

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

Determinación de fósforo en arroz, arveja, garbanzo, haba, lenteja, maní y soya mediante  
espectroscopía Ultravioleta Visible

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

ANDRÉS SEBASTIÁN CORREA ESPINOSA

Quito, 2016

## **CERTIFICACIÓN**

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas con mención en Química Analítica, del candidato Andrés Sebastián Correa Espinosa ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Fecha:

Mgtr. Augusto Oviedo

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo a todas las personas que han estado a mi lado apoyándome a lo largo de este proceso, en especial a mi madre y hermana porque han sabido inspirarme y motivarme para seguir adelante.

## **AGRADECIMIENTO**

Quiero agradecer a mi familia por su apoyo, en especial a mi madre Cecilia, que con su esfuerzo, dedicación y sacrificio ha sabido guiarme por un buen camino y alentarme a seguir adelante para poder cumplir mis metas, su cariño incondicional me ha llevado siempre a alcanzar mis objetivos; a mi hermana Jeanneth, aunque a la distancia, siempre supo darme ánimos y la confianza necesaria para cumplir mis sueños, a mi tía Maggie y mi tío Marko por su cariño, flexibilidad y su apoyo incondicional durante la elaboración de este trabajo de disertación.

Agradezco a los profesores que fueron parte de mi formación universitaria, un especial agradecimiento a la Dra. Lorena Meneses por su soporte y apoyo durante los años de mi carrera en la universidad; un agradecimiento especial a mi director de tesis Mgtr. Augusto Oviedo por su paciencia y constante preocupación, al Dr. Ramiro Gallegos por permitirme hacer uso de sus instalaciones para realizar este trabajo de disertación.

A todos mis amigos y amigas que han estado conmigo a lo largo de mi vida y durante mi paso por la universidad, especialmente a Jessica Duran, Valeria Coral y Estefanía Mosquera por compartir conmigo momentos inolvidables y por brindarme su apoyo incondicional. Quiero agradecer a la gente maravillosa del curso CIMA 37 que fueron partícipes e inspiración para mí durante esta época. Finalmente quiero agradecer a todas las personas de la Escuela de Ciencias Químicas de la PUCE ya que compartimos años de estudio en esta carrera.

## RESUMEN

El objetivo principal de este trabajo de disertación fue determinar el contenido de fósforo en las leguminosas haba, lenteja, soya, maní, garbanzo, arveja y en el cereal arroz por Espectrofotometría Ultravioleta Visible, para luego comparar los resultados con los valores reportados en la Tabla de Composición de Alimentos Ecuatorianos del año 1965. Se realizó un muestreo aleatorio en lugares de expendio de la ciudad de Quito, Supermaxi, Mercado Santa Clara y Mercado Santa María, las muestras fueron preparadas para el análisis y digeridas por vía ácida para después ser analizadas.

Primero, se puso a punto el método analítico con el fin de asegurar que dicho procedimiento es confiable y reproducible, se tomaron en cuenta entonces los parámetros de linealidad, sensibilidad, límites de detección y cuantificación, exactitud y precisión. Para determinar la eficiencia del método se realizó también el procedimiento de porcentaje de recuperación de fósforo en maíz. Después se analizaron las muestras de leguminosas y cereal para determinar su contenido de fósforo. En todos los casos se siguieron los métodos de la Asociación Oficial de Químicos Agrícolas (AOAC por sus siglas en inglés).

De los resultados se determinó que el arroz contiene la menor cantidad de fósforo: 108,7924 mg/ 100g, y que las leguminosas mostraron valores alto de este mineral: garbanzo 277,9394 mg/ 100g, lenteja 346,2612 mg/ 100g, soya 265,9575 mg/ 100g, maní mg/ 100g 739,0514 y haba 481,5445 mg/ 100g.

**Palabras clave:** espectrofotometría Ultravioleta Visible, mineral, leguminosas, cereal, fósforo.

## ABSTRACT

The main objective of this dissertation work was determining the phosphorus content in the bean legumes, lentils, soybeans, peanuts, chickpeas, peas and cereal rice by Ultraviolet Visible Spectrophotometry to compare with the values reported in Ecuadorian Food Composition Table data 1965 and to determine if there were significant differences between them. A random sampling was made in the major places of sale of the city of Quito, Supermaxi, Mercado Santa Clara Market and Santa Maria, the samples were prepared for analysis and acid digested process in order to be ready for Ultraviolet Visible Spectrophotometry analysis.

To analyze samples of legumes and cereals was first necessary to develop the analytical method to be sure that the procedure is reliable and reproducible, were valued parameters like linearity, sensitivity, detection and quantification limits, accuracy and precision. To determine the efficiency of the method, a percent recovery procedure of phosphorus in corn was also performed. Then, the legume and cereal samples were analyzed to determine the content of phosphorus. In all cases the methods of the Association of Official Agricultural Chemists (AOAC for its acronym in English) were followed.

From the results it was determined that rice contains the least amount of phosphorus: 108.7924 mg / 100g, and legumes showed high values of this mineral: 277.9394 chickpea mg / 100g, lentil 346.2612 mg / 100g, soybeans 265, 9575 mg / 100g, peanuts mg / 100g bean 739.0514 and 481.5445 mg / 100g.

**Keywords:** Ultraviolet Visible Spectrophotometry, mineral, legumes, cereal, phosphorus.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	2
<b>1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA</b> .....	2
1.1 NUTRICIÓN HUMANA.....	2
1.1.1 NUTRIENTE.....	4
1.2 FÓSFORO.....	4
1.2.1 GENERALIDADES .....	4
1.2.2 IMPORTANCIA DEL FÓSFORO EN LA AGRICULTURA .....	7
1.2.3 IMPORTANCIA DEL FÓSFORO EN LAS PLANTAS.....	9
1.2.4 IMPORTANCIA DEL FÓSFORO EN LOS ALIMENTOS.....	10
1.2.5 IMPORTANCIA DEL FÓSFORO EN LOS SERES HUMANOS.....	10
1.2.6 QUÍMICA DEL FÓSFORO EN LAS MOLÉCULAS.....	11
1.2.7 FOSFOLÍPIDOS .....	11
1.2.8 CARBOHIDRATOS .....	13
1.2.9 ÁCIDOS NUCLEICOS .....	13
1.3 TABLA DE COMPOSICIÓN DE 1965 .....	14
1.4 LEGUMINOSAS Y CEREALES .....	15
1.4.1 LEGUMINOSAS.....	15
1.4.2 CEREALES .....	16
1.4.3 ARROZ.....	16
1.4.4 ARVEJA .....	17
1.4.5 GARBANZO .....	18
1.4.6 HABA .....	19
1.4.7 LENTEJA .....	20
1.4.8 MANÍ.....	21
1.4.9 SOYA .....	21
1.5 ESPECTROSCOPIA .....	22
1.5.1 EL ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO .....	23
1.6 MÉTODO DE ANÁLISIS .....	26
1.6.1 ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA VISIBLE .....	26
1.6.2 LEY DE LAMBERT Y BEER.....	27
1.7 INSTRUMENTACIÓN .....	30
1.7.1 EL ESPECTROFOTÓMETRO ULTRAVIOLETA VISIBLE .....	30

1.8	TÉCNICAS PARA ANALIZAR FÓSFORO .....	32
1.8.1	MÉTODO DE OLSEN .....	32
1.8.2	MÉTODO DE BRAY Y KURTZ .....	32
1.8.3	MÉTODO DE ABSORCIÓN ATÓMICA .....	33
1.9	MUESTRA .....	35
1.9.1	PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.....	35
1.9.2	CALCINADO DE LA MUESTRA.....	36
1.9.3	DIGESTIÓN ÁCIDA DE LAS MUESTRAS .....	36
1.10	PUESTA A PUNTO DEL MÉTODO .....	36
1.10.1	PARÁMETROS PARA PONER A PUNTO EL MÉTODO .....	37
 <b>CAPITULO 2</b> .....		<b>46</b>
<b>2. PARTE EXPERIMENTAL</b> .....		<b>46</b>
2.1	MUESTREO .....	46
2.2	PREPARACIÓN DE LA MUESTRA .....	47
2.2.1	MATERIALES Y EQUIPOS .....	47
2.3	PUESTA A PUNTO DEL MÉTODO .....	48
2.3.1	MATERIALES Y EQUIPOS .....	49
2.4	RECUPERACIÓN .....	52
2.5	CUANTIFICACIÓN DE CEREAL Y LEGUMINOSAS .....	54
2.6	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	58
2.6.1	PUESTA A PUNTO DEL MÉTODO.....	58
 <b>CAPITULO 3</b> .....		<b>62</b>
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....		<b>62</b>
3.1	PUESTA A PUNTO DEL MÉTODO .....	62
3.2	RECUPERACIÓN .....	68
3.3	CUANTIFICACIÓN.....	81
3.3.1	GARBANZO.....	81
3.3.2	MANÍ .....	83
3.3.3	ARVEJA.....	85
3.3.4	SOYA .....	86
3.3.5	HABA.....	87
3.3.6	ARROZ .....	88

3.3.7	LENTEJA .....	89
3.4	COMPARACIÓN CON LA TABLA DE 1965.....	91
<b>CAPÍTULO 4</b> .....		<b>93</b>
4.	CONCLUSIONES.....	93
4.1	RECOMENDACIONES .....	95
<b>CAPÍTULO 5</b> .....		<b>97</b>
5.	BIBLIOGRAFÍA.....	97
	ANEXOS .....	101

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.1 PIRÁMIDE ALIMENTARIA. ....	3
FIGURA 1.2 ESTRUCTURA BÁSICA DE UN FOSFOLÍPIDO .....	12
FIGURA 1.3 HIDRÓLISIS DE UN FOSFOLÍPIDO .....	12
FIGURA 1.4 ATP EN REACCIÓN DE GLUCÓLISIS .....	13
FIGURA 1.5 ESTRUCTURA GENERAL DE UNA CADENA DE ADN .....	14
FIGURA 1.6 ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO .....	23
FIGURA 1.7 RANGO DE MEDICIÓN DEL ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO ....	24
FIGURA 1.8 INCIDENCIA DE LUZ EN UNA MUESTRA .....	28
FIGURA 1.9 ESQUEMA DE UN ESPECTROFOTÓMETRO LUZ .....	31
FIGURA 1.10 ESQUEMA DE UN ESPECTROFOTÓMETRO DIODOS .....	31
FIGURA 3.1 CURVA DE CALIBRACIÓN DEL DÍA 1 .....	63
FIGURA 3.2 CURVA DE CALIBRACIÓN DEL DÍA 2 .....	64
FIGURA 3.3 CURVA DE CALIBRACIÓN DEL DÍA 3 .....	64
FIGURA 3.4 CURVA DE CALIBRACIÓN DEL DÍA 4 .....	65
FIGURA 3.5 CURVA DE CALIBRACIÓN DEL DÍA 5 .....	65
FIGURA 3.6 CURVA DÍA 1 FORTIFICACIONES .....	70
FIGURA 3.7 CURVA DÍA 2 FORTIFICACIONES .....	71
FIGURA 3.8 CURVA DÍA 3 FORTIFICACIONES .....	71
FIGURA 3.9 CURVA DÍA 4 FORTIFICACIONES .....	72
FIGURA 3.10 CURVA DÍA 5 FORTIFICACIONES .....	72

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1.1 DATOS GENERALES DEL ELEMENTO QUÍMICO FÓSFORO .....	5
TABLA 2.1 NÚMERO DE ANÁLISIS POR LUGAR .....	47
TABLA 2.2 CODIFICACIÓN DE LUGAR DE MUESTREO .....	47
TABLA 3.1 ABSORBANCIAS DEL ESTÁNDAR DE FÓSFORO .....	62
TABLA 3.2 RESULTADOS DE LINEALIDAD .....	66
TABLA 3.3 PRUEBA FISCHER PARA LOS ESTÁNDARES DE FÓSFORO .....	66
TABLA 3.4 RESULTADOS DE SENSIBILIDAD DEL MÉTODO .....	67
TABLA 3.5 RESULTADOS DE LÍMITES .....	67
TABLA 3.6 VALORES DE ABSORBANCIA Y VOLUMEN EN MAÍZ .....	68
TABLA 3.7 RESUMEN DE ABSORBANCIAS PROMEDIO PARA CADA DÍA .....	70
TABLA 3.8 INTERCEPTOS DE LAS CURVAS DE MAÍZ .....	73
TABLA 3.9 RECUPERACIONES POR NIVEL DEL DÍA UNO EN MAÍZ .....	74
TABLA 3.10 RECUPERACIONES POR NIVEL DEL DÍA DOS EN MAÍZ .....	75
TABLA 3.11 RECUPERACIONES POR NIVEL DEL DÍA TRES EN MAÍZ .....	76
TABLA 3.12 RECUPERACIONES POR NIVEL DEL DÍA CUATRO EN MAÍZ .....	77
TABLA 3.13 RECUPERACIONES POR NIVEL DEL DÍA CINCO EN MAÍZ .....	78
TABLA 3.14 RECUPERACIÓN PROMEDIO .....	78
TABLA 3.15 PRUEBA COCHRAN PARA LA MUESTRA DE MAÍZ .....	79
TABLA 3.16 PRUEBA FISCHER PARA LA MUESTRA DE MAÍZ .....	80
TABLA 3.17 COEFICIENTE DE VARIACIÓN REPETIBILIDAD .....	80
TABLA 3.18 COEFICIENTE DE VARIACION REPRODUCIBILIDAD .....	81
TABLA 3.19 CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE FÓSFORO EN GARBANZO .....	82
TABLA 3.20 CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE FÓSFORO EN MANÍ .....	83

TABLA 3.21 DATOS DE HUMEDAD EN MANÍ.....	84
TABLA 3.22 CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE FÓSFORO EN ARVEJA.....	85
TABLA 3.23 CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE FÓSFORO EN SOYA .....	86
TABLA 3.24 CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE FÓSFORO EN HABA.....	87
TABLA 3.25 CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE FÓSFORO EN ARROZ.....	88
TABLA 3.26 CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE FÓSFORO EN LENTEJA .....	89
TABLA 3.27 RESUMEN DE DATOS DE FÓSFORO PARA CADA MATRIZ .....	90
TABLA 3.28 PRUEBA JI CUADRADO PARA CADA MUESTRA ANALIZADA.....	91
TABLA 3.29 PRUEBA T DE STUDENT PARA CADA MUESTRA ANALIZADA .....	91

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>ANEXO 1: FÓRMULAS APLICADAS</b> .....	102
<b>ANEXO 2 : PUESTA A PUNTO EL MÉTODO</b> .....	104
<b>ANEXO 3 : RECUPERACIONES</b> .....	118
<b>ANEXO 4 : CUANTIFICACIÓN</b> .....	123

## INTRODUCCIÓN

Las leguminosas y los cereales son considerados alimentos básicos para el ser humano, porque son fuente de nutrientes necesarios para el correcto funcionamiento del cuerpo humano. Tanto las legumbres como los cereales son fuente de energía que viene dada por su composición rica en hidratos de carbono y por los altos contenidos de fósforo; tienen además altos valores de fibra que benefician al sistema digestivo y, se recomiendan ampliamente en las dietas nutricionales porque bajan el nivel de colesterol en la sangre, por lo tanto su consumo es favorable para reducir los riesgos de enfermedades cardíacas o embolias cerebrales [1].

Es importante conocer el contenido de fósforo en leguminosas y cereales ya que constituyen la base de la alimentación de grandes grupos humanos, es así el caso de las personas que han optado por una dieta vegetariana ya que el contenido de minerales, grasas y proteínas podrían llegar a sustituir el consumo de carne y, también por personas que se esfuerzan en mantener un equilibrio entre los productos de origen vegetal y los de origen animal. [1].

A pesar de esto en el Ecuador se cuenta con datos sobre el contenido de fósforo de la Tabla Nutricional de Composición de los Alimentos que data del año 1965, incluso se emplean como método alternativo de información datos provenientes de Perú. En el presente trabajo de disertación se estudia el contenido de fósforo en seis (leguminosas haba, arveja, lenteja, soya, maní, garbanzo) y en un cereal (arroz) mediante la técnica de Espectroscopía Ultravioleta Visible. Se comparan los datos obtenidos con la información del año 1965.

# CAPÍTULO 1

## 1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

### 1.1 NUTRICIÓN HUMANA

Se denomina nutrición humana al proceso biológico en el cual se proporciona al ser humano los nutrientes y elementos básicos para la vida, estos nutrientes pueden ser de fuente vegetal o animal y, son indispensables para los procesos macrosistémicos como el sistema digestivo y el metabolismo, así como en procesos moleculares y bioquímicos relacionados con enzimas, vitaminas, minerales y aminoácidos [2].

La nutrición humana se refiere al ser humano como heterótrofo; es decir, no es capaz de sintetizar las sustancias elementales que el organismo requiere por su propia cuenta, necesita por tanto hacer ingesta de fuentes animales y vegetales para obtener los nutrientes requeridos. Existen varios campos científicos enfocados al estudio de la nutrición humana tales como la medicina, la química, la bioquímica entre otras, esto demuestra que la nutrición humana ha abarcado un amplio campo de estudio con el fin de beneficiar y mejorar los hábitos alimenticios del ser humano [2].

Es de esta manera que la nutrición humana tomó importancia en las últimas décadas a medida que la evidencia señalaba que el perfil de ingesta dietética de una población era un detonante de un sinnúmero de enfermedades; hoy en día no existe duda que la nutrición y los hábitos alimentarios son, en un porcentaje alto, causantes de enfermedades como la diabetes, la hipertensión, el cáncer y enfermedades cardiovasculares [2].

El consumidor necesita manejar información ordenada y fácil de entender, para lo cual se ha creado una herramienta efectiva que es la pirámide alimenticia, fue diseñada por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América (USDA por sus siglas en inglés) para divulgar de manera fácil la variedad de alimentos y como deberían ser consumidos de manera cotidiana. Está dividida por escalones o fracciones donde están distribuidos los grupos de alimentos y las fuentes de las que proviene cada uno [3].



**Figura 1.1 Pirámide alimentaria.**

De acuerdo a la Figura 1.1 se puede observar que en los escalones inferiores se encuentran los hidratos de carbono o derivados de cereales y pastas, que son los que aportan energía al ser humano y que deberían ser consumidos en mayor proporción, en el segundo escalón se sugiere un consumo alto en frutas y vegetales que aportan minerales y vitaminas; en el tercer escalón se especifican los productos derivados de fuentes animales como carne y lácteos que aportan proteínas y aminoácidos, la punta de la pirámide sugiere el uso restringido de aceites y grasas saturadas [4].

### **1.1.1 NUTRIENTE**

Un nutriente es una especie o compuesto químico procedente del exterior del cuerpo humano y que es necesario para que el mismo realice sus funciones vitales. Los alimentos proporcionan varios tipos de nutrientes al ser humano. Los nutrientes son sustancias químicas indispensables para que el cuerpo cumpla con ciertas funciones vitales, tienen la función de aportar energía, mantener la estructura muscular del cuerpo o actuar en procesos celulares. Los nutrientes más importantes son las estructuras químicas de mayor tamaño y complejidad como los hidratos de carbono presentes en legumbres y cereales, los lípidos y proteínas, que son conocidas como macronutrientes, por otro lado los micronutrientes como el fósforo son especies aisladas como las vitaminas y minerales [2].

## **1.2 FÓSFORO**

### **1.2.1 GENERALIDADES**

El fósforo fue descubierto por Hennig Brand en 1669 en la ciudad de Hamburgo; durante la búsqueda de la piedra filosofal Brand destiló una mezcla de orina evaporada con arena de la cual resultó un cuerpo que tenía la capacidad de brillar en la oscuridad, al primer hallazgo lo llamó fósforo de Brand. En el año 1771, Scheele sintetizó fósforo a partir de huesos calcinados. Años más tarde Lavoisier demostró que era un elemento químico y realizó pruebas de productos formados al quemarlo en el aire. No es hasta que Boyle comunicó su hallazgo al industrial y magnate alemán G. Hatkwits, que se encargó de la industrialización del fósforo en la ciudad de Londres [5].

**Tabla 1.1 Datos generales del elemento químico fósforo**

<b>Nombre</b>	<b>Fósforo</b>
Número atómico	15
Símbolo químico	P
Valencia	+3,-3,5,4
Electronegatividad	2.1
Configuración electrónica	[Ne]3s <sup>2</sup> 3p <sup>3</sup>
Masa atómica	30,9738 g/mol
Densidad	1.82 g/ml
Punto de ebullición	280 °C
Punto de fusión	44.20 °C

El fósforo (P) es un no metal multivalente perteneciente al grupo V, se encuentra en la naturaleza formando fosfatos inorgánicos y en los organismos vivos en procesos celulares pero jamás en estado nativo. Es muy reactivo y se oxida espontáneamente en contacto con oxígeno atmosférico, es un elemento fosforescente. El fósforo posee un spin nuclear de +1/2 y se usa en investigaciones de Resonancia Magnética Nuclear; el fósforo radiactivo es un átomo trazador para investigaciones de mecanismos de reacción [6].

El fósforo tiene varias formas alotrópicas, es decir, cuando un elemento químico tiene una misma composición pero un aspecto físico diferente y cada forma tiene propiedades diferentes. En el caso del fósforo las dos más importantes son el fósforo rojo y el fósforo blanco [6].

## **El fósforo blanco**

Es un sólido blando, translúcido, de olor irritante y de aspecto ceroso, que se obtiene por condensación de los vapores de fósforo. No se disuelve en agua ni en alcohol, pero es soluble en sulfuro de carbono, benceno, aceites vegetales, amoníaco líquido y éter. Tanto en sólido como en vapor es muy tóxico por lo que debe manejarse con mucho cuidado. Es muy reactivo y se combina con la mayoría de los elementos y arde en presencia de oxígeno formando nubes de óxido de fósforo. Se inflama aproximadamente a 50 °C [6].

## **El fósforo rojo**

El fósforo rojo está constituido por pequeños cristales y alguna otra modificación amorfa y tiene la apariencia de un polvo rojo. Se obtiene cuando se calienta fósforo blanco a 250 °C en ausencia de aire. Es menos reactivo que el blanco, y no se oxida fácilmente con el aire. La mayoría de los compuestos fosforados son trivalentes o pentavalentes. El fósforo se combina fácilmente con el oxígeno para formar óxidos, de los que son más importantes: trióxido de fósforo ( $P_2O_3$ ) y pentóxido de fósforo ( $P_2O_5$ ) [6].

## **Fósforo radioactivo ( $^{32}P$ )**

Es un isótopo del fósforo, el núcleo contiene 15 protones y 17 neutrones, tiene una vida de 14 días. Se usa esta variante del fósforo como un rastreador físico, químico y biológico. El isótopo de este elemento se comporta de manera casi idéntica en los procesos químicos y biológicos. De esta manera se ha descifrado el comportamiento del fósforo inorgánico en plantas, su desempeño en fertilizantes y dentro de los procesos celulares en seres vivos [7].

## 1.2.2 IMPORTANCIA DEL FÓSFORO EN LA AGRICULTURA

El concepto de fertilizante hace referencia a cualquier producto que de algún modo sirva para dar fertilidad la tierra o a alguna superficie orgánica, los fertilizantes pueden ser naturales o artificiales que son desarrollados a partir de compuestos químicos, cualquiera sea el caso la finalidad es dar carácter de efectividad a la tierra para el crecimiento de plantas o vegetales [8].

El fertilizante fosfatado existe desde el inicio de la industria moderna, el fósforo es extraído de fosas o depósitos de roca fosfatada o fosforita, el mineral que contenga fosfatos naturales es tratado con ácido sulfúrico para aumentar su eficiencia, los fertilizantes tratados con ácidos son denominados superfosfatos. Actualmente existen en el mercado fertilizantes con mayor proporción de fósforo, fácil almacenamiento y producción que se denominan fertilizantes fosforados [8]. Los fertilizantes fosforados dependen de su estructura o elaboración. Algunos de estos casos son:

**Fertilización por fosfatos molidos:** resulta de la trituración de la fosforita a un tamaño de partícula mínimo para ser colocado de manera directa sobre el suelo y mejorar el contacto con las raíces de las plantas, tiene entre sus componentes fosfato tricálcico y carbonato de calcio [8].

**Fertilización por fosfatos calcinados:** producto resultante de la reacción térmica a 1100-1200 °C de fosforita en tratamiento con soluciones básicas y ácido silícico. Contiene como componentes fosfato alcalino cálcico ( $\text{NaCaPO}_4$ ) y silicato de calcio ( $\text{Ca}_2\text{SiO}_4$ ). Este tipo

de fertilizante muestra un 34% de óxido de fósforo ( $P_2O_5$ ) y se aplican en todo tipo de suelo aunque son altamente efectivos en suelos ácidos [8].

**Fertilización por fosfato de Renania:** se realiza con apatito que es un mineral con cristales hexagonales y de composición química  $Ca_5(PO_4)_3$ , este mineral se calcina con carbonato de sodio y sílice a una temperatura comprendida entre 1100 y 1200 °C, se adiciona ácido fluorhídrico para separar el flúor de la roca fosfatada y la descomposición de la estructura química del apatito. La escoria se pulveriza y envasa; este es el fertilizante de Renania [8].

**Fertilización por fertilizantes de Thomas:** se forma a partir de las escorias de la siderurgia de la fosforita. A la mezcla de fosfatos y silicatos de cal se denomina fertilizante de Thomas. Es apto para el manejo de suelos ácidos y estabilización de medios básicos para la planta. Este tipo de procesos de calcinado enriquece al fertilizante con elementos como boro, molibdeno, magnesio y cobre [8].

**Fertilización con fósforo enriquecido:** también llamados superfosfatos enriquecidos es la mezcla del mineral fosforita con ácido orto fosfórico y esta operación eleva la proporción de  $P_2O_5$  del superfosfato común [8].

**Fertilización de amonio:** el superfosfato por su química permite fijar cierta cantidad de nitrógeno amoniacal sobre este; por tanto una cantidad de soluciones amoniacaes son añadidas durante los últimos procesos de fabricación del superfosfato. De esta manera se agudiza la efectividad del fertilizante por el aumento de  $P_2O_5$  presente y la fijación de nitrógeno [8].

**Fertilización por guano:** es el fertilizante natural animal, formado de excrementos de aves y esqueletos de animales. Sus componentes principales son el fosfato de amonio ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ), sodio y potasio [8].

### 1.2.3 IMPORTANCIA DEL FÓSFORO EN LAS PLANTAS

El fósforo (P) es un elemento esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas, este elemento es único ya que ningún otro elemento inorgánico puede realizar funciones específicas en las plantas. El fósforo se relaciona directamente con todas las reacciones de transferencia de energía que se ejecutan dentro de la planta. Los fosfatos de alta energía forman parte de la estructura química de la adenosina trifosfato (ATF) y de la adenosina difosfato (ADF) que actúan en el proceso de fosforilación y fotosíntesis [9].

La absorción y transporte del fósforo se da en las raíces de la plantas, inicialmente se absorbe como ion ortofosfato primario ( $\text{H}_2\text{PO}_4^{-1}$ ) y dependiendo del pH puede también ser atraído como ion fosfato secundario ( $\text{HPO}_4^{-2}$ ). Una vez dentro de la planta el fósforo se incorpora a compuestos orgánicos como fosfoproteínas, ácidos nucleicos (ADN y ARN), fosfolípidos, enzimas o a moléculas fosfatadas como adenosina trifosfato (ATP), la misma que interviene durante la fotosíntesis. Esta comprende una serie de reacciones químicas en cadena en la cual el fósforo, que se encuentra formando la adenosina trifosfato, atrapa la energía solar en presencia de energía luminosa, clorofila, dióxido de carbono y agua para liberar oxígeno, azúcares simples y formar paredes moleculares de reserva de energía [9].

#### **1.2.4 IMPORTANCIA DEL FÓSFORO EN LOS ALIMENTOS**

Las células de las plantas tienen la capacidad de almacenar nutrientes en mayores proporciones que las que se encuentran en la solución del suelo que las rodea; esta característica permite a las plantas extraer nutrientes del suelo que se encuentren en bajas concentraciones. El fósforo almacenado en la planta es transportado a las semillas o frutos que con el tiempo se convertirán en leguminosas u hortalizas; el fósforo es parte estructural de la fitina, las semillas que están dentro de las vainas, almacenan el fósforo en forma de fitina; las leguminosas almacenan un 50% de fósforo en forma de fitina y los cereales cerca del 70% [10].

#### **1.2.5 IMPORTANCIA DEL FÓSFORO EN LOS SERES HUMANOS**

Los seres humanos no son capaces de sintetizar sus propios alimentos ni los elementos químicos necesarios para las funciones vitales del cuerpo; por lo tanto es necesario ingerir alimentos que abarquen la mayor cantidad de requerimientos químicos que el cuerpo humano necesita [11].

La energía fundamental para el ser humano es la adenosina trifosfato (ATP), cuya composición química está basada fundamentalmente en el fósforo, se encuentra distribuida estratégicamente en el cuerpo humano en los huesos, los dientes, sistema nervioso, músculos y hasta en la sangre [11].

El fósforo representa el 1% del peso corporal de un ser humano, es el segundo mineral más importante y el segundo también en abundancia. Los fosfatos o sales de fósforo son

importantes ya que están íntimamente ligados a los procesos genéticos que incluyen a los ácidos nucleicos ARN y ADN; este último se forma por una base nitrogenada, un azúcar y un grupo fosfato; el fósforo posibilita la síntesis posterior del ARN y de proteínas que se denominan *productos de expresión de la información genética*. En conjunto con el calcio forma el fósforo cálcico que es el principal componente de huesos y dientes; es también parte estructural de la membrana celular y fundamental en los ciclos de división y reproducción celular. Está involucrado también en el metabolismo de lípidos (fosfolípidos) y carbohidratos. Respecto a los músculos el fósforo se relaciona con su capacidad de contracción, incluyendo en esto al corazón; está presente en las terminaciones nerviosas y el funcionamiento adecuado del cerebro [11].

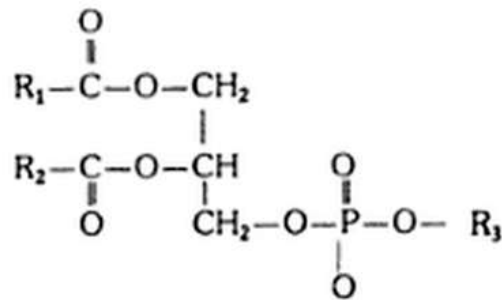
### **1.2.6 QUÍMICA DEL FÓSFORO EN LAS MOLÉCULAS**

El fósforo presenta reacciones químicas de alta importancia en los seres vivos y se encuentra como parte estructural de algunas moléculas superiores en el cuerpo humano, a continuación se presentan varias de estas [12].

### **1.2.7 FOSFOLÍPIDOS**

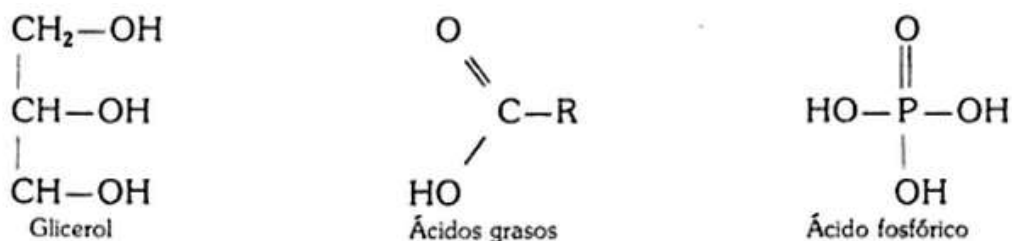
Los lípidos son sustancias de origen biológico, son moléculas anfipáticas que en presencia de agua forman bicapas; se caracterizan por tener una estructura de cadenas relativamente largas donde predominan el carbono y el hidrógeno, esto determina su grado de solubilidad, son solubles en etanol, éter, cloroformo y acetona. Su función es almacenar energía y formar parte de las capas lipídicas de las membranas [12].

