realizar las lecturas respectivas.

2.3.3.4 DETERMINACIÓN DE POTASIO (AOAC 985.35)

Al igual que el sodio, el potasio es un elemento propenso a sufrir interferencias de ionización, por lo que, se agrega un supresor de la ionización, en este caso se usa cloruro de cesio. Al blanco se trata del mismo modo que la muestra, agregando cloruro de cesio al 0,5 % y aforando con ácido nítrico 0,1 M. A continuación se describe el procedimiento para la determinación de potasio:

A. SOLUCIÓN DE CLORURO DE CESIO

- Pesar 12,7 g cloruro de cesio.
- Aforar a 100 mL utilizando agua desmineralizada. Solución estable por seis meses.

B. SOLUCIÓN MADRE

- Utilizar el estándar de calcio de concentración 100 mg/L.
- Medir 10 mL y aforar a 100 mL utilizando ácido nítrico 0,1 M.

C. CURVA DE CALIBRACIÓN

- Pipetear la cantidad exacta para obtener estándares de 0,125 mg/L, 0,250 mg/L, 0,500 mg/L, 0,750 mg/L, 1,000 mg/L y 1,125 mg/L de concentración.
- Agregar el 0,5 % de cloruro de cesio (utilizar 5 mL cuando el volumen de aforo es 100 mL)
- Preparar el blanco agregando 0,5 % de cloruro de cesio en un balón aforado de 100 mL.
- Aforar todos los balones (blanco y curva) con ácido nítrico 0,1 M.

- Diluir las muestras agregando 1 mL de volumen de los balones provenientes de la digestión, agregar 0,5% de cloruro de cesio y aforar hasta 25 mL utilizando ácido nítrico 0,1 M.

- Realizar las lecturas respectivas.

2.3.3.5 VALIDACIÓN DE CALCIO

La preparación de las curvas de calibración durante la validación, se llevarán a cabo utilizando el procedimiento señalado en la página 53 y 54, en el apartado 2.3.3.1 Determinación de calcio. Además se realizarán los cálculos correspondientes para todos los parámetros evaluados dentro de la validación.

- Con los datos obtenidos para la determinación de calcio: calcular la concentración de ese mineral en las muestras, desviación estándar y coeficiente de variación (CV).
- Escoger la muestra que tenga menor CV.
- Digestar dicha muestra sin ninguna fortificación, para calcular el promedio de las 36 lecturas y tomarlo como el valor de referencia.
- Trabajar con tres niveles de fortificación:

Tabla 2.2. Niveles de fortificación para la validación

Nivel	Volumen de calcio de solución madre adicionado
Sin adición	0,000 mL
Nivel medio	0,315 mL
Nivel alto	1,000 mL

- Digestar cada nivel con el siguiente orden:

Pesar la muestra

Agregar la fortificación respectiva

Añadir 5 mL de ácido nítrico concentrado y 2 mL de agua oxigenada.

- Preparar cinco curvas diferentes durante cinco días diferentes.
- Pipetear el volumen exacto para cada punto de la curva de calibración, en balones aforados de 100 mL.

- Agregar el 0,1 % de cloruro de lantano (utilizar 1 mL cuando el volumen de aforo es 100 mL)
- Preparar el blanco agregando 0,1 % de cloruro de lantano en un balón aforado de 100 mL.
- Aforar todos los balones (blanco y curva) con ácido nítrico 0,1 M.
- Diluir las muestras agregando 1 mL de volumen de los balones provenientes de la digestión, agregar 0,1 % de cloruro de lantano y aforar hasta 25 mL utilizando ácido nítrico 0,1 M.
- Realizar las lecturas respectivas.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó el análisis de humedad y la determinación de calcio, hierro, sodio y potasio en cinco variedades de fréjol: canario, bayo, blanco, rojo y negro, provenientes de supermercados y mercados populares de la ciudad de Quito. El muestreo realizado se llevó a cabo durante cinco días diferentes, un día específico por lugar. Las muestras usadas fueron únicamente de fréjol de grano seco. Todos los parámetros estudiados se realizaron por triplicado en cada una de las muestras.

Con los resultados obtenidos experimentalmente se calcularon los siguientes estadísticos: promedio, desviación estándar, coeficiente de variación; los cuales se necesitan para realizar las pruebas de significación y de este modo determinar si existen diferencias significativas entre variedades, entre muestras y con la tabla de composición de los alimentos ecuatorianos de 1965.

Además se realizó la validación de calcio, en la cual se determinó: el porcentaje de recuperación, linealidad, error estándar, límites de confianza, de detección y cuantificación.

3.1 RESULTADOS

A continuación se realiza el tratamiento de los resultados obtenidos experimentalmente para cada parámetro estudiado:

3.1.1. ANÁLISIS DE HUMEDAD

En este estudio se determina el porcentaje de humedad porque es un parámetro que varía dependiendo de la muestra analizada y es un factor que afecta la concentración de los minerales de estudio: calcio, hierro, sodio y potasio. A pesar de que las muestras usadas son fréjol de grano seco, en estas condiciones esta leguminosa también presenta agua en su estructura, la misma que es determinada como humedad.

Según la Norma NTE INEN (Norma Técnica Ecuatoriana) 1561 referente a los requisitos del fréjol en grano, el porcentaje máximo de humedad que debe tener el fréjol es del 13 %. Este es un parámetro químico trascendental, ya que, es el único que se regula en la norma INEN.

Además, es un factor que influye directamente en el deterioro de los granos almacenados, porque si no existe un adecuado control se promueve al crecimiento de hongos, bacterias e insectos.

En la Tabla 3.1 se presentan los resultados experimentales obtenidos por triplicado para cada variedad de fréjol analizada:

Tabla 3.1. Resultados experimentales del porcentaje de humedad

# muestra	Canario %	Bayo %	Blanco %	Rojo %	Negro %
1	12,84	11,95	12,83	11,78	12,84
	12,73	11,77	12,72	11,58	12,97
	12,80	11,78	12,81	11,73	12,78
2	12,17	11,93	12,56	12,55	12,01
	12,24	11,74	12,90	12,46	12,03
	12,16	12,20	12,29	13,13	12,28
3	13,26	12,54	12,87	12,35	12,09
	13,28	12,37	12,93	12,42	12,10
	13,16	12,46	12,93	12,33	12,21
4	12,75	11,67	12,60	11,08	11,39
	12,82	11,82	12,84	11,03	11,27
	12,74	11,76	12,89	11,21	11,43
5	10,46	10,83	11,88	10,76	11,92
	10,34	10,68	12,04	10,63	12,26
	10,27	11,00	11,92	10,50	11,55

El análisis del promedio del porcentaje de humedad permite determinar si alguna de las variedades sobrepasa el máximo permisible, lo cual afecta directamente a la calidad del

alimento. Utilizando los resultados experimentales para la humedad se construyó la Tabla 3.2 con los promedios por triplicado y con el promedio total para cada variedad:

Tabla 3.2. Resultados promedio del porcentaje de humedad

# muestra	Canario %	Bayo %	Blanco %	Rojo %	Negro %
1	12,79	11,84	12,79	11,70	12,86
2	12,19	11,95	12,58	12,71	12,10
3	13,23	12,45	12,91	12,36	12,13
4	12,77	11,75	12,78	11,11	11,37
5	10,36	10,84	11,95	10,63	11,91
Promedio	12,27	11,77	12,60	11,70	12,08

El fréjol blanco es la variedad que presenta mayor porcentaje de humedad con 12,60 %. Según el orden decreciente las variedades que le siguen son: fréjol canario con 12,27 %, negro con 12,08 %, bayo con 11,77 % y finalmente rojo con 11,70%. Ninguno de los promedios calculados a partir de los resultados experimentales supera el límite máximo permitido establecido en la norma NTE INEN (13 %).

Esto significa que las condiciones de almacenamiento de las muestras, independientemente del lugar de muestreo, están siendo controladas. Al cumplir con la norma establecida se determina que ninguna de las muestras analizadas está siendo afectada al deterioro del grano, además que no son un medio que promueva el

crecimiento de hongos, bacterias o insectos. Un factor muy importante para la salud humana.

Una vez determinado el promedio del porcentaje de humedad, se calcula: la desviación estándar a partir de los resultados promedio de las 3 repeticiones para cada sitio y la desviación estándar total con los 15 resultados experimentales para cada variedad (análisis por triplicado en cada una lugar muestreado).

En la Tabla 3.3 se presentan los datos de la desviación estándar para el porcentaje de humedad:

Tabla 3.3. Resultados de la desviación estándar y del coeficiente de variación (CV) para el porcentaje de humedad

# muestra	Canario	Bayo	Blanco	Rojo	Negro
1	0,06	0,10	0,06	0,10	0,10
2	0,04	0,23	0,31	0,37	0,15
3	0,07	0,09	0,04	0,05	0,06
4	0,04	0,08	0,15	0,09	0,09
5	0,10	0,16	0,08	0,13	0,36
Total	1,05	0,56	0,38	0,81	0,52
CV%	8,55	4,74	3,02	6,94	4,32

Los 15 datos están presentes en la Tabla 3.1, los mismos que pertenecen a una misma variedad, muestreada en cinco lugares diferentes y analizada por triplicado. La desviación estándar total es mayor en relación a la desviación estándar de las muestras, porque existe mayor divergencia entre todos los resultados experimentales obtenidos (15 datos) que tomando en cuenta únicamente las repeticiones. Para calcular el coeficiente de variación también se tomaron en cuenta todos los resultados obtenidos.

En el porcentaje de humedad todas las muestras presentan valores bajos para la desviación estándar y para la desviación estándar total. El fréjol rojo, negro y blanco son aquellas muestras con resultados más altos, mientras que, el fréjol bayo tiene valores intermedios y el fréjol canario es la variedad con valores más bajos.

El fréjol canario presenta la mayor desviación estándar total, debido a que, una de las muestras tiene un valor elevado (13,23 %) y otra de las muestras tiene un porcentaje de humedad inferior (10,36 %) al promedio (12,27 %). Al calcular el coeficiente de variación se observó que igualmente el fréjol canario presenta mayor variación, porque no todas las muestras tienen concentraciones cercanas al promedio.

3.1.2 ANÁLISIS DE LA CONCENTRACIÓN DE CALCIO

Para la determinación de calcio se obtuvieron 15 datos por variedad. Esto se debe a que se realizó el muestreo en cinco lugares diferentes y se analizó a cada muestra por

triplicado. En la Tabla 3.4 se presentan los resultados experimentales para cada variedad de fréjol:

Tabla 3.4. Resultados experimentales de la concentración de calcio

# muestra	Canario (mg/100g)	Bayo (mg/100g)	Blanco (mg/100g)	Rojo (mg/100g)	Negro (mg/100g)
1	78,42	67,86	98,08	102,85	107,47
	80,28	64,21	113,98	90,39	109,53
	80,96	67,55	109,55	122,92	118,17
2	85,59	69,82	97,91	92,92	147,59
	79,55	83,81	72,93	98,84	148,64
	85,93	94,99	76,42	92,89	151,77
3	71,09	67,89	94,55	108,38	105,92
	72,14	66,30	110,94	102,58	123,39
	69,70	68,21	102,19	113,29	150,43
4	73,91	65,72	72,45	67,71	119,80
	67,98	65,05	74,09	60,85	111,92
	75,95	65,99	76,67	68,86	120,82
5	71,03	65,51	114,45	55,11	115,87
	63,05	68,28	114,00	50,92	102,54
	71,56	67,96	98,98	54,55	109,57

Utilizando los resultados experimentales para la concentración de calcio se construyó la Tabla 3.5 con los promedios por triplicado y con el promedio total para cada variedad de fréjol:

Tabla 3.5. Resultados promedio de la concentración de calcio

# muestra	Canario (mg/100g)	Bayo (mg/100g)	Blanco (mg/100g)	Rojo (mg/100g)	Negro (mg/100g)
1	79,89	66,54	107,20	105,39	111,72
2	83,69	82,87	82,42	94,88	149,33
3	70,97	67,47	102,56	108,08	126,57
4	72,61	65,59	74,40	65,81	117,51
5	68,55	67,25	109,14	53,53	109,33
Promedio	75,14	69,94	95,15	85,54	122,89

En lo que se refiere a la concentración de calcio, el fréjol negro es la variedad que presenta mayor contenido de calcio con 122,89 mg por cada 100 g de muestra. Según el orden decreciente la variedad que le sigue es el fréjol blanco, rojo, canario y finalmente bayo.

A partir de los resultados de las 3 repeticiones para cada muestra se calculó la desviación estándar, mientras que la desviación estándar total fue calculada con los 15 resultados experimentales obtenidos. En la Tabla 3.6 se muestran los resultados:

Tabla 3.6. Resultados de la desviación estándar y del coeficiente de variación (CV) para la concentración de calcio

# muestra	Canario	Bayo	Blanco	Rojo	Negro
1	1,31	2,02	8,21	16,41	5,68
2	3,59	12,61	13,53	3,42	2,18
3	1,23	1,02	8,20	5,36	22,43
4	4,14	0,49	2,12	4,33	4,87
5	4,77	1,52	8,80	2,27	6,67
Total	6,55	8,31	16,40	23,72	17,66
CV%	8,72	11,88	17,24	27,73	14,37

Los resultados calculados para la desviación estándar dependen de la variedad y del lugar al que pertenecen las muestras, siendo el fréjol negro la variedad que presenta mayor desviación estándar y el fréjol rojo mayor desviación estándar total. Para comparar los resultados se calculó el coeficiente de variación en el cual se obtuvo que el fréjol rojo presenta un mayor valor, seguido del fréjol blanco y del negro.

La variación del fréjol rojo y blanco se debe a que todas las muestras tienen una media distante de la media total. Como se observa en la Tabla 3.5 en el caso del fréjol negro, la muestra que hace incrementar la desviación estándar total es la segunda, con un valor de 149,33 mg por cada 100 g de muestra, siendo la media total 122,90 mg/100g.

3.1.3 ANÁLISIS DE LA CONCENTRACIÓN DE HIERRO

Los resultados obtenidos de la concentración de hierro se presentan en la Tabla 3.7:

Tabla 3.7. Resultados experimentales de la concentración de hierro

# muestra	Canario (mg/100g)	Bayo (mg/100g)	Blanco (mg/100g)	Rojo (mg/100g)	Negro (mg/100g)
1	5,09	5,96	5,16	5,41	5,58
	5,15	4,79	4,93	4,84	5,20
	5,68	4,67	5,00	4,79	5,28
2	4,21	3,90	3,47	5,14	4,50
	4,20	3,45	4,46	5,39	4,32
	4,61	3,28	3,27	5,25	4,19
3	5,10	5,14	5,41	5,32	5,70
	5,04	5,06	4,53	5,30	5,75
	4,69	5,31	4,47	5,78	5,80
4	5,02	5,21	4,12	4,85	5,20
	5,25	5,48	4,81	4,73	4,82
	5,54	5,00	4,25	4,50	4,91
5	4,23	5,19	5,47	4,50	6,29
	5,01	4,41	5,07	4,29	5,99
	4,81	4,38	4,71	4,42	6,61

Con los resultados obtenidos experimentalmente para cada variedad se construyó la Tabla 3.8 con los promedios de la concentración de hierro en mg por 100 gramos de muestra:

Tabla 3.8. Resultados promedio de la concentración de hierro

# muestra	Canario (mg/100g)	Bayo (mg/100g)	Blanco (mg/100g)	Rojo (mg/100g)	Negro (mg/100g)
1	5,31	5,14	5,03	5,01	5,35
2	4,34	3,54	3,73	5,26	4,34
3	4,94	5,17	4,80	5,47	5,75
4	5,30	5,23	4,39	4,69	4,98
5	4,69	4,66	5,08	4,49	6,29
Promedio	4,91	4,75	4,61	4,99	5,34

Para este mineral la variedad que presenta mayor contenido es el fréjol negro con 5,34 mg por cada 100 g de muestra. Tomando en cuenta el orden decreciente la variedad que le sigue es el fréjol rojo, canario, bayo y finalmente blanco.