Los fosfolípidos son aquellos que contienen ácido fosfórico dentro de su estructura. Se forman básicamente de los derivados del ácido glicerofosfórico, están formados por una molécula de glicerol esterificada en las posiciones 1 y 2 por dos ácidos grasos, con la posición 3 esterificada por un ácido fosfórico, este último lleva unidas además otras estructuras [12].



**Figura 1.2 Estructura básica de un fosfolípido [12]**

En una molécula superior, la parte formada por el glicerol, los ácidos grasos y el ácido fosfórico toman el nombre en conjunto de ácido fosfatídico, por reacción de hidrólisis se pueden separar en sus componentes:



**Figura 1.3 Hidrólisis de un fosfolípido y componentes por separado [12]**

### 1.2.8 CARBOHIDRATOS

El fósforo presente en el ATP participa en el proceso denominado glucólisis, donde la primera reacción es la transferencia de un grupo fosforilo del ATP a una molécula de glucosa para formar la glucosa -6- fosfato mediante un proceso catalizado por la enzima hexoquinasa fosforilasa. El fósforo tiene este tipo de reacciones también con la D- manosa y la D- fructosa [13].

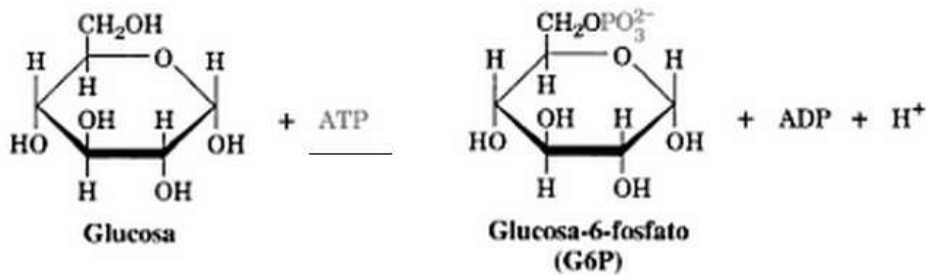
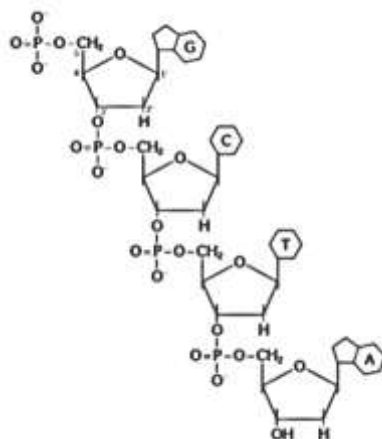


Figura 1.4 ATP en reacción de glucólisis [13]

### 1.2.9 ÁCIDOS NUCLEICOS

Los ácidos nucleicos son compuestos orgánicos de alto peso molecular formados por hidrógeno, carbono, oxígeno, nitrógeno y fósforo. Cumplen la función biológica vital de sintetizar proteínas específicas de la célula, almacenar y duplicar caracteres hereditarios [14].

El grupo fosfato presente en los nucleótidos dan la característica ácida tanto al ADN como al ARN; el ácido fosfórico en la cadena nucleica une las pentosas a través de una unión fosfodiéster [14].



**Figura 1.5 Estructura general de una cadena de ADN [14]**

### **1.3 TABLA DE COMPOSICIÓN DE LOS ALIMENTOS ECUATORIANOS – 1965**

El Instituto Nacional de Nutrición del Ecuador (INNE) creado en el año 1945 y que posteriormente fue absorbido por el Ministerio de Salud Pública en el año 1979, tenía como meta la elaboración de una tabla de composición química de alimentos consumidos en el país que serviría como guía para el consumidor, y a su vez como base para que ciencias como medicina, química y biología, estudien a fondo los efectos y necesidades de ciertos elementos en la alimentación de los ecuatorianos. Fue indispensable elaborar una tabla informativa donde se especificaría qué componentes químicos (macromoléculas, vitaminas y minerales) y en qué cantidad tenían los alimentos que se estaban expendiendo en Ecuador [15].

Es así que en 1958 se publica con éxito la primera tabla alimentaria del Ecuador. En una segunda edición se presentan datos de análisis de cerca de 586 alimentos diferentes, finalmente en 1965 se entrega la tabla con la mayor cantidad de análisis posibles; de esta

manera el INNE cumplió con su ofrecimiento de otorgar a los consumidores la primera Tabla de Composición de Alimentos Ecuatorianos con el fin de orientar a una mejor utilización de los alimentos de alto valor nutritivo y que contribuyó a la salud de la población ecuatoriana. [15].

## **1.4 LEGUMINOSAS Y CEREALES**

### **1.4.1 LEGUMINOSAS**

Una leguminosa o legumbre es un fruto que se origina de un ovario con un solo carpelo, cuando madura se transforma en una vaina simple, alargada, seca y comprimida y con las semillas en una hilera ventral. La Organización para la Alimentación y la Agricultura - (FAO)- ha diferenciado a las leguminosas en dos tipos; las semillas sin grasa como las lentejas, las arvejas y los garbanzos; y las semillas con grasa como el maní y la soya [16]

Las legumbres son un gran aporte nutritivo para el cuerpo humano, son el alimento con mayor cantidad de proteína dentro de los alimentos de origen vegetal; la proteína contenida en las leguminosas es de alta calidad a pesar que le falta un aminoácido elemental que es la metionina. Contienen almidón también pero en menor porcentaje que los cereales; finalmente aportan minerales como calcio, fósforo, hierro, magnesio, zinc y vitaminas como B12 y D [16].

## **1.4.2 CEREALES**

Los cereales son semillas de las gramíneas, en esta clasificación están incluidos el maíz, el arroz y la avena. Los cereales son la principal fuente de energía en la dieta del ser humano debido a su alto valor energético y bajo costo en comparación con otros alimentos. A nivel global el consumo de cereales se ha incrementado por las nuevas técnicas de producción y procesamiento. Ahora un cereal es fácilmente transformado en harina, también se usan para alimentación de ganado. Los granos de los cereales son estructuralmente similares pero su composición química es diferente [1].

La principal característica de los cereales y todos sus derivados es el alto contenido de almidón que rodea el 65% del peso de los granos del cereal, sobre todo bajo contenido de agua. El almidón presente en los cereales es un polímero formado por cientos de moléculas de  $\alpha$  D- glucosa que se pueden disponer de manera lineal formando la amilasa o en forma ramificada formando la amilopectina [1].

## **1.4.3 ARROZ**

El arroz es la semilla de la *Oryza sativa* y es un cereal considerado como uno de los alimentos básicos en zonas globales específicas como Asia y América Latina. Es el segundo cereal más producido después del maíz; desde el punto de vista nutricional el arroz tiene en comparación con otros cereales un menor porcentaje de proteínas, (gluten en un 7%); sin embargo tiene un valor alto de almidón, amilosa y amilopectina, su bajo costo y alto aporte calórico ha facilitado su consumo masivo. El arroz es uno de los cultivos más importantes dentro del sector agropecuario nacional, al mismo tiempo es uno de los

principales alimentos en la dieta de los ecuatorianos [16]. Existen varios tipos de arroz de acuerdo a su manera de producción y características físicas:

**Arroz negro u oscuro:** que consta de cascarilla sin pulir, generalmente es de color amarillento, este tipo de arroz conserva sus propiedades y vitaminas, contiene grasa por lo cual su almacenamiento es de corto plazo [17].

**Arroz blanco o de semilla pulida:** es sometido a un proceso de vapor y presión, no tiene las propiedades de la cascarilla pero su beneficio es que su almacenamiento y bodegaje es de largo plazo [17].

Según la tabla nutricional de alimentos ecuatorianos del INNE del año 1965 el arroz blanco contiene 135 mg /100 g de fósforo, el arroz moreno 309 mg / 100 g de fósforo y el arroz de castilla 173 mg/100 g de fósforo [15].

#### **1.4.4 ARVEJA**

El nombre científico de la arveja es la *Pisum sativum*, L, la arveja proviene de una planta trepadora de raíz pivotante, su altura máxima es de 1.5 a 2.0 m. La vaina que contiene los granos de arveja nacen de las flores, estas vainas son alargadas entre 5 a 10 cm de longitud, cada vaina contiene entre 4 y 10 arvejas.

Desde el punto de vista nutricional y energético la arveja aporta cantidades considerables de hidratos de carbono (56%) como el almidón, si son secas proteínas (21,6%) o frescas (6%), y una pequeña proporción de sacarosa. El aporte energético es muy diferente si se

trata de arvejas frescas (unas 74 kcal/100 g), o de arvejas secas (con un contenido calórico de unas 317 kcal/100 g). No obstante, cuando la arveja es fresca, recién recogida, presenta un sabor más dulce, debido a la presencia de azúcares simples, que conforme pasa el tiempo, se transforman en almidón. Las arvejas contienen dos tipos de fibra: soluble e insoluble. La fibra insoluble beneficia al funcionamiento del intestino; mientras que la soluble reduce los niveles elevados de colesterol. Las arvejas presentan también vitaminas como tiamina (B1), riboflavina (B2), niacina, piridoxina (B6), ácido fólico, vitamina K y vitamina C; al mismo tiempo contienen minerales como hierro, fósforo, potasio y magnesio [19]. Según la tabla nutricional de alimentos ecuatorianos del INNE del año 1965 la arveja seca contiene 375 mg/100 g de fósforo y la arveja tierna 124 mg /100 g de fósforo [15].

#### **1.4.5 GARBANZO**

El nombre científico del garbanzo es *Cicer arietinum* y es miembro de la familia Fabaceae, la planta de garbanzo tiene raíces profundas y bien arraigadas, tallos ramificados, los garbanzos se encuentran en pares en una vaina bivalva. Desde el punto nutricional los garbanzos son escasos en agua pero ricos en fibra, también tienen altos niveles de glúcidos; los garbanzos son altamente cotizados por su valor de proteína alto para ser leguminosas entre 17%-24%, por tanto contienen aminoácidos de calidad [20].

La harina de garbanzo de origen vegetal se obtiene a partir de la molienda del grano entero y descascarado, es un alimento rico en proteínas, hidratos de carbono, fibras, minerales y vitaminas. Los estudios demuestran que el garbanzo contiene niveles altos de lecitina que es un tipo de grasa que ayuda a controlar el colesterol y los triglicéridos [20]. Desde el

punto de vista bioquímico los garbanzos son ricos en aminoácidos esenciales, especialmente del ácido linolénico conocido como omega 6, por lo tanto son diagnosticados con problemas cardiovasculares [21]. Según la tabla nutricional de alimentos ecuatorianos del INNE del año 1965 el garbanzo seco contiene 292 mg/100 g de fósforo y el garbanzo tierno 123 mg/ 100 g de fósforo [15].

#### **1.4.6 HABA**

La haba es una leguminosa que pertenece a la familia de las Fabáceas y su nombre científico es *Vicia faba*; El haba es una planta perenne con características trepadoras, tiene tallo de grandes dimensiones de hasta 150 cm, la planta posee flores de color violeta; la planta ofrece un fruto que esta encapsulado en las vainas de dimensiones entre 10 y 25 cm, cada vaina contiene dos semillas. El haba posee la característica de fijar nitrógeno atmosférico al suelo cerca de 120 Kg. N h<sup>-1</sup>. Con lo cual se convierte en una excelente planta para cultivar, ya que aumenta, o por lo menos no disminuye significativamente, la fertilidad de los suelos [22].

El haba se encuentra entre las siete legumbres de grano más importantes en el mundo; se la usa tanto para alimentación humana como para la alimentación de los ganados, en varios países es una de las fuentes más grandes de aporte de proteína [22]. Las habas son un tipo de legumbre que brinda beneficios para la salud, dentro de estos beneficios se pueden mencionar el de reducir el colesterol naturalmente. Estas contienen nutrientes específicos que logran luchar contra el colesterol LDL o malo, y aumentar el colesterol HDL o bueno [22].

Según la tabla nutricional de alimentos ecuatorianos del INNE del año 1965 el haba verde contiene 513 mg /100 g de fósforo, el haba tierna 194 mg / 100 g de fósforo, el haba seca 447 mg/ 100 g de fósforo y la harina de haba 346 mg/ 100 g de fósforo [15].

#### **1.4.7 LENTEJA**

El nombre científico de la lenteja es *Lens culinaris*, es una planta herbácea que se cultiva anualmente, la planta tiene tallo corto y muy ramificado, tiene flores blancas y el fruto se encuentran en pares o grupos de tres dentro de una vaina planar, la planta de lenteja también tiene la característica de ser fijadora de nitrógeno [23].

La lenteja contiene fibra soluble que colabora a eliminar el colesterol por un proceso denominado adhesión como lo hacen todas las leguminosas, la fibra soluble se une a la estructura del colesterol sacándola del torrente sanguíneo, de igual manera ralentiza el proceso de fabricación de colesterol en el hígado, este proceso de adhesión reduce los carbohidratos por lo tanto se usa en tratamientos de diabetes; son coadyudantes de la digestión ya que aumentan la velocidad de los alimentos en el intestino; últimamente se ha determinado que la lenteja es aplicable en el tratamiento y prevención del cáncer por su contenido alto de isoflavonas. La lenteja tiene un contenido de vitamina K y vitamina B9 [23]. Según la tabla nutricional de alimentos ecuatorianos del INNE del año 1965 la lenteja negra contiene 278 mg /100 g de fósforo, la lenteja amarilla 320 mg/ 100 g de fósforo y la lenteja verde 313 mg/ 100 g de fósforo [15].

#### **1.4.8 MANÍ**

El nombre científico del maní es *Arachis hypogaea* y pertenece a la familia de las legumbres Fabáceas; es una planta que se auto poliniza; es considerada una legumbre y se cultiva en muchos países tropicales del mundo. Su semilla tiene muchos usos pero el más ampliamente destacado es la extracción del aceite de maní [24].

El maní esta químicamente compuesto por una gran cantidad de grasas insaturadas, proteínas y carbohidratos; tiene un 30% de su peso en proteína, los ácidos grasos más destacados son el omega 3, omega 6 y fitosteroles que al igual que el resto de las leguminosas colaboran a disminuir el colesterol negativo; es rico en vitamina E y como suplemento nutricional aporta minerales como sodio, potasio, fósforo, yodo y calcio [24].

El maní debe ser manejado bajo condiciones especiales ya que contiene aflatoxinas que resultan tóxicas para el ser humano [24]. Según la tabla nutricional de alimentos ecuatorianos del INNE del año 1965 el maní tostado contiene 453 mg/100 g de fósforo y el maní crudo 477 mg/ 100 g de fósforo [15].

#### **1.4.9 SOYA**

El nombre científico de la soya es *Glycine max* y es una leguminosa perteneciente a la familia de los rosales; la planta de soya alcanza una altura de medio metro, las semillas son esféricas y se encuentran encerradas en una vaina; la soya ha sido incluida y valorada recientemente como una alternativa nutricional esencial para el ser humano; contiene cantidades considerables de fibra que es beneficiosa para el sistema digestivo, porciones

moderadas de grasa saturada pero no tiene colesterol, el 40% de su peso se ha determinado que es proteína; es fuente rica de fósforo, hierro, magnesio, zinc y calcio; también tiene valores altos de vitamina B1, B12 y vitamina A [25].

Es una alternativa eficiente para las personas que demuestran algún tipo de resistencia a la lactosa, se ha creado un mercado amplio de productos como leche de soya, harina de soya y aceite de soya. Desde el punto médico se ha incluido la soya en tratamientos para la disminución de síntomas menopáusicos, en la prevención del cáncer de mama, y en los hombres la disminución de posibilidades de cáncer de próstata, como todas las legumbres son ricos en fitosteroles que son coadyuvantes en tratamientos de hipercolesterolemia, una sustancia en la soya llamada genisteína es aplicable en casos de trombosis [25].

La soya contiene altos niveles de lisina pero bajos niveles de aminoácidos azufrados como la metionina y cisteína, es que es la legumbre más completa respecto a contenido proteico, contiene los aminoácidos esenciales que el organismo no puede sintetizar, el aceite de soya es alrededor del 21% digerible y está saturado de ácidos grasos como ácido linolénico, linoléico y oleico que son fundamentales para el buen funcionamiento del sistema cardiovascular, nervioso y para regular los niveles de colesterol [25]. Según la tabla nutricional de alimentos ecuatorianos del INNE del año 1965 la soya contiene 915 mg/100 g de fósforo [15].

## **1.5 ESPECTROSCOPIA**

La espectroscopia estudia la interacción entre la radiación y la materia. Se basa por lo tanto en el estudio de los *espectros*, la manera de obtenerlos, cómo se miden y la forma de

interpretarlos en los análisis químicos. Un espectro es la representación gráfica cómo están distribuidas las intensidades de radiación electromagnética ya sea emitida o absorbida por la materia a determinada longitud de onda [26].

### 1.5.1 EL ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO

Conociendo la naturaleza ondulatoria, se puede definir entonces al espectro electromagnético como el orden en el cual están distribuidas las ondas electromagnéticas, donde el espectro de una sustancia al emitir energía es (espectro de emisión) o absorber energía (espectro de absorción) a una determinada longitud de onda; esta radiación es la huella dactilar o una manera de identificar una sustancia [27].

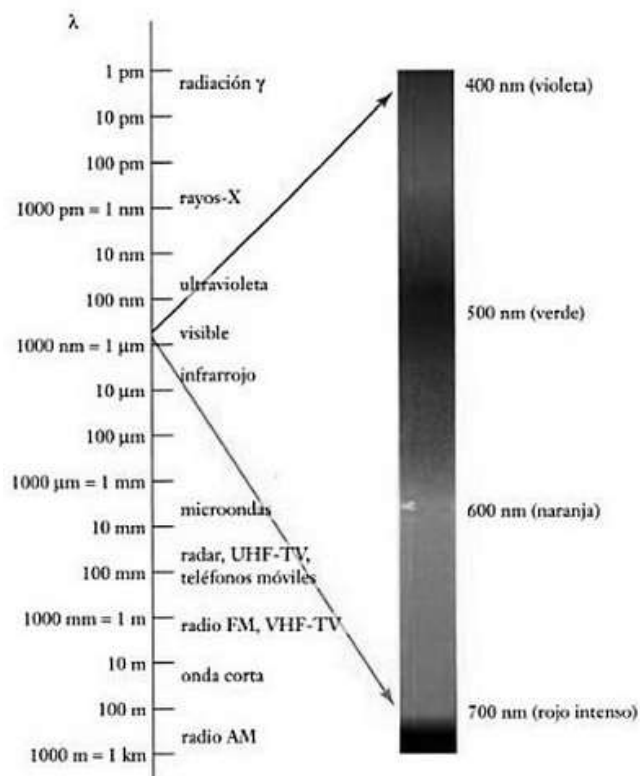


Figura 1.6 Espectro electromagnético [28]

En un inicio se hablaba del espectro electromagnético refiriéndose solamente a la luz visible cuyas longitudes de onda se encuentran comprendidas entre  $4 \times 10^{-5}$  y  $7.5 \times 10^{-5}$  cm. Es entonces que en el año 1800 W. Herschel proyectó el espectro solar sobre unos termómetros y por aumento de la temperatura se descubrió lo que ahora denominamos la zona infrarroja del espectro, casi al mismo tiempo Ritter y Wollaston descubrieron por ennegrecimiento de sales de plata lo que ahora llamamos la zona ultravioleta, Roentgen descubrió los rayos X, y con el hallazgo de la radiactividad de Becquerel en 1896 el espectro electromagnético se amplía hasta la radiación  $\gamma$  [27].

nombre	$\lambda$ (nm)
<b>no visible</b> ultravioleta	10 a 390
<b>visible</b> violeta	390 a 450
azul	450 a 480
verde	510 a 550
amarillo	570 a 590
naranja	590 a 630
rojo	630 a 760
<b>no visible</b> infrarrojo	760 nm a 1 mm

**Figura 1.7 Rango de medición del espectro electromagnético [29]**

## **TIPOS DE ENERGÍA**

**Energía electrónica:** es la energía de las moléculas y átomos que viene dada por la energía potencial y cinética de los electrones. La energía electrónica resulta del movimiento de los electrones y las interacciones de los mismos con el núcleo [26].

**Energía vibracional:** es la energía potencial y cinética que adquieren las moléculas del movimiento de vibración, los átomos en una molécula están conectados entre sí a través de enlaces, al no ser rígidas es posible el movimiento vibratorio [26].

**Energía rotacional:** es la energía cinética que adquieren las moléculas cuando las mismas rotan sobre su centro de gravedad en un eje [26].

**Energía nuclear o spin:** este tipo de energía está asociada a la orientación de las partículas nucleares con un campo magnético exterior [26].

A pesar que existan tantos tipos de energía y que sean diferentes en magnitud y orden, es posible obtener espectros característicos de acuerdo a la zona afectada:

**Métodos de Espectroscopía Molecular:** estos procedimientos se basan en los espectros de absorción, producidos por cambios en los niveles energéticos de las moléculas o sustancias. Los métodos de análisis más comunes son la Espectroscopia Visible Ultravioleta y el infrarrojo [26].

**Métodos de Espectroscopía Atómica:** estos procedimientos se basan en los cambios energéticos del átomo, ya sean de absorción o emisión. Los métodos de análisis más comunes son la Absorción Atómica, la Espectroscopía de Emisión y los Rayos X [26].

## **1.6 MÉTODO DE ANÁLISIS**

El método de análisis que se aplica en este trabajo de disertación es la técnica de espectroscopia ultravioleta visible (UV-Vis); a continuación se presentan algunos conceptos básicos de la radiación electromagnética hasta el desarrollo completo de la técnica UV-Vis.

### **1.6.1 ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA VISIBLE**

Como se mencionó la Espectroscopia estudia la interacción entre la materia y la energía; la materia está formada por moléculas, ya sea de manera separada como los gases, o formando aglomerados como sucede en los líquidos y sólidos; las moléculas de la materia se encuentren dispuestas ordenadamente, en desorden o de manera cristalina, están en constante movimiento de traslación, vibración y rotación, cualquiera de estas opciones están relacionada con la energía. Cada molécula de un analito absorbe igual cantidad de radiación cuando esta disuelta en un solvente transparente a la radiación aplicada [30].

El fundamento de la espectroscopia ultravioleta visible o espectrofotometría (UV-Vis) es la transición de un electrón desde el estado basal de energía a un estado excitado por la absorción de radiación ultravioleta-visible en la molécula. En el estado basal los electrones se encuentran en los niveles de mínima energía por lo cual son más estables, la energía radiante incidente se puede excitar de manera selectiva a los electrones presentes en el analito, esta absorción de la energía fotónica lleva a los electrones a un nivel superior de energía. Cuando se detiene la radiación, la inestabilidad de la molécula excitada obliga a los electrones a regresar a sus niveles más bajos de energía con el afán de mantenerse estables, este proceso es llamado emisión. Tanto la absorción y la emisión son procesos

físicos fundamentales para desarrollar las determinaciones cualitativas y cuantitativas de los analitos en las muestras [30].

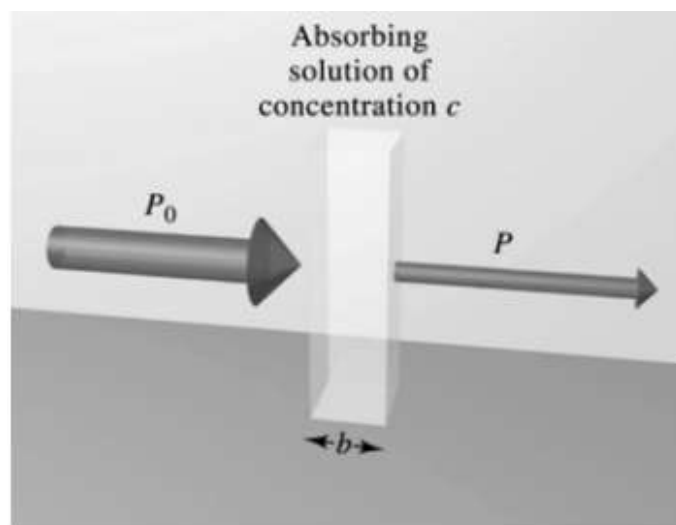
La espectroscopia ultravioleta visible está comprendida en un rango de longitud de onda entre 190 a 800 nm. En esta técnica las transiciones electrónicas en moléculas se presentan en forma de bandas, las mismas que muestran cambios simultáneos de los niveles de energía vibracionales como de rotación; lo que respecta a moléculas gaseosas de pequeño tamaño las bandas no presentan una forma rotacional concisa; en las moléculas complejas las bandas se presentan en un sinnúmero de niveles de vibración, por tanto la molécula aparece dividida por partes y no como una sola estructura; para caracterizar una banda se debe tomar en cuenta los parámetros de posición del máximo, la anchura y la intensidad de la banda [30].

En la espectroscopia ultravioleta visible es un factor muy importante la estructura química de las moléculas. Estas forman compuestos coloreados, el color de las sustancias se produce porque absorben ciertas longitudes de onda de luz blanca que incide sobre ellas y solo permiten pasar y hacer evidentes las que no son absorbidas, por este motivo el espectro resultante es la huella digital de cada molécula o especie química. Esta técnica se basa rígidamente por la ley de Lambert y Beer [30].

### **1.6.2 LEY DE LAMBERT Y BEER**

Las dos leyes que dirigen el comportamiento de la fracción de radiación absorbida cuando pasa a través de la materia son: la Ley de Lambert que se refiere al espesor de la muestra y al efecto sobre la radiación absorbida, y la Ley de Beer que se relaciona con el efecto de la concentración de la muestra sobre el proceso de absorción. Cuando se expone una muestra

a radiación electromagnética de una determinada longitud de onda, sólo una fracción de la radiación incidente ( $P_0$ ), es transmitida ( $P$ ). La Ley de Lambert y Beer se refiere a la trayectoria de la luz o radiación y se expresa como coeficiente de absorción que es característico para cada elemento, es como la huella dactilar de cada elemento. La proporción es directa entre la concentración de una sustancia y la absorción de luz de dicha sustancia [26].



**Figura 1.8 Incidencia de luz en una muestra [26].**

## **TRANSMITANCIA**

La transmitancia ( $T$ ) está definida como el cociente entre el haz de luz resultante ( $P$ ) y el haz de luz incidente o inicial ( $P_0$ ) cuando atraviesa un medio de determinado espesor medido en cm y una concentración de una sustancia absorbente. Se puede entonces determinar que la luz incidente es mayor que la luz resultante dada por la interacción de los fotones y las partículas absorbentes [26].

La transmitancia (T) se expresa con la siguiente fórmula:

$$T = P/P_0 \quad (1.1)$$

Donde:

T = Transmitancia

P = Intensidad del haz de luz que pasa por la muestra

P<sub>0</sub> = Intensidad del haz de luz sin atravesar la muestra

## **ABSORBANCIA**

La absorbancia (A) está definida como el logaritmo negativo de la transmitancia (T). La absorbancia aumenta conforme el valor de la concentración es más alto [26]. La absorbancia (A) está determinada por la fórmula:

$$A = -\log T \quad (1.2)$$

$$A = -\log (P/P_0) \quad (1.3)$$

Las dos leyes unificadas rigen la absorción de todos los tipos de radiación electromagnética ya sea en disoluciones, gases y sólidos. El enunciado de la ley determina que la absorbancia de radiación electromagnética producida por una especie absorbente es directamente proporcional a la trayectoria o recorrido de la radiación a través de la disolución y a la concentración de la solución que produce la absorción [26].

$$A = a \times b \times c \quad (1.4)$$

Dónde:

A = Absorbancia

a = Constante de proporcionalidad para cada sustancia o absortividad.

b = Espesor del medio por el cual atraviesa la radiación medido en cm.

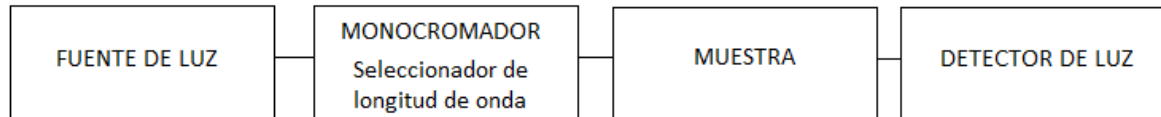
c = Concentración de la sustancia que absorbe la luz expresado en g/l.

## **1.7 INSTRUMENTACIÓN**

### **1.7.1 EL ESPECTROFOTÓMETRO ULTRAVIOLETA VISIBLE**

En el espectrofotómetro ultravioleta visible la fuente de luz es una lámpara o conjunto de lámparas que mantiene un espectro de emisión continuo en un rango de 190 – 1000 nm, se usan habitualmente lámparas de deuterio que excita la zona ultravioleta y el tungsteno sobre los 350 nm. El monocromador es el encargado de seleccionar las longitudes de onda y contiene un elemento que permite separar y direccionar sobre la muestra un intervalo estrecho de longitudes de onda. Después del monocromador la luz incide sobre la muestra que está colocada en una cubeta (plástico o de cuarzo) pulida de tal manera que no existan imperfecciones ópticas que puedan causar interferencias. La intensidad de luz transmitida se mide con un detector que tiene la capacidad de convertir en un tiempo dado el número de fotones registrados en señal eléctrica [31].

En la figura 1.11 se indica un diagrama de bloques que representa el ordenamiento de las partes de un espectrofotómetro:



**Figura 1.9 Esquema de un espectrofotómetro con detector de luz [31]**

Los espectrofotómetros pueden ser de varios tipos, así:

**Espectrofotómetro de arreglo de diodos:** en los cuales toda la luz policromática incide en la muestra, el monocromador discrimina la luz y cada longitud de onda es detectada por un diodo o también denominados microdetectores.



**Figura 1.10 Esquema de un espectrofotómetro con detector de arreglos de diodos [31]**

**Espectrofotómetro de doble haz:** es aquel que cuenta con dos compartimientos para celdas de muestra que permite medir simultáneamente la cantidad de energía radiante absorbida por un blanco y la energía absorbida por la muestra [31].

**Espectrofotómetro de haz simple:** cuenta con un único compartimiento de celda con lo cual se debe realizar la medida de absorción del “blanco” para poder registrar un cero, o referencia, y luego medir la absorción de la muestra [31].

## **1.8 TÉCNICAS PARA ANALIZAR FÓSFORO**

Existen varias técnicas para la determinación de fósforo en diferentes matrices ya sean alimentos, suelos o fertilizantes, casi todas las reacciones para la determinación de fósforo son colorimétricas a través de la formación de complejos coloreados [32].

### **1.8.1 MÉTODO DE OLSEN**

Este método fue desarrollado por Sterling Olsen y colaboradores en el año 1955 como un modelo de respuesta de los cultivos a la adición de fósforo en suelos calcáreos pero con un porcentaje de efectividad en suelos de carácter ácido. También se aplica el método Olsen en muestras de plantas y alimentos como método de determinación de fósforo absorbido y contenido en las muestras [32].

La determinación colorimétrica de fósforo mediante el método Olsen consiste en aumentar la solubilidad del fósforo, para lo cual se debe disminuir la concentración de  $\text{Ca}^{+2}$  soluble, mediante la adición del reactivo de Olsen  $\text{NaHCO}_3$  0.5 M a un pH de 8.5, formando carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ), así mismo carbonato de aluminio  $\text{Al}_2(\text{CO}_3)_3$  y carbonato de hierro II ( $\text{FeCO}_3$ ) [32].

### **1.8.2 MÉTODO DE BRAY Y KURTZ**

El método colorimétrico para determinación de fósforo fue desarrollado por Roger Bray y Lester Kurtz en el año de 1945, es un método desarrollado para determinar la respuesta y el

rendimiento en suelos de carácter ácido y neutro. Se emplea el reactivo de Bray que es la mezcla de  $\text{NH}_4\text{F}$  0.03 N con  $\text{HCl}$  0.025 N, de esta manera el fluoruro presente facilita la liberación del fósforo contenido en los fosfatos de aluminio. También se aplica en muestras de fertilizantes para determinar absorción y retención de fósforo en muestras [33].

### **1.8.3 MÉTODO DE ABSORCIÓN ATÓMICA**

La determinación de fósforo es una técnica espectrofotométrica tradicional, la cual implica la formación de un complejo fosfomolibdato coloreado que se determina en un rango de longitud de onda entre 650 – 850 nm; sin embargo, la determinación de fósforo por la técnica instrumental de Absorción Atómica es posible pero representa un proceso más difícil y complejo. Los avances tecnológicos permiten el análisis de fósforo con una lámpara EDL donde se toman en cuenta la resonancia secundaria del fósforo en lugar de la primera que se encuentra en la zona ultravioleta [34]. La primera manera para determinar fósforo a través de Absorción Atómica es con llama óxido nitroso/acetileno, bajo las siguientes condiciones:

- a) Longitud de onda: 213,6 nm
- b) Banda espectral: 0,2 nm
- c) Condición de llama: ligeramente luminosa
- d) Poder EDL: 6watts

El factor limitante para esta técnica son las concentraciones altas que superen al 5% del contenido de fósforo en la muestra, valores superiores contendrán un porcentaje de sólidos disueltos de alrededor del 18%, un porcentaje alto que reduce rápidamente la efectividad

del nebulizador poco después de la aspiración, se puede reducir el tamaño de la muestra usando la técnica acoplada de Llama Microsampling para acomodar las concentraciones [34].

Se puede también determinar fósforo con un atomizador de carbono en Absorción Atómica, las condiciones del equipo son las siguientes:

- a) Longitud de onda: 213,6 nm
- b) Banda espectral: 0,2 nm
- c) Temperatura de cenizas: 1500 °C
- d) Temperatura atomizador: 2400 °C
- e) Rampa: 600 °C/ segundo
- f) Corrección de fondo: Si
- g) Gas: N<sub>2</sub>
- h) Matriz 0,2 % de Lantano
- i) Modo de medición: altura del pico

Esta técnica se emplea en productos agrícolas, alimenticios o biológicos. Se construye una curva de calibración empleando adiciones de estándar de fósforo a la muestra ya que tienen una composición compleja que podría actuar como interferencia. La formación del complejo lantano-fósforo permite que la temperatura del proceso sea más alta con poca pérdida de fósforo; la adición del lantano permite la estabilización de la señal de fósforo y de esta manera obtener resultados reproducibles [34].

## **INCONVENIENTES DE LA TÉCNICA**

- a) Las líneas de resonancia primarias están en la zona ultravioleta visible.
- b) No es posible analizar muestras con grandes concentraciones de fósforo.
- c) El nebulizador puede deteriorarse o su efectividad ser reducida por interferencias.
- d) No es factible la fabricación de una lámpara de cátodo hueco para fósforo, dada las estrechas líneas del espectro y la estabilidad del elemento fósforo [34].

## **1.9 MUESTRA**

### **1.9.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA**

Para que un material sea utilizado en un análisis deber ser preparado de manera apropiada con el fin de que los resultados que se obtengan sean representativos y los métodos puedan ser valorados con veracidad. Existen varios procedimientos para el preparado de la muestra y así también varios parámetros que tomar en cuenta [35].

- a. La cantidad de muestra a analizar debe ser suficiente para todos los análisis.
- b. Debe ser una muestra homogénea y representativa.
- c. La muestra debe molerse finamente y ser mezclada homogéneamente.
- d. Almacenar la muestra en un lugar hermético para evitar contaminación o pérdida de muestra.

### **1.9.2 CALCINADO DE LA MUESTRA**

La calcinación de la muestra es una técnica empleada en determinaciones gravimétricas en la cual el agua y las sustancias volátiles son evaporadas, los componentes orgánicos se incineran por la presencia de oxígeno, finalmente los minerales son transformados en óxidos y fosfatos, se trabaja a una temperatura entre 500 °C y 550 °C [31].

### **1.9.3 DIGESTIÓN ÁCIDA DE LAS MUESTRAS**

Es un método tradicional que sirve para la preparación de las muestras previo a las determinaciones instrumentales con el fin de transferir por completo los analitos a una solución para que puedan ser analizados por espectroscopia ultravioleta visible, también la digestión acida es funcional para evitar la descomposición o contaminación de la muestra, su principal beneficio es aislar el metal para el análisis [36].

### **1.10 PUESTA A PUNTO DEL MÉTODO**

Poner a punto un método analítico es el proceso mediante el cual se busca demostrar que los resultados producidos por un procedimiento analítico son fiables, reproducibles y, que las condiciones del método y de los equipos se ajustan a los propósitos establecidos. La puesta a punto de un método analítico es una forma de obtener resultados que parten de un análisis químico de estándares previo a su aplicación en las muestras de estudio. Para poner a punto un método se evalúan los siguientes parámetros: linealidad, exactitud (recuperación), precisión (reproducibilidad y repetitividad), sensibilidad, límite de detección y límite de cuantificación [37].

### 1.10.1 PARÁMETROS PARA PONER A PUNTO EL MÉTODO

#### LINEALIDAD

La linealidad es el parámetro que permite determinar la capacidad del método analítico de obtener resultados proporcionales a las concentraciones del analito en las muestras y su respuesta en el equipo [38].

**Coefficiente de correlación (r):** Mide el grado de intensidad de la relación entre las variables del método, en este caso es la capacidad del método planteado para producir resultados proporcionales entre la concentración del analito y la respuesta dada por el equipo [38]. El coeficiente de correlación varía entre 0 (correlación nula) y -1 ó +1 (correlación eficiente). Se expresa mediante la fórmula:

$$r = \frac{\sum(xi-\bar{x}) * \sum(yi-\bar{y})}{\sqrt{\sum(xi-\bar{x}) * \sum(yi-\bar{y})}} \quad (1.5)$$

**Coefficiente de determinación (r<sup>2</sup>):** es el estadístico que determina la proporción en la que cambia la variable Y en función de la variable X. Si la proporción es nula o cero, significa que la variable X no tiene relación con la variable Y; valores altos del coeficiente de determinación aseguran una menor relación entre las variables, en caso que R sea 1 significa que la variable Y depende estrictamente de la variable X [38].

Está determinado por la fórmula:

$$r^2 = \frac{(y-\bar{y})^2 - (y-y')^2}{(y-\bar{y})^2} \quad (1.6)$$

## **SENSIBILIDAD**

Se afirma que un método es sensible cuando una variación pequeña de concentración produce cambios representativos en la respuesta del equipo. La sensibilidad del método está determinada por la pendiente de la curva de calibración [38].

## **LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN**

El límite de cuantificación es la cantidad mínima determinable con un nivel de exactitud y precisión [37]. Se representa con la fórmula:

$$LC = \bar{x} + 10S \quad (1.7)$$

Donde:

$\bar{x}$ : Promedio del valor de la señal del blanco

S: Valor de la desviación estándar

## **LÍMITE DE DETECCIÓN**

Se define al límite de detección como la cantidad más baja que se puede detectar en una muestra; sin embargo no se puede cuantificar con un valor exacto. Es la concentración que proporciona una señal instrumental significativamente diferente de la señal del blanco o el ruido del equipo [37]. Se representa por la fórmula:

$$LD = \bar{x} + 3S \quad (1.8)$$

Donde:

$\bar{x}$ : Valor de la señal del blanco

S: Valor de la desviación estándar

## **EXACTITUD**

Grado de concordancia entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado o tomado como verdadero. La exactitud se puede determinar mediante la veracidad y la precisión entre un valor medio obtenido y un material de referencia certificado (MRC), si no se dispone de un MRC es posible determinar la exactitud mediante el procedimiento de recuperación [38].

## RECUPERACIÓN

La recuperación es un procedimiento en el cual se añaden volúmenes fortificantes de estándar a muestras originales con el fin de evaluar el rendimiento del método analítico en cuanto al proceso de extracción de analito en la muestra original [37]. Los valores de aceptación para la recuperación deben estar comprendidos entre 70 y 120% [39].

## PRECISIÓN

Se define como precisión al grado de concordancia entre resultados de mediciones independientes, obtenidas bajo condiciones establecidas [40]. La precisión entonces se expresa como la desviación estándar de los datos obtenidos en conjunto. La precisión se divide en repetitividad y reproducibilidad de datos.

**Desvío:** es la dispersión de las medidas de una muestra estadística en contraste con su media aritmética [40].

**Varianza:** es la media aritmética del cuadrado de las desviaciones con respecto a la media total de una distribución estadística [40].

$$\sigma = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{N} \quad (1.9)$$

**Desviación estándar (S):** está definida como la medida de la cercanía o proximidad de los datos en mediciones o experimentos donde se han realizado experimentos repetidamente y que han arrojado valores en torno al valor de la media. Conforme la desviación estándar se

aleja del valor de la media, su valor es más grande y los datos por tanto no estarán estrechamente agrupados. La desviación estándar es la raíz cuadrada de la varianza [40].

Está definida por la fórmula:

$$S = \sqrt{\sigma^2} \quad (1.10)$$

**Media ( $\bar{X}$ ):** es el promedio o media aritmética; se obtiene este valor al dividir la sumatoria de todos los valores individuales por el número de medidas consideradas aceptadas, estas medidas son el total de datos que forman el conjunto [40]. Está definida por la fórmula:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} \quad (1.11)$$

**Coefficiente de variación o desviación estándar relativa:** es la medida estadística de dispersión de un grupo de datos que se obtiene al dividir la desviación estándar de los mismos entre la media aritmética de dichos datos. El coeficiente de variación o porcentaje de coeficiente de variación se aplica para determinar si la repetitividad y reproducibilidad de un método analítico [40].

**Repetitividad:** es la desviación estándar que se obtiene al analizar una misma muestra repetidamente, en un mismo periodo de tiempo, sin modificar las condiciones del equipo ni los reactivos [40].

$$\%CVr = \frac{Sr}{\bar{x}} \quad (1.12)$$

**Reproducibilidad:** es la desviación estándar que se obtiene al analizar la misma muestra repetidamente pero en días distintos, donde existen cambios en las condiciones del laboratorio, equipo y reactivos [40].

$$\%CVR = \frac{SR}{\bar{x}} \quad (1.13)$$

## **PRUEBAS ESTADÍSTICAS DE SIGNIFICACIÓN**

Las pruebas de significación son herramientas estadísticas que facilitan la decisión de rechazar o aceptar una hipótesis nula. Cuando se realiza un análisis estadístico se plantea un nivel de confianza para el trabajo realizado, el valor más usado es 0.05.

### **HIPÓTESIS NULA (H<sub>0</sub>)**

La hipótesis nula se define como la relación entre las variables, no está sujeta a errores sistemáticos y es un supuesto para indicar que no hay diferencia entre el valor verdadero y el experimental [41].

### **HIPÓTESIS ALTERNA (H<sub>a</sub>)**

La hipótesis alterna es la contraparte de la hipótesis nula y es aceptada por descarte cuando se rechaza la hipótesis nula; se refiere entonces a que sí existe una diferencia significativa entre el valor verdadero y el valor experimental que está siendo comparado [41].

## PRUEBA t DE STUDENT

La prueba t de Student se define como la herramienta estadística para contrastar la hipótesis nula entre las medias de dos poblaciones de distribución normal; se comparan las mediciones realizadas de dos métodos diferentes; uno de los métodos es el procedimiento aceptado y el otro es el que está siendo puesto a prueba. El valor t calculado se compara con el valor en las tablas bajo un parámetro de confianza. Cuando el valor de las tablas es menor que el valor calculado se determina que existen diferencias significativas entre los métodos comparados; si el valor en las tablas es mayor que el valor calculado se determina entonces que no hay diferencia significativa entre los métodos contrastados [41]. Está definido por la fórmula:

$$t = \frac{(\bar{x} - \mu) * \sqrt{N}}{S} \quad (1.14)$$

Donde:

$\mu$ : Media verdadera o valor aceptado como verdadero

$\bar{x}$ : Promedio de la muestra

S: Desviación estándar

N: Tamaño de la muestra

## PRUEBA DE COCHRAN

Es la prueba de homogeneidad de varianzas en muestras de poblaciones normales, se aplica cuando todas las muestras son de igual tamaño y determina si las varianzas son notablemente disímiles [42]. Está dado por la fórmula:

$$T = k(k - 1) \frac{\sum_{j=1}^K (x' - \frac{N}{k})^2}{\sum_{i=1}^b x'(k-x')} \quad (1.15)$$

Donde:

k: Número de tratamientos

$x'$ : Total de la columna para el tratamiento

b: Número de bloques

N: Total

## PRUEBA JI CUADRADO

La prueba de independencia Ji Cuadrado es el estadístico que se aplica para comprobar si dos características cualitativas están relacionadas entre sí. El contraste Ji Cuadrado se aplica cuando se desea comparar una variable en dos situaciones o poblaciones diferentes. Basa el estudio de la variable de acuerdo a las frecuencias observadas [43].

Está definido por la fórmula:

$$x^2 = \sum \frac{(F\alpha - F\beta)^2}{F\beta} \quad (1.16)$$

Donde:

$\chi^2$ : Estadístico Ji Cuadrado

$F_{\alpha}$ : Frecuencia observada

$F_{\beta}$ : Frecuencia teórica

### **ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)**

La prueba de análisis de varianza o ANOVA, se emplea para verificar si existen diferencias estadísticamente significativas entre medias cuando el número de muestras es mayor a dos y comprueba si las diversas muestras pueden ser consideradas muestras aleatorias de una misma población. Se aplica la prueba ANOVA ya que la t de Student es válida solamente si se contrastan las medias de dos muestras, el análisis de varianza asegura que al comparar muchos estadísticos las diferencias significativas entre los mismos no sea al azar, y, por lo tanto, la hipótesis nula sea aceptada o rechazada certeramente [41].

## **CAPITULO 2**

### **2. PARTE EXPERIMENTAL**

#### **2.1 MUESTREO**

La toma de muestras se realizó en tres lugares de expendio en la ciudad de Quito; Mercado Santa Clara, Supermercados Santa María y Supermaxi. El muestreo se realizó en un día en tres semanas diferentes. En cada lugar de expendio se adquirió 1 kg de cada producto; en un lapso de tres semanas se adquirieron tres muestras de cada producto; es decir al cabo de tres semanas se adquirieron tres muestras de cada producto. Cada muestra fue analizada por triplicado.

La manera como los productos se presentan para la venta en un supermercado es muy diferente a como se comercializan en un mercado popular, por esta razón algunos de los productos fueron adquiridos empaquetados, en el caso de Supermaxi las muestras empaquetadas corresponden a arroz, garbanzo, maní y soya, mientras que arveja, lenteja y haba se obtuvieron al granel. En el caso del Mercado Santa María y Mercado Santa Clara los productos se comercializan todos al granel y fueron comprados en el mismo negocio durante las tres semanas de muestreo.

**Tabla 2.1 Número de análisis por lugar y total de cada producto**

<b>Muestra</b>	<b>Número de semanas</b>	<b>Número de lugares</b>	<b>Total de muestras</b>	<b>Repeticiones de análisis</b>	<b>Total de análisis por producto</b>
<b>Garbanzo</b>	3	3	9	3	27
<b>Arveja</b>	3	3	9	3	27
<b>Arroz</b>	3	3	9	3	27
<b>Maní</b>	3	3	9	3	27
<b>Lenteja</b>	3	3	9	3	27
<b>Soya</b>	3	3	9	3	27
<b>Haba</b>	3	3	9	3	27

En la Tabla 2.2 se muestra la codificación que se asignó a cada lugar de expendio y la semana correspondiente de muestreo.

**Tabla 2.2 Codificación de lugar de muestreo y semana de análisis**

<b>Muestra</b>	<b>Lugar</b>	<b>Semana</b>	<b>Código</b>
<b>Producto</b>	Santa María	1	SMS1
		2	SMS2
		3	SMS3
	Supermaxi	1	SPS1
		2	SPS2
		3	SPS3
	Santa Clara	1	SCS1
		2	SCS2
		3	SCS3

## **2.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA**

### **2.2.1 MATERIALES Y EQUIPOS**

#### **EQUIPOS**

Molino de alimentos MF 10 basic IKA Werke

## **MUESTRAS**

- a) Arveja verde
- b) Lenteja verde
- c) Haba verde
- d) Garbanzo
- e) Soya
- f) Arroz blanco
- g) Maní

## **PROCEDIMIENTO**

- a) Cuartear la muestra hasta obtener aproximadamente 300 g.
- b) Limpiar el molino de alimentos antes de ser usado.
- c) Moler las muestras de arroz, haba, soya, lenteja arveja y garbanzo hasta obtener harina de cada producto.
- d) Las muestras de harinas se almacenan en bolsas con cierre hermético para ser sometidas al proceso de secado y calcinado.
- e) Etiquetar cada bolsa con el nombre del producto y código de lugar.

### **2.3 PUESTA A PUNTO DEL MÉTODO**

Se prepararon soluciones a diferentes concentraciones 0,0000 - 0,0100 - 0,0250 - 0,0500 - 0,0750 - 0,1000 mg/ mL de fósforo, con estas soluciones se realizaron cinco curvas de calibración por día, durante un periodo de cinco días, con el fin de determinar la linealidad. En el presente trabajo de disertación se empleó fosfato monobásico de potasio  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  al

99% de pureza como estándar para las determinaciones. El fosfato soluble en ácido forma un complejo coloreado de color azul  $[(\text{MoO}_2 \cdot 4\text{MoO}_3)_2 \cdot \text{H}_3\text{PO}_4]$ , las soluciones fueron leídas en el equipo ultravioleta visible (UV-Vis) marca Agilent Technologies Cary 60 a una longitud de 823 nm; Se siguió el método 915.11 oficial de la AOAC para determinación de fósforo total en alimentos.

### **2.3.1 MATERIALES Y EQUIPOS**

#### **EQUIPOS**

- a) Balanza analítica Mettler Toledo ML 204
- b) Sorbona Extractor CEX 120
- c) Estufa Binder
- d) Mufla Optic Ivimen SNOL
- e) Baño caliente Gemmyco YCW010E
- f) Espectrofotómetro Ultravioleta Visible Agilent Technologies Cary 60

#### **MATERIALES**

- a) Crisoles de porcelana
- b) Pinza para crisoles
- c) Desecador de vidrio de 30 cm.
- d) Espátula de acero inoxidable
- e) Balones de aforo de 50 mL.
- f) Balones de aforo de 100 mL.
- g) Pipetas volumétricas

## REACTIVOS

- a) Ácido clorhídrico concentrado grado analítico 96,3 p/p
- b) Ácido sulfúrico concentrado grado analítico 12,1 N
- c) Ácido ascórbico
- d) Hidróxido de potasio al 50% p/v
- e) Molibdato de sodio dihidratado
- f) Fosfato monobásico de potasio grado HPLC 99% de pureza
- g) Óxido de zinc

## PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES (AOAC 915.11)

- a) **Solución de hidróxido de potasio al 50% p/v:** disolver 50g KOH en 50 mL de agua destilada.
- b) **Solución de molibdato de sodio ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ):** mezclar 140 mL de ácido sulfúrico concentrado 12,1 N con 300 mL de agua en un balón de aforo de 500 mL. Enfriar a temperatura ambiente y añadir 12,5 g de  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Diluir hasta el volumen de aforo con agua destilada.
- c) **Solución de ácido ascórbico:** disolver 5 g de ácido ascórbico en agua en un balón de aforo de 100 mL. Diluir hasta el volumen con agua. La solución debe ser fresca por lo tanto preparar la solución en el día de uso.
- d) **Solución de ácido ascórbico - molibdato:** mezclar 25 volúmenes de solución de

$\text{Na}_2\text{MoO}_4$  a 10 volúmenes de solución de ácido ascórbico, y diluir con agua destilada a 100 volúmenes en un balón de aforo.

- e) **Solución stock de fósforo:** disolver 1,0967 g del estándar de fósforo ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) con agua destilada en un balón de aforo de 250 mL.
- f) **Solución estándar de trabajo de fósforo 0,0100 mg P/mL:** transferir 5,00 mL de solución stock de fósforo a un balón de aforo de 500 mL.
- g) Añadir agua destilada hasta completar el volumen de aforo.

#### **PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES ESTÁNDAR DE FÓSFORO (AOAC 915.11)**

- a) Transferir con pipetas volumétricas 0,00 – 1,00 – 2,50 – 5,00 - 7,50 – 10,00 mL de la solución estándar de trabajo de fósforo 0,01 mg P/ml a balones de aforo de 50 mL.
- b) Añadir 20 mL de la solución de ácido ascórbico - molibdato.
- c) Añadir 10 mL de agua destilada.
- d) Colocar piezas metálicas como lastres para evitar que los balones se viren.
- e) Colocar una tira de papel en el tapón para evitar crear vacío dentro del balón.
- f) Calentar por 15 min en el baño con agua caliente a temperatura de 60 C°.
- g) Retirar los balones, dejar enfriar y completar el aforo con agua destilada.
- h) Transferir la solución a celdas de plástico de 1 cm.
- i) Medir la absorbancia de las muestras a 823 nm en un tiempo máximo de una hora.

- j) Construir la curva de calibración estableciendo la relación de absorbancia frente a concentración de fósforo en las soluciones estándar.
- k) Realizar este proceso cinco veces al día, por cinco días.

## **2.4 RECUPERACIÓN**

Para corroborar la eficiencia del método de determinación de fósforo se añadieron los siguientes volúmenes del estándar de fósforo: 0,00 - 3,00 - 5,00 y 7,00 mL a una muestra de harina de maíz. Se escogió la harina de maíz ya que la matriz a usar debe ser un cereal o una leguminosa similar a las muestras analizadas; por otra parte, según la Tabla de Composición de Alimentos Ecuatorianos del año 1965 la harina de maíz tiene un contenido de fósforo de 255 mg/ 100g de muestra y es un valor próximo al valor del contenido de fósforo que registra la misma tabla para el resto de muestras. Se siguió el método descrito.

### **SECADO DE LA MUESTRA DE MAÍZ (AOAC 915.11)**

- a) Pesar 0,50 g de harina de maíz en crisoles de porcelana.
- b) Añadir 0,50 g de óxido de cinc ZnO a los crisoles y un crisol sin muestra como blanco.
- c) Añadir en crisoles separados 3,00 – 5,00 y 7,00 mL de solución de trabajo de fósforo a cada crisol de porcelana. Un crisol debe quedar sin fortificación
- d) Preparar tres crisoles por cada nivel de fortificación que se analiza.
- e) Secar los crisoles 2 horas a 110 °C.

### **CALCINACIÓN DE LA MUESTRA DE MAÍZ (AOAC 915.11)**

- a) Colocar los crisoles de porcelana en la mufla a temperatura ambiente.
- b) Programar la temperatura de la mufla a 525 °C.
- c) Mantener esta temperatura durante una noche.
- d) Retirar los crisoles de porcelana de la mufla y dejar enfriar a temperatura ambiente.

### **DIGESTIÓN ÁCIDA DE LA MUESTRA DE MAÍZ (AOAC 915.11)**

- a) Añadir 5,00 mL de agua destilada al crisol frío.
- b) Adicionar 5,00 mL de HCl concentrado grado analítico 12,1 N.
- c) Cubrir el crisol con un vidrio de reloj y llevar cuidadosamente a ebullición.
- d) Filtrar la solución de cada crisol en un balón de aforo de 100 mL.
- e) Lavar el crisol y la superficie interna del vidrio de reloj con 5 mL de agua destilada caliente. Repetir este procedimiento al menos 4 veces.
- f) Neutralizar la solución con la solución de KOH al 50% p/v hasta que la solución esté ligeramente opalescente.
- g) Añadir HCl concentrado 12,1 N gota a gota hasta que la opalescencia desaparezca.
- h) Enfriar a temperatura ambiente y completar el aforo con agua destilada.

### **PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS DE MAÍZ PARA LA LECTURA (AOAC 915.11)**

- a) Medir con la pipeta entre 1,00 mL de solución de muestra en balones de aforo de

50,00 mL.

- b) Añadir 15 mL con agua destilada.
- c) Agregar 20 mL de solución de ácido ascórbico - molibdato a la solución blanco y también a las soluciones estándar de fósforo.
- d) Mezclar el contenido cuidadosamente.
- e) Tapar cada balón e insertar delgadas tiras de papel filtro entre el tapón y el balón de tal manera que se cree vacío al llevar a baño maría.
- f) Colocar el alambre o las nueces de acero como lastres en los balones..
- g) Sumergir los balones en un baño de agua caliente a 60 °C durante 15 minutos.
- h) Retirar los balones del baño.
- i) Enfriar los balones a temperatura ambiente.
- j) Diluir el contenido a 50 mL con agua destilada.

#### **ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DE MAÍZ (AOAC 915.11)**

- a) Transferir la solución a celdas de plástico de 1 cm, medir la absorbancia frente al blanco a 823 nm.
- b) El análisis debe realizarse en un tiempo máximo de una hora.
- c) Calcular el porcentaje de recuperación.

#### **2.5 CUANTIFICACIÓN DE CEREAL Y LEGUMINOSAS**

Para la cuantificación de fósforo en las muestras de siete productos agrícolas del Ecuador (haba, garbanzo, maní, soya, lenteja, arveja y arroz) se siguió el método 915.11 oficial de la AOAC para determinación de fósforo total en alimentos.

Se analizaron por triplicado las tres muestras que fueron tomadas en un lapso de tres semanas de muestreo, con el objetivo de determinar la concentración de fósforo en miligramos por cien gramos de muestra (mg/100 g), este valor fue contrastado con el valor teórico dado por la Tabla de Composición de Alimentos Ecuatorianos del año 1965, con el fin de determinar si existen diferencias significativas entre los análisis realizados y aceptar la hipótesis nula o afirmar la hipótesis alterna.

#### **SECADO DE LA MUESTRA DE CEREAL Y LEGUMINOSAS (AOAC 915.11)**

- a) Ordenar las bolsas etiquetadas de acuerdo a como se vayan a analizar.
- b) Pesar aproximadamente 0,5 g de muestra de cereal y leguminosas en crisoles de porcelana.
- c) Añadir un crisol vacío como blanco.
- d) Añadir 0,5 g de óxido de zinc ZnO en todos los crisoles de porcelana.
- e) Secar 2 horas a temperatura de 110 °C.

#### **2.5.1 CALCINADO DE LA MUESTRA DE CEREAL Y LEGUMINOSAS (AOAC 915.11)**

- a) Colocar los crisoles de porcelana en la mufla a temperatura ambiente.
- b) Programar la temperatura a 525 °C.
- c) Mantener esta temperatura durante una noche.
- d) Retirar los crisoles de la mufla
- e) Enfriar a temperatura ambiente.

## **2.5.2 DIGESTIÓN ÁCIDA DE LAS MUESTRAS DE CEREAL Y LEGUMINOSAS (AOAC 915.11)**

- a) Añadir 5 mL de agua y 5 mL de HCl concentrado grado analítico 12,1 N a los crisoles de porcelana.
- b) Cubrir el crisol de porcelana con un vidrio de reloj y llevar cuidadosamente a ebullición el contenido durante 5 minutos en el reverbero.
- c) Filtrar el contenido en un balón de aforo de 100 mL.
- d) Lavar el crisol y la superficie interna del vidrio de reloj con 5 mL de agua destilada caliente.
- e) Repetir el procedimiento 4 veces.
- f) Enfriar el balón de aforo a temperatura ambiente
- g) Neutralizar la solución del balón de aforo de 100 mL. con la solución de KOH 50% p/v hasta que la solución esté ligeramente opalescente.
- h) Añadir HCl concentrado grado analítico 12,1 N gota a gota hasta que la opalescencia desaparezca.
- i) Dejar enfriar a temperatura ambiente y entonces completar el aforo a 100 mL con agua destilada.

## **2.5.3 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS DE CEREAL Y LEGUMINOSAS PARA LA LECTURA (AOAC 915.11)**

- a) Medir con la pipeta entre 1 mL de solución de muestra en balones de aforo de 50 mL.

- b) Añadir 15 mL con agua destilada.
- c) Añadir 20 mL de solución de ácido ascórbico - molibdato a la solución blanco y a las muestras en los balones de 50 mL.
- d) Mezclar el contenido cuidadosamente.
- e) Insertar delgadas tiras de papel filtro entre el tapón y el balón de tal manera que el tapón no quede cerrado herméticamente.
- f) Sumergir los balones en un baño de agua caliente a 60 °C durante 15 minutos. Colocar nueces de acero como lastres si los balones flotan.
- g) Enfriar los balones y completar el aforo con agua destilada.

#### **2.5.4 LECTURA DE LAS MUESTRAS DE CEREAL Y LEGUMINOSAS (AOAC 915.11)**

- a) Transferir la solución a celdas de plástico de 1 cm, medir la absorbancia frente al blanco a 823 nm.
- b) Realizar las lecturas en el intervalo de hora.
- c) Determinar la concentración de fósforo en las muestras de cereal y leguminosas.

## **2.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

A continuación se explica de qué manera se aplicaron los parámetros estadísticos en el presente trabajo de disertación.

### **2.6.1 PUESTA A PUNTO DEL MÉTODO**

#### **Linealidad**

La linealidad en el presente trabajo se determina mediante el factor de correlación ( $r$ ) y el factor de determinación ( $r^2$ ) que se calculan a partir de las curvas de calibración. Se estableció un criterio de aceptabilidad para los dos parámetros.

Se aceptó que  $r$  sea mayor que 0,9990 y  $r^2$  mayor a 0,9990

#### **Sensibilidad**

La sensibilidad del método analítico en el presente trabajo se determina mediante los valores de las pendientes ( $m$ ) obtenidas de las curvas de calibración del estándar de fósforo de los cinco días de análisis. La sensibilidad del método depende entonces de la inclinación de la recta y de su aproximación en este caso al eje Y (lectura de absorbancia del Espectrofotómetro Ultravioleta Visible) en función de la concentración de los estándares de fósforo. El criterio de aceptabilidad consiste en que los valores de las pendientes mantengan un rango de estabilidad, su grado de inclinación con respecto al eje Y y que el valor de la desviación estándar sea bajo.

### **Límite de cuantificación y de detección**

En el presente trabajo el límite de cuantificación se determina a partir de los valores de absorbancia del blanco de las curvas de calibración, se realizan en total 25 blancos, de los cuales se calcula el promedio de las lecturas y el valor de la desviación estándar. El límite de cuantificación se calcula mediante la fórmula (1.7) y el límite de detección mediante la fórmula (1.8).

### **Exactitud**

La exactitud en el presente trabajo se determinó mediante el procedimiento de recuperaciones en harina de maíz, se estableció el rendimiento del método analítico de acuerdo al porcentaje de extracción de analito de la muestra. Se fortificó la muestra de maíz con volúmenes determinados de estándar de fósforo (3,00 - 5,00 y 7,00) mL. y se determinó el porcentaje de recuperación.

Se aceptan los valores obtenidos entre el 70 y 120% de recuperación [39].

### **Precisión**

En el presente trabajo se determina la precisión del método mediante el coeficiente de variación dentro del día % CV<sub>r</sub> (repetitividad) como dentro de los días %CVR (reproducibilidad). Se clasifica cada nivel en Bueno, Aceptablemente bueno, Bajo e Inaplicable de acuerdo al valor obtenido [39].

Se estableció el criterio de aceptabilidad %CVR y %CVr menor que 20%

### **Análisis de varianza (ANOVA)**

En la puesta a punto del método, el ANOVA se aplica en la regresión lineal de cada uno de los días de análisis con el fin calcular el coeficiente de correlación y de determinación, también sirve para determinar el valor de la pendiente de cada una de las curvas de calibración.