Con el objetivo de saber que tan cercanos se encuentran los resultados entre sí, se construyó la Tabla 3.9 con los valores de desviación estándar para cada variedad de las tres repeticiones y con la desviación estándar total:

Tabla 3.9. Resultados de la desviación estándar y del coeficiente de variación (CV) para la concentración de hierro

# muestra	Canario	Bayo	Blanco	Rojo	Negro
1	0,33	0,71	0,12	0,34	0,20
2	0,23	0,33	0,64	0,13	0,15
3	0,22	0,12	0,53	0,27	0,05
4	0,26	0,24	0,37	0,18	0,20
5	0,41	0,46	0,38	0,10	0,31
Total	0,45	0,75	0,64	0,44	0,71
CV%	9,23	15,78	13,86	8,83	13,30

Los resultados calculados para la desviación estándar son bajos. La variedad con mayor valor en desviación estándar, desviación estándar total y coeficiente de variedad es el fréjol bayo. En la Tabla 3.8, se observa que el valor promedio para la concentración de hierro de la segunda muestra es mucho menor en comparación a las otras muestras, lo que genera que esta variedad sea aquella con mayores valores de desviación.

3.1.4 ANÁLISIS DE LA CONCENTRACIÓN DE SODIO

Los resultados experimentales de la concentración de sodio en mg por 100 g de muestra se presentan en Tabla 3.10:

Tabla 3.10. Resultados experimentales de la concentración sodio

# muestra	Canario (mg/100g)	Bayo (mg/100g)	Blanco (mg/100g)	Rojo (mg/100g)	Negro (mg/100g)
1	11,53	6,45	5,75	11,58	20,31
	13,89	9,14	5,88	13,15	19,31
	19,14	7,51	5,26	8,91	19,53
2	8,52	9,55	15,39	11,80	16,65
	6,18	6,86	8,89	14,67	16,42
	8,68	8,31	11,20	17,29	29,71
3	18,32	12,02	18,56	11,89	7,25
	14,82	7,48	17,14	8,90	7,42
	12,13	6,61	11,46	16,15	6,38
4	8,71	7,78	13,05	11,24	10,27
	9,46	8,74	12,55	11,97	9,58
	7,25	8,52	8,36	13,82	13,06
5	12,13	9,54	10,09	22,19	5,22
	17,66	8,46	19,41	11,45	5,48
	19,56	8,42	17,45	5,92	4,99

En la Tabla 3.11 se presentan los promedios de la concentración de sodio de los resultados experimentales por triplicado para cada muestra y el promedio total para cada variedad de fréjol:

Tabla 3.11. Resultados promedio de la concentración de sodio

# muestra	Canario (mg/100g)	Bayo (mg/100g)	Blanco (mg/100g)	Rojo (mg/100g)	Negro (mg/100g)
1	14,85	7,70	5,93	11,21	19,72
2	7,79	8,24	11,83	14,59	20,93
3	15,09	8,70	15,72	12,31	7,02
4	8,47	8,34	11,32	12,35	10,97
5	16,45	8,80	15,65	13,19	5,23
Promedio	12,53	8,36	12,09	12,73	12,77

El fréjol negro es la variedad que presenta mayor contenido de sodio con el 12,77 mg por cada 100 g de muestra. Según el orden decreciente la variedad que le sigue es el fréjol rojo con 12,73 mg/100g, canario con 12,53 mg/100g, blanco con 12,09 mg/100g y finalmente bayo con 8,36 mg/100g.

Para evaluar la precisión de los resultados obtenidos se calculó la desviación estándar para los resultados por triplicado y la desviación estándar total para cada variedad de fréjol, utilizando todos los resultados experimentales obtenidos.

En la Tabla 3.12 se presentan los resultados:

Tabla 3.12. Resultados de la desviación estándar y del coeficiente de variación (CV) para la concentración de sodio

# muestra	Canario	Bayo	Blanco	Rojo	Negro
1	3,90	1,36	0,33	2,14	0,53
2	1,40	1,35	3,30	2,75	7,61
3	3,10	2,91	3,76	3,64	0,56
4	1,13	0,50	2,57	1,33	1,85
5	3,86	0,63	4,91	8,27	0,25
Total	4,51	1,41	4,75	3,87	7,31
CV%	35,97	16,85	39,52	30,43	57,22

Para la concentración de sodio, los resultados calculados de la desviación estándar son bastante variables, siendo el fréjol rojo la variedad que presenta mayor valor de desviación estándar (8,27).

En el caso de la desviación estándar total, el fréjol negro es la variedad que presenta un mayor valor, debido a que, los promedios de la concentración de sodio de una de las muestras tiene un valor elevado (20,93 mg/100g) y la otra una concentración inferior (5,23 mg/100g) al promedio (12,77 mg/100g). Lo mismo sucede con el coeficiente de variación, en el cual, el fréjol rojo presenta un valor elevado, seguido del fréjol blanco, canario, rojo y finalmente bayo.

3.1.5 ANÁLISIS DE LA CONCENTRACIÓN DE POTASIO

En la Tabla 3.13 se presentan los resultados experimentales de la concentración de potasio:

Tabla 3.13. Resultados experimentales de la concentración de potasio

# muestra	Canario (mg/100g)	Bayo (mg/100g)	Blanco (mg/100g)	Rojo (mg/100g)	Negro (mg/100g)
1	1207,88	1137,28	1101,11	1299,27	1277,82
	1210,11	1182,37	1237,08	1320,61	1187,16
	1210,65	1193,94	1225,96	1307,75	1368,17
2	1179,30	1232,88	1213,30	1073,35	1460,94
	1147,91	1265,96	1230,22	1097,23	1246,27
	1239,18	1266,87	1233,82	1132,88	1279,46
3	1202,93	1145,29	1128,44	1190,93	1195,98
	1195,46	1278,66	1193,69	1190,31	1227,11
	1167,61	1170,19	1177,45	1159,67	1169,90
4	1075,05	1053,47	1091,67	1035,88	1153,14
	1039,47	1150,75	1106,80	1048,58	1181,19
	1038,88	1083,45	1058,39	1034,07	1148,22
5	1328,61	1298,79	1365,84	1446,74	1155,70
	1484,56	1411,55	1332,14	1328,19	1298,87
	1161,65	1281,25	1418,39	1395,14	1237,04

Los resultados del promedio por triplicado y del promedio total para la concentración de potasio se presentan en la Tabla 3.14:

Tabla 3.14. Resultados promedio de la concentración de potasio

# muestra	Canario (mg/100g)	Bayo (mg/100g)	Blanco (mg/100g)	Rojo (mg/100g)	Negro (mg/100g)
1	1209,55	1171,20	1188,05	1309,21	1277,72
2	1188,80	1255,24	1225,78	1101,15	1328,89
3	1188,67	1198,05	1166,53	1180,30	1197,66
4	1051,13	1095,89	1085,62	1039,51	1160,85
5	1324,94	1330,53	1372,12	1390,02	1230,53
Promedio	1192,62	1210,18	1207,62	1204,04	1239,13

La variedad que presenta mayor contenido de potasio es el fréjol negro con 1239,13 mg por cada 100 g de muestra. Tomando en cuenta el orden decreciente la variedad que le sigue es el fréjol bayo, blanco, rojo y finalmente canario.

Los resultados calculados de la desviación estándar por triplicado y de la desviación estándar de los 15 resultados experimentales se presentan en la Tabla 3.15:

Tabla 3.15. Resultados de la desviación estándar y del coeficiente de variación (CV) para la concentración de potasio

# muestra	Canario	Bayo	Blanco	Rojo	Negro
1	1,47	29,94	75,50	10,75	90,51
2	46,37	19,37	10,96	29,96	115,56
3	18,61	70,92	33,97	17,87	28,64
4	20,72	49,82	24,76	7,91	17,78
5	161,49	70,71	43,47	59,44	71,80
Total	110,69	93,08	104,20	136,66	87,86
CV%	9,28	7,69	8,63	11,35	7,09

Es notorio que en la concentración de potasio, las desviaciones estándar son demasiado variables presentando valores que van desde 1,47 hasta 161,49, incluso dentro de una misma variedad; lo que demuestra que los resultados tienen una baja precisión. Consecuentemente, las desviaciones estándar totales de todas las variedades son bastante elevadas y difieren entre sí, siendo las más elevadas las del fréjol rojo, canario y blanco.

Lo mismo sucede con el coeficiente de variación en el cual el fréjol rojo varía con un 11,35 %, el fréjol canario con un 9,28 % y el fréjol blanco con un 8,63 %. Para el fréjol rojo esto se debe a que una de las muestras tiene un valor elevado (1390,02 mg/100g) y otra muestra tiene una concentración inferior (1039,51 mg/100g) al promedio (1204,04 mg/100g). En el fréjol canario una de las muestras tiene un valor elevado (1324,94 mg/100g) y otra una concentración inferior (1051,13 mg/100g) al promedio (1192,62

mg/100g). Y finalmente para el fréjol blanco una de las muestras tiene un valor elevado (1372,12 mg/100g) y una concentración inferior (1085,62 mg/100g) al promedio (1207,62 mg/100g)

Para resumir las tablas 3.1 hasta la 3.15 se construyó la Tabla 3.16 con los resultados calculados del promedio total y la desviación total en cada parámetro analizado:

Tabla 3.16. Resumen de los resultados calculados en cada parámetro para las cinco variedades de fréjol

Parámetro	Variedad	Canario	Bayo	Blanco	Rojo	Negro
%Humedad	Promedio	12,27	11,77	12,60	11,70	12,08
	Desviación estándar	1,05	0,56	0,38	0,81	0,52
Concentración calcio (mg/100g)	Promedio	75,14	69,94	95,15	85,54	122,89
	Desviación estándar	6,55	8,13	16,40	23,72	17,66
Concentración hierro (mg/100g)	Promedio	4,91	4,75	4,61	4,99	5,34
	Desviación estándar	0,45	0,75	0,64	0,44	0,71
Concentración sodio (mg/100g)	Promedio	12,53	8,36	12,09	12,73	12,77
	Desviación estándar	4,51	1,41	4,75	3,87	7,31
Concentración potasio (mg/100g)	Promedio	1192,62	1210,18	1207,62	1204,04	1239,13
	Desviación estándar	110,69	93,08	104,19	136,66	87,86

Además con los promedios calculados de los resultados obtenidos al analizar una variedad de un lugar en específico se construyó la Tabla 3.17 del rango de porcentaje de humedad, concentración de calcio, hierro, sodio y potasio de las cinco variedades de fréjol:

Tabla 3.17. Datos nutricionales obtenidos en las cinco variedades de fréjol

Variedad	%Humedad	Calcio (mg/100g)	Hierro (mg/100g)	Sodio (mg/100g)	Potasio (mg/100g)
Canario	10,36-13,23	68,55-83,69	4,34-5,30	7,79-16,45	1051,13-1324,94
Bayo	10,84-12,45	65,59-82,87	3,54-5,23	7,70-8,80	1095,89-1330,53
Blanco	11,94-12,91	74,40-109,14	3,73-5,08	5,93-15,72	1085,62-1372,12
Rojo	10,63-12,71	53,53-108,08	4,49-5,47	11,21-14,59	1039,51-1390,02
Negro	11,37-12,86	109,33-149,33	4,33-6,29	5,23-20,93	1160,85-1328,89

3.2 PRUEBAS DE SIGNIFICACIÓN

Una vez calculados los estadísticos: promedio, desviación estándar y coeficiente de variación se realizaron las pruebas de significación para determinar si existen diferencias significativas entre variedades y muestras. En caso de presentarse diferencias se realizarán las pruebas estadísticas que permitan encontrar específicamente las muestras que difieran entre sí.

3.2.1 PRUEBA t

Para demostrar si existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos experimentalmente y los datos reportados en la tabla de composición de los alimentos ecuatorianos, presente en el Anexo 1, se realizó la prueba t.

Para cada parámetro, se tomó el valor del promedio total de cada variedad (15 datos) y se lo comparó con el presentado en la tabla, únicamente de las muestras especificadas. En el caso de los datos del fréjol rojo se realizó la comparación con los datos del fréjol cholo, ya que se lo conoce de ambas maneras.

Tabla 3.18. Datos reportados en la tabla de composición de los alimentos ecuatorianos de 1965

Parámetro	Canario	Bayo	Blanco	Cholo
% Humedad	14,5	12,4	11,4	14,7
Concentración calcio (mg/100g)	102	130	131	119
Concentración hierro (mg/100g)	4,6	6,7	6,6	5,7

En la tabla de composición de los alimentos ecuatorianos no se encontraron reportados datos para la composición química del fréjol negro, ni los resultados referentes a la concentración de sodio y potasio en ninguna variedad de fréjol analizada.

Para comparar los resultados experimentales con los datos teóricos de la tabla de composición de los alimentos ecuatorianos, se tomó como valor de $t_{14;0.05} = 1,7613$. El valor fue tomado de la tabla de distribución t de Student presente en el Anexo 2. En esta prueba se usó el t tabulado a 14 grados de libertad en un intervalo de confianza del 95 %. El modelo de cálculo se encuentra en el Anexo 5. La Tabla 3.19 muestra los resultados de la prueba t, en la cual la hipótesis nula se simboliza con H_0 .

Tabla 3.19. Resultados de la prueba t de las variedades de fréjol analizadas que se encuentran en la tabla de composición de los alimentos ecuatorianos de 1965

Parámetro	Variedad	t calculado	Criterio
% Humedad	Canario	8,2405	H_0 rechazada
	Bayo	4,4127	H_0 rechazada
	Blanco	12,2514	H_0 rechazada
	Rojo	14,2938	H_0 rechazada
Concentración calcio (mg/100g)	Canario	15,8832	H_0 rechazada
	Bayo	28,6067	H_0 rechazada
	Blanco	8,4678	H_0 rechazada
	Rojo	5,4632	H_0 rechazada
Concentración hierro (mg/100g)	Canario	2,6751	H_0 rechazada
	Bayo	10,0913	H_0 rechazada
	Blanco	12,0741	H_0 rechazada
	Rojo	6,3075	H_0 rechazada

El criterio de aceptación y rechazo de la hipótesis nula para la prueba t depende del valor de t calculada. Cuando la t calculada es mayor que la t tabulada, la hipótesis nula se rechaza; con lo que, se comprueba que existen diferencias significativas entre los datos experimentales y los datos de la tabla. Por ello es justificable la realización de nuevos estudios de la composición de los alimentos.

Probablemente estas diferencias se deban al desarrollo tecnológico que existe con respecto a los equipos utilizados para el análisis de la composición de los alimentos en el año de 1965 y a las condiciones en que fueron realizaron los análisis.

3.2.2 ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)

3.2.2.1 ANOVA ENTRE VARIEDADES

Para cada parámetro, se realizó el análisis de varianza para evaluar si existen diferencias significativas entre las cinco variedades de fréjol. Los promedios que se utilizaran en este caso, serán los obtenidos a partir de los 15 datos experimentales de cada muestra.

El valor tabulado de F tabulado para el análisis de varianza entre variedades que se tomó es aquel determinado para 4 grados de libertad del numerador y 70 grados de libertad del denominador a 95 % de confianza. El valor de F tabulado = 2,50 según la

tabla de Fisher, presente en el Anexo 3. El modelo de cálculo se encuentra en el Anexo

5. La Tabla 3.20 presenta los resultados de los análisis de varianza entre variedades:

Tabla 3.20. ANOVA para las cinco variedades de fréjol

Parámetro	Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F	Criterio
%Humedad	Entre variedades	4	8,2207	2,0552	4,13	H ₀ rechazada
	Error	70	34,796	0,4971		
	Total	74	43,0166			
Concentración calcio (mg/100g)	Entre variedades	4	26267,6217	6566,9054	26,15	H ₀ rechazada
	Error	70	17578,4207	251,1203		
	Total	74	43846,0424			
Concentración hierro (mg/100g)	Entre variedades	4	4,6079	1,1520	3,08	H ₀ rechazada
	Error	70	26,2026	0,3743		
	Total	74	30,8105			
Concentración sodio (mg/100g)	Entre variedades	4	212,6330	53,1583	2,35	H ₀ aceptada
	Error	70	1586,4519	22,6636		
	Total	74	1799,0849			
Concentración potasio (mg/100g)	Entre variedades	4	17840,4986	4460,1247	0,38	H ₀ aceptada
	Error	70	814376,2364	11633,9462		
	Total	74	832216,7350			

Cuando se realiza el análisis de varianza entre variedades, los datos utilizados son los 15 resultados experimentales por cada variedad de fréjol (muestras de 5 lugares diferentes analizadas por triplicado). Los factores son las cinco variedades de fréjol y las replicas son 15 resultados experimentales.

La variabilidad de la concentración de calcio y hierro y de la humedad en las variedades fue comprobada al rechazar la hipótesis nula. Esto significa que en los tres primeros parámetros las variedades presentan diferencias estadísticamente significativas entre variedades.

Mientras que, para la concentración de sodio y la concentración de potasio la hipótesis nula fue aceptada, estableciendo que no existen diferencias significativas. Para estos dos metales los resultados son más constantes entre variedades.

Estos resultados permiten establecer que los errores se deben al factor variedad y no al método usado en el análisis.

3.2.2.2 ANOVA ENTRE MUESTRAS

Una vez realizado el análisis de varianza entre variedades, y al comprobar que existen diferencias significativas, se realiza el análisis de varianza entre muestras. Lo que

permite determinar exactamente el conjunto de muestras que presentan diferencias significativas, teniendo en cuenta a las variedades como un grupo individual. Es decir, se compararán los lugares de los que se llevo a cabo el muestreo y se determinarán las variedades que presentan diferencias significativas.

Para el análisis de varianza entre muestras, cada parámetro se calcula utilizando los resultados experimentales de los lugares de la toma de muestra (factor) y los análisis realizados por triplicado (réplicas), para cada variedad de fréjol.

El valor tabulado de F tabulado para el análisis de varianza entre muestras que se tomó es aquel determinado para 4 grados de libertad del numerador y 10 grados de libertad del denominador a 95 % de confianza. El valor de F es 3,48, presente en el Anexo 4.

A continuación se muestran las tablas con los resultados de análisis de varianza entre muestras realizados para cada parámetro.

El modelo de cálculo se encuentra en el Anexo 5.

Tabla 3.21. ANOVA para el porcentaje de humedad en las cinco muestras de cada variedad de fréjol

Variedad	Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F	Criterio
Canario	Entre muestras	4	15,3562	3,8391	934,59	H ₀ rechazada
	Error	10	0,0411	0,0041		
	Total	14	15,3973			
Bayo	Entre muestras	4	4,1358	1,0340	50,02	H ₀ rechazada
	Error	10	0,2067	0,0207		
	Total	14	4,3425			
Blanco	Entre muestras	4	1,7560	0,4400	17,00	H ₀ rechazada
	Error	10	0,2588	0,0259		
	Total	14	2,0187			
Rojo	Entre muestras	4	8,8841	2,2210	64,11	H ₀ rechazada
	Error	10	0,3464	0,0346		
	Total	14	9,2305			
Negro	Entre muestras	4	3,4640	0,8660	25,25	H ₀ rechazada
	Error	10	0,3429	0,0333		
	Total	14	3,8069			

Al realizar el análisis de varianza entre muestras para el porcentaje de humedad se identificó que existen diferencias significativas en todos los casos. Es decir, que tomando en cuenta a cada variedad como un grupo individual, y comparando las cinco muestras que conforman las variedades, al menos una de ellas presenta diferencias significativas con las demás muestras.

Conjuntamente con los resultados obtenidos en el análisis de varianza realizado entre variedades, se determinó que, tanto las variedades como las muestras de cada variedad presentan diferencias significativas entre sí.

En resumen, refiriéndose específicamente al porcentaje de humedad, se determinó que al comparar las cinco variedades de fréjol (canario, bayo, blanco, rojo y negro) todas las variedades difieren entre sí; además que, tomando como un grupo individual a cada variedad, al menos una de las muestras es significativamente diferente de las demás con un 95 % de confianza.

Tabla 3.22. ANOVA para la concentración de calcio (mg/100g) en las cinco muestras de cada variedad de fréjol

Variedad	Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F	Criterio
Canario	Entre muestras	4	488,4747	122,1187	10,91	H ₀ rechazada
	Error	10	111,9425	11,1942		
	Total	14	600,4172			
Bayo	Entre muestras	4	633,3759	158,3440	4,75	H ₀ rechazada
	Error	10	333,478	33,3478		
	Total	14	966,654			
Blanco	Entre muestras	4	2665,6122	741,4031	9,28	H ₀ rechazada
	Error	10	799,272	79,9272		
	Total	14	3764,8842			
Rojo	Entre muestras	4	7211,1896	1802,7974	27,02	H ₀ rechazada
	Error	10	667,3154	66,7315		
	Total	14	7878,505			
Negro	Entre muestras	4	3151,4510	787,8627	6,48	H ₀ rechazada
	Error	10	1216,3094	121,6309		
	Total	14	4367,7604			

Referente a la concentración de calcio se determinó que al realizar el análisis de varianza entre muestras, existen diferencias significativas en todos los casos. Ya que, tomando a cada variedad individualmente, y comparando las cinco muestras que las conforman, todas presentan diferencias significativas.

En conjunto con los resultados obtenidos en el análisis de varianza realizado entre variedades, se determinó que, tanto las variedades como las muestras de cada variedad presentan diferencias significativas entre sí.

En resumen, refiriéndose específicamente a la concentración de calcio, se determinó que al comparar las cinco variedades de fréjol todas las variedades difieren entre sí; además que, tomando como un grupo individual a cada variedad, al menos una muestra es significativamente diferente de las demás con un 95 % de confianza.

Tabla 3.23. ANOVA para la concentración de hierro (mg/100g) en las cinco muestras de cada variedad de fréjol

Variedad	Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F	Criterio
Canario	Entre muestras	4	1,9942	0,4985	5,6268	H ₀ rechazada
	Error	10	0,886	0,0886		
	Total	14	2,8802			
Bayo	Entre muestras	4	6,0676	1,0340	50,0164	H ₀ rechazada
	Error	10	1,7949	0,0207		
	Total	14	7,8625			
Blanco	Entre muestras	4	3,7741	0,9435	4,8553	H ₀ rechazada
	Error	10	1,9433	0,1943		
	Total	14	5,7173			
Rojo	Entre muestras	4	2,1914	0,5478	10,9127	H ₀ rechazada
	Error	10	0,502	0,0502		
	Total	14	2,6934			
Negro	Entre muestras	4	6,6484	1,6621	41,4734	H ₀ rechazada
	Error	10	0,4008	0,0401		
	Total	14	7,0491			

Al realizar el análisis de varianza entre muestras, para la concentración de hierro se determinó que todos los casos presentan diferencias significativas. Es decir, que al tomar a cada variedad como un grupo individual, y comparando las cinco muestras que las conforman, al menos una de ellas presenta diferencias significativas con las demás muestras.

Conjuntamente con los resultados obtenidos en el análisis de varianza realizado entre variedades, se determinó que, tanto las variedades como las muestras de cada variedad presentan diferencias significativas entre sí.

En resumen, refiriéndose específicamente a la concentración de hierro, se determinó que al comparar las cinco variedades de fréjol (canario, bayo, blanco, rojo y negro) todas las variedades difieren entre sí; además que, tomando como un grupo individual a cada variedad, al menos una de las muestras es significativamente diferente de las demás con un 95 % de confianza.

Tabla 3.24. ANOVA para la concentración de sodio (mg/100g) en las cinco muestras de cada variedad de fréjol

Variedad	Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F	Criterio
Canario	Entre muestras	4	198,6452	49,6613	5,63	H ₀ rechazada
	Error	10	85,8678	8,5868		
	Total	14	284,513			
Bayo	Entre muestras	4	2,2971	0,5743	50,02	H ₀ rechazada
	Error	10	25,5364	2,5536		
	Total	14	27,8334			
Blanco	Entre muestras	4	204,7968	51,1992	4,86	H ₀ rechazada
	Error	10	111,6886	11,1689		
	Total	14	316,4854			
Rojo	Entre muestras	4	18,8724	4,7181	10,91	H ₀ rechazada
	Error	10	191,1298	19,1130		
	Total	14	210,0022			
Negro	Entre muestras	4	623,7946	155,9486	41,47	H ₀ rechazada
	Error	10	123,8233	12,3823		
	Total	14	747,6179			

Al realizar el análisis de varianza entre muestras, para la concentración de sodio se determinó que entre muestras de una misma variedad se presentan diferencias significativas. Es decir, que al tomar a cada variedad como un grupo individual, y comparando las cinco muestras que las conforman, al menos una de ellas presenta diferencias significativas con las demás muestras.

En el análisis de varianza entre variedades, para la concentración de sodio, se determinó que no existen diferencias significativas, ya que los resultados obtenidos fueron más constantes al comparar las variedades. Sin embargo, al realizar el análisis de varianza entre muestras si se encontró diferencias significativas.

En resumen, refiriéndose específicamente a la concentración de sodio, se determinó que al comparar las cinco variedades de fréjol (canario, bayo, blanco, rojo y negro) ninguna de las variedades difiere entre sí; sin embargo, tomando como un grupo individual a cada variedad, al menos una muestra es significativamente diferente de las demás con un 95 % de confianza.

Tabla 3.25. ANOVA para la concentración de potasio (mg/100g) en las cinco muestras de cada variedad de fréjol

Variedad	Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F	Criterio
Canario	Entre muestras	4	113534,3688	28383,5922	4,89	H ₀ rechazada
	Error	10	58012,5196	5801,2520		
	Total	14	171546,8884			
Bayo	Entre muestras	4	93730,6516	23432,6629	8,50	H ₀ rechazada
	Error	10	27564,4096	2756,4410		
	Total	14	121295,0613			
Blanco	Entre muestras	4	133036,9007	33259,2252	17,55	H ₀ rechazada
	Error	10	18952,7998	1895,2800		
	Total	14	151989,7005			
Rojo	Entre muestras	4	251612,9398	62903,2350	63,82	H ₀ rechazada
	Error	10	9856,233	985,6233		
	Total	14	261469,1728			
Negro	Entre muestras	4	52400,4841	13100,1210	2,35	H ₀ aceptada
	Error	10	55674,9293	5567,4929		
	Total	14	108075,4134			

Al realizar el análisis de varianza entre muestras, para la concentración de potasio se determinó que entre muestras de una misma variedad se presentan diferencias significativas, con la excepción del de fréjol negro, el cual no presenta diferencias significativas entre muestras. Es decir, que al tomar a cada variedad como un grupo individual, y comparando las cinco muestras que las conforman, para el fréjol canario, bayo, blanco y rojo existe al menos una muestra que presenta diferencias significativas con las demás muestras. Y únicamente el fréjol negro no presenta muestras que difieran entre sí.

En el análisis de varianza entre variedades, para la concentración de potasio, se determinó que no existen diferencias significativas, ya que los resultados obtenidos fueron constantes al comparar las variedades. Sin embargo, al realizar el análisis de varianza entre muestras si se encontró diferencias significativas para el fréjol canario, bayo, blanco y rojo.

En resumen, refiriéndose específicamente a la concentración de potasio, se determinó que al comparar las cinco variedades de fréjol (canario, bayo, blanco, rojo y negro) ninguna de las variedades difiere entre sí; sin embargo, tomando como un grupo individual a cada variedad, al menos una muestra es significativamente diferente de las demás con un 95 % de confianza. A excepción del fréjol negro, que no presenta diferencias significativas entre muestras.

3.2.3 PRUEBA HSD DE TUKEY

Después de realizar el análisis de varianza, el cual nos indica que al menos una de las medias difiere de las otras, pero no nos indica cuál, o si es más de una, o si son todas las que difieren entre sí. Resulta imprescindible realizar la prueba de Tukey, la cual compara una a una todas las medias y determina cuantas y cuáles son las que presentan diferencias significativas.

3.2.3.1 PRUEBA DE TUKEY PARA VARIEDADES

Para cada parámetro analizado, se utilizó la prueba de Tukey para realizar una comparación entre variedades, y así poder encontrar cuales son las que difieren. Para los cálculos los grados de libertad del error es 70 y el número de tratamientos es 5, por lo que, el valor de q encontrado en la tabla de Tukey, presente en el Anexo 4, es 3,98 trabajando al 95 % de confianza.

A continuación se presentan las tablas para la prueba de Tukey de cada parámetro que presenta diferencias significativas entre variedades. El modelo de cálculo se encuentra en el Anexo 5.

Tabla 3.26. Prueba de Tukey para el porcentaje de humedad en las cinco variedades de fréjol

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
Canario con bayo	0,50	0,72	H ₀ aceptada
Canario con blanco	0,33	0,72	H ₀ aceptada
Canario con rojo	0,57	0,72	H ₀ aceptada
Canario con negro	0,19	0,72	H ₀ aceptada
Bayo con blanco	0,84	0,72	H ₀ rechazada
Bayo con rojo	0,06	0,72	H ₀ aceptada
Bayo con negro	0,31	0,72	H ₀ aceptada
Blanco con rojo	0,90	0,72	H ₀ rechazada
Blanco con negro	0,53	0,72	H ₀ aceptada
Rojo con negro	0,37	0,72	H ₀ aceptada

En la Tabla 3.26 se evidencia que la mayoría de variedades no difieren entre sí, a excepción del fréjol blanco con el fréjol bayo y con el rojo. Existen diferencias significativas entre el fréjol blanco y los fréjoles bayo y rojo porque el contenido de humedad del fréjol blanco con 12,60 % es el porcentaje de humedad más alto de todas las variedades, esto se puede evidenciar en la Tabla 3.2 y en su discusión.

La humedad en las muestras de fréjol es un parámetro que podemos considerar que no cambia de una variedad a otra. Sin embargo, se concluye que el fréjol blanco es la variedad que se comercializa con mayor porcentaje de humedad.

Tabla 3.27. Prueba de Tukey para la concentración de calcio (mg/100g) en las cinco variedades de fréjol

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
Canario con bayo	5,20	16,28	H ₀ aceptada
Canario con blanco	20,00	16,28	H ₀ rechazada
Canario con rojo	10,39	16,28	H ₀ aceptada
Canario con negro	47,75	16,28	H ₀ rechazada
Bayo con blanco	25,20	16,28	H ₀ rechazada
Bayo con rojo	15,59	16,28	H ₀ aceptada
Bayo con negro	52,95	16,28	H ₀ rechazada
Blanco con rojo	9,61	16,28	H ₀ aceptada
Blanco con negro	27,75	16,28	H ₀ rechazada
Rojo con negro	37,36	16,28	H ₀ rechazada

En lo referente a la concentración de calcio, es notable que en este parámetro la cantidad de variedades que difieren entre sí aumentó. El fréjol blanco presenta diferencias significativas con el fréjol canario, bayo y negro, como se observa en la Tabla 3.5, el fréjol rojo, es la única variedad con la que no se muestran diferencias significativas. El fréjol negro presenta diferencias significativas con todas las variedades de fréjol y es la variedad que tiene mayor concentración de este mineral.