En la recuperación, en cambio, se aplica para determinar si las varianzas entre niveles son homogéneas, al aplicar el análisis de varianza también sirva para calcular el valor experimental de la prueba de significación de Fisher para determinar si existen diferencias significativas entre las varianzas dentro del día y entre días.

Para la cuantificación, el ANOVA sirve para calcular los valores de cuadrados totales que se emplean en la prueba de Ji de cuadrado, en el presente trabajo sirve para determinar si la semana de análisis está relacionada o influye en la concentración de fósforo en las muestras.

### **Prueba t de Student**

En el presente trabajo se aplica la prueba t de Student para determinar si existen diferencias significativas entre los resultados de los análisis químicos realizados en haba, lenteja,

arveja, maní, soya, arroz y garbanzo contrastados con los datos de la Tabla de Composición de Alimentos Ecuatorianos del año 1965 comparando el valor tabulado con el valor calculado. Para lo cual se establecieron una hipótesis nula y una hipótesis alterna, se trabajó con un nivel de confianza del 95% y un grado de libertad (1GL).

### **Prueba de Cochran**

En el presente trabajo, se aplica la prueba de Cochran para determinar si durante el proceso de adiciones, los porcentajes de recuperación de las diferentes concentraciones presentan varianzas significativas o si son homogéneas.

### **Prueba Ji cuadrado**

En el presente trabajo la prueba Ji Cuadrado se aplica para determinar si la semana de análisis afecta a la concentración de las matrices muestra. Se trabajó con un nivel de confianza del 95% y dos grados de libertad (2GL).

## CAPITULO 3

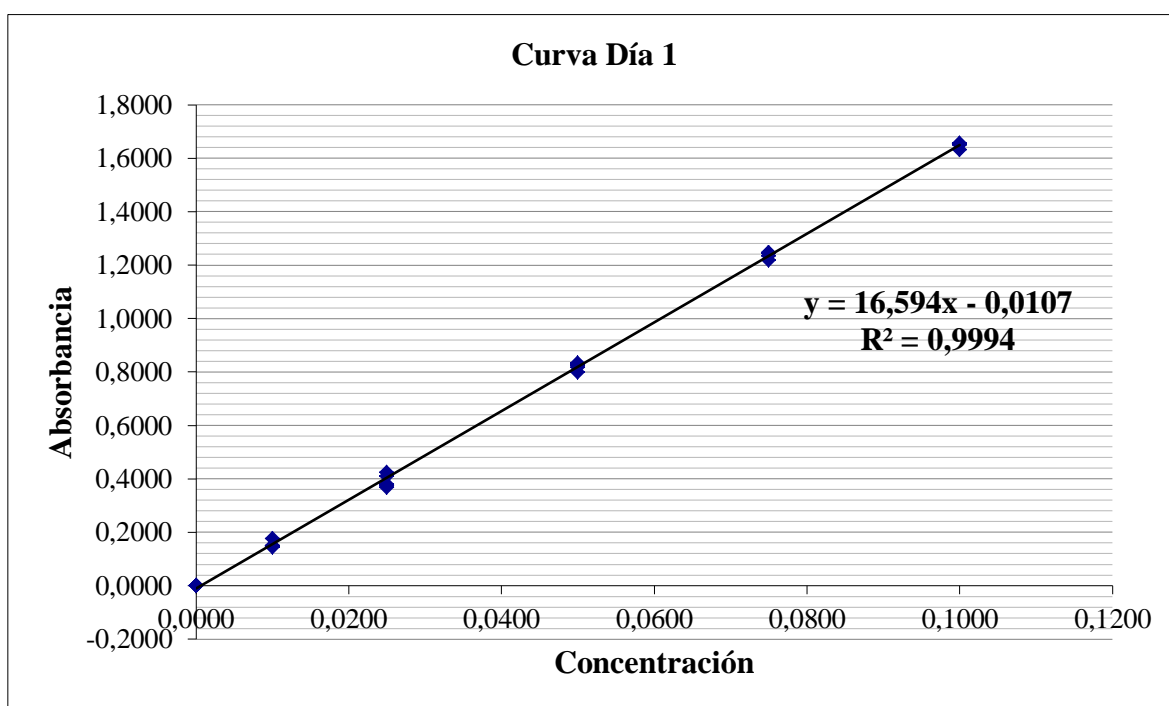
### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 PUESTA A PUNTO DEL MÉTODO

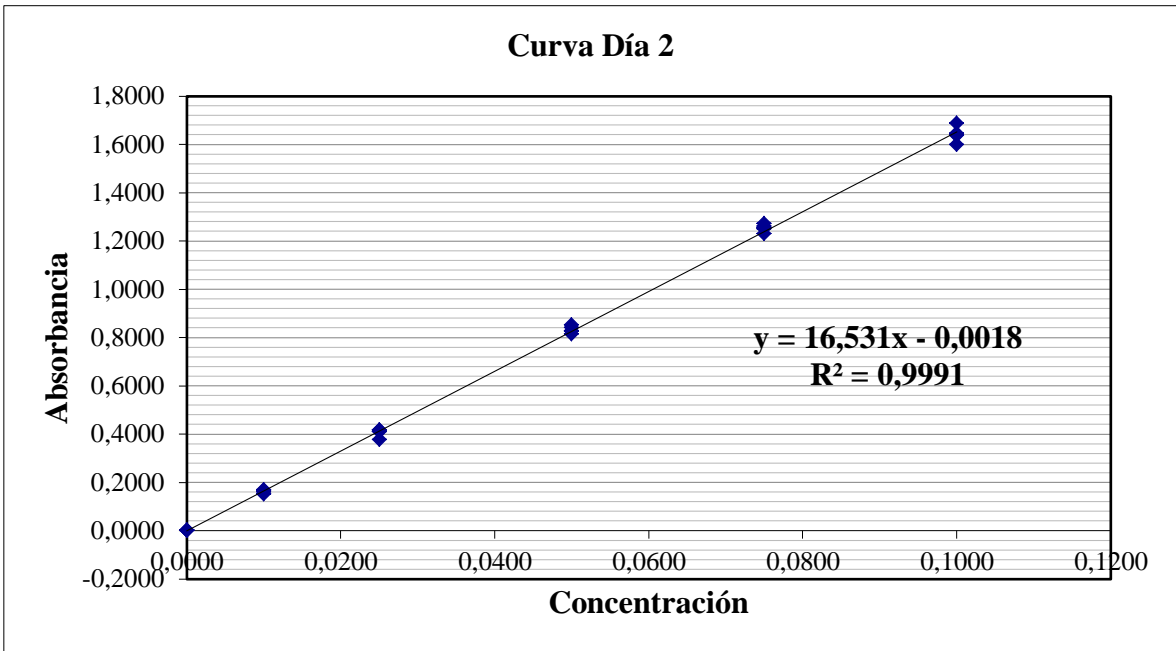
**Tabla 3.1 Absorbancias del estándar de fósforo a diferentes concentraciones**

Concentración mg.P/ 100 mL	Absorbancias				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
0,0000	0,0000	0,0003	0,0010	0,0000	0,0000
0,0000	0,0000	0,0003	0,0001	0,0007	0,0003
0,0000	0,0005	0,0001	0,0000	0,0005	0,0004
0,0000	0,0001	0,0004	0,0004	0,0002	0,0002
0,0000	0,0001	0,0010	0,0010	0,0005	0,0000
0,0100	0,1484	0,1528	0,1530	0,1524	0,1606
0,0100	0,1433	0,1659	0,1450	0,1369	0,1620
0,0100	0,1505	0,1670	0,1496	0,1483	0,1482
0,0100	0,1471	0,1616	0,1510	0,1450	0,1376
0,0100	0,1750	0,1512	0,1451	0,1593	0,1525
0,0250	0,3726	0,3754	0,4053	0,4045	0,4027
0,0250	0,3785	0,4145	0,4033	0,4030	0,4031
0,0250	0,3680	0,4087	0,4053	0,3938	0,3862
0,0250	0,4092	0,4146	0,3962	0,4020	0,3741
0,0250	0,4240	0,4094	0,4040	0,4056	0,3909
0,0500	0,7989	0,8247	0,8136	0,8232	0,8290
0,0500	0,8289	0,8401	0,8086	0,7834	0,8168
0,0500	0,8162	0,8505	0,8211	0,7947	0,8131
0,0500	0,8256	0,8255	0,8163	0,8192	0,7919
0,0500	0,8328	0,8126	0,8172	0,8121	0,8219
0,0750	1,2337	1,2278	1,2366	1,2470	1,2488
0,0750	1,2176	1,2706	1,2463	1,2199	1,2570
0,0750	1,2469	1,2598	1,2094	1,2078	1,2368
0,0750	1,2449	1,2493	1,2374	1,2257	1,1982
0,0750	1,2459	1,2528	1,2514	1,2397	1,2522
0,1000	1,6502	1,6349	1,6396	1,6664	1,6788
0,1000	1,6320	1,5982	1,6493	1,6599	1,6875
0,1000	1,6527	1,6858	1,6440	1,6423	1,6556
0,1000	1,6561	1,6377	1,6539	1,6576	1,6129
0,1000	1,6525	1,6433	1,6769	1,6578	1,6794

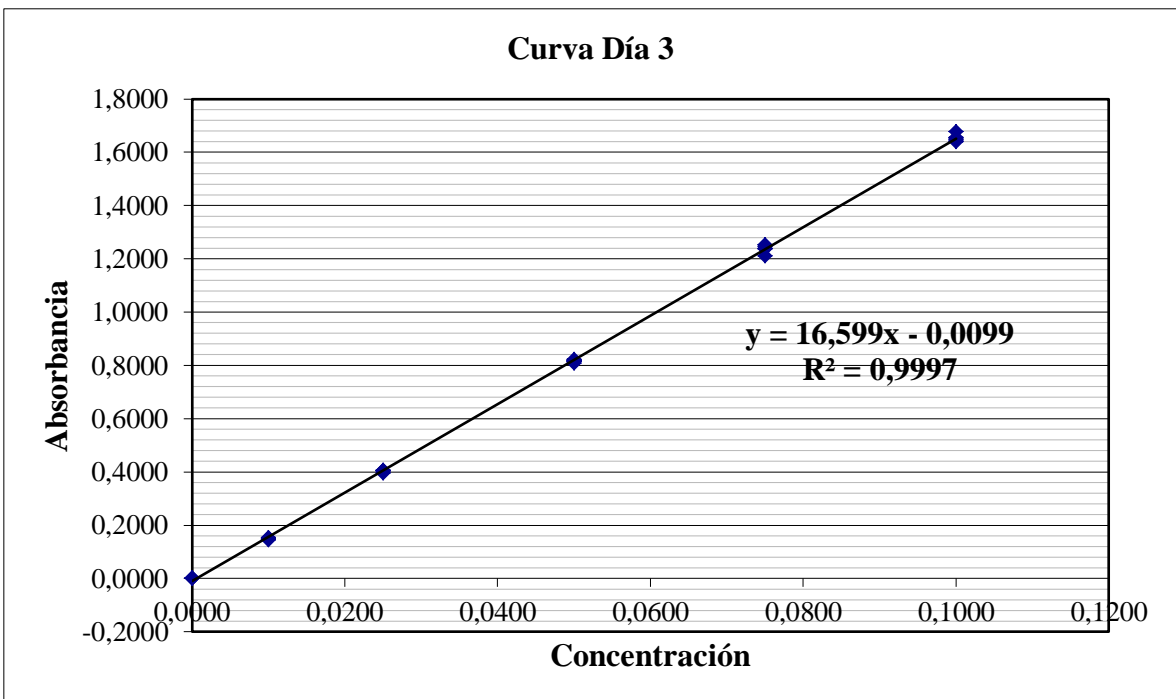
En la Tabla 3.1 se presentan los datos de absorbancias de las concentraciones del estándar de fósforo obtenidos en el espectrofotómetro Ultravioleta Visible a una longitud de onda de 823 nm. Las concentraciones para las curvas de calibración fueron 0,0000 – 0,0100 - 0,0250 - 0,0500 - 0,0750 y 0,1000 mg P/ 100 mL. Se procedió a analizar las soluciones en el equipo, se realizaron cinco lecturas por día en un periodo total de cinco días. Con los valores de la Tabla 3.1 se obtuvo una curva de calibración total por día con los valores de absorbancia en función de la concentración de cada día de análisis. Las cinco curvas de calibración se presentan a continuación.



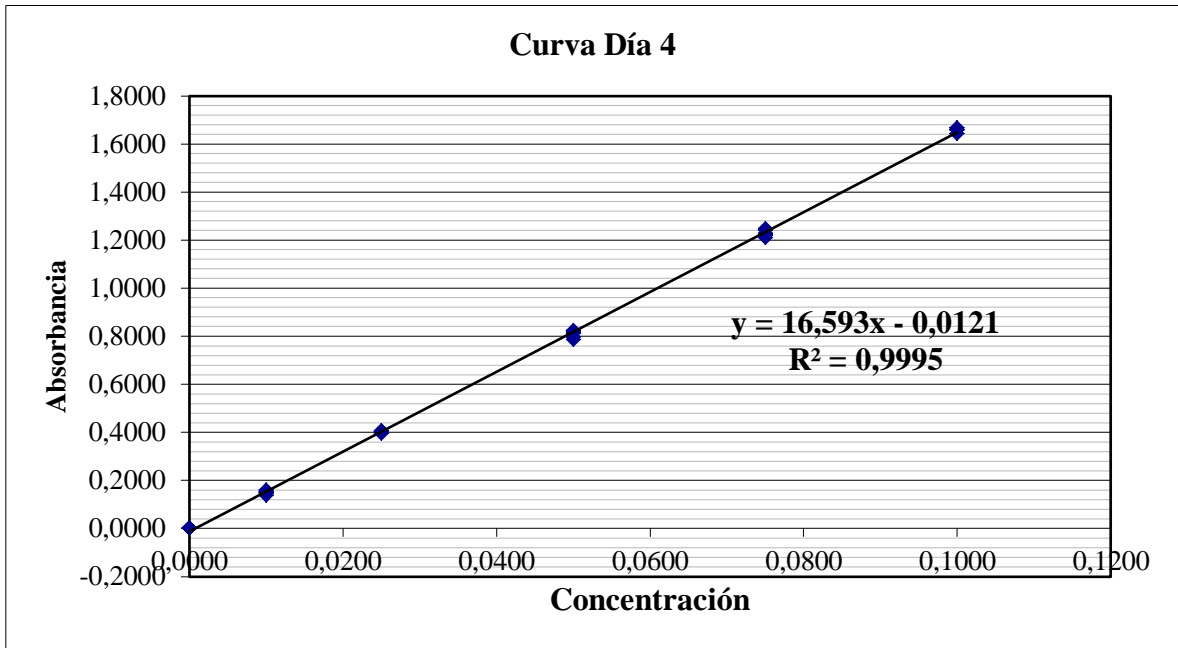
**Figura 3.1 Curva de calibración del día 1**



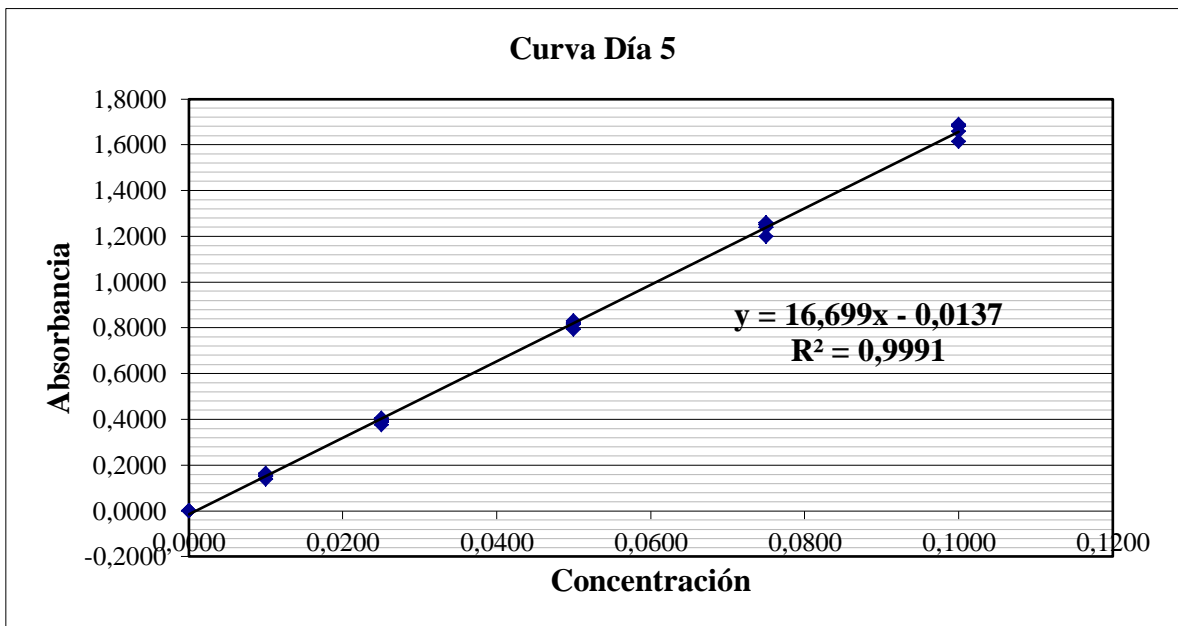
**Figura 3.2 Curva de calibración del día 2**



**Figura 3.3 Curva de calibración del día 3**



**Figura 3.4 Curva de calibración del día 4**



**Figura 3.5 Curva de calibración del día 5**

En la Tabla 3.2 se presentan los resultados obtenidos después de aplicar el ANOVA a los datos de las curvas de calibración de los cinco días de análisis presentados en la Tabla 3.1, se puede observar que los valores del factor de correlación (r) y del factor de

determinación ( $r^2$ ) cumplen con el criterio de aceptabilidad de establecido en todos los casos, es decir el método cumple con el parámetro de linealidad.

**Tabla 3.2 Resultados de linealidad**

<b>Día</b>	<b>Parámetro</b>	<b>Valor</b>	<b>Criterio de aceptabilidad</b>	<b>Resultado</b>
<b>1</b>	r	0,9997	> 0,9990	Cumple
	$r^2$	0,9994		Cumple
<b>2</b>	r	0,9996	> 0,9990	Cumple
	$r^2$	0,9991		Cumple
<b>3</b>	r	0,9999	> 0,9990	Cumple
	$r^2$	0,9997		Cumple
<b>4</b>	r	0,9998	> 0,9990	Cumple
	$r^2$	0,9995		Cumple
<b>5</b>	r	0,9995	> 0,9990	Cumple
	$r^2$	0,9991		Cumple

En la Tabla 3.3 se muestran los valores de la prueba Fischer para los datos mostrados en la Tabla 3.1. Se estableció que los valores F calculados son menores al valor F tabulado en todos los niveles, es decir, se aceptó la hipótesis nula ya que no existe diferencia significativa en las varianzas de las medias poblacionales.

**Tabla 3.3 Prueba Fischer para los estándares de fósforo**

<b>Concentración mg/ml</b>	<b>F Calculada</b>	<b>F Teórica</b>	<b>Resultado</b>
0,0000	2,1797	2,4341	Ho Aceptada
0,0100	1,3140	2,4341	Ho Aceptada
0,0250	1,0555	2,4341	Ho Aceptada
0,0500	2,1873	2,4341	Ho Aceptada
0,0750	1,2650	2,4341	Ho Aceptada
0,1000	0,8142	2,4341	Ho Aceptada

En la Tabla 3.4 se muestran los valores de las pendientes de las cinco curvas de calibración obtenidas a partir de los datos de la Tabla 3.1, se puede observar que los valores de las pendientes son muy similares y mantienen un rango de estabilidad. Se determinó también que los valores de desviación estándar de cada una de las pendientes son muy bajos.

**Tabla 3.4 Resultados de sensibilidad del método**

<b>Día</b>	<b>Pendiente b</b>	<b>Sb</b>
1	16,5936	0,0779
2	16,5311	0,0931
3	16,5987	0,0539
4	16,5929	0,0677
5	16,6993	0,0964
<b>Promedio</b>	16,6031	0,0778

En la Tabla 3.5 se presentan los resultados obtenidos para los límites de detección y cuantificación. Para el cálculo de estos estadísticos se emplearon los valores de las lecturas de los blancos de los cinco días de análisis presentados en la Tabla 3.1, se calculó el promedio de la lecturas y también la desviación estándar de los datos. Aplicando la fórmula (1.7) y (1.8) se establecieron los límites de detección y cuantificación..

**Tabla 3.5 Resultados de Límite de detección y límite de cuantificación**

<b>Día 1</b>	<b>Día 2</b>	<b>Día 3</b>	<b>Día 4</b>	<b>Día 5</b>	<b>Promedio</b>	<b>S</b>
0,0000	0,0003	0,0010	0,0000	0,0000	0,0002	0,0004
0,0000	0,0003	0,0001	0,0007	0,0003		
0,0005	0,0001	0,0000	0,0005	0,0004		
0,0001	0,0004	0,0004	0,0002	0,0002		
0,0001	0,0010	0,0010	0,0005	0,0000		
<b>Límite de detección</b>					$LD = \bar{B} + 3\delta$	
					0,0014	
<b>Límite de cuantificación</b>					$LD = \bar{B} + 10\delta$	
					0,0042	

### 3.2 RECUPERACIÓN

Para determinar el porcentaje de recuperación primero se obtuvo el valor teórico del contenido de fósforo en maíz. Se fortificaron las muestras de maíz con 3,00 – 5,00 y 7,00 mL de solución estándar de trabajo de fósforo, también se incluyó uno sin adición como blanco. Cada nivel fue analizado por triplicado durante cinco días.

En la Tabla 3.6 se describen los volúmenes fortificantes en la muestra de maíz, los valores de absorbancia de las muestras y de los blancos registrados por el espectrofotómetro Ultravioleta Visible a una longitud de onda de 823 nm. Se muestran el cálculo del promedio de las absorbancias de cada nivel por día. Con los valores promedio se construyeron cinco curvas y, por interpolación se determinaron los interceptos que corresponden al valor teórico del contenido de fósforo en la muestra de maíz.

**Tabla 3.6 Valores de absorbancia y volumen añadido en la muestra de maíz**

DÍA	Fortificación mL	Absorbancia		Promedio de absorbancias
		Blanco	Muestra	
DÍA 1	0,0000	0,0599	0,2304	0,2279
	0,0000	0,0599	0,2468	
	0,0000	0,0599	0,2066	
	3,0000	0,3915	0,5453	0,5949
	3,0000	0,3915	0,6378	
	3,0000	0,3915	0,6017	
	5,0000	0,4178	0,9016	0,9082
	5,0000	0,4178	0,9534	
	5,0000	0,4178	0,8696	
	7,0000	0,8757	1,0058	1,0945
	7,0000	0,8757	1,0574	
	7,0000	0,8757	1,2205	

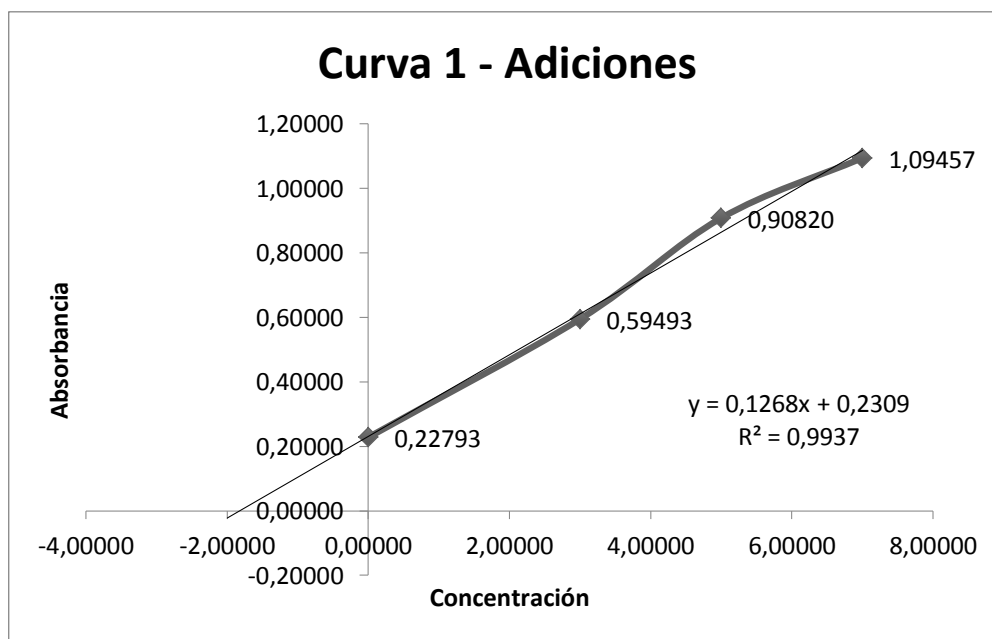
Continuación Tabla 3.6				
DÍA 2	0,0000	-0,0038	0,1869	0,1910
	0,0000	-0,0038	0,2003	
	0,0000	-0,0038	0,1859	
	3,0000	0,1117	0,6783	0,5952
	3,0000	0,1117	0,6414	
	3,0000	0,1117	0,4659	
	5,0000	0,7399	0,7646	0,8985
	5,0000	0,7399	0,9656	
	5,0000	0,7399	0,9654	
	7,0000	0,8276	1,2358	1,1827
	7,0000	0,8276	1,1130	
	7,0000	0,8276	1,1995	
DÍA 3	0,0000	0,0082	0,2005	0,2073
	0,0000	0,0082	0,2124	
	0,0000	0,0082	0,2090	
	3,0000	0,4910	0,5812	0,6002
	3,0000	0,4910	0,5694	
	3,0000	0,4910	0,6500	
	5,0000	0,7642	0,8801	0,9093
	5,0000	0,7642	0,9086	
	5,0000	0,7642	0,9394	
	7,0000	0,8276	1,0787	1,1627
	7,0000	0,8276	1,1467	
	7,0000	0,8276	1,2628	
DÍA 4	0,0000	0,0069	0,1947	0,2019
	0,0000	0,0069	0,1896	
	0,0000	0,0069	0,2215	
	3,0000	0,4356	0,5188	0,6213
	3,0000	0,4356	0,6834	
	3,0000	0,4356	0,6618	
	5,0000	0,7465	0,9063	0,9268
	5,0000	0,7465	0,9077	
	5,0000	0,7465	0,9665	
	7,0000	0,9875	1,1521	1,2279
	7,0000	0,9875	1,2510	
	7,0000	0,9875	1,2807	
DÍA 5	0,0000	0,0035	0,1730	0,1616
	0,0000	0,0035	0,1436	
	0,0000	0,0035	0,1683	
	3,0000	0,4117	0,5937	0,5834
	3,0000	0,4117	0,5629	
	3,0000	0,4117	0,5936	

Continuación Tabla 3.6				
	5,0000	0,7186	0,9051	0,9131
	5,0000	0,7186	0,9016	
	5,0000	0,7186	0,9326	
	7,0000	0,9422	1,2351	1,1444
	7,0000	0,9422	1,1454	
	7,0000	0,9422	1,0534	

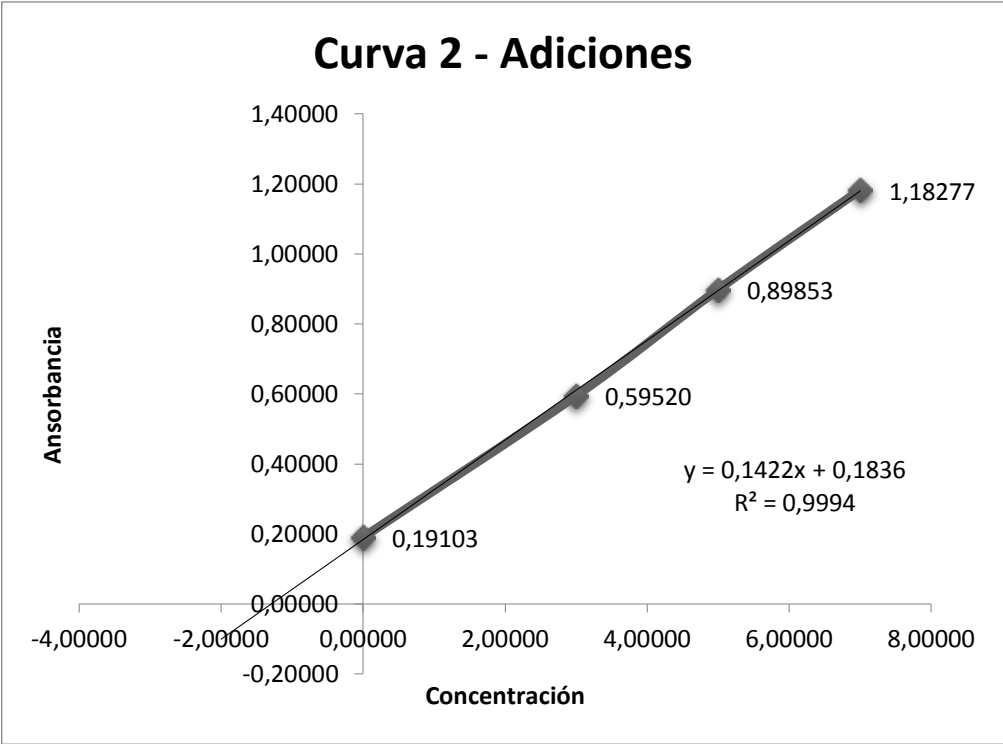
En la Tabla 3.7 se encuentra un resumen de los valores de las absorbancias promedio con las cuales se procedió a construir las curvas para determinar el intercepto en cada día de análisis. Las cinco curvas se presentan a continuación.