Tabla 3.28. Prueba de Tukey para la concentración de hierro (mg/100g) en las cinco variedades de fréjol

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
Canario con bayo	0,17	0,63	H ₀ aceptada
Canario con blanco	0,31	0,63	H ₀ aceptada
Canario con rojo	0,07	0,63	H ₀ aceptada
Canario con negro	0,43	0,63	H ₀ aceptada
Bayo con blanco	0,14	0,63	H ₀ aceptada
Bayo con rojo	0,24	0,63	H ₀ aceptada
Bayo con negro	0,59	0,63	H ₀ aceptada
Blanco con rojo	0,38	0,63	H ₀ aceptada
Blanco con negro	0,73	0,63	H ₀ rechazada
Rojo con negro	0,36	0,63	H ₀ aceptada

En cuanto a la concentración de hierro, la mayoría de variedades no difieren entre sí, a excepción del fréjol blanco con el fréjol negro, como se muestra en la Tabla 3.8. Esto se debe a que el fréjol blanco presenta la menor cantidad de hierro y el fréjol negro es la variedad con mayor concentración de este mineral.

3.2.3.2 PRUEBA DE TUKEY PARA MUESTRAS DE UNA MISMA VARIEDAD

Para cada parámetro analizado, se utilizó la prueba de Tukey para comparar cada una de las muestras de una misma variedad. Para los cálculos los grados de libertad del error es

10 y el número de tratamientos es 3, por lo que, el valor de q encontrado en la tabla de Tukey es 4,65 trabajando al 95 % de confianza, el cual se observa en el Anexo 4. El modelo de cálculo se encuentra en el Anexo 5.

- **PRUEBA DE TUKEY PARA EL PORCENTAJE DE HUMEDAD**

Para llevar a cabo la prueba de Tukey en el porcentaje de humedad para las muestras de una misma variedad, se utilizaron los resultados promedios de este parámetro presentes en la Tabla 3.2.

Tabla 3.29. Prueba de Tukey para el porcentaje de humedad en fréjol canario

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	0,60	0,17	H ₀ rechazada
1 con 3	0,44	0,17	H ₀ rechazada
1 con 4	0,02	0,17	H ₀ aceptada
1 con 5	2,43	0,17	H ₀ rechazada
2 con 3	1,04	0,17	H ₀ rechazada
2 con 4	0,58	0,17	H ₀ rechazada
2 con 5	1,83	0,17	H ₀ rechazada
3 con 4	0,47	0,17	H ₀ rechazada
3 con 5	2,88	0,17	H ₀ rechazada
4 con 5	2,41	0,17	H ₀ rechazada

Se encontró que las únicas muestras de fréjol canario que no son significativamente diferentes, son la número 1 con la 4, siendo éstas dos aquellas más cercanas al promedio del porcentaje de humedad entre las cinco muestras de esta variedad.

Tabla 3.30. Prueba de Tukey para el porcentaje de humedad en fréjol bayo

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	0,12	0,39	H ₀ aceptada
1 con 3	0,62	0,39	H ₀ rechazada
1 con 4	0,09	0,39	H ₀ aceptada
1 con 5	1,00	0,39	H ₀ rechazada
2 con 3	0,50	0,39	H ₀ rechazada
2 con 4	0,20	0,39	H ₀ aceptada
2 con 5	1,12	0,39	H ₀ rechazada
3 con 4	0,71	0,39	H ₀ rechazada
3 con 5	1,62	0,39	H ₀ rechazada
4 con 5	0,91	0,39	H ₀ rechazada

En las muestras de fréjol bayo, las muestras que no difieren entre sí son la número 1 en relación a la 2 y 4, y la 2 en relación a la número 4; siendo las muestras 1, 2 y 4 aquellas que presentan promedios intermedios cercanos entre sí.

Tabla 3.31. Prueba de Tukey para el porcentaje de humedad en fréjol blanco

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	0,20	0,43	H ₀ aceptada
1 con 3	0,12	0,43	H ₀ aceptada
1 con 4	0,01	0,43	H ₀ aceptada
1 con 5	0,84	0,43	H ₀ rechazada
2 con 3	0,33	0,43	H ₀ aceptada
2 con 4	0,19	0,43	H ₀ aceptada
2 con 5	0,63	0,43	H ₀ rechazada
3 con 4	0,13	0,43	H ₀ aceptada
3 con 5	0,96	0,43	H ₀ rechazada
4 con 5	0,83	0,43	H ₀ rechazada

En el caso de fréjol blanco, las muestras que no presentan diferencias estadísticamente significativas entre sí son las muestras 1, 2, 3 y 4. Estas muestras presentan promedios muy similares entre sí.

La única muestra que presenta diferencias significativas es la muestra 5, ya que es la única que tiene valores alejados de las demás muestras. Esto se debe a que la muestra 5 presenta los resultados experimentales más bajos comparados con las demás muestras.

Tabla 3.32. Prueba de Tukey para el porcentaje de humedad en fréjol rojo

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	1,02	0,50	H ₀ rechazada
1 con 3	0,67	0,50	H ₀ rechazada
1 con 4	0,59	0,50	H ₀ rechazada
1 con 5	1,07	0,50	H ₀ rechazada
2 con 3	0,35	0,50	H ₀ aceptada
2 con 4	1,61	0,50	H ₀ rechazada
2 con 5	2,08	0,50	H ₀ rechazada
3 con 4	1,26	0,50	H ₀ rechazada
3 con 5	1,73	0,50	H ₀ rechazada
4 con 5	0,48	0,50	H ₀ aceptada

Para el fréjol rojo, la mayoría de las muestras presentan diferencias estadísticamente significativas entre sí, a excepción de las muestra 2 con la 3, y la 4 con la 5.

Únicamente aquellas muestras que presenten resultados experimentales cercanos entre sí no presentan diferencias entre sí. Por lo que, sólo las muestras 2 con la 3 y las muestras 4 con la 5 no presentan diferencias, al tener promedios cercanos entre sí.

Tabla 3.33. Prueba de Tukey para el porcentaje de humedad en fréjol negro

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	0,76	0,49	H ₀ rechazada
1 con 3	0,73	0,49	H ₀ rechazada
1 con 4	1,50	0,49	H ₀ rechazada
1 con 5	0,95	0,49	H ₀ rechazada
2 con 3	0,03	0,49	H ₀ aceptada
2 con 4	0,74	0,49	H ₀ rechazada
2 con 5	0,20	0,49	H ₀ aceptada
3 con 4	0,77	0,49	H ₀ rechazada
3 con 5	0,23	0,49	H ₀ aceptada
4 con 5	0,54	0,49	H ₀ rechazada

Por último, se obtuvo que las muestras del fréjol negro, que no difieren entre sí son la número 2 en relación a la 3 y 5, y la número 3 con la 5; las cuales son muestras que se encuentran en valores intermedios con respecto al promedio del porcentaje de humedad.

- **PRUEBA DE TUKEY PARA LA CONCENTRACIÓN DE CALCIO**

Para llevar a cabo la prueba de Tukey de la concentración de calcio para las muestras de una misma variedad, se utilizaron los resultados promedios de este parámetro presentes en la Tabla 3.5.

Tabla 3.34. Prueba de Tukey para la concentración de calcio (mg/100g) en fréjol canario

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	3,81	8,98	H ₀ aceptada
1 con 3	8,91	8,98	H ₀ aceptada
1 con 4	7,27	8,98	H ₀ aceptada
1 con 5	11,34	8,98	H ₀ rechazada
2 con 3	12,72	8,98	H ₀ rechazada
2 con 4	11,08	8,98	H ₀ rechazada
2 con 5	15,14	8,98	H ₀ rechazada
3 con 4	1,64	8,98	H ₀ aceptada
3 con 5	2,43	8,98	H ₀ aceptada
4 con 5	4,07	8,98	H ₀ aceptada

Se determinó que las muestras de fréjol canario que no son significativamente diferentes, son la número 1 con la 5, y la número 2 en relación a la 3, 4 y 5.

La muestra 2 es la contiene mayor concentración de calcio, por ello, difiere con la mayoría de muestras de esta variedad.

Tabla 3.35. Prueba de Tukey para la concentración de calcio (mg/100g) en fréjol bayo

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	16,33	15,50	H ₀ rechazada
1 con 3	0,93	15,50	H ₀ aceptada
1 con 4	0,95	15,50	H ₀ aceptada
1 con 5	0,71	15,50	H ₀ aceptada
2 con 3	15,41	15,50	H ₀ aceptada
2 con 4	17,29	15,50	H ₀ rechazada
2 con 5	15,62	15,50	H ₀ rechazada
3 con 4	1,88	15,50	H ₀ aceptada
3 con 5	0,22	15,50	H ₀ aceptada
4 con 5	1,66	15,50	H ₀ aceptada

En las muestras de fréjol bayo, la mayoría de muestras no difieren entre sí, excepto la número 1 con la 2, y la número 2 en relación con la 4 y 5.

En el caso de la muestra 1 con la 2, esta diferencia se debe a que son los extremos en los promedios de concentración de calcio. Del mismo modo, al ser la 2 aquella muestra con mayor concentración, difiere de las demás muestras que tiene una gran diferencia en concentración.

Tabla 3.36. Prueba de Tukey para la concentración de calcio (mg/100g) en fréjol blanco

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	24,78	24,00	H ₀ rechazada
1 con 3	4,64	24,00	H ₀ aceptada
1 con 4	32,80	24,00	H ₀ rechazada
1 con 5	1,94	24,00	H ₀ aceptada
2 con 3	20,14	24,00	H ₀ aceptada
2 con 4	8,02	24,00	H ₀ aceptada
2 con 5	26,72	24,00	H ₀ rechazada
3 con 4	28,16	24,00	H ₀ rechazada
3 con 5	6,59	24,00	H ₀ aceptada
4 con 5	34,74	24,00	H ₀ rechazada

En el caso de fréjol blanco, las muestras que tienen diferencias significativas son las muestras 1 con relación a la 3 y 5, la número 2 con relación a la 3 y 4, y la número 3 con la 5.

En el caso de las muestras 1, 3 y 5 son aquellas con las tres mayores concentraciones de calcio. Las muestras 2, 3 y 4 son las tres muestras de menor concentración.

Tabla 3.37. Prueba de Tukey para la concentración de calcio (mg/100g) en fréjol rojo

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	10,50	21,93	H ₀ aceptada
1 con 3	2,70	21,93	H ₀ aceptada
1 con 4	39,58	21,93	H ₀ rechazada
1 con 5	51,86	21,93	H ₀ rechazada
2 con 3	13,20	21,93	H ₀ aceptada
2 con 4	29,08	21,93	H ₀ rechazada
2 con 5	41,36	21,93	H ₀ rechazada
3 con 4	42,28	21,93	H ₀ rechazada
3 con 5	54,56	21,93	H ₀ rechazada
4 con 5	12,28	21,93	H ₀ aceptada

Para el fréjol rojo, las muestras que no presentan diferencias significativas son la 1 con relación a la 2 y 3, la número 2 con la 3, y la número 4 con la 5.

En el caso de las muestras 1, 2 y 3 son aquellas con las tres mayores concentraciones de calcio. Las muestras 2, 3 y 4 son las tres muestras de mayor concentración. En cambio, la muestra 4 y 5, se encuentran más cercanas y son de menor concentración.

Tabla 3.38. Prueba de Tukey para la concentración de calcio (mg/100g) en fréjol negro

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	37,61	29,61	H ₀ rechazada
1 con 3	14,85	29,61	H ₀ aceptada
1 con 4	5,79	29,61	H ₀ aceptada
1 con 5	2,40	29,61	H ₀ aceptada
2 con 3	31,69	29,61	H ₀ rechazada
2 con 4	22,63	29,61	H ₀ aceptada
2 con 5	14,44	29,61	H ₀ aceptada
3 con 4	9,43	29,61	H ₀ aceptada
3 con 5	1,24	29,61	H ₀ aceptada
4 con 5	43,52	29,61	H ₀ rechazada

Por último, se determinó que la mayoría de muestras de fréjol negro no difieren entre sí, siendo únicamente la muestra número 1 con la 2, la 2 con la 3, y la 4 con la 5, aquellas que muestran diferencias significativas.

Esto sucede debido a que el valor de la concentración de la muestra 2 es más elevado con relación a la muestra 1 y 3.

- **PRUEBA DE TUKEY PARA LA CONCENTRACIÓN DE HIERRO**

Para llevar a cabo la prueba de Tukey de la concentración de hierro para las muestras de una misma variedad, se utilizaron los resultados promedios de este parámetro presentes en la Tabla 3.8.

Tabla 3.39. Prueba de Tukey para la concentración de hierro (mg/100g) en fréjol canario

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	0,97	0,80	H ₀ rechazada
1 con 3	0,37	0,80	H ₀ aceptada
1 con 4	0,01	0,80	H ₀ aceptada
1 con 5	0,62	0,80	H ₀ aceptada
2 con 3	0,60	0,80	H ₀ aceptada
2 con 4	0,96	0,80	H ₀ rechazada
2 con 5	0,35	0,80	H ₀ aceptada
3 con 4	0,36	0,80	H ₀ aceptada
3 con 5	0,25	0,80	H ₀ aceptada
4 con 5	0,61	0,80	H ₀ aceptada

El fréjol canario no presenta una diferencia estadísticamente significativa en la mayoría de las muestras, excepto la número 1 con la 2, y la 2 con la 4. La muestra 1 y 2 son los extremos en cuanto a la concentración de hierro, siendo la primera la más concentrada y

la segunda la menos concentrada. La muestra número 4 es la segunda más concentrada, por lo que, también se diferencia con la muestra 2.

Tabla 3.40. Prueba de Tukey para la concentración de hierro (mg/100g) en fréjol bayo

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	1,60	0,39	H ₀ rechazada
1 con 3	0,03	0,39	H ₀ aceptada
1 con 4	0,09	0,39	H ₀ aceptada
1 con 5	0,48	0,39	H ₀ rechazada
2 con 3	1,63	0,39	H ₀ rechazada
2 con 4	1,69	0,39	H ₀ rechazada
2 con 5	1,12	0,39	H ₀ rechazada
3 con 4	0,06	0,39	H ₀ aceptada
3 con 5	0,51	0,39	H ₀ rechazada
4 con 5	0,57	0,39	H ₀ rechazada

En las muestras del fréjol bayo, las muestras que difieren entre sí son la número 1 en relación a la 3 y 4, y la número 3 con la 4. Las muestra 1, 3 y 4 difieren entre sí por ser valores elevados para la concentración, en comparación a las demás muestras.

Tabla 3.41. Prueba de Tukey para la concentración de hierro (mg/100g) en fréjol blanco

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	1,30	1,18	H ₀ rechazada
1 con 3	0,23	1,18	H ₀ aceptada
1 con 4	0,64	1,18	H ₀ aceptada
1 con 5	0,05	1,18	H ₀ aceptada
2 con 3	1,07	1,18	H ₀ aceptada
2 con 4	0,66	1,18	H ₀ aceptada
2 con 5	1,35	1,18	H ₀ rechazada
3 con 4	0,41	1,18	H ₀ aceptada
3 con 5	0,28	1,18	H ₀ aceptada
4 con 5	0,69	1,18	H ₀ aceptada

Para el fréjol blanco, la mayoría de las muestras no presentan diferencias significativas entre sí, excepto la muestra número 1 con la 2, y la número 2 con la 5.

Esto se debe a que, los valores de la muestra 1 y 5 con considerablemente mayores a la concentración de la muestra número 2.

Tabla 3.42. Prueba de Tukey para la concentración de hierro (mg/100g) en fréjol rojo

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	0,25	0,60	H ₀ aceptada
1 con 3	0,45	0,60	H ₀ aceptada
1 con 4	0,32	0,60	H ₀ aceptada
1 con 5	0,52	0,60	H ₀ aceptada
2 con 3	0,21	0,60	H ₀ aceptada
2 con 4	0,57	0,60	H ₀ aceptada
2 con 5	0,77	0,60	H ₀ rechazada
3 con 4	0,77	0,60	H ₀ rechazada
3 con 5	0,97	0,60	H ₀ rechazada
4 con 5	0,20	0,60	H ₀ aceptada

Refiriéndose al fréjol rojo, la mayoría de las muestras no presentan diferencias significativas entre sí, excepto la muestra número 2 con la 5, y la 3 con relación a la 4 y 5.

La muestra 2 y 5 difieren por ser concentraciones alejadas al promedio total. Además, la muestra 3, al ser la más concentrada, tiene diferencias significativas con las muestras 4 y 5, que son aquellas de menor concentración.

Tabla 3.43. Prueba de Tukey para la concentración de hierro (mg/100g) en fréjol negro

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	1,02	0,54	H ₀ rechazada
1 con 3	0,39	0,54	H ₀ aceptada
1 con 4	0,38	0,54	H ₀ aceptada
1 con 5	0,94	0,54	H ₀ rechazada
2 con 3	0,49	0,54	H ₀ aceptada
2 con 4	0,28	0,54	H ₀ aceptada
2 con 5	1,03	0,54	H ₀ rechazada
3 con 4	0,49	0,54	H ₀ aceptada
3 con 5	0,83	0,54	H ₀ rechazada
4 con 5	1,60	0,54	H ₀ rechazada

El fréjol negro, presenta diferencias significativas en la muestra 1 con la 2, y la muestra número 5 con relación a la 1, 2, 3 y 4.

La muestra 1 difiere con la 2 por ser los extremos de la concentración de hierro para esta variedad de fréjol. Aparte, la número 5 al ser la muestra de mayor concentración y mostrar una marcada diferencia con las otras muestras, presenta diferencias significativas en todos los casos.

- **PRUEBA DE TUKEY PARA LA CONCENTRACIÓN DE SODIO**

Para llevar a cabo la prueba de Tukey de la concentración de sodio para las muestras de una misma variedad, se utilizaron los resultados promedios de este parámetro presentes en la Tabla 3.11.

Tabla 3.44. Prueba de Tukey para la concentración de sodio (mg/100g) en fréjol canario

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	7,06	7,86	H ₀ aceptada
1 con 3	0,24	7,86	H ₀ aceptada
1 con 4	6,38	7,86	H ₀ aceptada
1 con 5	1,60	7,86	H ₀ aceptada
2 con 3	7,30	7,86	H ₀ aceptada
2 con 4	0,68	7,86	H ₀ aceptada
2 con 5	8,66	7,86	H ₀ rechazada
3 con 4	6,62	7,86	H ₀ aceptada
3 con 5	1,36	7,86	H ₀ aceptada
4 con 5	7,98	7,86	H ₀ rechazada

El fréjol canario presenta únicamente diferencias significativas para las muestras número 5 con la 2 y la 4. Esto se debe a que los la muestras 5 es el mayor valor

diferenciándose mucho con la muestra 2 y 4 que presentan valores cercanos entre sí pero bajos.

Tabla 3.45. Prueba de Tukey para la concentración de sodio (mg/100g) en fréjol bayo

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	0,54	4,29	H ₀ aceptada
1 con 3	1,00	4,29	H ₀ aceptada
1 con 4	0,64	4,29	H ₀ aceptada
1 con 5	1,10	4,29	H ₀ aceptada
2 con 3	0,46	4,29	H ₀ aceptada
2 con 4	0,10	4,29	H ₀ aceptada
2 con 5	0,56	4,29	H ₀ aceptada
3 con 4	0,36	4,29	H ₀ aceptada
3 con 5	0,10	4,29	H ₀ aceptada
4 con 5	0,46	4,29	H ₀ aceptada

En el caso del fréjol bayo no se presenta diferencias significativas en ninguna muestra, ya que las concentraciones de este mineral se encuentran muy cercanas entre sí y en todos los casos se aproximan al promedio de este parámetro. Esto comprueba que la proveniencia de las muestras no interfiere en los resultados obtenidos.

Tabla 3.46. Prueba de Tukey para la concentración de sodio (mg/100g) en fréjol blanco

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	5,90	8,97	H ₀ aceptada
1 con 3	9,79	8,97	H ₀ rechazada
1 con 4	5,39	8,97	H ₀ aceptada
1 con 5	9,72	8,97	H ₀ rechazada
2 con 3	3,89	8,97	H ₀ aceptada
2 con 4	0,51	8,97	H ₀ aceptada
2 con 5	3,82	8,97	H ₀ aceptada
3 con 4	4,40	8,97	H ₀ aceptada
3 con 5	0,07	8,97	H ₀ aceptada
4 con 5	4,33	8,97	H ₀ aceptada

Para las muestras del fréjol blanco, sólo existen dos casos en los que hay diferencias significativas, para la muestra 1 en relación con la 3 y con la 5.

Esto se debe a que la muestra 1 presenta la más baja concentración de esta mineral y la muestra 3 y 5 son aquellas muestras con mayor contenido de sodio.

Tabla 3.47. Prueba de Tukey para la concentración de sodio (mg/100g) en fréjol rojo

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	3,38	11,74	H ₀ aceptada
1 con 3	1,10	11,74	H ₀ aceptada
1 con 4	1,13	11,74	H ₀ aceptada
1 con 5	1,98	11,74	H ₀ aceptada
2 con 3	2,28	11,74	H ₀ aceptada
2 con 4	2,24	11,74	H ₀ aceptada
2 con 5	1,40	11,74	H ₀ aceptada
3 con 4	0,03	11,74	H ₀ aceptada
3 con 5	0,88	11,74	H ₀ aceptada
4 con 5	0,84	11,74	H ₀ aceptada

Para el fréjol rojo no se encontraron diferencias significativas en ninguna muestra, esto sucede porque las concentraciones de este mineral se encuentran muy cercanas entre sí y en todos los casos se aproximan al promedio de este parámetro.

Esto comprueba que la proveniencia de las muestras no interfiere en los resultados obtenidos.

Tabla 3.48. Prueba de Tukey para la concentración de sodio (mg/100g) en fréjol negro

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	1,21	9,45	H ₀ aceptada
1 con 3	12,70	9,45	H ₀ rechazada
1 con 4	8,74	9,45	H ₀ aceptada
1 con 5	14,49	9,45	H ₀ rechazada
2 con 3	7,57	9,45	H ₀ aceptada
2 con 4	3,62	9,45	H ₀ aceptada
2 con 5	9,36	9,45	H ₀ aceptada
3 con 4	1,34	9,45	H ₀ aceptada
3 con 5	7,08	9,45	H ₀ aceptada
4 con 5	7,12	9,45	H ₀ aceptada

Para el fréjol negro, se observan tres casos en los que existen diferencias significativas la muestra 1 en relación con la 3 y con la 5, y la muestra 2 con la 5. Para esta variedad los valores del contenido de sodio difieren bastante entre las muestras, siendo la muestra 2 la más concentrada y la 5 la menos concentrada. Además la muestra 1 y 3 son muestras que están en valores intermedios, pero alejados del promedio total para este parámetro.

- **PRUEBA DE TUKEY PARA LA CONCENTRACIÓN DE POTASIO**

Para llevar a cabo la prueba de Tukey de la concentración de sodio para las muestras de una misma variedad, se utilizaron los resultados promedios de este parámetro presentes en la Tabla 3.14.

Tabla 3.49. Prueba de Tukey para la concentración de potasio (mg/100g) en fréjol canario

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	20,75	204,48	H ₀ aceptada
1 con 3	20,88	204,48	H ₀ aceptada
1 con 4	158,41	204,48	H ₀ aceptada
1 con 5	115,40	204,48	H ₀ aceptada
2 con 3	0,13	204,48	H ₀ aceptada
2 con 4	137,67	204,48	H ₀ aceptada
2 con 5	136,14	204,48	H ₀ aceptada
3 con 4	137,53	204,48	H ₀ aceptada
3 con 5	136,28	204,48	H ₀ aceptada
4 con 5	273,81	204,48	H ₀ rechazada

Se determinó que la única comparación de muestras de fréjol canario que no es significativamente diferente, es la número 4 con la 5. Esto se debe a que la muestra 5 es

la de mayor concentración, y por tanto difiere en mayor escala con la muestra 4 que es la muestra que presenta menor concentración de este mineral.

Tabla 3.50. Prueba de Tukey para la concentración de potasio (mg/100g) en fréjol bayo

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	84,04	140,95	H ₀ aceptada
1 con 3	26,85	140,95	H ₀ aceptada
1 con 4	75,31	140,95	H ₀ aceptada
1 con 5	159,33	140,95	H ₀ rechazada
2 con 3	57,19	140,95	H ₀ aceptada
2 con 4	159,35	140,95	H ₀ rechazada
2 con 5	75,29	140,95	H ₀ aceptada
3 con 4	102,16	140,95	H ₀ aceptada
3 con 5	132,48	140,95	H ₀ aceptada
4 con 5	234,64	140,95	H ₀ rechazada

En las muestras de fréjol bayo, la mayoría de muestras no difieren entre sí, excepto la número 1 con la 5, la 2 con la 4, y la 4 con la 5. Al ser la muestra 4 la de menor concentración, difiere con la muestra 2. Además, siendo la muestra 5 la de la mayor concentración de potasio, se observa una diferencia significativa con la muestra 1 y 4.

Tabla 3.51. Prueba de Tukey para la concentración de potasio (mg/100g) en fréjol blanco

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	37,73	116,88	H ₀ aceptada
1 con 3	21,53	116,88	H ₀ aceptada
1 con 4	102,43	116,88	H ₀ aceptada
1 con 5	184,07	116,88	H ₀ rechazada
2 con 3	59,25	116,88	H ₀ aceptada
2 con 4	140,16	116,88	H ₀ rechazada
2 con 5	146,34	116,88	H ₀ rechazada
3 con 4	80,91	116,88	H ₀ aceptada
3 con 5	205,59	116,88	H ₀ rechazada
4 con 5	286,50	116,88	H ₀ rechazada

En el caso del fréjol blanco, las muestras que tienen diferencias significativas son las muestras 1 con la 5, la número 2 con relación a la 4 y 5, la número 3 con la 5, y la 4 con la 5.

La muestra 2 difiere con la muestra 4 porque sus concentraciones están bastante alejadas. Todas las muestras tienen diferencias significativas con la muestra 5, ya que, esta es la de mayor concentración de sodio.

Tabla 3.52. Prueba de Tukey para la concentración de potasio (mg/100g) en fréjol rojo

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	208,06	84,28	H ₀ rechazada
1 con 3	128,91	84,28	H ₀ rechazada
1 con 4	269,70	84,28	H ₀ rechazada
1 con 5	80,81	84,28	H ₀ aceptada
2 con 3	79,15	84,28	H ₀ aceptada
2 con 4	61,64	84,28	H ₀ aceptada
2 con 5	288,87	84,28	H ₀ rechazada
3 con 4	140,79	84,28	H ₀ rechazada
3 con 5	209,72	84,28	H ₀ rechazada
4 con 5	350,51	84,28	H ₀ rechazada

Para el fréjol rojo, la mayoría de las muestras presentan diferencias significativas, siendo la número 1 diferente de la 2, 3 y 4, la número 2 con la 5, la 3 con relación a la 4 y 5, y la 4 con la 5.

La muestra 1 difiere de la 2, 3 y 4 porque los valores de la concentración de potasio son bajos, relacionados con esta muestra. En todos los casos, excepto para la primera muestra, la muestra número 5 tiene diferencias significativas, a causa de que el valor es excesivamente mayor a comparación de las demás muestras.

Tabla 3.53. Prueba de Tukey para la concentración de potasio (mg/100g) en fréjol negro

Comparación	Diferencia	HSD	Criterio
1 con 2	51,17	200,32	H ₀ aceptada
1 con 3	80,05	200,32	H ₀ aceptada
1 con 4	116,87	200,32	H ₀ aceptada
1 con 5	47,18	200,32	H ₀ aceptada
2 con 3	96,51	200,32	H ₀ aceptada
2 con 4	59,70	200,32	H ₀ aceptada
2 con 5	129,38	200,32	H ₀ aceptada
3 con 4	19,45	200,32	H ₀ aceptada
3 con 5	50,23	200,32	H ₀ aceptada
4 con 5	191,02	200,32	H ₀ aceptada

Por último, se determinó que todas las muestras de fréjol negro no difieren entre sí. Comprobando en este caso que la proveniencia de la muestras no interfieren en los resultados.

3.3 VALIDACIÓN DE CALCIO

Para la validación de calcio se realizó la lectura de cinco curvas de calibración utilizando cinco estándares de 0,25 mg/L, 0,50 mg/L, 0,75 mg/L, 1,00 mg/L y 1,25 mg/L de concentración y un blanco durante cinco días diferentes. Al realizar lecturas de

estándares de las mismas concentraciones en diferentes días se estudian los cambios en la concentración de calcio debido a factores ambientales que no son controlables como por ejemplo la humedad, la temperatura, etc.

Además con la muestra que presentó menor valor de coeficiente de variación se realizaron fortificaciones para determinar el porcentaje de recuperación del método analítico utilizado.

3.3.1 SELECCIÓN MUESTRA DE REFERENCIA

Para seleccionar la muestra de referencia que se usó en la validación de calcio se utilizaron los resultados experimentales únicamente de la concentración de este mineral los cuales se encuentran en el apartado 3.1.2, enfocado únicamente en el análisis de la concentración de calcio.

Se tomaron en cuenta todas las muestras estudiadas, las cuales incluyen cinco variedades de cinco lugares diferentes de la ciudad de Quito. En la Tabla 3.54 se presentan los resultados experimentales obtenidos:

Tabla 3.54. Resultados experimentales de la concentración de calcio en las cinco variedades de fréjol

Lugar	Repetición	Canario (mg/100g)	Bayo (mg/100g)	Blanco (mg/100g)	Rojo (mg/100g)	Negro (mg/100g)
1	1	78,42	67,86	98,08	102,85	107,47
	2	80,28	64,21	113,98	90,39	109,53
	3	80,96	67,55	109,55	122,92	118,17
2	1	85,59	69,82	97,91	92,92	147,59
	2	79,55	83,81	72,93	98,84	148,64
	3	85,93	94,99	76,42	92,89	151,77
3	1	71,09	67,89	94,55	108,38	105,92
	2	72,14	66,30	110,94	102,58	123,39
	3	69,70	68,21	102,19	113,29	150,43
4	1	73,91	65,72	72,45	67,71	119,80
	2	67,98	65,05	74,09	60,85	111,92
	3	75,95	65,99	76,67	68,86	120,82
5	1	71,03	65,51	114,45	55,11	115,87
	2	63,05	68,28	114,00	50,92	102,54
	3	71,56	67,96	98,98	54,55	109,57

Previo a la validación del método fue necesario encontrar la muestra que presente menos variaciones en los resultados experimentales para este nutriente. Utilizando la Tabla 3.54 se calculó el coeficiente de desviación porcentual (CV) para determinar la variedad de fréjol y el lugar del que proviene la muestra más estable. En la Tabla 3.55

se encuentra los datos de los cálculos necesarios para seleccionar la muestra que sirvió como referente:

Tabla 3.55. Resultados del coeficiente de desviación porcentual en las cinco variedades de fréjol

Lugar	Variedad	Canario	Bayo	Blanco	Rojo	Negro
1	Promedio	79,89	66,54	107,20	105,39	111,72
	Desviación	1,31	2,02	8,21	16,41	5,68
	CV	1,65	3,04	7,65	15,57	5,08
2	Promedio	83,69	82,87	82,42	94,88	149,33
	Desviación	3,59	12,61	13,53	3,43	2,17
	CV	4,29	15,22	16,41	3,61	1,46
3	Promedio	70,98	67,47	102,56	108,08	126,58
	Desviación	1,22	1,02	8,20	5,36	22,43
	CV	1,72	1,52	8,00	4,96	17,72
4	Promedio	72,61	65,59	74,40	65,81	117,51
	Desviación	4,14	0,48	2,13	4,33	4,87
	CV	5,70	0,74	2,86	6,58	4,14
5	Promedio	68,55	67,25	109,14	53,53	109,33
	Desviación	4,77	1,52	8,80	2,27	6,67
	CV	6,96	2,25	8,07	4,25	6,10

Tomando en cuenta el menor valor de CV para cada lugar dentro de la Tabla 3.55 (marcados en negrilla) se construyó la Tabla 3.56:

Tabla 3.56. Comparación de los menores valores de CV para cada lugar

Lugar	Variedad	CV
1	Canario	1,65
2	Negro	1,46
3	Bayo	1,52
4	Bayo	0,74
5	Bayo	2,25

En resumen, la muestra que tiene menor coeficiente de desviación porcentual es el fréjol bayo proveniente del cuarto lugar de muestreo, el cual presenta un valor de 0,74 para el CV, como se observa en la Tabla 3.56.