**Tabla 3.7 Resumen de Absorbancias promedio para cada día**

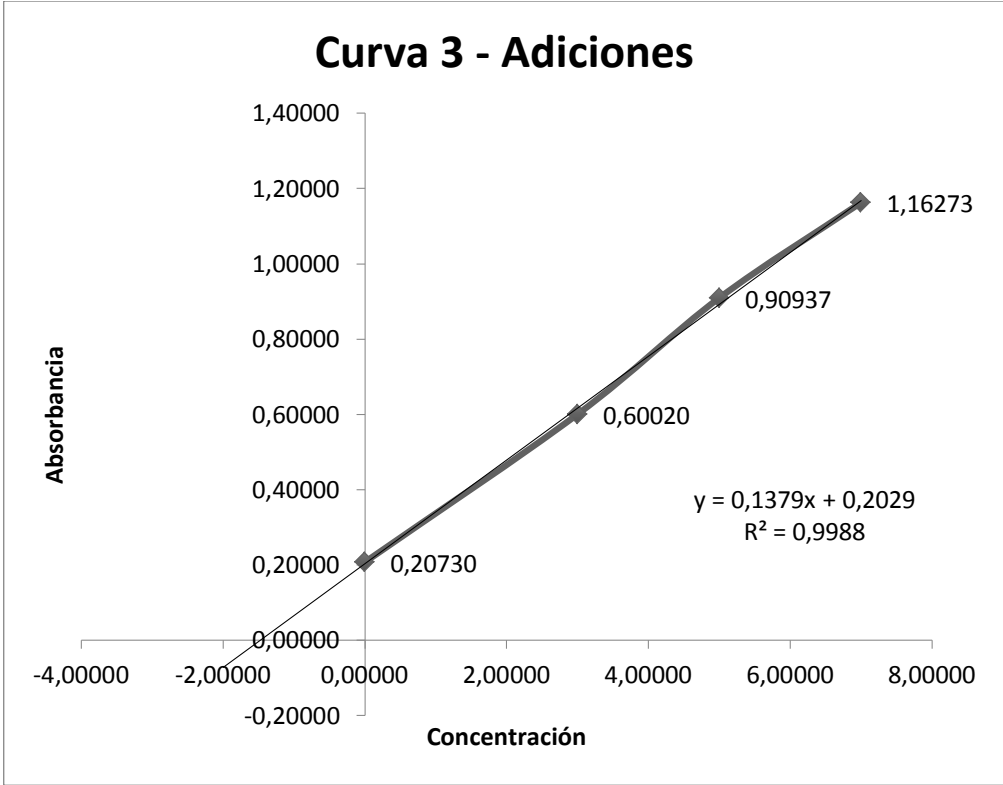
Volumen del estándar de fósforo añadido mL	Absorbancia				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
0,0000	0,2279	0,1910	0,2073	0,2019	0,1616
3,0000	0,5949	0,5952	0,6002	0,6213	0,5834
5,0000	0,9082	0,8985	0,9094	0,9268	0,9131
7,0000	1,0946	1,1828	1,1627	1,2279	1,1446



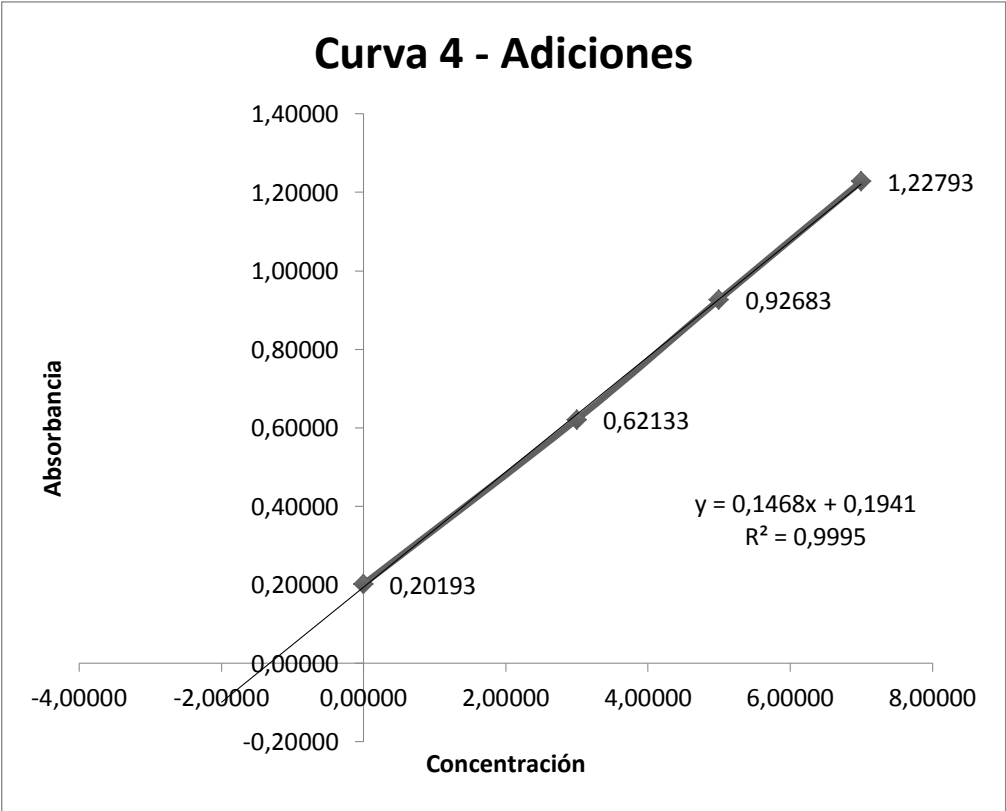
**Figura 3.6 Curva día 1 fortificaciones**



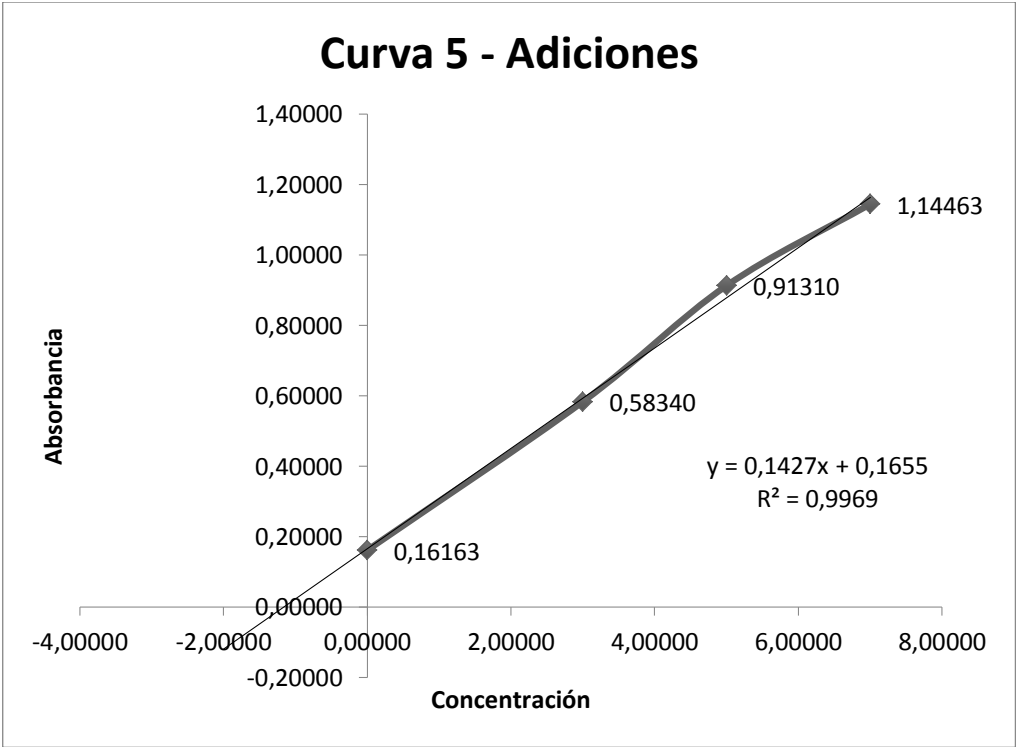
**Figura 3.7 Curva día 2 fortificaciones**



**Figura 3.8 Curva día 3 fortificaciones**



**Figura 3.9 Curva día 4 fortificaciones**



**Figura 3.10 Curva día 5 fortificaciones**

En la Tabla 3.8 se detallan los valores obtenidos de los interceptos en las cinco curvas de recuperación construidas con los valores de la Tabla 3.7. Los interceptos fueron obtenidos por interpolación de las rectas. Se determinó entonces que el valor teórico promedio de la concentración de fósforo en harina de maíz es 0,0141 mg/mL.

**Tabla 3.8 Interceptos de las curvas de maíz**

<b>Día</b>	<b>Concentración de maíz ppm</b>	<b>Concentración de maíz mg/mL</b>
Día 1	1,8210	0,0182
Día 2	1,2911	0,0129
Día 3	1,4714	0,0147
Día 4	1,3222	0,0132
Día 5	1,1598	0,0115
<b>Promedio</b>	<b>1,4131</b>	<b>0,0141</b>

Una vez establecido el valor teórico del valor del contenido de fósforo en maíz fue posible determinar la concentración teórica del blanco y de los volúmenes fortificantes siendo estos equivalentes a: 0,0000 mL (0,0141 mg/ mL), 3,000 mL (0,0441 mg/ mL), 5,000 mL (0,0641 mg/ mL) y 7,000 mL (0,0841 mg/ mL).

En la Tabla 3.9 se presentan los valores de absorbancia para cada nivel de concentración teórica de fósforo registrados por el espectrofotómetro Ultravioleta Visible. Se aplicó la fórmula de la ecuación de la recta para el cálculo de la concentración práctica de fósforo en cada muestra de maíz. El porcentaje de recuperación de cada nivel se determinó mediante el cociente de la concentración práctica y la concentración teórica. Se calculó el promedio de recuperación por cada nivel de concentración teórica. Se puede observar que los valores

promedio de recuperación para el día uno cumplen con el criterio de aceptabilidad propuesto ya que superan el 70% de analito recuperado.

**Tabla 3.9 Recuperaciones por nivel del día uno en maíz**

<b>Día 1</b>					
<b>b = 16,5936</b>		$X_o = \frac{y-a}{b}$			
<b>a = -0,0107</b>					
<b>Concentración teórica mg/ mL</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Concentración práctica (X<sub>o</sub>) mg/ mL</b>	<b>% recuperado</b>	<b>Promedio (X<sub>o</sub>) mg/ mL</b>	<b>Promedio de recuperación</b>
0,0141	0,1730	0,0111	78,3295	0,0104	73,4816
0,0141	0,1436	0,0093	65,7905		
0,0141	0,1683	0,0108	76,3250		
0,0441	0,5937	0,0364	82,5313	0,0358	81,1247
0,0441	0,5629	0,0346	78,3252		
0,0441	0,5936	0,0364	82,5176		
0,0641	0,9051	0,0552	86,0553	0,0557	86,8071
0,0641	0,9016	0,0550	85,7264		
0,0641	0,9326	0,0568	88,6395		
0,0841	1,2351	0,0751	89,2362	0,0696	82,7559
0,0841	1,1454	0,0697	82,8108		
0,0841	1,0534	0,0641	76,2206		

En la Tabla 3.10 se presentan los resultados del proceso de recuperación para el día dos, se observa que los valores promedio de recuperación cumplen con el criterio de aceptabilidad propuesto ya que superan el 70% de analito de recuperado. Los valores de recuperación no son idénticos pero mantienen un rango de estabilidad. En el día dos del análisis se observa que conforme la concentración del estándar de fósforo era mayor el porcentaje de recuperación promedio por día decreció.

**Tabla 3.10 Recuperaciones por nivel del día dos en maíz**

<b>Día 2</b>					
<b>b = 16,5311</b>		$X_o = \frac{y-a}{b}$			
<b>a = -0,0018</b>					
<b>Concentración teórica mg/ mL</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Concentración práctica (Xo) mg/ mL</b>	<b>% recuperado</b>	<b>Promedio (Xo) mg/ mL</b>	<b>Promedio de recuperación</b>
0,0141	0,2215	0,0135	95,5919	0,0133	94,3790
0,0141	0,2123	0,0130	91,6533		
0,0141	0,2222	0,0135	95,8916		
0,0441	0,6301	0,0382	86,6172	0,0376	85,1002
0,0441	0,6366	0,0386	87,5082		
0,0441	0,5904	0,0358	81,1753		
0,0641	0,8479	0,0514	80,1487	0,0506	78,9507
0,0641	0,6749	0,0409	63,8301		
0,0641	0,9828	0,0596	92,8734		
0,0841	0,9818	0,0595	70,7230	0,0647	76,8659
0,0841	1,1374	0,0689	81,9111		
0,0841	1,0825	0,0656	77,9636		

En la Tabla 3.11 se encuentran los resultados de recuperación para el día tres, los valores promedio de recuperación cumplen con el criterio de aceptabilidad propuesto ya que superan el 70% de analito de recuperado. En el día tres se observa que el promedio de recuperación para casi todos los niveles es muy similar.

**Tabla 3.11 Recuperaciones por nivel del día tres en maíz**

<b>Día 3</b>					
<b>b = 16,5987</b>		$X_o = \frac{y-a}{b}$			
<b>a = -0,0099</b>					
<b>Concentración teórica mg/ mL</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Concentración práctica (X<sub>o</sub>) mg/ mL</b>	<b>% recuperado</b>	<b>Promedio (X<sub>o</sub>) mg/ mL</b>	<b>Promedio de recuperación</b>
0,0141	0,1869	0,0119	83,9003	0,0121	85,6626
0,0141	0,2003	0,0127	89,6136		
0,0141	0,1859	0,0118	83,4739		
0,0441	0,6783	0,0415	93,9494	0,0365	82,6047
0,0441	0,6414	0,0392	88,9119		
0,0441	0,4659	0,0287	64,9528		
0,0641	0,7646	0,0467	72,7571	0,0547	85,3392
0,0641	0,9656	0,0588	91,6396		
0,0641	0,9654	0,0588	91,6209		
0,0841	1,2358	0,0750	89,2035	0,0719	85,4058
0,0841	1,1130	0,0676	80,4098		
0,0841	1,1995	0,0729	86,6041		

En la Tabla 3.12 se encuentran los resultados de recuperación para el día cuatro, los valores promedio de recuperación también cumplen con el criterio de aceptabilidad propuesto ya que superan el 70% de analito de recuperado. Los valores de recuperación no son idénticos pero mantienen un rango de estabilidad. En el día cuatro como en los dos días anteriores se observa también que el valor más alto de analito recuperado corresponde al que no tiene ninguna adición.

**Tabla 3.12 Recuperaciones por nivel del día cuatro en maíz**

<b>Día 4</b>					
<b>b = 16,5929</b>		$X_o = \frac{y-a}{b}$			
<b>a = -0,0121</b>					
<b>Concentración teórica mg/ mL</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Concentración práctica (Xo) mg/ mL</b>	<b>% recuperado</b>	<b>Promedio (Xo) mg/ mL</b>	<b>Promedio de recuperación</b>
0,0141	0,2005	0,0128	90,6687	0,0132	93,5690
0,0141	0,2124	0,0135	95,7442		
0,0141	0,2090	0,0133	94,2941		
0,0441	0,5812	0,0358	81,0220	0,0369	83,6167
0,0441	0,5694	0,0350	79,4105		
0,0441	0,6500	0,0399	90,4177		
0,0641	0,8801	0,0538	83,8433	0,0555	86,5937
0,0641	0,9086	0,0555	86,5216		
0,0641	0,9394	0,0573	89,4161		
0,0841	1,0787	0,0657	78,1382	0,0708	84,1579
0,0841	1,1467	0,0698	83,0094		
0,0841	1,2628	0,0768	91,3262		

En la Tabla 3.13 se encuentran los resultados de recuperación para el día cinco, los promedios de recuperación verifican el criterio de aceptabilidad propuesto dado que superan el 70% de analito de recuperado. Los valores del día cinco mantienen un rango de estabilidad y similitud en los datos obtenidos con los días anteriores.

**Tabla 3.13 Recuperaciones por nivel del día cinco en maíz**

<b>Día 5</b>					
<b>b = 16,6993</b>		$X_o = \frac{y-a}{b}$			
<b>a = -0,0137</b>					
<b>Concentración teórica mg/ mL</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Concentración práctica (Xo) mg/ mL</b>	<b>% recuperado</b>	<b>Promedio (Xo) mg/ mL</b>	<b>Promedio de recuperación</b>
0,0141	0,1947	0,0125	88,3305	0,0129	91,3960
0,0141	0,1896	0,0122	86,1692		
0,0141	0,2215	0,0141	99,6883		
0,0441	0,5188	0,0319	72,2618	0,0380	86,1752
0,0441	0,6834	0,0417	94,5974		
0,0441	0,6618	0,0405	91,6664		
0,0641	0,9063	0,0551	85,9094	0,0563	87,8268
0,0641	0,9077	0,0552	86,0402		
0,0641	0,9665	0,0587	91,5307		
0,0841	1,1521	0,0698	82,9822	0,0744	88,3799
0,0841	1,2510	0,0757	90,0218		
0,0841	1,2807	0,0775	92,1358		

La Tabla 3.14 es un resumen con los valores de las recuperaciones promedio de fósforo para cada nivel y para los cinco días de análisis.

**Tabla 3.14 Recuperación promedio de cada nivel por día y entre días**

<b>Concentración</b>	<b>Día 1</b>	<b>Día 2</b>	<b>Día 3</b>	<b>Día 4</b>	<b>Día 5</b>	<b>Promedio</b>
0,0141	73,4816	94,379	85,6626	93,569	91,396	87,6976
0,0441	81,1247	85,1002	82,6047	83,6167	86,1752	83,7243
0,0641	86,8071	78,9507	85,3392	86,5937	87,8268	85,1035
0,0841	82,7559	76,8659	85,4058	84,1579	88,3799	83,5131
<b>RECUPERACIÓN PROMEDIO TOTAL</b>						<b>85,0096</b>

En la Tabla 3.15 se presentan los valores de la prueba de Cochran después de aplicar el ANOVA a los datos de la Tabla 3.14, el valor tabulado para esta prueba de significación es 0,6287 y se comparó con el valor calculado para el valor de cada nivel, se determina que los valores calculados son menores al valor tabulado, por tanto se acepta la hipótesis nula ya que no hubo diferencia significativa entre los valores y se establece que las varianzas son homogéneas.

**Tabla 3.15 Prueba Cochran para la muestra de maíz.**

<b>Concentración</b>	<b>G Calculada</b>	<b>G Tabulada</b>	<b>Determinación</b>
0,0141	0,4313	<0,6287	La varianza es homogénea
0,0441	0,5451	<0,6287	La varianza es homogénea
0,0641	0,6034	<0,6287	La varianza es homogénea
0,0841	0,2738	<0,6287	La varianza es homogénea

En la Tabla 3.16 se presentan los valores de la prueba de Fischer después de aplicar el ANOVA a los valores de la Tabla 3.14, se observa que los valores calculados para las concentraciones 0,0441 y 0,0641 son menores comparados con el valor tabulado, por tanto se acepta la hipótesis nula ya que los valores de las desviaciones estándar son homogénea y no hubo diferencia significativa entre ellos, en el caso de las concentraciones 0,0141 y 0,0841 la hipótesis nula es rechazada ya que el valor calculado es superior al valor tabulado, en este caso se determinó que los valores de las desviaciones estándar de estas concentraciones si tienen diferencias significativas.

**Tabla 3.16 Prueba Fischer para la muestra de maíz**

Concentración	F Calculada	F Teórica	Resultado
0,0141	34,8163	2,4341	Ho Rechazada
0,0441	0,5495	2,4341	Ho Aceptada
0,0641	1,6161	2,4341	Ho Aceptada
0,0841	5,5033	2,4341	Ho Rechazada

En la Tabla 3.17 se presentan los resultados de los coeficientes de variación dentro de los días, en todos los casos se estableció que el cociente de la desviación estándar y la media de cada nivel por día demostró que se cumplió el criterio de aceptabilidad propuesto y que el método es bueno respecto a su precisión por día.

**Tabla 3.17 Coeficiente de variación para repetibilidad**

Parámetro	Concentración	Sr	%CV <sub>r</sub>	Resultado
<b>Puesta a punto el método</b>	0,0100	0,0089	5,8353	Cumple
	0,0250	0,0146	3,6691	Cumple
	0,0500	0,0134	1,6451	Cumple
	0,0750	0,0172	1,3887	Cumple
	0,1000	0,0213	1,2908	Cumple
<b>Recuperación</b>	0,0141	0,0082	4,1919	Cumple
	0,0441	0,0487	8,0650	Cumple
	0,0641	0,0629	7,0206	Cumple
	0,0841	0,0563	4,8630	Cumple

En la Tabla 3.18 se presentan los resultados de los coeficientes de variación determinados para todos los días, en todos los casos se cumplió con el criterio de aceptabilidad propuesto y se determinó que el método durante los días es preciso y reproducible.

**Tabla 3.18 Coeficiente de variación reproducibilidad**

<b>Parámetro</b>	<b>Concentración</b>	<b>SR</b>	<b>%CV<sub>R</sub></b>	<b>Resultado</b>
<b>Puesta a punto el método</b>	0,0100	0,0102	6,6889	Cumple
	0,0250	0,0150	3,7696	Cumple
	0,0500	0,0199	2,4330	Cumple
	0,0750	0,0193	1,5619	Cumple
	0,1000	0,0192	1,1647	Cumple
<b>Recuperación</b>	0,0141	0,0485	2,7342	Cumple
	0,0441	0,0361	5,9784	Cumple
	0,0641	0,0800	8,9251	Cumple
	0,0841	0,1320	11,4083	Cumple

### 3.3 CUANTIFICACIÓN

Las muestras de arroz, arveja, haba, lenteja, maní, soya y garbanzo se molieron y almacenaron, después fueron sometidas al procedimiento de secado y calcinado, posteriormente digestadas y, finalmente, el contenido de fósforo en cada producto fue determinado a partir de los valores de las lecturas proporcionado por el espectrofotómetro Ultravioleta Visible a una longitud de onda de 823 nm. Se obtuvo de cada lugar de expendio una muestra por semana, el muestreo aleatorio se realizó en su totalidad en un periodo de tres semanas y cada análisis se realizó por triplicado.

#### 3.3.1 GARBANZO

En la Tabla 3.19 se presentan los valores de la concentración de fósforo para cada muestra y el promedio calculado por lugar de muestreo y semana de análisis en garbanzo, la concentración práctica del contenido de fósforo en garbanzo es la media de los promedios

de los análisis semanales. Se determinó que el contenido de fósforo en garbanzo es 277,9394 mg/ 100g.

**Tabla 3.19 Concentración promedio de fósforo en garbanzo**

<b>Lugar</b>	<b>Repetición</b>	<b>Concentración mg/100 g</b>	<b>Promedio Concentración mg/100 g</b>
SPS1	1	284,1772	277,7085
SPS1	2	289,9962	
SPS1	3	258,9523	
SPS2	1	317,7605	314,4843
SPS2	2	312,3441	
SPS2	3	313,3483	
SPS3	1	291,4983	290,0341
SPS3	2	285,9086	
SPS3	3	292,6955	
SMS1	1	273,2586	244,8585
SMS1	2	273,2398	
SMS1	3	188,0772	
SMS2	1	277,5259	278,0781
SMS2	2	316,7008	
SMS2	3	240,0074	
SMS3	1	305,6975	282,6934
SMS3	2	278,7902	
SMS3	3	263,5927	
SCS1	1	293,5940	300,8261
SCS1	2	310,3942	
SCS1	3	298,4900	
SCS2	1	273,0881	273,5959
SCS2	2	275,3628	
SCS2	3	272,3369	
SCS3	1	215,4649	239,1759
SCS3	2	233,6705	
SCS3	3	268,3921	
<b>Concentración de fósforo total</b>			<b>277,9394</b>

### 3.3.2 MANÍ

En la Tabla 3.20 se presentan los valores de la concentración de fosforo para cada nivel y el promedio calculado por lugar de muestreo y semana de análisis en maní. Se determinó que el contenido de fósforo en maní es 739,0514 mg/ 100g.

**Tabla 3.20 Concentración promedio de fósforo en maní**

<b>Lugar</b>	<b>Repetición</b>	<b>Concentración mg/100 g</b>	<b>Promedio mg/100 g</b>
SPS1	1	784,4498	793,1804
SPS1	2	795,5883	
SPS1	3	799,5032	
SPS2	1	752,4569	705,9476
SPS2	2	597,8829	
SPS2	3	767,5029	
SPS3	1	816,2940	793,4329
SPS3	2	780,2656	
SPS3	3	783,7392	
SMS1	1	790,7103	780,1570
SMS1	2	781,6811	
SMS1	3	768,0796	
SMS2	1	720,0257	767,3691
SMS2	2	772,4960	
SMS2	3	809,5855	
SMS3	1	800,2586	766,2588
SMS3	2	744,3180	
SMS3	3	754,1998	
SCS1	1	680,3885	685,8866
SCS1	2	691,6398	
SCS1	3	685,6314	
SCS2	1	706,5858	703,9485
SCS2	2	709,9353	
SCS2	3	695,3245	
SCS3	1	613,9508	655,2818
SCS3	2	679,9634	
SCS3	3	671,9312	
<b>Concentración de fósforo total</b>			<b>739,0514</b>

En la muestra de maní fue necesario secar las muestras ya que la matriz presentó inconvenientes al momento de la molienda dada su composición física. El maní formaba una pasta y por esto fue necesario una doble molienda y un doble proceso de secado. En la Tabla 3.21 se presentan los valores de humedad realizados en maní.

**Tabla 3.21 Datos de humedad en maní**

<b>Lugar</b>	<b>Masa humedad</b>	<b>Muestra seca</b>	<b>Porcentaje de humedad</b>
SPS1	0,5028	0,4718	6,17%
SPS1	0,5025	0,4690	6,67%
SPS1	0,5023	0,4684	6,75%
SPS2	0,5016	0,4657	7,16%
SPS2	0,5017	0,4669	6,94%
SPS2	0,5015	0,4684	6,60%
SPS3	0,5054	0,4734	6,33%
SPS3	0,5065	0,4724	6,73%
SPS3	0,5061	0,4722	6,70%
SMS1	0,5024	0,4679	6,87%
SMS1	0,5025	0,4664	7,18%
SMS1	0,5023	0,4702	6,39%
SMS2	0,5011	0,4639	7,42%
SMS2	0,5013	0,4624	7,76%
SMS2	0,5017	0,4638	7,55%
SMS3	0,5016	0,4706	6,18%
SMS3	0,5015	0,4690	6,48%
SMS3	0,5010	0,4701	6,17%
SCS1	0,5055	0,4750	6,03%
SCS1	0,5059	0,4743	6,25%
SCS1	0,5061	0,4740	6,34%
SCS2	0,5004	0,4623	7,61%
SCS2	0,5005	0,4633	7,43%
SCS2	0,5001	0,4612	7,78%
SCS3	0,5027	0,4645	7,60%
SCS3	0,5005	0,4604	8,01%
SCS3	0,5020	0,4615	8,07%
<b>Promedio de humedad</b>			<b>6.93%</b>

### 3.3.3 ARVEJA

En la Tabla 3.22 se presentan los valores de la concentración de fosforo determinados en arveja, Se determinó que el contenido de fósforo en arveja es 319,4033 mg/ 100g.

**Tabla 3.22 Concentración promedio de fósforo en arveja**

Lugar	Repetición	Concentración mg/100 g	Promedio mg/100 g
SPS1	1	303,7252	297,4595
SPS1	2	293,3743	
SPS1	3	295,2790	
SPS2	1	294,4944	294,7296
SPS2	2	294,5797	
SPS2	3	295,1147	
SPS3	1	299,8540	297,6278
SPS3	2	298,5796	
SPS3	3	294,4499	
SMS1	1	307,3897	297,0357
SMS1	2	282,7346	
SMS1	3	300,9829	
SMS2	1	306,7390	310,0612
SMS2	2	311,8753	
SMS2	3	311,5692	
SMS3	1	308,2085	308,9415
SMS3	2	311,7661	
SMS3	3	306,8499	
SCS1	1	363,4896	369,4612
SCS1	2	363,9827	
SCS1	3	380,9113	
SCS2	1	364,8633	362,3503
SCS2	2	361,8755	
SCS2	3	360,3122	
SCS3	1	387,2105	336,9629
SCS3	2	301,4010	
SCS3	3	322,2771	
<b>Concentración de fósforo total</b>			<b>319,4033</b>

### 3.3.4 SOYA

En la Tabla 3.23 se presentan los resultados de los análisis de fósforo en soya. Se determinó que el contenido de fósforo en soya es 265,9575 mg/ 100g.

**Tabla 3.23 Concentración promedio de fósforo en soya**

Lugar	Repetición	Concentración mg/100 g	Promedio mg/100 g
SPS1	1	522,9048	520,6714
SPS1	2	526,9165	
SPS1	3	512,1928	
SPS2	1	426,0739	423,6797
SPS2	2	399,6269	
SPS2	3	445,3384	
SPS3	1	392,6710	400,3799
SPS3	2	296,8073	
SPS3	3	511,6615	
SMS1	1	421,3528	479,1488
SMS1	2	507,6725	
SMS1	3	508,4212	
SMS2	1	477,4781	426,5642
SMS2	2	455,4640	
SMS2	3	346,7504	
SMS3	1	492,9212	459,1001
SMS3	2	485,1809	
SMS3	3	399,1982	
SCS1	1	464,8525	440,8270
SCS1	2	441,1743	
SCS1	3	416,4543	
SCS2	1	236,8581	254,3512
SCS2	2	248,5850	
SCS2	3	277,6105	
SCS3	1	503,3728	371,5531
SCS3	2	345,3291	
SCS3	3	265,9575	
<b>Concentración de fósforo total</b>			<b>265,9575</b>

### 3.3.5 HABA

En la Tabla 3.24 se incluyen los valores de las concentraciones calculadas de fósforo en haba. Se determinó que el contenido total de fósforo en haba es 481,5445 mg/ 100g.

**Tabla 3.24 Concentración promedio de fósforo en haba**

<b>Lugar</b>	<b>Repetición</b>	<b>Concentración mg/100 g</b>	<b>Promedio mg/100 g</b>
SPS1	1	464,3108	436,9956
SPS1	2	422,9106	
SPS1	3	423,7655	
SPS2	1	369,5607	392,8863
SPS2	2	378,7625	
SPS2	3	430,3356	
SPS3	1	425,4684	427,9714
SPS3	2	403,0976	
SPS3	3	455,3481	
SMS1	1	773,4151	481,7439
SMS1	2	397,9339	
SMS1	3	273,8828	
SMS2	1	567,9320	621,5827
SMS2	2	706,4862	
SMS2	3	590,3298	
SMS3	1	827,6582	810,4515
SMS3	2	795,2768	
SMS3	3	808,4196	
SCS1	1	263,5033	315,5842
SCS1	2	268,1004	
SCS1	3	415,1490	
SCS2	1	368,0349	426,5062
SCS2	2	384,0444	
SCS2	3	527,4393	
SCS3	1	430,6908	420,1783
SCS3	2	409,7680	
SCS3	3	420,0761	
<b>Concentración de fósforo total</b>			<b>481,5445</b>

### 3.3.6 ARROZ

En la Tabla 3.25 se presentan los valores de la concentración de fosforo en arroz. Se determinó que el contenido de fósforo en arroz es 108,7924 mg/ 100g.

**Tabla 3.25 Concentración promedio de fósforo en arroz**

Lugar	Repetición	Concentración mg/100 g	Promedio mg/100 g
SPS1	1	173,2438	157,2725
SPS1	2	181,0539	
SPS1	3	117,5199	
SPS2	1	104,9453	112,6541
SPS2	2	111,1004	
SPS2	3	121,9165	
SPS3	1	150,8205	142,7469
SPS3	2	120,1901	
SPS3	3	157,2301	
SMS1	1	87,1222	88,2815
SMS1	2	85,9284	
SMS1	3	91,7939	
SMS2	1	91,2255	102,6521
SMS2	2	90,9821	
SMS2	3	125,7486	
SMS3	1	95,5678	106,2776
SMS3	2	117,7262	
SMS3	3	105,5388	
SCS1	1	80,3141	81,4214
SCS1	2	82,7666	
SCS1	3	81,1836	
SCS2	1	95,7246	91,3232
SCS2	2	91,8233	
SCS2	3	86,4218	
SCS3	1	57,311	96,5024
SCS3	2	102,2604	
SCS3	3	129,9358	
<b>Concentración de fósforo total</b>			<b>108,7924</b>

### 3.3.7 LENTEJA

En la Tabla 3.26 se presentan los resultados de los análisis de fósforo en lenteja. Se determinó que el contenido de fósforo en lenteja es 346,2612 mg/ 100g.

**Tabla 3.26 Concentración promedio de fósforo en lenteja**

<b>LENTEJA</b>			
<b>Lugar</b>	<b>Repetición</b>	<b>Concentración mg/100g</b>	<b>Promedio</b>
SPS1	1	334,5536	342,6571
SPS1	2	344,2633	
SPS1	3	349,1543	
SPS2	1	346,5529	347,5273
SPS2	2	348,5750	
SPS2	3	347,4541	
SPS3	1	342,0067	348,1185
SPS3	2	355,5438	
SPS3	3	346,8051	
SMS1	1	368,6690	366,0637
SMS1	2	357,5974	
SMS1	3	371,9248	
SMS2	1	375,3821	355,3768
SMS2	2	333,2502	
SMS2	3	357,4980	
SMS3	1	367,9027	379,7119
SMS3	2	388,9874	
SMS3	3	382,2457	
SCS1	1	320,4792	332,9849
SCS1	2	335,1923	
SCS1	3	343,2832	
SCS2	1	248,3151	326,9616
SCS2	2	371,1980	
SCS2	3	361,3716	
SCS3	1	358,8228	316,9493
SCS3	2	320,5505	
SCS3	3	271,4747	
<b>Concentración de fósforo total</b>			<b>346,2612</b>

En la Tabla 3.27 se realizó un resumen de los datos obtenidos de los análisis de contenido de fósforo en haba, arveja, arroz, lenteja, garbanzo, soya y maní, se observa que el producto con el más alto contenido de este mineral fue el maní, seguido de la lenteja y la arveja; se estableció que el arroz tiene el contenido más bajo de fósforo de todas los productos analizados. Respecto a los resultados de desviación estándar de los datos se observa que los valores más altos se presentaron en haba y soya, mientras que en el resto de los productos los valores de desviación estándar son muy cercanos.