3.3.2 RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN DE CALCIO

3.3.2.1 CURVAS DE CALIBRACIÓN

Se realizaron las curvas de calibración de calcio utilizando cinco estándares de concentraciones conocidas, durante cinco días diferentes. Los estándares para la validación de calcio fueron de las mismas concentraciones que para la determinación de este mineral en las muestras a lo largo de esta disertación, específicamente de: 0,25 mg/L, 0,50 mg/L, 0,75 mg/L, 1,00 mg/L y 1,25 mg/L de concentración y un blanco.

Dentro de la validación variar el factor día permite estudiar la repetitividad y la reproducibilidad de los resultados. Esto se evalúa para determinar el efecto que tiene el cambio en condiciones externas que no se pueden controlar como por ejemplo las condiciones ambientales (temperatura, humedad, etc.).

En la Tabla 3.57 se presentan los resultados experimentales obtenidos de las curvas de calibración:

Tabla 3.57. Resultados experimentales de las curvas de calibración

Estándar (mg/L)	Día 1 (miliAbs)	Día 2 (miliAbs)	Día 3 (miliAbs)	Día 4 (miliAbs)	Día 5 (miliAbs)
0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,25	31,0	30,0	34,0	37,0	37,0
	37,0	37,0	34,0	36,0	37,0
	31,0	32,0	35,0	37,0	37,0
	33,0	36,0	34,0	30,0	38,0
	33,0	35,0	38,0	36,0	37,0

Estándar (mg/L)	Día 1 (miliAbs)	Día 2 (miliAbs)	Día 3 (miliAbs)	Día 4 (miliAbs)	Día 5 (miliAbs)
0,50	65,0	69,0	69,0	71,0	71,0
	69,0	73,0	69,0	72,0	78,0
	72,0	64,0	71,0	85,0	71,0
	67,0	63,0	68,0	64,0	72,0
	67,0	66,0	68,0	69,0	71,0
0,75	94,0	109,0	106,0	107,0	109,0
	101,0	106,0	103,0	111,0	108,0
	106,0	93,0	105,0	109,0	103,0
	101,0	95,0	103,0	100,0	104,0
	101,0	102,0	106,0	102,0	104,0
1,00	130,0	140,0	137,0	142,0	147,0
	137,0	141,0	136,0	142,0	141,0
	141,0	127,0	139,0	144,0	140,0
	134,0	128,0	137,0	131,0	142,0
	130,0	133,0	137,0	138,0	139,0
1,25	162,0	175,0	173,0	181,0	180,0
	164,0	175,0	172,0	179,0	177,0
	173,0	154,0	172,0	174,0	172,0
	162,0	164,0	168,0	163,0	175,0
	166,0	166,0	170,0	169,0	171,0

En la Tabla 3.57 se observó que para todos los estándares existen variaciones en cuanto a la concentración de calcio entre días, e incluso dentro del mismo día.

Con los resultados obtenidos se construyeron las curvas de calibración:

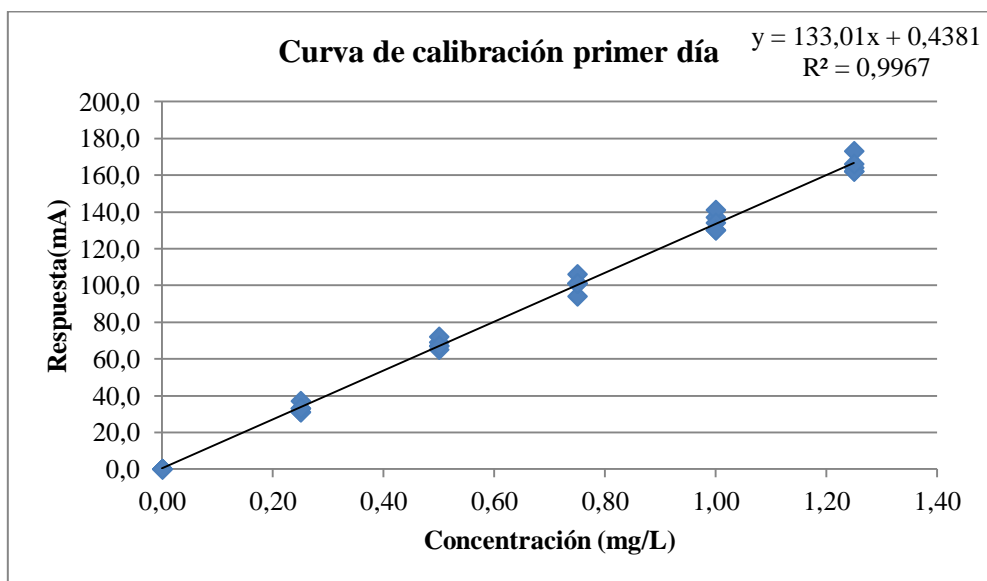


Gráfico 3.1 Curva de calibración del primer día

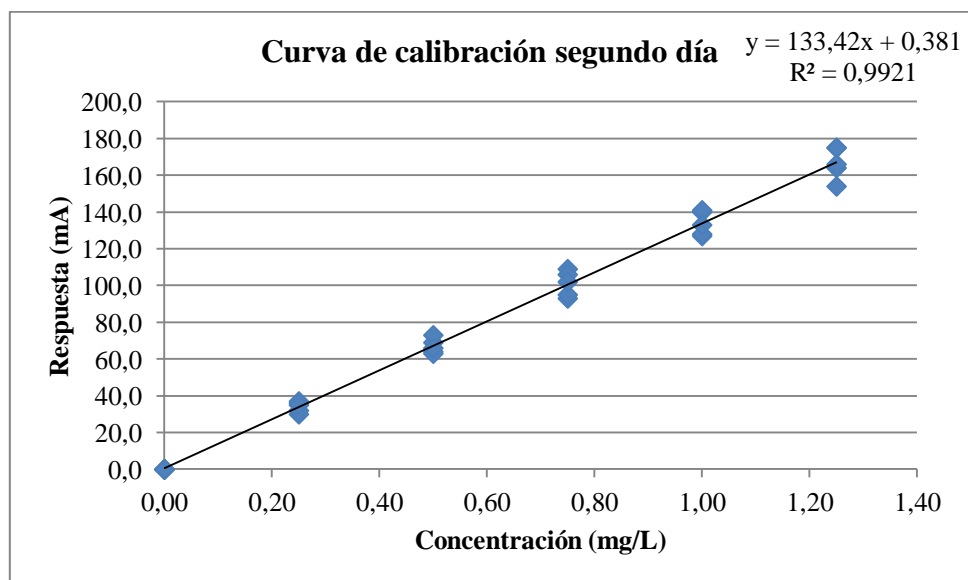


Gráfico 3.2 Curva de calibración del segundo día

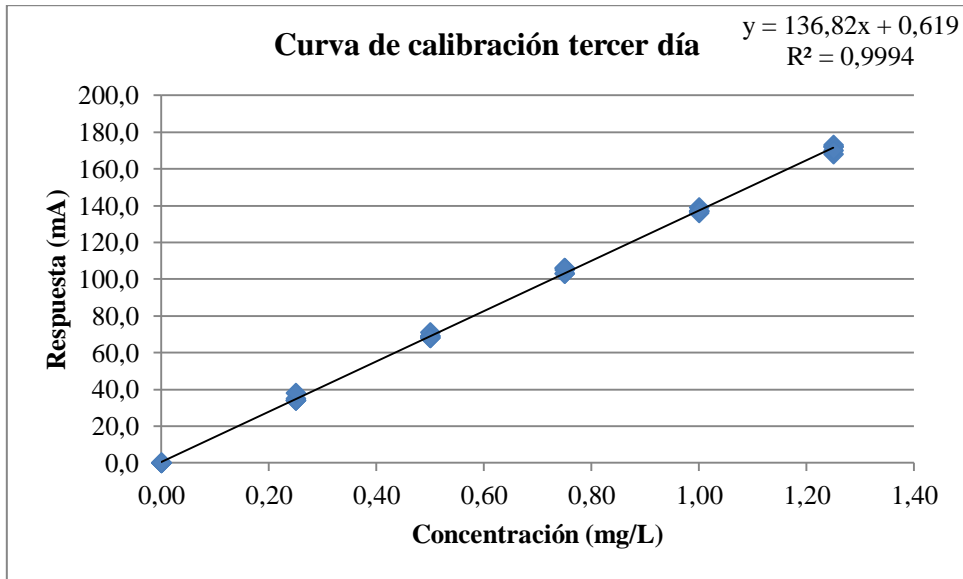


Gráfico 3.3 Curva de calibración del tercer día

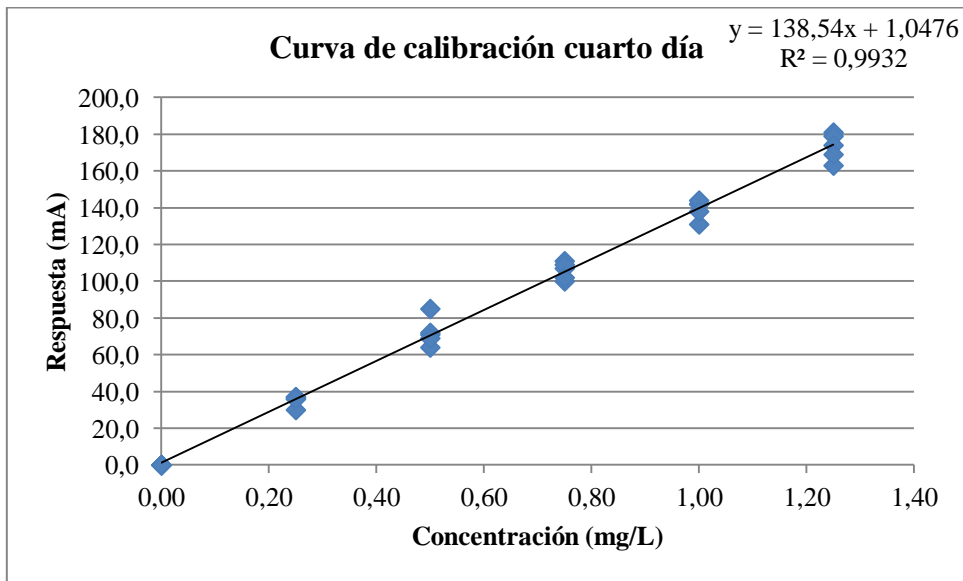


Gráfico 3.4 Curva de calibración del cuarto día

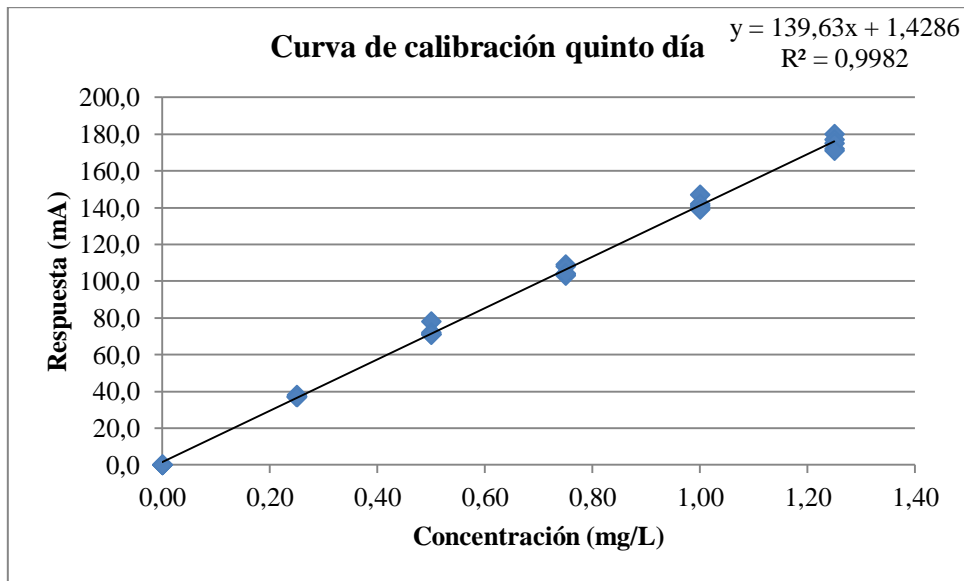


Gráfico 3.5 Curva de calibración del quinto día

Observando los gráficos se determinó que las curvas de calibración son rectas que pasan por el punto cero-cero, esto se debe a que al realizar la lectura del blanco el equipo se auto encera. Ya que se leyeron cinco curvas de calibración, con cinco estándares de diferentes concentraciones en un mismo día, se observa que en cada concentración aparecen puntos muy cercanos lo que demuestran lo preciso del método de análisis.

3.3.2.2 FORTIFICACIONES:

Para las fortificaciones se utilizó el fréjol bayo proveniente del cuarto lugar de muestreo, con el menor valor de CV, como se observa en la Tabla 3.56, como muestra de referencia. Con esta muestra se trabajaron en tres niveles de fortificación: nivel

original (o sin adición), nivel medio y nivel alto. El procedimiento y las cantidades de solución madre adicionada, están descritas más detalladamente en el Capítulo 2. La Tabla 3.58 presentan los resultados de las lecturas de cada nivel de fortificación realizado en cinco días diferentes:

Tabla 3.58. Respuestas de las fortificaciones

Nivel	Día 1 (miliAbs)	Día 2 (miliAbs)	Día 3 (miliAbs)	Día 4 (miliAbs)	Día 5 (miliAbs)
Original	77,0	81,0	70,0	82,0	78,0
	79,0	78,0	75,0	75,0	77,0
	87,0	74,0	76,0	73,0	72,0
	74,0	73,0	69,0	75,0	71,0
	76,0	72,0	75,0	75,0	71,0
Medio	99,0	84,0	101,0	133,0	84,0
	90,0	86,0	90,0	89,0	94,0
	90,0	82,0	86,0	85,0	87,0
	93,0	88,0	89,0	93,0	96,0
	86,0	85,0	88,0	82,0	92,0
Alto	120,0	116,0	118,0	121,0	115,0
	120,0	117,0	111,0	116,0	121,0
	121,0	116,0	119,0	125,0	115,0
	124,0	121,0	113,0	122,0	115,0
	126,0	121,0	119,0	118,0	118,0

3.3.3 PARÁMETROS EVALUADOS DURANTE CADA DÍA

Las curvas de calibración de calcio realizadas durante cinco días diferentes se evalúan al calcular parámetros como: linealidad, error estándar, límite de confianza y límites de detección y de cuantificación.

3.3.3.1 CURVAS DE CALIBRACIÓN

Para determinar la linealidad de la curva se calculó el coeficiente de correlación y el coeficiente de determinación, R y R^2 respectivamente.

El valor de R no debe ser menor a 0,995 y R^2 debe ser mayor a 0,99. Si se cumplen dichas condiciones, se considera que la función es lineal en el intervalo de concentración de la curva, que en este caso es de 0,25 a 1,25 mg/L.

En la Tabla 3.59 se presentan los parámetros evaluados durante los cinco días de validación:

Tabla 3.59. Parámetros evaluados en la validación para las curvas de calibración

		Primer día	Segundo día	Tercer día	Cuarto día	Quinto día
Linealidad	R	0,998	0,996	1,000	0,997	0,999
	R ²	0,997	0,992	0,999	0,993	0,998
Error estándar	Concentración Ca	0,03	0,04	0,01	0,04	0,02
	Lectura respecto a patrones	3,38	5,25	1,49	5,08	2,62
	Pendiente	1,45	2,24	0,64	2,17	1,12
	Ordenada al origen	1,09	1,70	0,48	1,64	0,85
Límite de confianza	Pendiente	133,01 ± 2,96	133,42 ± 4,60	136,82 ± 1,30	138,54 ± 4,45	139,63 ± 2,29
	Ordenada al origen	0,44 ± 2,24	0,38 ± 3,48	0,62 ± 0,98	1,05 ± 3,37	1,43 ± 1,74
Límites	Detección	0,017 mg/L	0,026 mg/L	0,007 mg/L	0,024 mg/L	0,012 mg/L
	Cuantificación	0,052 mg/L	0,081 mg/L	0,022 mg/L	0,075 mg/L	0,038 mg/L

Como se observa en la Tabla 3.59, las curvas de calibración cumplen con las condiciones de linealidad en los cinco días de validación. Además, se determinó que el límite de detección es menor al primer punto de la curva de calibración, lo que demuestra que los datos obtenidos son confiables.

3.3.3.2 FORTIFICACIONES

Para el primer nivel de fortificación no se adicionó ningún volumen de solución madre de calcio para la digestión, mientras que para los otros dos niveles se agregó un volumen específico antes de realizar la digestión. La concentración de la muestra sin adición es de 66,56 mg/100g, cuando se agregan 3,15 mL e solución madre de calcio se obtiene una concentración de 81,31 mg/100g, y al agregar 1 mL se tiene una concentración de 116,56 mg/100g. En la Tabla 3.60 se observan los parámetros evaluados en las fortificaciones durante cada día:

Tabla 3.60. Parámetros evaluados en las fortificaciones

Nivel		Primer día	Segundo día	Tercer día	Cuarto día	Quinto día
66,56	% Recuperación	110,96	106,39	100,16	104,28	99,18
	Desviación	4,73	3,54	2,96	3,16	3,06
	CV	6,40	5,00	4,44	4,56	4,64
82,31	% Recuperación	104,57	96,74	100,76	106,97	98,47
	Desviación	4,54	2,09	5,38	19,07	4,46
	CV	5,27	2,63	6,49	21,66	5,50
116,56	% Recuperación	98,51	95,00	90,90	94,35	89,66
	Desviación	2,52	2,43	3,42	3,20	2,40
	CV	2,20	2,19	3,23	2,91	2,30

Los límites de recuperación deben ir del 95 al 105 %. En el primer y segundo día el nivel medio y el alto de fortificación cumplen con la especificación. En el tercer y quinto día todos el nivel bajo y medio de fortificación están dentro del rango de recuperación. Y finalmente en el cuarto día solamente el nivel bajo cumple con la especificación.

3.3.4 REGRESIÓN GLOBAL

Para calcular los parámetros de la regresión global se tomó en cuenta todos los resultados experimentales, tanto de las curvas, como de las fortificaciones realizadas.

Tabla 3.61. Regresión global de las curvas de calibración

Linealidad	R	0,997
	R ²	0,994
Error estándar	Concentración Ca	0,03
	Lectura respecto a patrones	4,42
	Pendiente	0,84
	Ordenada al origen	0,64
Límite de confianza	Pendiente	139,28 ± 1,67
	Ordenada al origen	0,78 ± 1,26
Límites	Detección	0,009 mg/L
	Cuantificación	0,064 mg/L

Tabla 3.62. Regresión global de las fortificaciones

Nivel	% Recuperación	Desviación	CV
66,56	103,86	3,70	5,35
82,31	101,24	9,22	11,06
116,56	93,40	3,35	3,08

Para la regresión global el nivel bajo y medio de fortificación está fueran del rango de recuperación, cuando se toman todos los datos de las mismas.

3.3.5 REGRESIÓN MEDIA

Tabla 3.63. Regresión media de las curvas de calibración

Linealidad	R	1,000
	R ²	1,000
Error estándar	Concentración Ca	0,01
	Lectura respecto a patrones	0,77
	Pendiente	0,74
	Ordenada al origen	0,56
Límite de confianza	Pendiente	136,28 ± 2,05
	Ordenada al origen	0,78 ± 1,55
Límites	Detección	0,008 mg/L
	Cuantificación	0,011 mg/L

Tabla 3.64. Regresión media de las fortificaciones

Nivel	% Recuperación
66,56	103,86
82,31	101,24
116,56	93,40

La regresión media se calcula utilizando únicamente los promedios. El porcentaje de recuperación del nivel bajo y medio de fortificación están dentro de la especificación del rango de recuperación.

3.3.6 PRUEBA DE COCHRAN

Previo al análisis de varianza se realiza la prueba de Cochran para determinar la heterogeneidad de los resultados. En esta prueba la hipótesis nula es que las varianzas son homogéneas.

En la Tabla 3.65 se presentan los resultados para la prueba de Cochran de la validación:

Tabla 3.65. Resultados de la prueba de Cochran para la validación

Concentración (mg/L)	Q calculado	Q tabulado	Criterio
0,00	0,0000	0,5441	H ₀ aceptada
0,25	0,3295	0,5441	H ₀ aceptada
0,50	0,6389	0,5441	H ₀ rechazada
0,75	0,4892	0,5441	H ₀ aceptada
1,00	0,4158	0,5441	H ₀ aceptada
1,25	0,4533	0,5441	H ₀ aceptada
66,56	0,3428	0,5441	H ₀ aceptada
82,31	0,8323	0,5441	H ₀ rechazada
116,56	0,2954	0,5441	H ₀ aceptada

Para la validación únicamente dos concentraciones de la curva son heterogéneas: el punto 0,50 mg/L de la curva de calibración, y el nivel medio (82,31 mg/L) de las fortificaciones.

Tabla 3.66. Resultados de la prueba de Cochran para el porcentaje de recuperación

Concentración (mg/L)	Q calculado	Q tabulado	Criterio
66,56	0,3428	0,5441	H ₀ aceptada
82,31	0,8323	0,5441	H ₀ rechazada
116,56	0,2954	0,5441	H ₀ aceptada

Para el porcentaje de recuperación, referente únicamente a las fortificaciones, el nivel medio (82,31 mg/L) tiene resultados heterogéneos.

3.3.7 ANOVA

A continuación se muestran las tablas con los resultados del análisis de varianza realizado para la validación y para el porcentaje de recuperación. El valor tabulado de F para los análisis de varianza realizados fueron 2,87 y 2,29 respectivamente, los cuales se presentan en el Anexo 3.

Tabla 3.67. ANOVA para la validación de calcio

Concentración (mg/L)	F calculado	F tabulado	Criterio
0,00	0,00	2,87	H ₀ aceptada
0,25	2,32	2,87	H ₀ aceptada
0,50	1,67	2,87	H ₀ aceptada
0,75	1,65	2,87	H ₀ aceptada
1,00	2,76	2,87	H ₀ aceptada
1,25	2,48	2,87	H ₀ aceptada
66,56	1,61	2,87	H ₀ aceptada
82,31	0,78	2,87	H ₀ aceptada
116,56	3,47	2,87	H ₀ rechazada

El análisis de varianza la fortificación del nivel alto (116,56 mg/L) es el único que muestra diferencias significativas.

Tabla 3.68. Resultados de reproducibilidad y desviación de la validación

Concentración (mg/L)	DCM_w	S_y²=V_y	V_R=S_R²	S_R	%SRD=CV_R
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,25	5,28	1,40	6,68	2,58	7,41
0,50	19,00	2,53	21,53	4,64	6,65
0,75	19,42	2,51	21,93	4,68	4,52
1,00	20,54	7,22	27,76	5,27	3,84
1,25	33,84	10,04	43,88	6,62	3,89
66,56	14,76	1,79	16,55	4,07	5,40
82,31	104,72	0,00	104,72	10,23	11,26
116,56	9,48	4,68	14,16	3,76	3,17

El primer punto de la curva de calibración es el blanco, y sus valores de absorbancias se deben a que el equipo encera automáticamente este resultado.

En la Tabla 3.69 se presentan los resultados para el análisis de varianza realizado para el porcentaje de recuperación:

Tabla 3.69. ANOVA para el porcentaje de recuperación

Concentración (mg/L)	F calculado	F tabulado	Criterio
66,56	1,6057	2,29	H ₀ aceptada
82,31	0,7836	2,29	H ₀ aceptada
116,56	3,4662	2,29	H ₀ rechazada

El análisis de varianza para el porcentaje de recuperación demuestra que la fortificación del nivel alto (116,56 mg/L) es el único que tiene diferencias significativas.

Tabla 3.70. Resultados de reproducibilidad y desviación del porcentaje de recuperación

Concentración (mg/L)	SDCb	SDCw	SDCt	DCMt	S_R	%SRD
66,56	94,80	295,20	390,00	16,25	4,03	5,35
82,31	328,24	2094,40	2422,64	100,94	10,05	11,06
116,56	131,44	189,60	321,04	13,38	3,66	3,08

Todos los valores en el porcentaje de recuperación son mayores a 2,0, lo que, indica heterogeneidad de la muestra, necesidad de entrenamiento del analista, optimización del método o el método no es satisfactorio.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

Los resultados experimentales para las cinco variedades de fréjol variaron de acuerdo a los siguientes rangos: 11,70-12,60 % corresponde al porcentaje de humedad; 69,94-122,89 mg/100g correspondiente a la concentración de calcio; 4,61-5,34 mg/100g de hierro; 8,36-12,77 mg/100g de sodio y 1192,62-1239,13 mg/100g de potasio.

En ninguna de las variedades el porcentaje medio de humedad supera el permitido por la norma NTE (Norma Técnica Ecuatoriana) INEN 1561, la cual establece como límite el 13 %.

El fréjol blanco es la variedad que presenta mayor porcentaje de humedad con 12,60 %. Según el orden decreciente las variedades que le siguen son: fréjol canario con 12,27 %, negro con 12,08 %, bayo con 11,77 % y finalmente rojo con 11,70%.

Mediante la prueba t, se compararon únicamente los resultados obtenidos del porcentaje de humedad, la concentración de calcio y hierro para las variedades de fréjol canario, bayo,

blanco y rojo, los cuales presentaron diferencias estadísticamente significativas con los datos proporcionados por la tabla de composición de los alimentos ecuatorianos.

En lo que se refiere al análisis de varianza entre variedades se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el porcentaje de humedad, la concentración de calcio y hierro entre las variedades estudiadas. Utilizando la prueba Tukey se demostró específicamente las variedades que difieren entre sí: para el porcentaje de humedad el fréjol blanco difiere del fréjol bayo y rojo; para la concentración de calcio el fréjol blanco difiere del fréjol canario, bayo y negro, además el fréjol negro difiere con todas las variedades estudiadas; y finalmente para la concentración de hierro el fréjol blanco difiere con el fréjol negro.

En el análisis de varianza entre muestras se determinó que al menos una muestra difiere estadísticamente de las demás con un 95 % de confianza para el porcentaje de humedad, la concentración de calcio, hierro, sodio y potasio, a excepción de la concentración de potasio del fréjol negro, el cual no presenta diferencias significativas.

Al encontrar diferencias estadísticamente significativas en los parámetros analizados entre variedades, y al mismo tiempo, dentro de la misma variedad, se concluye que la variedad y la muestra son factores que afectan los valores nutricionales del fréjol.

Los resultados revelaron que la concentración de potasio es más elevada que los demás minerales, seguido de la concentración de calcio, sodio y hierro. Por lo que, se demuestra que esta leguminosa es un alimento rico en potasio.

Después de evaluar los promedios de todos los nutrientes, el fréjol negro es la variedad que contiene mayor concentración de minerales.

Las condiciones externas, como la humedad y la temperatura, sí afectan en las lecturas de las curvas de calibración durante los días de validación. Esto influye directamente en los factores evaluados, aunque la linealidad de las curvas de calibración de los cinco días cumple con los parámetros establecidos.

4.2 RECOMENDACIONES

Previo a esta disertación, en la Facultad se realizó el estudio proximal de las mismas variedades de fréjol, por lo que, se propone elaborar una tabla nutricional de esta leguminosa con los datos experimentales de cada parámetro evaluado. Lo que permitirá construir una tabla ecuatoriana con datos actualizados y confiables, al ser obtenidos siguiendo métodos analíticos de la AOAC.

Se recomienda que para la digestión por microondas siempre se mantenga el orden del procedimiento a seguir, es decir, primero pesar la muestra, adicionar el ácido nítrico

concentrado y finalmente el agua oxigenada. Esto resulta de suma importancia sobre todo cuando se realizan las digestiones de las muestras fortificadas.

Para el análisis de minerales se recomienda que las lámparas de cada elemento tengan una energía estable. Sobre todo para elementos como el sodio y los potasio, los cuales muestran resultados poco exactos.

Cuando se realiza la validación de calcio, se recomienda usar pipetas automáticas que permitan medir el volumen exacto a añadir en la fortificación, ya que al hacerlo mediante dos adiciones el porcentaje de error aumenta. Esto afecta directamente en el porcentaje de recuperación calculado, es por ello que no todas las fortificaciones cumplen la especificación para este estadístico.

CAPÍTULO V

5. Bibliografía

- [1] Ordoñez, J., (2006). Estudio del comportamiento y funcionamiento de la cadena de fréjol en las parroquias de Malacatos y El Tambo de los cantones Loja y Catamayo respectivamente, http://www.asocam.org/portal/sites/default/files/publicaciones/archivos/ACT_253.pdf, 12 Enero 2014.
- [2] Flores y Escalante, (2013). Nuestro mero mole, breve historia de la cocina mexicana, 2ª edición, Debolsillo, México D.F.
- [3] Voysest, O., (1983). Variedades de frijol en América Latina y su origen, CIAT, Cali.
- [4] Ospina, J., (1983). Características Físico Mecánicas y Análisis de Calidad de Granos, 1ª edición, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- [5] Ministerio de Salud Pública y Sanidad, (1965). Tabla de Composición de los Alimentos Ecuatorianos, <http://blog.espol.edu.ec/kcoello/tabla-de-composicion-de-alimentos-ecuatorianos>. 15 Mayo 2013.
- [6] Arasa, M., (2005). Manual de nutrición deportiva, 1ª edición, Editorial Paidotribo, Barcelona.
- [7] Greenfield, H. y Southgate, D., (2003). *Food Composition Data, Production, Management and Use*, 2ª edición, FAO Publishing Management Service, Roma.
- [8] Badui, S., (2006). Química de los alimentos, 4ª edición ed., Pearson Education.