**Tabla 3.27 Resumen de datos de fósforo para cada matriz**

<b>Muestra</b>	<b>Media</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Tamaño Muestral</b>
Arveja	319,4033	31,2598	27
Garbanzo	277,9394	30,8888	27
Lenteja	346,2612	30,3404	27
Soya	265,9575	90,5739	27
Maní	739,0514	59,2526	27
Arroz	108,7924	29,5456	27
Haba	481,5445	164,8514	27

En la Tabla 3.28 se hace un contraste del valor de la prueba de significación Ji cuadrado ( $X^2$ ) entre el valor tabulado y el valor calculado, en el presente trabajo se calcularon los valores para esta prueba al 95% de confianza y dos grados de libertad (2 GL); se aceptó la hipótesis nula en todos los casos ya que los valores calculados son menores que el valor tabulado; por lo tanto se determinó que la semana de muestreo no afecta ni influye en la concentración de fósforo en las muestras aunque en el caso de haba y soya el valor de la desviación estándar fue alto.

**Tabla 3.28 Prueba Ji Cuadrado para cada muestra analizada**

Muestras	Semana / Concentración		
	$\chi^2$ calculado	$\chi^2$ teórico	Resultado
Arveja	0,3553	5,99	Ho aceptada
Garbanzo	0,2967	5,99	Ho aceptada
Lenteja	2,2235	5,99	Ho aceptada
Soya	4,1294	5,99	Ho aceptada
Maní	0,3176	5,99	Ho aceptada
Arroz	1,2273	5,99	Ho aceptada
Haba	2,4868	5,99	Ho aceptada

### 3.4 COMPARACIÓN CON LA TABLA DE COMPOSICIÓN DE ALIMENTOS ECUATORIANOS DEL AÑO 1965

En la Tabla 3.29 se presentan los valores de concentración práctica de fósforo para cada muestra obtenidos en este trabajo de disertación. Se muestran también los valores teóricos que se obtuvieron de la Tabla de Composición de Alimentos Ecuatorianos del año 1965, el valor tabulado de la prueba de significación t de Student determinado al 95% de confianza y un grado de libertad (1 GL) que fue contrastado con el valor t calculado.

**Tabla 3.29 Prueba t de Student para cada muestra analizada**

Muestra	Media	Valor teórico	t Tabulada	t Calculada	Resultado
Arveja	319,4033	375,0000	1,7056	9,2415	Ho rechazada
Garbanzo	277,9394	292,0000	1,7056	2,3653	Ho rechazada
Lenteja	346,2612	313,0000	1,7056	5,6963	Ho rechazada
Soya	265,9575	915,0000	1,7056	37,2347	Ho rechazada
Maní	739,0514	477,0000	1,7056	22,9803	Ho rechazada
Arroz	108,7924	135,0000	1,7056	4,6091	Ho rechazada
Haba	481,5445	346,0000	1,7056	4,2723	Ho rechazada

El valor de t calculado para todas las muestras de productos analizados es mayor que el t tabulado; por lo tanto se rechazó la hipótesis nula en todos los casos; es decir, se determinó que sí existen diferencias significativas en todos los análisis de concentración de fósforo realizados en este trabajo comparados con los valores que se reportan en la tabla de 1965.

## CAPÍTULO 4

### 4. CONCLUSIONES

- a) De acuerdo a los resultados obtenidos, se determinó que el método colorimétrico de fósforo es confiable y sus resultados son reproducibles; se comprobó la linealidad del método mediante el estadístico factor de correlación y determinación de las cinco curvas de calibración que se realizaron en un periodo de cinco días; las curvas de calibración de los cinco días cumplieron con el criterio de aceptabilidad propuesto  $r$  y  $r^2$  sean mayores a 0,9990.
- b) Se determinó el límite de detección 0,0014 mg/ ml y el límite de cuantificación 0,0042 mg/ ml, los límites establecidos cumplieron con el criterio de aceptabilidad propuesto que  $LD < LQ$ . Se determinó a partir de las cinco curvas de calibración que el valor promedio de la pendiente fue 16,6031 y las cinco curvas tendían a estar inclinadas hacia el eje Y, en vista que no se está comparando la sensibilidad entre métodos la sensibilidad es determinado por los valores de las pendientes y la inclinación que presentaron las rectas.
- c) De acuerdo a los resultados obtenidos en el proceso de fortificaciones, se determinó que el porcentaje promedio de recuperación en la muestra de harina de maíz fue 85,0096%. El valor obtenido cumple con el criterio de aceptabilidad establecido con un porcentaje de recuperación entre el 70 -120% de analito extraído. Los valores obtenidos para cada nivel no fueron idénticos pero si mantuvieron un rango de estabilidad. Por lo tanto se puede concluir que método planteado es exacto.

- d) Al aplicar la prueba de significación de Cochran en el proceso de recuperaciones, se obtuvo como resultado que no hubo diferencia significativa en las varianzas entre los diferentes niveles, es decir, que aunque las recuperaciones en cada volumen añadido no hayan sido similares en todos los niveles, estas se mantienen estadísticamente similares entre sí.
- e) De acuerdo a los resultados obtenidos se estableció que el coeficiente de variación dentro de los días (repetitividad) y entre los días cumplió con el criterio de aceptabilidad  $\%CV_r$  y  $\%CV_R \leq 20\%$  y se concluyó que la repetitividad y la reproducibilidad del método es Aceptable.
- f) Con este trabajo es posible proveer a los consumidores la información necesaria sobre el contenido de fósforo en productos que son consumidos habitualmente, también se resalta los beneficios que el fósforo proporciona al organismo de quien lo consume. Es importante destacar que los datos presentados son valores que podrían ser utilizados en estudios posteriores de medicina, nutrición humana o estudios agrícolas.
- g) Se determinó el contenido de fósforo en seis variedades leguminosas y un tipo de cereal consumidos ampliamente en el Ecuador, se estableció que el maní contiene el valor más alto de fósforo con 739,0514 mg/ 100g, seguido de la haba con 481 mg/ 100g, lenteja 3646,2612 mg/ 100g, arveja 319,4033 mg/ 100g, garbanzo 277,9394 mg/ 100g, soya 265,9575 mg/ 100g y el cereal arroz se estableció que fue la muestra con menor contenido de fósforo con 108,7924 mg/ 100g. Con estos resultados se puede asegurar que no todas las leguminosas aportan una cantidad

similar de fósforo al cuerpo humano, pero sí que las leguminosas contienen valores más altos de este mineral que los cereales.

- h) Al aplicar la prueba de significación t de Student se determinó que todos los alimentos analizados presentaron diferencias significativas respecto a los valores de la Tabla de Composición de Alimentos Ecuatorianos elaborada en 1965. Las diferencias pueden deberse a posibles factores como la tecnología actual que permite realizar análisis más precisos y exactos en periodos más cortos de tiempo; las variaciones pueden ser el resultado de nuevas técnicas de cultivo o el uso de fertilizantes que modifiquen la composición nutricional del alimento.
- i) La prueba de significación Ji Cuadrado determinó que la semana de análisis no influye en la concentración de fósforo en las muestras, el resultado obtenido demostró que no existen variaciones notables entre los resultados de las muestras analizadas.

#### **4.1 RECOMENDACIONES**

- a) En base a los resultados de este trabajo de disertación se recomienda actualizar la Tabla de Composición de Alimentos Ecuatorianos de 1965 ya que se determinaron que sí existen diferencias significativas con los valores determinados en la presente investigación.

- b) Es recomendable realizar un pre calcinado de la muestra de maní ya que contiene ácidos grasos y acumula humedad fácilmente, esto causa que al momento de molienda no tenga un textura de harina; sino se realiza el pre calcinamiento la digestión ácida no es eficiente y las lecturas podrían verse afectadas notablemente.
  
- c) Es recomendable realizar las lecturas de las muestras dentro de un periodo máximo de una hora después de adicionado el ácido ascórbico, ya que el complejo coloreado pierde la intensidad del color azul conforme el tiempo de análisis sea más extenso.
  
- d) Al inicio de la digestión ácida, el ácido clorhídrico debe ser añadido lentamente, si se agrega de manera abrupta la reacción es instantánea y una parte de la muestra en el crisol podría perderse o desperdigarse.

## CAPÍTULO 5

### 5. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Rodríguez, V. y Edurne, S. (2008). Bases de Nutrición Humana, Netbiblo, España. pp. 12-34
- [2] Marín, Z. (1999). Elementos de Nutrición Humana, Euned, Costa Rica. pp. 47-79
- [3] Williams, M. (2002). Nutrición para la Salud, Condición Física y el Deporte, 5<sup>ta</sup> edición, Mc Graw Hill, Barcelona. pp. 30-32.
- [4] Soriano, J. (2006). Nutrición Básica Humana, Universidad de Valencia, España. pp. 36-56.
- [5] Wells, F. (1978). Química Inorgánica Estructural, Reverté, Madrid. pp. 699-710
- [6] Behran, J. (1996). Fundamentos de la Química General e Inorgánica, Reverté, Barcelona. pp. 551-573
- [7] Hill, J. y Kohl, D. (1999). Química para el Nuevo Milenio, 8<sup>va</sup> edición, Prentice Hall, México. pp. 85-88.
- [8] Navarro, G. y Navarro, S. (2014). Fertilizantes, Química y Acción, Mundiprensa, Madrid. pp. 112-124.
- [9] Navarro, G. (2003). Química Agrícola, Mundiprensa, Madrid. pp. 219-222
- [10] Bodalo, A. (2002). Química en Murcia, Colegio de Químicos de España, 1<sup>era</sup> edición, Graf SL, España. pp. 65
- [11] Llamas, F. y Zamora, S. (2002). Nutrición Humana, 1<sup>era</sup> edición, Universidad de Murcia, España. pp. 75-76
- [12] Peña, A. (2004). Bioquímica, Limusa, México. pp. 112-113

- [13] Voet, D. (2009). Fundamentos de Bioquímica, 2<sup>da</sup> edición, Editorial Médica Panamericana, Madrid. pp. 431-432
- [14] Garrido, A. (2006). Fundamentos de Bioquímica Estructural, 2<sup>da</sup> edición, Tebar, Madrid. pp. 261-268
- [15] Coello, K. (2009). Tabla de Composición de los Alimentos Ecuatorianos de 1965, Instituto Nacional de Nutrición INNE, Guayaquil. pp. 1-3
- [16] Martínez, A. (2010). Preelaboración y Conservación de Alimentos, AKAL, Madrid. pp. 71-72.
- [17] FAO. (1994). El Arroz en la Nutrición Humana, Colección FAO, Roma. pp. 23-39
- [18] Aldana, L. (2010). Producción Comercial de Semilla de Haba, ICTA, Guatemala. pp. 4-7
- [19] Guzmán, H. (2004). El Cultivo de la Arveja en la Sierra Sur, Boletín Divulgativo 32, Azogues. pp. 1-5
- [20] Pamplona, J. (1995). Alimentos, Safelix, Madrid. pp. 68
- [21] Calle, J., Pedroche, J., Rodríguez, J. y Millon, F. (2003). Proteínas Alimentarias y Coloides de Interés Industrial, Universidad de Sevilla, España. pp. 460-469
- [22] Confalone, A. (2008). Crecimiento y Desarrollo del Cultivo de Haba, Universidad de Santiago de Compostela, Lugo. pp. 3-9
- [23] Peralta, E., Murillo, A. y Caicedo, C. (1998). Manual Agrícola de Manejo de Leguminosas, Quito. pp. 28-30
- [24] Villalobos, L. (1995). Cultivo de Maní, 2<sup>da</sup> edición, Euned, Costa Rica. pp. 101-106
- [25] Valencia, R. y Garzón, A. (2004). Potencialidades de la Soya y Usos en la Alimentación Humana y Animal, Boletín informativo 13, Corpoica, Colombia. pp. 8-12
- [26] Serrano, J. (2012). Métodos de Análisis Químico, Thompson, Madrid. pp. 1-19

- [27] Rodríguez, J. y Virgos, J. (1998). Fundamentos de la Óptica Ondulatoria, Universidad de Oviedo, España. pp. 37
- [28] Montoto, L. (2007). Fundamentos Básicos de la informática y Comunicaciones, Thompson, Madrid. pp. 239.
- [29] American Chemical Society. (2007). Química, un proyecto de la ACS, Reverté, España. pp. 227-228
- [30] Villegas, W. y Acereto, P. (2008). Análisis Ultravioleta Visible, Universidad de Yucatán, México. pp. 85-90
- [30] Serrano, J. (2011). Instrumentación y Método de Análisis Químico, México. pp. 5-11
- [31] Aldabe, S., Aramendia, P. y Lacreo, L. (2004). Química 2, Colihue, Buenos Aires. pp. 317-322
- [32] Afif, E. (2005). Dinámica del Fósforo en Suelos, Universidad de Oviedo, Asturias. pp. 42-70
- [33] Salina, J. (1987). Métodos Químicos para Análisis de Suelos Ácidos y Plantas, CIAT, Colombia. pp. 30-33
- [34] Routh, M. (2010). Determinación Directa de Fósforo por Absorción Atómica, Agilent Technologies, Estados Unidos. pp. 1-3
- [35] FAO. (1993). Manual de Técnicas de Laboratorio de Nutrición de Peces y Crustáceos, Aquila, México. pp. 2-4
- [36] Costa, J. (2005). Diccionario de Química y Física, I Editions, España. pp. 141-142
- [37] Sanz, E. (2012). Puesta a Punto y Validación de un Método de Nicotinoides en Abejas, UPV, Valencia. pp. 7-9
- [38] Herrero, L. (2012). Puesta a Punto y Validación de un Método de Análisis de Aflotoxinas en Frutos Secos y Cereales, Universidad de Zaragoza, España. pp. 27-35

- [39] Pihlstrom, T. (2010). Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticides Analysis in Food and Feed, CVUA, Alemania. pp. 12-14
- [40] Martinez, A. (2013). Validación de Métodos Analíticos por Espectrofotometría para Determinar Sulfatos, Cianuros y Cromo hexavalente en Aguas, Suelos y Lexiviados, UCE, Quito. pp. 46-51
- [41] Miller, J. y Miller, N. (2002). Estadística y Quimiometría para Química Analítica, 4ta edición, Prentice Hall, Madrid. pp. 20-89
- [42] Iral, R. y Correa, J. (2006). Estudio de potencia de pruebas de homogeneidad de varianza, UNAC, Medellin. pp. 60-62
- [43] Monje, J. (2009). Estadística no paramétrica, Universidad De Cataluña, España. pp. 4-18
- [44] DANE. (2010), Metodología del Diseño Estadístico, Encuesta Sobre Ambiente y Desempeño Institucional, Colombia. pp. 8-10

## **ANEXOS**

## ANEXO 1: FÓRMULAS APLICADAS

### ANOVA

VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F
<b>ENTRE GRUPOS</b>	k-1	$SDC_B = n \sum_{i=1}^k (\bar{x}_i - \bar{x})^2$	$DCMB = \frac{SDC_B}{K-1}$	$\frac{DCM_B}{DCM_W}$
<b>DENTRO DE GRUPOS</b>	(n-1)k	$SDC_W = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^n (x_{ij} - \bar{x}_i)^2$	$DCMW = \frac{SDC_W}{(N-1)K}$	
<b>TOTAL</b>	Kn-1	$SC_{TOTAL} = SDC_B + SDC_W$		

### PRUEBA t DE STUDENT

$$t = \frac{(\bar{X} - \mu) * \sqrt{N}}{S}$$

### TEST DE COCHRAN

$$T = k(k-1) \frac{\sum_{j=1}^K (x' - \frac{N}{K})^2}{\sum_{i=1}^b x' (k - x')}$$

### PRUEBA JI CUADRADO

$$\chi^2 = \sum \frac{(F\alpha - F\beta)^2}{F\beta}$$

### **FACTOR DE CORRELACIÓN**

$$r = \frac{\sum(xi - \bar{x}) * \sum(yi - \bar{y})}{\sqrt{\sum(xi - \bar{x}) * \sum(yi - \bar{y})}}$$

### **COEFICIENTE DE DETERMINACIÓN**

$$r^2 = \frac{(y - \bar{y})^2 - (y - y')^2}{(y - \bar{y})^2}$$

### **LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN**

$$LC = \bar{x} + 10S$$

### **LÍMITE DE DETECCIÓN**

$$LD = \bar{x} + 3S$$

### **DESVIACIÓN ESTÁNDAR**

$$S = \sqrt{\sigma^2}$$

### **COEFICIENTE DE VARIACIÓN (REPETITIVIDAD)**

$$\%CVR = \frac{Sr}{\bar{x}}$$

### **COEFICIENTE DE VARIACIÓN (REPRODUCIBILIDAD)**

$$\%CVR = \frac{SR}{\bar{x}}$$

## Anexo 2 : PUESTA A PUNTO EL MÉTODO

**Tabla 1: Concentraciones, valores de absorbancia, media xi, media yi, diferencia de cuadrados xi, diferencia de cuadrados yi y producto Día 1**

ni	Concentra. xi	Absorbancia yi	$x-\bar{x}$	$y-\bar{y}$	$(x-\bar{x})^2$	$(y-\bar{y})^2$	$(x-\bar{x})(y-\bar{y})$
1	0,0000	0,0000	-0,0433	-0,7084	0,0019	0,5018	0,0307
2	0,0000	0,0000	-0,0433	-0,7084	0,0019	0,5018	0,0307
3	0,0000	0,0005	-0,0433	-0,7079	0,0019	0,5011	0,0307
4	0,0000	-0,0001	-0,0433	-0,7085	0,0019	0,5020	0,0307
5	0,0000	0,0001	-0,0433	-0,7083	0,0019	0,5017	0,0307
6	0,0100	0,1484	-0,0333	-0,5600	0,0011	0,3136	0,0187
7	0,0100	0,1433	-0,0333	-0,5651	0,0011	0,3193	0,0188
8	0,0100	0,1505	-0,0333	-0,5579	0,0011	0,3113	0,0186
9	0,0100	0,1471	-0,0333	-0,5613	0,0011	0,3151	0,0187
10	0,0100	0,1750	-0,0333	-0,5334	0,0011	0,2845	0,0178
11	0,0250	0,3726	-0,0183	-0,3358	0,0003	0,1128	0,0062
12	0,0250	0,3785	-0,0183	-0,3299	0,0003	0,1088	0,0060
13	0,0250	0,3680	-0,0183	-0,3404	0,0003	0,1159	0,0062
14	0,0250	0,4092	-0,0183	-0,2992	0,0003	0,0895	0,0055
15	0,0250	0,4240	-0,0183	-0,2844	0,0003	0,0809	0,0052
16	0,0500	0,7989	0,0067	0,0905	0,0000	0,0082	0,0006
17	0,0500	0,8289	0,0067	0,1205	0,0000	0,0145	0,0008
18	0,0500	0,8162	0,0067	0,1078	0,0000	0,0116	0,0007
19	0,0500	0,8256	0,0067	0,1172	0,0000	0,0137	0,0008
20	0,0500	0,8328	0,0067	0,1244	0,0000	0,0155	0,0008
21	0,0750	1,2337	0,0317	0,5253	0,0010	0,2759	0,0166
22	0,0750	1,2176	0,0317	0,5092	0,0010	0,2593	0,0161
23	0,0750	1,2469	0,0317	0,5385	0,0010	0,2900	0,0171
24	0,0750	1,2449	0,0317	0,5365	0,0010	0,2878	0,0170
25	0,0750	1,2459	0,0317	0,5375	0,0010	0,2889	0,0170
26	0,1000	1,6502	0,0567	0,9418	0,0032	0,8870	0,0534
27	0,1000	1,6320	0,0567	0,9236	0,0032	0,8530	0,0523
28	0,1000	1,6527	0,0567	0,9443	0,0032	0,8917	0,0535
29	0,1000	1,6561	0,0567	0,9477	0,0032	0,8981	0,0537
30	0,1000	1,6525	0,0567	0,9441	0,0032	0,8913	0,0535
<b>SUMA</b>	1,3000	21,2520	0,0000	0,0000	0,0379	10,4468	0,6292
<b>MEDIA</b>	0,0433	0,7084	0,0000	0,0000	0,0013	0,3482	0,0210

**Tabla 2: Cálculo de concentración Y estimada Día 1**

<b>n</b>	<b>xi</b>	<b>y</b>	<b>y1</b>	<b>x2</b>	<b>yi - y1</b>	<b>(yi - y1)<sup>2</sup></b>
1,0000	0,0000	0,0000	-0,0107	0,0000	0,0107	0,0001
2,0000	0,0000	0,0000	-0,0107	0,0000	0,0107	0,0001
3,0000	0,0000	0,0005	-0,0107	0,0000	0,0112	0,0001
4,0000	0,0000	-0,0001	-0,0107	0,0000	0,0106	0,0001
5,0000	0,0000	0,0001	-0,0107	0,0000	0,0108	0,0001
6,0000	0,0100	0,1484	0,1553	0,0001	-0,0069	0,0000
7,0000	0,0100	0,1433	0,1553	0,0001	-0,0120	0,0001
8,0000	0,0100	0,1505	0,1553	0,0001	-0,0048	0,0000
9,0000	0,0100	0,1471	0,1553	0,0001	-0,0082	0,0001
10,0000	0,0100	0,1750	0,1553	0,0001	0,0197	0,0004
11,0000	0,0250	0,3726	0,4042	0,0006	-0,0316	0,0010
12,0000	0,0250	0,3785	0,4042	0,0006	-0,0257	0,0007
13,0000	0,0250	0,3680	0,4042	0,0006	-0,0362	0,0013
14,0000	0,0250	0,4092	0,4042	0,0006	0,0050	0,0000
15,0000	0,0250	0,4240	0,4042	0,0006	0,0198	0,0004
16,0000	0,0500	0,7989	0,8190	0,0025	-0,0201	0,0004
17,0000	0,0500	0,8289	0,8190	0,0025	0,0099	0,0001
18,0000	0,0500	0,8162	0,8190	0,0025	-0,0028	0,0000
19,0000	0,0500	0,8256	0,8190	0,0025	0,0066	0,0000
20,0000	0,0500	0,8328	0,8190	0,0025	0,0138	0,0002
21,0000	0,0750	1,2337	1,2339	0,0056	-0,0002	0,0000
22,0000	0,0750	1,2176	1,2339	0,0056	-0,0163	0,0003
23,0000	0,0750	1,2469	1,2339	0,0056	0,0130	0,0002
24,0000	0,0750	1,2449	1,2339	0,0056	0,0110	0,0001
25,0000	0,0750	1,2459	1,2339	0,0056	0,0120	0,0001
26,0000	0,1000	1,6502	1,6487	0,0100	0,0015	0,0000
27,0000	0,1000	1,6320	1,6487	0,0100	-0,0167	0,0003
28,0000	0,1000	1,6527	1,6487	0,0100	0,0040	0,0000
29,0000	0,1000	1,6561	1,6487	0,0100	0,0074	0,0001
30,0000	0,1000	1,6525	1,6487	0,0100	0,0038	0,0000
<b>SUMA</b>	<b>1,3000</b>	<b>21,2520</b>	<b>21,2520</b>	<b>0,0943</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0064</b>

**Tabla 3: Valores calculados de desviación estándar de pendiente e intercepto Día 1**

<b>Sy/x =</b>	0,0152
<b>Sa =</b>	0,0044
<b>Sb =</b>	0,0779
<b>a + tsa =</b>	-0,0017
<b>a - tsa =</b>	-0,0196
<b>b + t sb =</b>	16,7532
<b>b - t sb =</b>	16,4341

**Tabla 4: Valores calculados de límite de detección y límite de cuantificación Día 1**

$LD = a + t*s_a$	-0,0017	0,0005
$LC = a + t*sy/x$	0,0204	0,0019
$LD = B + 3S_{BLANCO}$	0,0008	0,0007
$LC = B + 10S_{BLANCO}$	0,0024	0,0008

**Tabla 5: Concentraciones, valores de absorbancia, media xi, media yi, diferencia cuadrado xi, diferencia de cuadrado yi y producto Día 2**

ni	Concentr a. xi	Absorbancia yi	$x-\bar{x}$	$y-\bar{y}$	$(x-\bar{x})^2$	$(y-\bar{y})^2$	$(x-\bar{x})(y-\bar{y})$
1	0,0000	0,0003	-0,0433	-0,7143	0,0019	0,5102	0,0310
2	0,0000	0,0003	-0,0433	-0,7143	0,0019	0,5102	0,0310
3	0,0000	0,0001	-0,0433	-0,7145	0,0019	0,5105	0,0310
4	0,0000	0,0004	-0,0433	-0,7142	0,0019	0,5100	0,0309
5	0,0000	0,0010	-0,0433	-0,7136	0,0019	0,5092	0,0309
6	0,0100	0,1528	-0,0333	-0,5618	0,0011	0,3156	0,0187
7	0,0100	0,1659	-0,0333	-0,5487	0,0011	0,3010	0,0183
8	0,0100	0,1670	-0,0333	-0,5476	0,0011	0,2998	0,0183
9	0,0100	0,1616	-0,0333	-0,5530	0,0011	0,3058	0,0184
10	0,0100	0,1512	-0,0333	-0,5634	0,0011	0,3174	0,0188
11	0,0250	0,3754	-0,0183	-0,3392	0,0003	0,1150	0,0062
12	0,0250	0,4145	-0,0183	-0,3001	0,0003	0,0900	0,0055
13	0,0250	0,4087	-0,0183	-0,3059	0,0003	0,0936	0,0056
14	0,0250	0,4146	-0,0183	-0,3000	0,0003	0,0900	0,0055
15	0,0250	0,4094	-0,0183	-0,3052	0,0003	0,0931	0,0056
16	0,0500	0,8247	0,0067	0,1101	0,0000	0,0121	0,0007
17	0,0500	0,8401	0,0067	0,1255	0,0000	0,0158	0,0008
18	0,0500	0,8505	0,0067	0,1359	0,0000	0,0185	0,0009
19	0,0500	0,8255	0,0067	0,1109	0,0000	0,0123	0,0007
20	0,0500	0,8126	0,0067	0,0980	0,0000	0,0096	0,0007
21	0,0750	1,2278	0,0317	0,5132	0,0010	0,2634	0,0163
22	0,0750	1,2706	0,0317	0,5560	0,0010	0,3092	0,0176
23	0,0750	1,2598	0,0317	0,5452	0,0010	0,2973	0,0173
24	0,0750	1,2493	0,0317	0,5347	0,0010	0,2859	0,0169
25	0,0750	1,2528	0,0317	0,5382	0,0010	0,2897	0,0170
26	0,1000	1,6349	0,0567	0,9203	0,0032	0,8470	0,0522
27	0,1000	1,5982	0,0567	0,8836	0,0032	0,7808	0,0501
28	0,1000	1,6858	0,0567	0,9712	0,0032	0,9433	0,0550
29	0,1000	1,6377	0,0567	0,9231	0,0032	0,8522	0,0523
30	0,1000	1,6433	0,0567	0,9287	0,0032	0,8626	0,0526
<b>SUMA</b>	1,3000	21,4368	0,0000	0,0000	0,0379	10,3710	0,6268
<b>MEDIA</b>	0,0433	0,7146	0,0000	0,0000	0,0013	0,3457	0,0209

**Tabla 6: Valores calculados de factor de correlación, factor de determinación, pendiente e intercepto Día 2**

r	0,9996
r <sup>2</sup>	0,9991
b	16,5311
a	-0,0018

**Tabla 7: Cálculo de concentración Y estimada Día 2**

n	xi	y	y1	x2	yi - y1	(yi - y1) <sup>2</sup>
1	0,0000	0,0003	-0,0018	0,0000	0,0021	0,0000
2	0,0000	0,0003	-0,0018	0,0000	0,0021	0,0000
3	0,0000	0,0001	-0,0018	0,0000	0,0019	0,0000
4	0,0000	0,0004	-0,0018	0,0000	0,0022	0,0000
5	0,0000	0,0010	-0,0018	0,0000	0,0028	0,0000
6	0,0100	0,1528	0,1635	0,0001	-0,0107	0,0001
7	0,0100	0,1659	0,1635	0,0001	0,0024	0,0000
8	0,0100	0,1670	0,1635	0,0001	0,0035	0,0000
9	0,0100	0,1616	0,1635	0,0001	-0,0019	0,0000
10	0,0100	0,1512	0,1635	0,0001	-0,0123	0,0002
11	0,0250	0,3754	0,4115	0,0006	-0,0361	0,0013
12	0,0250	0,4145	0,4115	0,0006	0,0030	0,0000
13	0,0250	0,4087	0,4115	0,0006	-0,0028	0,0000
14	0,0250	0,4146	0,4115	0,0006	0,0031	0,0000
15	0,0250	0,4094	0,4115	0,0006	-0,0021	0,0000
16	0,0500	0,8247	0,8248	0,0025	-0,0001	0,0000
17	0,0500	0,8401	0,8248	0,0025	0,0153	0,0002
18	0,0500	0,8505	0,8248	0,0025	0,0257	0,0007
19	0,0500	0,8255	0,8248	0,0025	0,0007	0,0000
20	0,0500	0,8126	0,8248	0,0025	-0,0122	0,0001
21	0,0750	1,2278	1,2380	0,0056	-0,0102	0,0001
22	0,0750	1,2706	1,2380	0,0056	0,0326	0,0011
23	0,0750	1,2598	1,2380	0,0056	0,0218	0,0005
24	0,0750	1,2493	1,2380	0,0056	0,0113	0,0001
25	0,0750	1,2528	1,2380	0,0056	0,0148	0,0002
26	0,1000	1,6349	1,6513	0,0100	-0,0164	0,0003
27	0,1000	1,5982	1,6513	0,0100	-0,0531	0,0028
28	0,1000	1,6858	1,6513	0,0100	0,0345	0,0012
29	0,1000	1,6377	1,6513	0,0100	-0,0136	0,0002
30	0,1000	1,6433	1,6513	0,0100	-0,0080	0,0001
<b>SUMA</b>	1,3000	21,4368	21,4368	0,0943	0,0000	0,0092

**Tabla 8: Desviación estándar de pendiente e intercepto Día 2**

<b>Sy/x</b>	0,0181
<b>Sa</b>	0,0052
<b>Sb</b>	0,0931
<b>a + tsa</b>	0,0089
<b>a - tsa</b>	-0,0125
<b>b + t sb</b>	16,7218
<b>b - t sb</b>	16,3404

**Tabla 9: Valores calculados de límite de detección y límite de cuantificación Día 2**

$LD = a + t^*s_a$	0,0006
$LC = a + t^*s_{y/x}$	0,0022
$LD = B + 3S_{BLANCO}$	0,0002
$LC = B + 10S_{BLANCO}$	0,0003

**Tabla 10: Concentraciones, valores de absorbancia, media xi, media yi, cuadrado xi, cuadrado yi y producto Día 3**

<b>ni</b>	<b>Concentra. xi</b>	<b>Absorbancia yi</b>	<b><math>x-\bar{x}</math></b>	<b><math>y-\bar{y}</math></b>	<b><math>(x-\bar{x})^2</math></b>	<b><math>(y-\bar{y})^2</math></b>	<b><math>(x-\bar{x})(y-\bar{y})</math></b>
1	0,0000	0,0010	-0,0433	-0,7084	0,0019	0,5018	0,0307
2	0,0000	0,0001	-0,0433	-0,7093	0,0019	0,5031	0,0307
3	0,0000	0,0000	-0,0433	-0,7094	0,0019	0,5032	0,0307
4	0,0000	0,0004	-0,0433	-0,7090	0,0019	0,5027	0,0307
5	0,0000	0,0010	-0,0433	-0,7084	0,0019	0,5018	0,0307
6	0,0100	0,1530	-0,0333	-0,5564	0,0011	0,3096	0,0185
7	0,0100	0,1450	-0,0333	-0,5644	0,0011	0,3185	0,0188
8	0,0100	0,1496	-0,0333	-0,5598	0,0011	0,3134	0,0187
9	0,0100	0,1510	-0,0333	-0,5584	0,0011	0,3118	0,0186
10	0,0100	0,1451	-0,0333	-0,5643	0,0011	0,3184	0,0188
11	0,0250	0,4053	-0,0183	-0,3041	0,0003	0,0925	0,0056
12	0,0250	0,4033	-0,0183	-0,3061	0,0003	0,0937	0,0056
13	0,0250	0,4053	-0,0183	-0,3041	0,0003	0,0925	0,0056
14	0,0250	0,3962	-0,0183	-0,3132	0,0003	0,0981	0,0057
15	0,0250	0,4040	-0,0183	-0,3054	0,0003	0,0933	0,0056
16	0,0500	0,8136	0,0067	0,1042	0,0000	0,0109	0,0007

Continuación Tabla 10

17	0,0500	0,8086	0,0067	0,0992	0,0000	0,0098	0,0007
18	0,0500	0,8211	0,0067	0,1117	0,0000	0,0125	0,0007
19	0,0500	0,8163	0,0067	0,1069	0,0000	0,0114	0,0007
20	0,0500	0,8172	0,0067	0,1078	0,0000	0,0116	0,0007
21	0,0750	1,2366	0,0317	0,5272	0,0010	0,2779	0,0167
22	0,0750	1,2463	0,0317	0,5369	0,0010	0,2883	0,0170
23	0,0750	1,2094	0,0317	0,5000	0,0010	0,2500	0,0158
24	0,0750	1,2374	0,0317	0,5280	0,0010	0,2788	0,0167
25	0,0750	1,2514	0,0317	0,5420	0,0010	0,2938	0,0172
26	0,1000	1,6396	0,0567	0,9302	0,0032	0,8653	0,0527
27	0,1000	1,6493	0,0567	0,9399	0,0032	0,8834	0,0533
28	0,1000	1,6440	0,0567	0,9346	0,0032	0,8735	0,0530
29	0,1000	1,6539	0,0567	0,9445	0,0032	0,8921	0,0535
30	0,1000	1,6769	0,0567	0,9675	0,0032	0,9361	0,0548
<b>SUMA</b>	1,3000	21,2819	0,0000	0,0000	0,0379	10,4497	0,6294
<b>MEDIA</b>	0,0433	0,7094	0,0000	0,0000	0,0013	0,3483	0,0210

**Tabla 11: Valores calculados de factor de correlación, factor de determinación, pendiente e intercepto Día 3**

r	0,9999
R <sup>2</sup>	0,9997
b	16,5987
a	-0,0099

**Tabla 12: Cálculo de Y estimado Día 3**

n	xi	y	y1	x2	yi - y 1	(yi - y 1) <sup>2</sup>
1	0,0000	0,0010	-0,0099	0,0000	0,0109	0,0001
2	0,0000	0,0001	-0,0099	0,0000	0,0100	0,0001
3	0,0000	0,0000	-0,0099	0,0000	0,0099	0,0001
4	0,0000	0,0004	-0,0099	0,0000	0,0103	0,0001
5	0,0000	0,0010	-0,0099	0,0000	0,0109	0,0001
6	0,0100	0,1530	0,1561	0,0001	-0,0031	0,0000
7	0,0100	0,1450	0,1561	0,0001	-0,0111	0,0001
8	0,0100	0,1496	0,1561	0,0001	-0,0065	0,0000
9	0,0100	0,1510	0,1561	0,0001	-0,0051	0,0000
10	0,0100	0,1451	0,1561	0,0001	-0,0110	0,0001
11	0,0250	0,4053	0,4051	0,0006	0,0002	0,0000
12	0,0250	0,4033	0,4051	0,0006	-0,0018	0,0000
13	0,0250	0,4053	0,4051	0,0006	0,0002	0,0000
14	0,0250	0,3962	0,4051	0,0006	-0,0089	0,0001

Continuación Tabla 12

15	0,0250	0,4040	0,4051	0,0006	-0,0011	0,0000
16	0,0500	0,8136	0,8201	0,0025	-0,0065	0,0000
17	0,0500	0,8086	0,8201	0,0025	-0,0115	0,0001
18	0,0500	0,8211	0,8201	0,0025	0,0010	0,0000
19	0,0500	0,8163	0,8201	0,0025	-0,0038	0,0000
20	0,0500	0,8172	0,8201	0,0025	-0,0029	0,0000
21	0,0750	1,2366	1,2350	0,0056	0,0016	0,0000
22	0,0750	1,2463	1,2350	0,0056	0,0113	0,0001
23	0,0750	1,2094	1,2350	0,0056	-0,0256	0,0007
24	0,0750	1,2374	1,2350	0,0056	0,0024	0,0000
25	0,0750	1,2514	1,2350	0,0056	0,0164	0,0003
26	0,1000	1,6396	1,6500	0,0100	-0,0104	0,0001
27	0,1000	1,6493	1,6500	0,0100	-0,0007	0,0000
28	0,1000	1,6440	1,6500	0,0100	-0,0060	0,0000
29	0,1000	1,6539	1,6500	0,0100	0,0039	0,0000
30	0,1000	1,6769	1,6500	0,0100	0,0269	0,0007
<b>SUMA</b>	<b>1,3000</b>	<b>21,2819</b>	<b>21,2819</b>	<b>0,0943</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0031</b>

**Tabla 13: Desviación estándar de pendiente e intercepto Día 3**

Sy/x	0,0105
Sa	0,0030
Sb	0,0539
a + tsa	-0,0037
a - tsa	-0,0161
b + t sb	16,7091
b - t sb	16,4883

**Tabla 14: Límite de detección y límite de cuantificación Día 3**

LD = a + t*s <sub>a</sub>	-0,0037	0,0004
LC = a + t*sy/x	0,0116	0,0013
LD = B + 3S <sub>BLANCO</sub>	0,0019	0,0007
LC = B + 10S <sub>BLANCO</sub>	0,0053	0,0009

**Tabla 15: Concentraciones, valores de absorbancia, media xi, media yi, diferencia de cuadrado xi, diferencia de cuadrado yi y producto Día 4**

<b>ni</b>	<b>Concentr a. xi</b>	<b>Absorbancia yi</b>	<b><math>x-\bar{x}</math></b>	<b><math>y-\bar{y}</math></b>	<b><math>(x-\bar{x})^2</math></b>	<b><math>(y-\bar{y})^2</math></b>	<b><math>(x-\bar{x})(y-\bar{y})</math></b>
1	0,0000	0,0000	-0,0433	-0,7069	0,0019	0,4998	0,0306
2	0,0000	0,0007	-0,0433	-0,7062	0,0019	0,4988	0,0306
3	0,0000	-0,0005	-0,0433	-0,7074	0,0019	0,5005	0,0307
4	0,0000	0,0002	-0,0433	-0,7067	0,0019	0,4995	0,0306
5	0,0000	0,0005	-0,0433	-0,7064	0,0019	0,4991	0,0306
6	0,0100	0,1524	-0,0333	-0,5545	0,0011	0,3075	0,0185
7	0,0100	0,1369	-0,0333	-0,5700	0,0011	0,3250	0,0190
8	0,0100	0,1483	-0,0333	-0,5586	0,0011	0,3121	0,0186
9	0,0100	0,1450	-0,0333	-0,5619	0,0011	0,3158	0,0187
10	0,0100	0,1593	-0,0333	-0,5476	0,0011	0,2999	0,0183
11	0,0250	0,4045	-0,0183	-0,3024	0,0003	0,0915	0,0055
12	0,0250	0,4030	-0,0183	-0,3039	0,0003	0,0924	0,0056
13	0,0250	0,3938	-0,0183	-0,3131	0,0003	0,0981	0,0057
14	0,0250	0,4020	-0,0183	-0,3049	0,0003	0,0930	0,0056
15	0,0250	0,4056	-0,0183	-0,3013	0,0003	0,0908	0,0055
16	0,0500	0,8232	0,0067	0,1163	0,0000	0,0135	0,0008
17	0,0500	0,7834	0,0067	0,0765	0,0000	0,0058	0,0005
18	0,0500	0,7947	0,0067	0,0878	0,0000	0,0077	0,0006
19	0,0500	0,8192	0,0067	0,1123	0,0000	0,0126	0,0007
20	0,0500	0,8121	0,0067	0,1052	0,0000	0,0111	0,0007
21	0,0750	1,2470	0,0317	0,5401	0,0010	0,2917	0,0171
22	0,0750	1,2199	0,0317	0,5130	0,0010	0,2631	0,0162
23	0,0750	1,2078	0,0317	0,5009	0,0010	0,2509	0,0159
24	0,0750	1,2257	0,0317	0,5188	0,0010	0,2691	0,0164
25	0,0750	1,2397	0,0317	0,5328	0,0010	0,2838	0,0169
26	0,1000	1,6664	0,0567	0,9595	0,0032	0,9206	0,0544
27	0,1000	1,6599	0,0567	0,9530	0,0032	0,9081	0,0540
28	0,1000	1,6423	0,0567	0,9354	0,0032	0,8749	0,0530
29	0,1000	1,6576	0,0567	0,9507	0,0032	0,9037	0,0539
30	0,1000	1,6578	0,0567	0,9509	0,0032	0,9041	0,0539
<b>SUMA</b>	<b>1,3000</b>	<b>21,2084</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0379</b>	<b>10,4443</b>	<b>0,6291</b>
<b>MEDIA</b>	<b>0,0433</b>	<b>0,7069</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0013</b>	<b>0,3481</b>	<b>0,0210</b>

**Tabla 16: Valores calculados de factor de correlación, factor de determinación, pendiente e intercepto Día 4**

r	0,9998
r <sup>2</sup>	0,9995
b	16,5929
a	-0,0121

**Tabla 17: Cálculo de concentración Y estimada Día 4**

	xi	y	y1	x2	yi - y1	(yi - y1) <sup>2</sup>
1	0,0000	0,0000	-0,0121	0,0000	0,0121	0,0001
2	0,0000	0,0007	-0,0121	0,0000	0,0128	0,0002
3	0,0000	-0,0005	-0,0121	0,0000	0,0116	0,0001
4	0,0000	0,0002	-0,0121	0,0000	0,0123	0,0002
5	0,0000	0,0005	-0,0121	0,0000	0,0126	0,0002
6	0,0100	0,1524	0,1538	0,0001	-0,0014	0,0000
7	0,0100	0,1369	0,1538	0,0001	-0,0169	0,0003
8	0,0100	0,1483	0,1538	0,0001	-0,0055	0,0000
9	0,0100	0,1450	0,1538	0,0001	-0,0088	0,0001
10	0,0100	0,1593	0,1538	0,0001	0,0055	0,0000
11	0,0250	0,4045	0,4027	0,0006	0,0018	0,0000
12	0,0250	0,4030	0,4027	0,0006	0,0003	0,0000
13	0,0250	0,3938	0,4027	0,0006	-0,0089	0,0001
14	0,0250	0,4020	0,4027	0,0006	-0,0007	0,0000
15	0,0250	0,4056	0,4027	0,0006	0,0029	0,0000
16	0,0500	0,8232	0,8176	0,0025	0,0056	0,0000
17	0,0500	0,7834	0,8176	0,0025	-0,0342	0,0012
18	0,0500	0,7947	0,8176	0,0025	-0,0229	0,0005
19	0,0500	0,8192	0,8176	0,0025	0,0016	0,0000
20	0,0500	0,8121	0,8176	0,0025	-0,0055	0,0000
21	0,0750	1,2470	1,2324	0,0056	0,0146	0,0002
22	0,0750	1,2199	1,2324	0,0056	-0,0125	0,0002
23	0,0750	1,2078	1,2324	0,0056	-0,0246	0,0006
24	0,0750	1,2257	1,2324	0,0056	-0,0067	0,0000
25	0,0750	1,2397	1,2324	0,0056	0,0073	0,0001
26	0,1000	1,6664	1,6472	0,0100	0,0192	0,0004
27	0,1000	1,6599	1,6472	0,0100	0,0127	0,0002
28	0,1000	1,6423	1,6472	0,0100	-0,0049	0,0000
29	0,1000	1,6576	1,6472	0,0100	0,0104	0,0001
30	0,1000	1,6578	1,6472	0,0100	0,0106	0,0001
<b>SUMA</b>	<b>1,3000</b>	<b>21,2084</b>	<b>21,2084</b>	<b>0,0943</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0049</b>

**Tabla 18: Desviación estándar de pendiente e intercepto Día 4**

Sy/x	0,0132
Sa	0,0038
Sb	0,0677
a + tsa	-0,0043
a - tsa	-0,0199
b + t sb	16,7317
b - t sb	16,4542

**Tabla 19: Límite de detección y límite de cuantificación Día 4**

LD = a + t*s <sub>a</sub>	-0,0043	0,0005
LC = a + t*sy/x	0,0149	0,0016
LD = B + 3S <sub>BLANCO</sub>	0,0016	0,0008
LC = B + 10S <sub>BLANCO</sub>	0,0048	0,0010

**Tabla 20: Concentraciones, valores de absorbancia, media xi, media yi, cuadrado xi, cuadrado yi y producto Día 5**

ni	Concentra. xi	Absorbancia yi	$x-\bar{x}$	$y-\bar{y}$	$(x-\bar{x})^2$	$(y-\bar{y})^2$	$(x-\bar{x})(y-\bar{y})$
1	0,0000	0,0000	-0,0433	-0,7099	0,0019	0,5040	0,0308
2	0,0000	-0,0003	-0,0433	-0,7102	0,0019	0,5044	0,0308
3	0,0000	-0,0004	-0,0433	-0,7103	0,0019	0,5045	0,0308
4	0,0000	0,0002	-0,0433	-0,7097	0,0019	0,5037	0,0308
5	0,0000	0,0000	-0,0433	-0,7099	0,0019	0,5040	0,0308
6	0,0100	0,1606	-0,0333	-0,5493	0,0011	0,3017	0,0183
7	0,0100	0,1620	-0,0333	-0,5479	0,0011	0,3002	0,0183
8	0,0100	0,1482	-0,0333	-0,5617	0,0011	0,3155	0,0187
9	0,0100	0,1376	-0,0333	-0,5723	0,0011	0,3275	0,0191
10	0,0100	0,1525	-0,0333	-0,5574	0,0011	0,3107	0,0186
11	0,0250	0,4027	-0,0183	-0,3072	0,0003	0,0944	0,0056
12	0,0250	0,4031	-0,0183	-0,3068	0,0003	0,0941	0,0056
13	0,0250	0,3862	-0,0183	-0,3237	0,0003	0,1048	0,0059
14	0,0250	0,3741	-0,0183	-0,3358	0,0003	0,1128	0,0062
15	0,0250	0,3909	-0,0183	-0,3190	0,0003	0,1018	0,0058
16	0,0500	0,8290	0,0067	0,1191	0,0000	0,0142	0,0008
17	0,0500	0,8168	0,0067	0,1069	0,0000	0,0114	0,0007
18	0,0500	0,8131	0,0067	0,1032	0,0000	0,0106	0,0007
19	0,0500	0,7919	0,0067	0,0820	0,0000	0,0067	0,0005
20	0,0500	0,8219	0,0067	0,1120	0,0000	0,0125	0,0007
21	0,0750	1,2488	0,0317	0,5389	0,0010	0,2904	0,0171

Continuación Tabla 20

22	0,0750	1,2570	0,0317	0,5471	0,0010	0,2993	0,0173
23	0,0750	1,2368	0,0317	0,5269	0,0010	0,2776	0,0167
24	0,0750	1,1982	0,0317	0,4883	0,0010	0,2384	0,0155
25	0,0750	1,2522	0,0317	0,5423	0,0010	0,2941	0,0172
26	0,1000	1,6788	0,0567	0,9689	0,0032	0,9387	0,0549
27	0,1000	1,6875	0,0567	0,9776	0,0032	0,9557	0,0554
28	0,1000	1,6556	0,0567	0,9457	0,0032	0,8943	0,0536
29	0,1000	1,6129	0,0567	0,9030	0,0032	0,8154	0,0512
30	0,1000	1,6794	0,0567	0,9695	0,0032	0,9399	0,0549
<b>SUMA</b>	1,3000	21,2973	0,0000	0,0000	0,0379	10,5835	0,6332
<b>MEDIA</b>	0,0433	0,7099	0,0000	0,0000	0,0013	0,3528	0,0211

**Tabla 21: Factor de correlación, determinación, pendiente e intercepto Día 5**

r	0,9995
r <sup>2</sup>	0,9991
b	16,6993
a	-0,0137

**Tabla 22: Cálculo de Y estimado Día 5**

n	xi	y	y1	x2	yi - y1	(yi - y1) <sup>2</sup>
1	0,0000	0,0000	-0,0137	0,0000	0,0137	0,0002
2	0,0000	-0,0003	-0,0137	0,0000	0,0134	0,0002
3	0,0000	-0,0004	-0,0137	0,0000	0,0133	0,0002
4	0,0000	0,0002	-0,0137	0,0000	0,0139	0,0002
5	0,0000	0,0000	-0,0137	0,0000	0,0137	0,0002
6	0,0100	0,1606	0,1533	0,0001	0,0073	0,0001
7	0,0100	0,1620	0,1533	0,0001	0,0087	0,0001
8	0,0100	0,1482	0,1533	0,0001	-0,0051	0,0000
9	0,0100	0,1376	0,1533	0,0001	-0,0157	0,0002
10	0,0100	0,1525	0,1533	0,0001	-0,0008	0,0000
11	0,0250	0,4027	0,4038	0,0006	-0,0011	0,0000
12	0,0250	0,4031	0,4038	0,0006	-0,0007	0,0000
13	0,0250	0,3862	0,4038	0,0006	-0,0176	0,0003
14	0,0250	0,3741	0,4038	0,0006	-0,0297	0,0009
15	0,0250	0,3909	0,4038	0,0006	-0,0129	0,0002
16	0,0500	0,8290	0,8212	0,0025	0,0078	0,0001
17	0,0500	0,8168	0,8212	0,0025	-0,0044	0,0000
18	0,0500	0,8131	0,8212	0,0025	-0,0081	0,0001
19	0,0500	0,7919	0,8212	0,0025	-0,0293	0,0009

Continuación Tabla 22

20	0,0500	0,8219	0,8212	0,0025	0,0007	0,0000
21	0,0750	1,2488	1,2387	0,0056	0,0101	0,0001
22	0,0750	1,2570	1,2387	0,0056	0,0183	0,0003
23	0,0750	1,2368	1,2387	0,0056	-0,0019	0,0000
24	0,0750	1,1982	1,2387	0,0056	-0,0405	0,0016
25	0,0750	1,2522	1,2387	0,0056	0,0135	0,0002
26	0,1000	1,6788	1,6562	0,0100	0,0226	0,0005
27	0,1000	1,6875	1,6562	0,0100	0,0313	0,0010
28	0,1000	1,6556	1,6562	0,0100	-0,0006	0,0000
29	0,1000	1,6129	1,6562	0,0100	-0,0433	0,0019
30	0,1000	1,6794	1,6562	0,0100	0,0232	0,0005
<b>SUMA</b>	<b>1,3000</b>	<b>21,2973</b>	<b>21,2973</b>	<b>0,0943</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0099</b>

**Tabla 23: Desviación estándar de pendiente e intercepto Día 5**

Sy/x	0,0188
Sa	0,0054
Sb	0,0964
a + tsa	-0,0027
a - tsa	-0,0248
b + t sb	16,6993
b - t sb	16,6993

**Tabla 24: Límite de detección y límite de cuantificación Día 5**

$LD = a + t*s_a$	-0,0027	0,0007
$LC = a + t*sy/x$	0,0247	0,0023
$LD = B + 3S_{BLANCO}$	0,0006	0,0009
$LC = B + 10S_{BLANCO}$	0,0023	0,0010

**Tabla 25: Suma de diferencia de cuadrados y cuadrados medios dentro de grupos**

Concen.	(SDC <sub>w</sub> ) <sub>1</sub>	(SDC <sub>w</sub> ) <sub>2</sub>	(SDC <sub>w</sub> ) <sub>3</sub>	(SDC <sub>w</sub> ) <sub>4</sub>	(SDC <sub>w</sub> ) <sub>5</sub>	SDC <sub>w</sub>	DCM <sub>w</sub>	Sr	%CV <sub>r</sub>
0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0004	167,5048
0,0100	0,0006	0,0002	0,0001	0,0003	0,0004	0,0016	0,0001	0,0089	5,8353
0,0250	0,0024	0,0011	0,0001	0,0001	0,0006	0,0043	0,0002	0,0146	3,6691
0,0500	0,0007	0,0009	0,0001	0,0011	0,0008	0,0036	0,0002	0,0134	1,6451
0,0750	0,0006	0,0010	0,0011	0,0010	0,0023	0,0059	0,0003	0,0172	1,3887
0,1000	0,0004	0,0039	0,0008	0,0003	0,0037	0,0091	0,0005	0,0213	1,2908

**Tabla 26: Suma de diferencia de cuadrados y cuadrados medios entre de grupos**

Concen.	(DC <sub>B</sub> ) <sub>1</sub>	(DC <sub>B</sub> ) <sub>2</sub>	(DC <sub>B</sub> ) <sub>3</sub>	(DC <sub>B</sub> ) <sub>4</sub>	(DC <sub>B</sub> ) <sub>5</sub>	SSDC <sub>B</sub>	DCM <sub>B</sub>	S <sub>B</sub>	%CV <sub>B</sub>
0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0005	247,2995
0,0100	0,0000	0,0001	0,0000	0,0000	0,0000	0,0004	0,0001	0,0102	6,6889
0,0250	0,0001	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0009	0,0002	0,0150	3,7696
0,0500	0,0000	0,0002	0,0000	0,0001	0,0000	0,0016	0,0004	0,0199	2,4330
0,0750	0,0000	0,0002	0,0000	0,0001	0,0000	0,0015	0,0004	0,0193	1,5619
0,1000	0,0000	0,0001	0,0000	0,0000	0,0001	0,0015	0,0004	0,0192	1,1647

**Tabla 27: Prueba Fischer para la validación**

Concentración mg/ml	F		Resultado
	Calculada	F Teórica	
0,0000	2,1797	2,4341	Ho Aceptada
0,0100	1,3140	2,4341	Ho Aceptada
0,0250	1,0555	2,4341	Ho Aceptada
0,0500	2,1873	2,4341	Ho Aceptada
0,0750	1,2650	2,4341	Ho Aceptada
0,1000	0,8142	2,4341	Ho Aceptada

**Tabla 28: Cálculos globales de ANOVA**

ni	Concentra. xi	Absorbancia yi	x- $\bar{x}$	y- $\bar{y}$	(x- $\bar{x}$ ) <sup>2</sup>	(y- $\bar{y}$ ) <sup>2</sup>	(x- $\bar{x}$ )(y- $\bar{y}$ )
1	0,0000	0,0002	-0,0433	-0,7096	0,0019	0,5036	0,0308
2	0,0100	0,1524	-0,0333	-0,5575	0,0011	0,3108	0,0186
3	0,0250	0,3982	-0,0183	-0,3116	0,0003	0,0971	0,0057
4	0,0500	0,8175	0,0067	0,1077	0,0000	0,0116	0,0007
5	0,0750	1,2385	0,0317	0,5287	0,0010	0,2795	0,0167
6	0,1000	1,6522	0,0567	0,9424	0,0032	0,8881	0,0534
<b>SUMA</b>	0,2600	4,2591	0,0000	0,0000	0,0076	2,0906	0,1259
<b>PROM.</b>	0,0433	0,7098	0,0000	0,0000	0,0013	0,3484	0,0210

**Tabla 29: Cálculos globales de concentración Y estimada**

<b>n</b>	<b>xi</b>	<b>y</b>	<b>y1</b>	<b>x2</b>	<b>yi - y1</b>	<b>(yi - y1)2</b>
1,0000	0,0000	0,0000	-0,0107	0,0000	0,0107	0,0001
2,0000	0,0000	0,0000	-0,0107	0,0000	0,0107	0,0001
3,0000	0,0000	0,0005	-0,0107	0,0000	0,0112	0,0001
4,0000	0,0000	-0,0001	-0,0107	0,0000	0,0106	0,0001
5,0000	0,0000	0,0001	-0,0107	0,0000	0,0108	0,0001
6,0000	0,0100	0,1484	0,1553	0,0001	-0,0069	0,0000
7,0000	0,0100	0,1433	0,1553	0,0001	-0,0120	0,0001
8,0000	0,0100	0,1505	0,1553	0,0001	-0,0048	0,0000
9,0000	0,0100	0,1471	0,1553	0,0001	-0,0082	0,0001
10,0000	0,0100	0,1750	0,1553	0,0001	0,0197	0,0004
11,0000	0,0250	0,3726	0,4042	0,0006	-0,0316	0,0010
12,0000	0,0250	0,3785	0,4042	0,0006	-0,0257	0,0007
13,0000	0,0250	0,3680	0,4042	0,0006	-0,0362	0,0013
14,0000	0,0250	0,4092	0,4042	0,0006	0,0050	0,0000
15,0000	0,0250	0,4240	0,4042	0,0006	0,0198	0,0004
16,0000	0,0500	0,7989	0,8190	0,0025	-0,0201	0,0004
17,0000	0,0500	0,8289	0,8190	0,0025	0,0099	0,0001
18,0000	0,0500	0,8162	0,8190	0,0025	-0,0028	0,0000
19,0000	0,0500	0,8256	0,8190	0,0025	0,0066	0,0000
20,0000	0,0500	0,8328	0,8190	0,0025	0,0138	0,0002
21,0000	0,0750	1,2337	1,2339	0,0056	-0,0002	0,0000
22,0000	0,0750	1,2176	1,2339	0,0056	-0,0163	0,0003
23,0000	0,0750	1,2469	1,2339	0,0056	0,0130	0,0002
24,0000	0,0750	1,2449	1,2339	0,0056	0,0110	0,0001
25,0000	0,0750	1,2459	1,2339	0,0056	0,0120	0,0001
26,0000	0,1000	1,6502	1,6487	0,0100	0,0015	0,0000
27,0000	0,1000	1,6320	1,6487	0,0100	-0,0167	0,0003
28,0000	0,1000	1,6527	1,6487	0,0100	0,0040	0,0000
29,0000	0,1000	1,6561	1,6487	0,0100	0,0074	0,0001
30,0000	0,1000	1,6525	1,6487	0,0100	0,0038	0,0000
<b>SUMA</b>	<b>1,3000</b>	<b>21,2520</b>	<b>21,2520</b>	<b>0,0943</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0064</b>

### ANEXO 3 : RECUPERACIONES

**Tabla 30: Volúmenes añadidos, absorbancias, concentración, volumen final y alicuota**

<b>Día</b>	<b>Digestión</b>	<b>Peso</b>	<b>Absorb.</b>	<b>mg/ml</b>	<b>v2</b>	<b>v1</b>	
1	0,0000	0,5009	0,1705	0,0108	100,0000	1,0000	
	0,0000	0,5072	0,1869	0,0118	100,0000	1,0000	
	0,0000	0,5056	0,1467	0,0094	100,0000	1,0000	
	3,0000	0,5008	0,1538	0,0098	100,0000	1,0000	
	3,0000	0,5050	0,2463	0,0154	100,0000	1,0000	
	3,0000	0,5063	0,2102	0,0132	100,0000	1,0000	
	5,0000	0,5002	0,4838	0,0297	100,0000	1,0000	
	5,0000	0,5018	0,5356	0,0328	100,0000	1,0000	
	5,0000	0,5056	0,4518	0,0278	100,0000	1,0000	
	7,0000	0,5004	0,1301	0,0084	100,0000	1,0000	
	7,0000	0,5081	0,1817	0,0115	100,0000	1,0000	
	7,0000	0,5069	0,3448	0,0213	100,0000	1,0000	
	2	0,0000	0,5078	0,1907	0,0120	100,0000	1,0000
		0,0000	0,5094	0,2041	0,0128	100,0000	1,0000
0,0000		0,5052	0,1897	0,0120	100,0000	1,0000	
3,0000		0,5015	0,5666	0,0347	100,0000	1,0000	
3,0000		0,5055	0,5297	0,0325	100,0000	1,0000	
3,0000		0,5023	0,3542	0,0219	100,0000	1,0000	
5,0000		0,5068	0,0247	0,0020	100,0000	1,0000	
5,0000		0,5005	0,2257	0,0141	100,0000	1,0000	
5,0000		0,5068	0,2255	0,0141	100,0000	1,0000	
7,0000		0,5063	0,4082	0,0251	100,0000	1,0000	
7,0000		0,5035	0,2854	0,0177	100,0000	1,0000	
7,0000		0,5009	0,3719	0,0229	100,0000	1,0000	
3		0,0000	0,5061	0,1923	0,0121	100,0000	1,0000
		0,0000	0,5016	0,2042	0,0128	100,0000	1,0000
	0,0000	0,5025	0,2008	0,0126	100,0000	1,0000	
	3,0000	0,5050	0,0902	0,0060	100,0000	1,0000	
	3,0000	0,5037	0,0784	0,0053	100,0000	1,0000	
	3,0000	0,5060	0,1590	0,0101	100,0000	1,0000	
	5,0000	0,5094	0,1159	0,0075	100,0000	1,0000	
	5,0000	0,5027	0,1444	0,0092	100,0000	1,0000	
	5,0000	0,4999	0,1752	0,0111	100,0000	1,0000	
	7,0000	0,5056	0,2511	0,0157	100,0000	1,0000	
	7,0000	0,5016	0,3191	0,0198	100,0000	1,0000	
	7,0000	0,5058	0,4352	0,0268	100,0000	1,0000	
	4	0,0000	0,5067	0,1878	0,0119	100,0000	1,0000
		0,0000	0,5088	0,1827	0,0115	100,0000	1,0000
0,0000		0,5017	0,2146	0,0135	100,0000	1,0000	
3,0000		0,5010	0,0832	0,0056	100,0000	1,0000	

Continuación Tabla 30

	3,0000	0,5035	0,2478	0,0155	100,0000	1,0000
	3,0000	0,5040	0,2262	0,0142	100,0000	1,0000
	5,0000	0,5083	0,1598	0,0102	100,0000	1,0000
	5,0000	0,5050	0,1612	0,0103	100,0000	1,0000
	5,0000	0,5063	0,2200	0,0138	100,0000	1,0000
	7,0000	0,5086	0,1646	0,0105	100,0000	1,0000
	7,0000	0,5066	0,2635	0,0164	100,0000	1,0000
	7,0000	0,5005	0,2932	0,0182	100,0000	1,0000
5	0,0000	0,5056	0,1695	0,0108	100,0000	1,0000
	0,0000	0,5022	0,1401	0,0090	100,0000	1,0000
	0,0000	0,5043	0,1648	0,0105	100,0000	1,0000
	3,0000	0,5062	0,1820	0,0115	100,0000	1,0000
	3,0000	0,5026	0,1512	0,0097	100,0000	1,0000
	3,0000	0,5023	0,1819	0,0115	100,0000	1,0000
	5,0000	0,5020	0,1865	0,0118	100,0000	1,0000
	5,0000	0,5078	0,1830	0,0116	100,0000	1,0000
	5,0000	0,5051	0,2140	0,0134	100,0000	1,0000
	7,0000	0,5036	0,2929	0,0182	100,0000	1,0000
	7,0000	0,5066	0,2032	0,0128	100,0000	1,0000
	7,0000	0,5006	0,1112	0,0072	100,0000	1,0000