- [9] Araya, H., Producción y Manejo de Datos de Composición Química de Alimentos en Nutrición.
- [10] Guzmán, V., (2010). *Determinación proximal de los principales componentes nutricionales de cinco variedades de fréjol: canario, bayo, blanco, rojo y negro*, Disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Ecuador.
- [11] FAO, (1990) *Avances en la ingeniería agrícola: técnicas de almacenamiento*, Roma.
- [12] Damodaran, S. Parkin, K. L. y Fennema, O. R., (2008). *Fenema Química de los Alimentos*, 3ª edición, Editorial ACRIBIA S.A., Zaragoza.
- [13] Underwood, E. J., (1987). *Introduction in Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, 5ª edición, Academic Press, San Diego.
- [14] Hernández, M. y Sastre, A., (1999). *Tratado de Nutrición*, Díaz de Santos, Madrid.
- [15] Delgado, A., (1999). *Vitaminas y Minerales para la Salud Total*, Ediciones Oniro, Barcelona.
- [16] Kasper, D. L., (2005). *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 16ª edición, McGraw-Hill, New York.
- [17] *Dietary Guidelines for Americans (2010)*. *Dietary Guidelines for Americans*, 7ª edición, U.S. Government Printing Office, Washington.
- [18] Preuss, H. G., (2001). *Present Knowledge in Nutrition: sodium, chloride, and potassium*, 8ª edición, ILSI Press, Washington D.C.

- [19] Suriguez, M., Los minerales en los alimentos, <http://www.enbuenasmanos.com/articulos/muestra.asp?art=438>, 22 mayo 2013.
- [20] CICO, Perfiles de Productos: Perfil de Fréjol, <http://www.pucesi.edu.ec/pdf/frejol.pdf>, 15 mayo 2013.
- [21] Guillon, F. y Champ, M., (2002). Carbohydrate fractions of legumes: uses in human nutrition and potential for health.
- [22] Guerzoni, F., (2013). Beneficios de la harina de frijoles blancos para tu nutrición y salud, <http://www.que.es/salud-en-tu-plato/201310310800-beneficios-harina-frijoles-blancos-para-cont.html>, 23 noviembre 2014.
- [23] Quien no ha comido *Phaseolus Vulgaris*, <http://www.taringa.net/posts/info/12838076/Quien-no-a-comido-Phaseolus-vulgaris.html>, 23 noviembre 2014.
- [24] Tabla del valor nutricional del fréjol, <http://www.cuidadodelasalud.com/alimentos-nutritivos/tabla-del-valor-nutricional-del-frijol/>, 15 mayo 2013.
- [25] Fons, O., (1994). Guía Práctica de la Salud, Frijoles ¿Por qué no deben faltar en su mesa?, vol. 9, Miami.
- [26] Willard, H., Merritt, L., Dean, J. y Settle, F., (1990). Métodos Instrumentales de Análisis, 3ª edición, Compañía Editorial Continental S.A., México D.F.
- [27] Kastenmayer, P. , (1997). Análisis de minerales y elementos traza en alimentos de Producción y Manejo de Datos de Composición Química de Alimentos en Nutrición, FAO, Universidad de Chile, Chile.

- [28] Razmilic, B., Espectroscopia de Absorción Atómica, <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB482S/AB482S04.htm>, 22 mayo 2013.
- [29] Rubinson, K. A. y Rubinson, J. F., (2001). Análisis Instrumental, Prentice Hall, Madrid.
- [30] Duffau, B., (2010). Guía Técnica N°1.
- [31] Association Of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis of AOAC International, 18ª edición.

ANEXO 1

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LEGUMINOSAS Y OLEAGINOSAS ECUATORIANAS [5]

Nombre	Humedad	Calcio	Hierro		Nombre	Humedad	Calcio	Hierro
Arveja seca	13,20	70,00	5,60		Fréjol mixturiado	12,50	82,00	5,50
Arveja tierna	69,80	29,00	2,30		Fréjol de monte	10,50	53,00	5,70
Choco crudo seco	10,40	90,00	5,50		Fréjol de palo	12,50	107,00	3,30
Choco cocinado	71,30	32,00	2,50		Fréjol panamito	14,40	130,00	7,20
Fréjol tierno	58,20	44,00	3,00		Fréjol percal	13,20	143,00	2,70
Fréjol seco	9,30	105,00	6,30		Fréjol payar	10,20	176,00	6,10
Fréjol mantequilla	9,60	76,00	6,80		Fréjol del país	8,90	121,00	8,90
Fréjol alcahuete	14,20	109,00	5,90		Fréjol srandaja	12,10	68,00	5,70
Fréjol de árbol	73,10	30,00	2,00		Fréjol tumber	8,90	84,00	4,90
Fréjol bayo	12,40	130,00	6,70		Garbanzo tierno	59,70	91,00	4,20
Fréjol blanco	11,40	131,00	6,60		Garbanzo seco	13,10	132,00	6,50
Fréjol canario	14,50	102,00	4,60		Haba blanca	10,10	115,00	4,00
Fréjol chaucha	15,00	117,00	4,80		Haba chaucha	12,70	112,00	5,70
Fréjol firiguolo	13,10	79,00	4,30		Haba mischoa	11,60	99,00	5,30
Fréjol lima	9,30	74,00	7,10		Haba tierna	62,40	32,00	2,70
Fréjol cholo	14,70	119,00	5,70		Haba mulla	12,30	100,00	5,30

Nombre	Humedad	Calcio	Hierro		Nombre	Humedad	Calcio	Hierro
Haba suave	12,20	112,00	2,90		Lenteja amarilla	13,10	82,00	6,80
Haba verde	11,10	118,00	6,50		Lenteja verde	14,10	80,00	7,30
Haba común seca	12,30	48,00	5,40		Lenteja negra	12,90	91,00	6,60
Haba tostada	5,30	47,00	5,80		Lentejón	14,10	103,00	8,90
Haba payar grande	83,30	32,00	2,70		Maní crudo	6,40	70,00	2,20
Habilla cruda	11,90	141,00	4,30		Maní tostado	1,80	67,00	2,50
Habilla tostada	7,10	166,00	7,10		Soya	5,00	196,00	10,50
Habichuela chica	59,70	43,00	3,10					

ANEXO 2

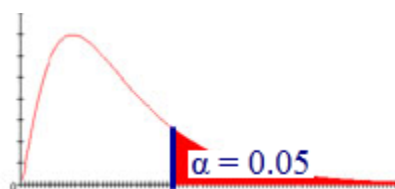
TABLA DE DISTRIBUCIÓN T DE STUDENT



Grados de libertad	α	0.25	0.1	0.05	0.025	0.01	0.005
1	1.0000	3.0777	6.3137	12.7062	31.8210	63.6559	
2	0.8165	1.8856	2.9200	4.3027	6.9645	9.9250	
3	0.7649	1.6377	2.3534	3.1824	4.5407	5.8408	
4	0.7407	1.5332	2.1318	2.7765	3.7469	4.6041	
5	0.7267	1.4759	2.0150	2.5706	3.3649	4.0321	
6	0.7176	1.4398	1.9432	2.4469	3.1427	3.7074	
7	0.7111	1.4149	1.8946	2.3646	2.9979	3.4995	
8	0.7064	1.3968	1.8595	2.3060	2.8965	3.3554	
9	0.7027	1.3830	1.8331	2.2622	2.8214	3.2498	
10	0.6998	1.3722	1.8125	2.2281	2.7638	3.1693	
11	0.6974	1.3634	1.7959	2.2010	2.7181	3.1058	
12	0.6955	1.3562	1.7823	2.1788	2.6810	3.0545	
13	0.6938	1.3502	1.7709	2.1604	2.6503	3.0123	
14	0.6924	1.3450	1.7613	2.1448	2.6245	2.9768	
15	0.6912	1.3406	1.7531	2.1315	2.6025	2.9467	
16	0.6901	1.3368	1.7459	2.1199	2.5835	2.9208	
17	0.6892	1.3334	1.7396	2.1098	2.5669	2.8982	
18	0.6884	1.3304	1.7341	2.1009	2.5524	2.8784	
19	0.6876	1.3277	1.7291	2.0930	2.5395	2.8609	
20	0.6870	1.3253	1.7247	2.0860	2.5280	2.8453	
21	0.6864	1.3232	1.7207	2.0796	2.5176	2.8314	
22	0.6858	1.3212	1.7171	2.0739	2.5083	2.8188	
23	0.6853	1.3195	1.7139	2.0687	2.4999	2.8073	
24	0.6848	1.3178	1.7109	2.0639	2.4922	2.7970	
25	0.6844	1.3163	1.7081	2.0595	2.4851	2.7874	
26	0.6840	1.3150	1.7056	2.0555	2.4786	2.7787	
27	0.6837	1.3137	1.7033	2.0518	2.4727	2.7707	
28	0.6834	1.3125	1.7011	2.0484	2.4671	2.7633	
29	0.6830	1.3114	1.6991	2.0452	2.4620	2.7564	
30	0.6828	1.3104	1.6973	2.0423	2.4573	2.7500	

ANEXO 3

TBLA DE DISTRIBUCIÓN F



grados de libertad de numerador

grados de libertad del denominador

	1	2	3	4	5
1	161,45	199,50	215,71	224,58	230,16
2	18,51	19,00	19,16	19,25	19,30
3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20
12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11
13	4,67	3,81	3,41	3,18	3,03
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74

20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71
21	4,32	3,47	3,07	2,84	2,68
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66
23	4,28	3,42	3,03	2,80	2,64
24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62
25	4,24	3,39	2,99	2,76	2,60
26	4,23	3,37	2,98	2,74	2,59
27	4,21	3,35	2,96	2,73	2,57
28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56
29	4,18	3,33	2,93	2,70	2,55
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53
40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45
50	4,03	3,18	2,79	2,56	2,40
60	4,00	3,15	2,76	2,53	2,37
70	3,98	3,13	2,74	2,50	2,35

ANEXO 3

TABLA DE TUKEY

n tratamientos -1

	2	3	4	5
5	3,64	4,60	5,22	5,67
6	3,46	4,34	4,90	5,30
7	3,34	4,16	4,68	5,06
8	3,26	4,04	4,53	4,89
9	3,20	3,95	4,41	4,76
10	3,15	3,88	4,33	4,65
11	3,11	3,82	4,26	4,57
12	3,08	3,77	4,20	4,51
13	3,06	3,73	4,15	4,45
14	3,03	3,70	4,11	4,41
15	3,01	3,67	4,08	4,37
16	3,00	3,65	4,05	4,33
17	2,98	3,63	4,02	4,30
18	2,97	3,61	4,00	4,28
19	2,96	3,59	3,98	4,25
20	2,95	3,58	3,96	4,23
24	2,92	3,53	3,90	4,17
30	2,89	3,49	3,85	4,10
40	2,86	3,44	3,79	4,04
60	2,83	3,40	3,74	3,98
120	2,80	3,36	3,68	3,92

grados de libertad del error

ANEXO 5

EJEMPLO DE CÁLCULOS PARA EL ANÁLISIS DE VARIANZA

Las fórmulas utilizadas en el análisis de varianza son las siguientes:

VARIACIÓN	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	F
Entre grupos	$h - 1$	$SDC_B = n \sum_{i=1}^k (\bar{x}_i - \bar{x})^2$	$DCM_B = \frac{SDC_B}{h - 1}$	$\frac{DCM_B}{DCM_W}$
Dentro de los grupos o error	$h(n - 1)$	$SDC_W = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{x}_i)^2$	$DCM_W = \frac{SDC_W}{n - 1}$	
Total	$hn - 1$	$SDC_T = SDC_B + SDC_W$		

Donde:

h = Número de grupos

n = Número de réplicas por grupo

x_{jk} = Valor de cada réplica

\bar{x}_j = Media de cada grupo

\bar{x} = Media total

A continuación se muestra el ejemplo de cálculo para el análisis de varianza del porcentaje de humedad entre las cinco muestras de fréjol canario:

ANOVA del porcentaje de humedad en las cinco muestras de fréjol canario

Variedad	Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F	Criterio
Canario	Entre muestras	4	15,3562	3,8391	934,59	H ₀ rechazada
	Error	10	0,0411	0,0041		
	Total	14	15,3973			

Los datos utilizados para el cálculo son los siguientes:

Resultados del porcentaje de humedad del fréjol canario

# Muestra	Canario	Promedio
1	12,84	12,79
	12,73	
	12,80	
2	12,17	12,19
	12,24	
	12,16	
3	13,26	13,23
	13,28	
	13,16	
4	12,75	12,77
	12,82	
	12,74	

5	10,46	10,36
	10,34	
	10,27	
Promedio variedad		12,27

Cálculo de los grados de libertad

- Entre muestras:

Como se tiene 5 muestras de fréjol canario, de acuerdo a la fórmula $h - 1$ tenemos que los grados de libertad son:

$$5 - 1 = 4$$

- Error:

Al haber realizado el análisis por triplicado de cada muestra de fréjol canario, de acuerdo a la fórmula $h(n - 1)$ tenemos:

$$5(3-2) = 10$$

- Total:

Es la suma de los dos cálculos anteriores:

$$4 + 10 = 14$$

Cálculo de la suma de cuadrados

- Entre muestras:

Es la sumatoria de la diferencia de cada media muestral con la media total de la variedad, elevada al cuadrado. Reemplazando en la fórmula tenemos:

$$SDC_B = n \sum_{i=1}^k (\bar{x}_i - \bar{x})^2$$

$$SDC_B = 3 * [(12,79-12,27)^2 + (12,19-12,27)^2 + (13,23-12,27)^2 + (12,77-12,27)^2 + (10,36-12,27)^2]$$
$$= 15,3562\dots$$

- Error:

Es la sumatoria de la diferencia de cada resultado en relación a su media muestral, siguiendo la fórmula:

$$SDC_W = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{ni} (x_{ij} - \bar{x}_i)^2$$

$$SDC_W = (12,84-12,79)^2 + (12,73-12,79)^2 + (12,80-12,79)^2 + (12,17-12,19)^2 + (12,24-12,19)^2 + (12,16-12,19)^2 + (13,26-13,23)^2 + (13,28-13,23)^2 + (13,16-13,23)^2 + (12,75-12,77)^2 + (12,82-12,77)^2 + (12,74-12,77)^2 + (10,46-10,36)^2 + (10,34-10,36)^2 + (10,27-10,36)^2$$
$$= 0,0411\dots$$

- Total:

$$SDC_T = SDC_B + SDC_W$$

$$SDC_T = 15,3562 + 0,0411$$

$$SDC_T = 15,3973\dots$$

Cálculo de la media de cuadrados

- Entre muestras:

Para obtener este resultado se divide la suma de cuadrados para los grados de libertad

$$DCM_B = \frac{SDC_B}{h - 1}$$

$$DCM_B = 15,3973\dots/4 = 3,8391\dots$$

- Error:

$$DCM_W = \frac{SDC_W}{n - 1}$$

$$DCM_W = 0,0411\dots/10$$

$$= 0,0041\dots$$

- Cálculo de F:

$$F = \frac{DCM_B}{DCM_W}$$

$$F = 3,8391\dots/0,0041\dots$$

$$= 934,59$$

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Elizabeth Patricia pavón Unda, C.I. 1720136124 autor del trabajo de graduación intitulado: “Determinación de calcio, hierro, sodio y potasio en cinco variedades de fréjol: canario, bayo, blanco, rojo y negro, por espectrofotometría de absorción atómica de llama”, previo a la obtención del grado académico de LICENCIADO EN CIENCIAS QUÍMICAS CON MENCIÓN EN QUÍMICA ANALÍTICA en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Quito, 28 de noviembre del 2014

Srta. Elizabeth Pavón Unda

C.I. 1720136124