Tabla 31: Concentraciones calculadas, pendiente e intercepto

Nivel	Concentración g/100g	Concentración mg/100g	b	a	Blanco	Muestra
0,0000	0,2159	215,8895	16,5990	-0,0090	0,0599	0,2304
0,0000	0,2327	232,6876	16,5990	-0,0090	0,0599	0,2468
0,0000	0,1855	185,5238	16,5990	-0,0090	0,0599	0,2066
3,0000	0,1958	195,8430	16,5990	-0,0090	0,3915	0,5453
3,0000	0,3046	304,5633	16,5990	-0,0090	0,3915	0,6378
3,0000	0,2608	260,8259	16,5990	-0,0090	0,3915	0,6017
5,0000	0,5935	593,5333	16,5990	-0,0090	0,4178	0,9016
5,0000	0,6538	653,8303	16,5990	-0,0090	0,4178	0,9534
5,0000	0,5491	549,0646	16,5990	-0,0090	0,4178	0,8696
7,0000	0,1675	167,4665	16,5990	-0,0090	0,8757	1,0058
7,0000	0,2261	226,1099	16,5990	-0,0090	0,8757	1,0574
7,0000	0,4205	420,4880	16,5990	-0,0090	0,8757	1,2205
0,0000	0,2369	236,9209	16,5990	-0,0090	-0,0038	0,1869
0,0000	0,2520	252,0244	16,5990	-0,0090	-0,0038	0,2003
0,0000	0,2369	236,9478	16,5990	-0,0090	-0,0038	0,1859
3,0000	0,6915	691,4614	16,5990	-0,0090	0,1117	0,6783
3,0000	0,6420	642,0131	16,5990	-0,0090	0,1117	0,6414
3,0000	0,4356	435,6129	16,5990	-0,0090	0,1117	0,4659
5,0000	0,0401	40,0600	16,5990	-0,0090	0,7399	0,7646
5,0000	0,2825	282,5056	16,5990	-0,0090	0,7399	0,9656

Continuación Tabla 31

5,0000	0,2788	278,7561	16,5990	-0,0090	0,7399	0,9654
7,0000	0,4964	496,4259	16,5990	-0,0090	0,8276	1,2358
7,0000	0,3523	352,2544	16,5990	-0,0090	0,8276	1,1130
7,0000	0,4581	458,1187	16,5990	-0,0090	0,8276	1,1995
0,0000	0,2396	239,6214	16,5990	-0,0090	0,0082	0,2005
0,0000	0,2561	256,0635	16,5990	-0,0090	0,0082	0,2124
0,0000	0,2515	251,5287	16,5990	-0,0090	0,0082	0,2090
3,0000	0,1183	118,3419	16,5990	-0,0090	0,4910	0,5812
3,0000	0,1045	104,5340	16,5990	-0,0090	0,4910	0,5694
3,0000	0,2000	200,0216	16,5990	-0,0090	0,4910	0,6500
5,0000	0,1477	147,7140	16,5990	-0,0090	0,7642	0,8801
5,0000	0,1838	183,8377	16,5990	-0,0090	0,7642	0,9086
5,0000	0,2220	221,9855	16,5990	-0,0090	0,7642	0,9394
7,0000	0,3099	309,9213	16,5990	-0,0090	0,8276	1,0787
7,0000	0,3941	394,0640	16,5990	-0,0090	0,8276	1,1467
7,0000	0,5291	529,0757	16,5990	-0,0090	0,8276	1,2628
0,0000	0,2340	233,9873	16,5990	-0,0090	0,0069	0,1947
0,0000	0,2270	226,9829	16,5990	-0,0090	0,0069	0,1896
0,0000	0,2685	268,5009	16,5990	-0,0090	0,0069	0,2215
3,0000	0,1109	110,8693	16,5990	-0,0090	0,4356	0,5188
3,0000	0,3073	307,2654	16,5990	-0,0090	0,4356	0,6834
3,0000	0,2811	281,1414	16,5990	-0,0090	0,4356	0,6618
5,0000	0,2001	200,0647	16,5990	-0,0090	0,7465	0,9063
5,0000	0,2030	203,0422	16,5990	-0,0090	0,7465	0,9077
5,0000	0,2725	272,4869	16,5990	-0,0090	0,7465	0,9665
7,0000	0,2056	205,6324	16,5990	-0,0090	0,9875	1,1521
7,0000	0,3241	324,0555	16,5990	-0,0090	0,9875	1,2510
7,0000	0,3638	363,7546	16,5990	-0,0090	0,9875	1,2807
0,0000	0,2127	212,6911	16,5990	-0,0090	0,0035	0,1730
0,0000	0,1789	178,8624	16,5990	-0,0090	0,0035	0,1436
0,0000	0,2076	207,6246	16,5990	-0,0090	0,0035	0,1683
3,0000	0,2273	227,3156	16,5990	-0,0090	0,4117	0,5937
3,0000	0,1920	192,0251	16,5990	-0,0090	0,4117	0,5629
3,0000	0,2290	228,9606	16,5990	-0,0090	0,4117	0,5936
5,0000	0,2346	234,6179	16,5990	-0,0090	0,7186	0,9051
5,0000	0,2278	227,7858	16,5990	-0,0090	0,7186	0,9016
5,0000	0,2660	265,9779	16,5990	-0,0090	0,7186	0,9326
7,0000	0,3612	361,1565	16,5990	-0,0090	0,9422	1,2351
7,0000	0,2523	252,3471	16,5990	-0,0090	0,9422	1,1454
7,0000	0,1447	144,6544	16,5990	-0,0090	0,9422	1,0534

**Tabla 32: Lecturas promedio de la muestra de maíz**

<b>Volumen mL</b>	<b>Día 1</b>	<b>Día 2</b>	<b>Día 3</b>	<b>Día 4</b>	<b>Día 5</b>
	Absorbancia				
0,0000	0,2279	0,1910	0,2073	0,2019	0,1616
3,0000	0,5949	0,5952	0,6002	0,6213	0,5834
5,0000	0,9082	0,8985	0,9094	0,9268	0,9131
7,0000	1,0946	1,1828	1,1627	1,2279	1,1446

**Tabla 33: Valores de los interceptos para las curvas de calibración**

<b>Nivel</b>	<b>mg/ mL</b>
0,00000	0,22793
3,00000	0,59493
5,00000	0,90820
7,00000	1,09457
0,00000	0,19103
3,00000	0,59520
5,00000	0,89853
7,00000	1,18277
0,00000	0,20730
3,00000	0,60020
5,00000	0,90937
7,00000	1,16273
0,00000	0,00000
3,00000	0,00000
5,00000	0,00000
7,00000	0,00000
0,00000	0,00000
3,00000	0,00000
5,00000	0,00000
7,00000	0,00000

**Tabla 34: Promedios de lecturas en muestra de maíz**

<b>Volumen mL</b>	<b>Día 1</b>	<b>Día 2</b>	<b>Día 3</b>	<b>Día 4</b>	<b>Día 5</b>
0,0000	0,2279	0,1910	0,2073	0,2019	0,1616
3,0000	0,5949	0,5952	0,6002	0,6213	0,5834
5,0000	0,9082	0,8985	0,9094	0,9268	0,9131
7,0000	1,0946	1,1828	1,1627	1,2279	1,1446

**Tabla 35: Concentraciones promedio de fósforo en maíz de los cinco días y concentración teórica de fósforo en maíz**

<b>DÍA</b>	<b>Concentración de maíz ppm</b>	<b>Concentración de maíz mg/mL</b>
DÍA 1	1,8210	0,0182
DÍA 2	1,2911	0,0129
DÍA 3	1,4714	0,0147
DÍA 4	1,3222	0,0132
DÍA 5	1,1598	0,0115
<b>Promedio</b>	<b>1,4131</b>	<b>0,0141</b>

## ANEXO 4 : CUANTIFICACIÓN

**Tabla 36: Condiciones de análisis de todas las muestras**

	V2	V1	b	a
GARBANZO	100,0000	1,0000	16,5990	-0,0090
MANI	100,0000	1,0000	16,5990	-0,0090
HABA	100,0000	1,0000	16,5990	-0,0090
SOYA	100,0000	1,0000	16,5990	-0,0090
ARROZ	100,0000	1,0000	16,5990	-0,0090
ARVEJA	100,0000	2,00000	16,5990	-0,0090
ARROZ	100,0000	2,00000	16,5990	-0,0090
LENTEJA	100,0000	2,00000	16,5990	-0,0090

**Tabla 37: ANOVA global de muestras, pesos, absorbancias, concentraciones**

Muestra	Lugar	Sem	Peso	Ab.	mg/ml	g/100g	mg/100g	blanco	muestra
GARB.	SP	S1	0,5001	0,2269	0,0142	0,2842	284,1772	-0,0015	0,2254
GARB.	SP	S1	0,5071	0,2351	0,0147	0,2900	289,9962	-0,0015	0,2336
GARB.	SP	S1	0,5088	0,2097	0,0132	0,2590	258,9523	-0,0015	0,2082
GARB.	SP	S2	0,5009	0,2552	0,0159	0,3178	317,7605	-0,0015	0,2537
GARB.	SP	S2	0,5065	0,2536	0,0158	0,3123	312,3441	-0,0015	0,2521
GARB.	SP	S2	0,5043	0,2533	0,0158	0,3133	313,3483	-0,0015	0,2518
GARB.	SP	S3	0,5018	0,2338	0,0146	0,2915	291,4983	-0,0015	0,2323
GARB.	SP	S3	0,5055	0,2309	0,0145	0,2859	285,9086	-0,0015	0,2294
GARB.	SP	S3	0,5016	0,2347	0,0147	0,2927	292,6955	-0,0015	0,2332
GARB.	SM	S1	0,5095	0,2221	0,0139	0,2733	273,2586	-0,0015	0,2206
GARB.	SM	S1	0,5027	0,2190	0,0137	0,2732	273,2398	-0,0015	0,2175
GARB.	SM	S1	0,5029	0,1480	0,0095	0,1881	188,0772	-0,0015	0,1465
GARB.	SM	S2	0,5021	0,2223	0,0139	0,2775	277,5259	-0,0015	0,2208
GARB.	SM	S2	0,5060	0,2570	0,0160	0,3167	316,7008	-0,0015	0,2555
GARB.	SM	S2	0,5088	0,1937	0,0122	0,2400	240,0074	-0,0015	0,1922
GARB.	SM	S3	0,5049	0,2472	0,0154	0,3057	305,6975	-0,0015	0,2457
GARB.	SM	S3	0,5022	0,2234	0,0140	0,2788	278,7902	-0,0015	0,2219
GARB.	SM	S3	0,5003	0,2099	0,0132	0,2636	263,5927	-0,0015	0,2084
GARB.	SC	S1	0,5054	0,2373	0,0148	0,2936	293,5940	-0,0015	0,2358
GARB.	SC	S1	0,5058	0,2516	0,0157	0,3104	310,3942	-0,0015	0,2501
GARB.	SC	S1	0,5070	0,2422	0,0151	0,2985	298,4900	-0,0015	0,2407
GARB.	SC	S2	0,5032	0,2191	0,0137	0,2731	273,0881	-0,0015	0,2176
GARB.	SC	S2	0,5032	0,2210	0,0139	0,2754	275,3628	-0,0015	0,2195
GARB.	SC	S2	0,5068	0,2201	0,0138	0,2723	272,3369	-0,0015	0,2186
GARB.	SC	S3	0,5209	0,1773	0,0112	0,2155	215,4649	-0,0015	0,1758
GARB.	SC	S3	0,5342	0,1982	0,0125	0,2337	233,6705	-0,0015	0,1967
GARB.	SC	S3	0,5138	0,2199	0,0138	0,2684	268,3921	-0,0015	0,2184
MANÍ	SP	S1	0,5040	0,3912	0,0241	0,4784	478,3708	0,0848	0,4760
MANÍ	SP	S1	0,5022	0,3075	0,0191	0,3797	379,6777	0,0848	0,3923

Continuación Tabla 37

MANÍ	SP	S1	0,5008	0,3024	0,0188	0,3746	374,6040	0,0848	0,3872
MANÍ	SP	S2	0,5083	0,3918	0,0241	0,4750	475,0351	0,0848	0,4766
MANÍ	SP	S2	0,5085	0,2991	0,0186	0,3650	365,0218	0,0848	0,3839
MANÍ	SP	S2	0,5055	0,3568	0,0220	0,4360	435,9539	0,0848	0,4416
MANÍ	SP	S3	0,5060	0,3627	0,0224	0,4425	442,5477	0,0848	0,4475
MANÍ	SP	S3	0,5012	0,3733	0,0230	0,4595	459,5273	0,0848	0,4581
MANÍ	SP	S3	0,5084	0,3905	0,0241	0,4734	473,4012	0,0848	0,4753
MANÍ	SM	S1	0,5087	0,3312	0,0205	0,4029	402,8939	0,0848	0,4160
MANÍ	SM	S1	0,5059	0,2802	0,0174	0,3444	344,3909	0,0848	0,3650
MANÍ	SM	S1	0,5047	0,2764	0,0172	0,3407	340,6738	0,0848	0,3612
MANÍ	SM	S2	0,5015	0,3383	0,0209	0,4172	417,2073	0,0848	0,4231
MANÍ	SM	S2	0,5088	0,3264	0,0202	0,3971	397,1312	0,0848	0,4112
MANÍ	SM	S2	0,5038	0,3208	0,0199	0,3944	394,3761	0,0848	0,4056
MANÍ	SM	S3	0,5054	0,3129	0,0194	0,3837	383,7106	0,0848	0,3977
MANÍ	SM	S3	0,5073	0,3561	0,0220	0,4336	433,5758	0,0848	0,4409
MANÍ	SM	S3	0,5081	0,2798	0,0174	0,3424	342,4255	0,0848	0,3646
MANÍ	SC	S1	0,5040	0,3037	0,0188	0,3738	373,7794	0,0848	0,3885
MANÍ	SC	S1	0,5043	0,2864	0,0178	0,3529	352,8902	0,0848	0,3712
MANÍ	SC	S1	0,5043	0,2581	0,0161	0,3191	319,0825	0,0848	0,3429
MANÍ	SC	S2	0,5058	0,2427	0,0152	0,2998	299,7937	0,0848	0,3275
MANÍ	SC	S2	0,5018	0,1463	0,0094	0,1864	186,4485	0,0848	0,2311
MANÍ	SC	S2	0,5046	0,2135	0,0134	0,2656	265,6445	0,0848	0,2983
MANÍ	SC	S3	0,5091	0,3341	0,0207	0,4060	406,0090	0,0848	0,4189
MANÍ	SC	S3	0,5063	0,2187	0,0137	0,2709	270,9400	0,0848	0,3035
MANÍ	SC	S3	0,5016	0,3406	0,0211	0,4199	419,8866	0,0848	0,4254
HABA	SP	S1	0,5046	0,3799	0,0234	0,4643	464,3108	0,0628	0,4427
HABA	SP	S1	0,5077	0,3474	0,0215	0,4229	422,9106	0,0628	0,4102
HABA	SP	S1	0,5017	0,3439	0,0213	0,4238	423,7655	0,0628	0,4067
HABA	SP	S2	0,5047	0,3006	0,0187	0,3696	369,5607	0,0628	0,3634
HABA	SP	S2	0,5023	0,3068	0,0190	0,3788	378,7625	0,0628	0,3696
HABA	SP	S2	0,5051	0,3518	0,0217	0,4303	430,3356	0,0628	0,4146
HABA	SP	S3	0,5004	0,3444	0,0213	0,4255	425,4684	0,0628	0,4072
HABA	SP	S3	0,5065	0,3299	0,0204	0,4031	403,0976	0,0628	0,3927
HABA	SP	S3	0,5058	0,3733	0,0230	0,4553	455,3481	0,0628	0,4361
HABA	SM	S1	0,5053	0,6397	0,0391	0,7734	773,4151	0,0628	0,7025
HABA	SM	S1	0,5052	0,3247	0,0201	0,3979	397,9339	0,0628	0,3875
HABA	SM	S1	0,5013	0,2189	0,0137	0,2739	273,8828	0,0628	0,2817
HABA	SM	S2	0,5062	0,4682	0,0287	0,5679	567,9320	0,0628	0,5310
HABA	SM	S2	0,5003	0,5777	0,0353	0,7065	706,4862	0,0628	0,6405
HABA	SM	S2	0,5022	0,4831	0,0296	0,5903	590,3298	0,0628	0,5459
HABA	SM	S3	0,5021	0,6808	0,0416	0,8277	827,6582	0,0628	0,7436
HABA	SM	S3	0,5005	0,6517	0,0398	0,7953	795,2768	0,0628	0,7145
HABA	SM	S3	0,5022	0,6649	0,0406	0,8084	808,4196	0,0628	0,7277
HABA	SC	S1	0,5071	0,2128	0,0134	0,2635	263,5033	0,0628	0,2756
HABA	SC	S1	0,5020	0,2144	0,0135	0,2681	268,1004	0,0628	0,2772
HABA	SC	S1	0,5021	0,3370	0,0208	0,4151	415,1490	0,0628	0,3998
HABA	SC	S2	0,5027	0,2981	0,0185	0,3680	368,0349	0,0628	0,3609
HABA	SC	S2	0,5070	0,3142	0,0195	0,3840	384,0444	0,0628	0,3770

Continuación Tabla 37

HABA	SC	S2	0,5036	0,4319	0,0266	0,5274	527,4393	0,0628	0,4947
HABA	SC	S3	0,5086	0,3546	0,0219	0,4307	430,6908	0,0628	0,4174
HABA	SC	S3	0,5059	0,3351	0,0207	0,4098	409,7680	0,0628	0,3979
HABA	SC	S3	0,5008	0,3402	0,0210	0,4201	420,0761	0,0628	0,4030
SOYA	SP	S1	0,5014	0,4262	0,0262	0,5229	522,9048	0,0786	0,5048
SOYA	SP	S1	0,5049	0,4326	0,0266	0,5269	526,9165	0,0786	0,5112
SOYA	SP	S1	0,5033	0,4189	0,0258	0,5122	512,1928	0,0786	0,4975
SOYA	SP	S2	0,5069	0,3495	0,0216	0,4261	426,0739	0,0786	0,4281
SOYA	SP	S2	0,5011	0,3234	0,0200	0,3996	399,6269	0,0786	0,4020
SOYA	SP	S2	0,5008	0,3612	0,0223	0,4453	445,3384	0,0786	0,4398
SOYA	SP	S3	0,5043	0,3197	0,0198	0,3927	392,6710	0,0786	0,3983
SOYA	SP	S3	0,5048	0,2397	0,0150	0,2968	296,8073	0,0786	0,3183
SOYA	SP	S3	0,5050	0,4199	0,0258	0,5117	511,6615	0,0786	0,4985
SOYA	SM	S1	0,5030	0,3428	0,0212	0,4214	421,3528	0,0786	0,4214
SOYA	SM	S1	0,5079	0,4190	0,0258	0,5077	507,6725	0,0786	0,4976
SOYA	SM	S1	0,5081	0,4198	0,0258	0,5084	508,4212	0,0786	0,4984
SOYA	SM	S2	0,5004	0,3876	0,0239	0,4775	477,4781	0,0786	0,4662
SOYA	SM	S2	0,5021	0,3706	0,0229	0,4555	455,4640	0,0786	0,4492
SOYA	SM	S2	0,5035	0,2808	0,0175	0,3468	346,7504	0,0786	0,3594
SOYA	SM	S3	0,5022	0,4019	0,0248	0,4929	492,9212	0,0786	0,4805
SOYA	SM	S3	0,5045	0,3973	0,0245	0,4852	485,1809	0,0786	0,4759
SOYA	SM	S3	0,5036	0,3247	0,0201	0,3992	399,1982	0,0786	0,4033
SOYA	SC	S1	0,5079	0,3829	0,0236	0,4649	464,8525	0,0786	0,4615
SOYA	SC	S1	0,5058	0,3614	0,0223	0,4412	441,1743	0,0786	0,4400
SOYA	SC	S1	0,5053	0,3403	0,0210	0,4165	416,4543	0,0786	0,4189
SOYA	SC	S2	0,5059	0,1899	0,0120	0,2369	236,8581	0,0786	0,2685
SOYA	SC	S2	0,5053	0,1995	0,0126	0,2486	248,5850	0,0786	0,2781
SOYA	SC	S2	0,5039	0,2232	0,0140	0,2776	277,6105	0,0786	0,3018
SOYA	SC	S3	0,5041	0,4122	0,0254	0,5034	503,3728	0,0786	0,4908
SOYA	SC	S3	0,5047	0,2803	0,0174	0,3453	345,3291	0,0786	0,3589
SOYA	SC	S3	0,5031	0,2131	0,0134	0,2660	265,9575	0,0786	0,2917
ARV.	SP	S1	0,5056	0,2459	0,0154	0,3037	303,7252	0,0834	0,3293
ARV.	SP	S1	0,5066	0,2377	0,0149	0,2934	293,3743	0,0834	0,3211
ARV.	SP	S1	0,5017	0,2369	0,0148	0,2953	295,2790	0,0834	0,3203
ARV.	SP	S2	0,5014	0,2361	0,0148	0,2945	294,4944	0,0834	0,3195
ARV.	SP	S2	0,5033	0,2371	0,0148	0,2946	294,5797	0,0834	0,3205
ARV.	SP	S2	0,5030	0,2374	0,0148	0,2951	295,1147	0,0834	0,3208
ARV.	SP	S3	0,5061	0,2429	0,0152	0,2999	299,8540	0,0834	0,3263
ARV.	SP	S3	0,5014	0,2395	0,0150	0,2986	298,5796	0,0834	0,3229
ARV.	SP	S3	0,5070	0,2388	0,0149	0,2944	294,4499	0,0834	0,3222
ARV.	SM	S1	0,5080	0,2502	0,0156	0,3074	307,3897	0,0834	0,3336
ARV.	SM	S1	0,5067	0,2288	0,0143	0,2827	282,7346	0,0834	0,3122
ARV.	SM	S1	0,5020	0,2418	0,0151	0,3010	300,9829	0,0834	0,3252
ARV.	SM	S2	0,5024	0,2468	0,0154	0,3067	306,7390	0,0834	0,3302
ARV.	SM	S2	0,5090	0,2545	0,0159	0,3119	311,8753	0,0834	0,3379
ARV.	SM	S2	0,5095	0,2545	0,0159	0,3116	311,5692	0,0834	0,3379
ARV.	SM	S3	0,5002	0,2469	0,0154	0,3082	308,2085	0,0834	0,3303
ARV.	SM	S3	0,5057	0,2527	0,0158	0,3118	311,7661	0,0834	0,3361

Continuación Tabla 37

ARV.	SM	S3	0,5032	0,2473	0,0154	0,3068	306,8499	0,0834	0,3307
ARV.	SC	S1	0,5065	0,2966	0,0184	0,3635	363,4896	0,0834	0,3800
ARV.	SC	S1	0,5078	0,2978	0,0185	0,3640	363,9827	0,0834	0,3812
ARV.	SC	S1	0,5069	0,3115	0,0193	0,3809	380,9113	0,0834	0,3949
ARV.	SC	S2	0,5003	0,2940	0,0183	0,3649	364,8633	0,0834	0,3774
ARV.	SC	S2	0,5021	0,2926	0,0182	0,3619	361,8755	0,0834	0,3760
ARV.	SC	S2	0,5006	0,2904	0,0180	0,3603	360,3122	0,0834	0,3738
ARV.	SC	S3	0,5083	0,3177	0,0197	0,3872	387,2105	0,0834	0,4011
ARV.	SC	S3	0,5075	0,2449	0,0153	0,3014	301,4010	0,0834	0,3283
ARV.	SC	S3	0,5079	0,2627	0,0164	0,3223	322,2771	0,0834	0,3461
ARR.	SP	S1	0,5011	0,2158	0,0135	0,1351	135,1326	0,0634	0,2792
ARR.	SP	S1	0,5081	0,2964	0,0184	0,1811	181,0539	0,0634	0,3598
ARR.	SP	S1	0,5052	0,1881	0,0119	0,1175	117,5199	0,0634	0,2515
ARR.	SP	S2	0,5023	0,1660	0,0105	0,1049	104,9453	0,0634	0,2294
ARR.	SP	S2	0,5005	0,1756	0,0111	0,1111	111,1004	0,0634	0,2390
ARR.	SP	S2	0,5065	0,1960	0,0124	0,1219	121,9165	0,0634	0,2594
ARR.	SP	S3	0,5045	0,2436	0,0152	0,1508	150,8205	0,0634	0,3070
ARR.	SP	S3	0,5035	0,1919	0,0121	0,1202	120,1901	0,0634	0,2553
ARR.	SP	S3	0,5029	0,2535	0,0158	0,1572	157,2301	0,0634	0,3169
ARR.	SM	S1	0,5041	0,1368	0,0088	0,0871	87,1222	0,0634	0,2002
ARR.	SM	S1	0,5090	0,1362	0,0087	0,0859	85,9284	0,0634	0,1996
ARR.	SM	S1	0,5024	0,1441	0,0092	0,0918	91,7939	0,0634	0,2075
ARR.	SM	S2	0,5052	0,1440	0,0092	0,0912	91,2255	0,0634	0,2074
ARR.	SM	S2	0,5092	0,1448	0,0093	0,0910	90,9821	0,0634	0,2082
ARR.	SM	S2	0,5040	0,2014	0,0127	0,1257	125,7486	0,0634	0,2648
ARR.	SM	S3	0,5062	0,1516	0,0097	0,0956	95,5678	0,0634	0,2150
ARR.	SM	S3	0,5015	0,1870	0,0118	0,1177	117,7262	0,0634	0,2504
ARR.	SM	S3	0,5029	0,1672	0,0106	0,1055	105,5388	0,0634	0,2306
ARR.	SC	S1	0,5022	0,1249	0,0081	0,0803	80,3141	0,0634	0,1883
ARR.	SC	S1	0,5077	0,1305	0,0084	0,0828	82,7666	0,0634	0,1939
ARR.	SC	S1	0,5035	0,1267	0,0082	0,0812	81,1836	0,0634	0,1901
ARR.	SC	S2	0,5060	0,1518	0,0097	0,0957	95,7246	0,0634	0,2152
ARR.	SC	S2	0,5088	0,1461	0,0093	0,0918	91,8233	0,0634	0,2095
ARR.	SC	S2	0,5047	0,1358	0,0087	0,0864	86,4218	0,0634	0,1992
ARR.	SC	S3	0,5093	0,0879	0,0058	0,0573	57,3110	0,0634	0,1513
ARR.	SC	S3	0,5040	0,1621	0,0103	0,1023	102,2604	0,0634	0,2255
ARR.	SC	S3	0,5070	0,2097	0,0132	0,1299	129,9358	0,0634	0,2731
LEN.	SP	S1	0,5070	0,5541	0,0339	0,3346	334,5536	-0,0027	0,5514
LEN.	SP	S1	0,5074	0,5709	0,0349	0,3443	344,2633	-0,0027	0,5682
LEN.	SP	S1	0,5059	0,5774	0,0353	0,3492	349,1543	-0,0027	0,5747
LEN.	SP	S2	0,5037	0,5705	0,0349	0,3466	346,5529	-0,0027	0,5678
LEN.	SP	S2	0,5070	0,5777	0,0353	0,3486	348,5750	-0,0027	0,5750
LEN.	SP	S2	0,5017	0,5697	0,0349	0,3475	347,4541	-0,0027	0,5670
LEN.	SP	S3	0,5015	0,5604	0,0343	0,3420	342,0067	-0,0027	0,5577
LEN.	SP	S3	0,5024	0,5840	0,0357	0,3555	355,5438	-0,0027	0,5813
LEN.	SP	S3	0,5062	0,5738	0,0351	0,3468	346,8051	-0,0027	0,5711
LEN.	SM	S1	0,5011	0,6043	0,0369	0,3687	368,6690	-0,0027	0,6016
LEN.	SM	S1	0,5028	0,5879	0,0360	0,3576	357,5974	-0,0027	0,5852

Continuación Tabla 37

LEN.	SM	S1	0,5087	0,6191	0,0378	0,3719	371,9248	-0,0027	0,6164
LEN.	SM	S2	0,5057	0,6212	0,0380	0,3754	375,3821	-0,0027	0,6185
LEN.	SM	S2	0,5060	0,5508	0,0337	0,3333	333,2502	-0,0027	0,5481
LEN.	SM	S2	0,5069	0,5926	0,0362	0,3575	357,4980	-0,0027	0,5899
LEN.	SM	S3	0,5046	0,6073	0,0371	0,3679	367,9027	-0,0027	0,6046
LEN.	SM	S3	0,5035	0,6412	0,0392	0,3890	388,9874	-0,0027	0,6385
LEN.	SM	S3	0,5045	0,6312	0,0386	0,3822	382,2457	-0,0027	0,6285
LEN.	SC	S1	0,5037	0,5269	0,0323	0,3205	320,4792	-0,0027	0,5242
LEN.	SC	S1	0,5019	0,5495	0,0336	0,3352	335,1923	-0,0027	0,5468
LEN.	SC	S1	0,5049	0,5664	0,0347	0,3433	343,2832	-0,0027	0,5637
LEN.	SC	S2	0,5050	0,4073	0,0251	0,2483	248,3151	-0,0027	0,4046
LEN.	SC	S2	0,5015	0,6090	0,0372	0,3712	371,1980	-0,0027	0,6063
LEN.	SC	S2	0,5023	0,5936	0,0363	0,3614	361,3716	-0,0027	0,5909
LEN.	SC	S3	0,5057	0,5934	0,0363	0,3588	358,8228	-0,0027	0,5907
LEN.	SC	S3	0,5034	0,5267	0,0323	0,3206	320,5505	-0,0027	0,5240
LEN.	SC	S3	0,5073	0,4482	0,0275	0,2715	271,4747	-0,0027	0,4455

**Tabla 38: Análisis de altos y bajos garbanzo**

	Semana		
	1	2	3
Bajo	4	5	4
Alto	5	4	5
Totales	9	9	9

**Tabla 39: Prueba Ji Cuadrado garbanzo**

Fo	Ft	Cuadrados/totales
4	4,33333	0,02564103
5	4,33333	0,1025641
4	4,33333	0,02564103
5	4,66667	0,02380952
4	4,66667	0,0952381
5	4,66667	0,02380952
<b>Sumatoria</b>		<b>0,2967033</b>
<b>Valor teórico</b>		<b>5.99</b>

**Tabla 40: Estudio de altos y bajos de acuerdo a la semana maní**

	Semana			
	1	2	3	Totales
Bajo	3	4	3	10
Alto	6	5	6	17
Totales	9	9	9	27

**Tabla 41: Prueba Ji Cuadrado para la semana maní**

Fo	Ft	Cuadrados/totales
3	3,3333	0,0333
4	3,3333	0,1333
3	3,3333	0,0333
6	5,6667	0,0196
5	5,6667	0,0784
6	5,6667	0,0196
<b>Sumatoria</b>		<b>0,3176</b>
<b>Valor teórico</b>		<b>5.99</b>

**Tabla 42: Estudio de altos y bajos de acuerdo a la semana de análisis en arveja**

	Semana			
	1	2	3	Totales
Bajo	6	6	7	19
Alto	3	3	2	8
Totales	9	9	9	27

**Tabla 43: Prueba Ji Cuadrado para arveja**

Categorías	Fo	Ft	Cuadrados/totales
B1	6	6,3333	0,0175
B2	6	6,3333	0,0175
B3	7	6,3333	0,0702
A1	3	2,6667	0,0417
A2	3	2,6667	0,0417
A3	2	2,6667	0,1667
<b>Sumatoria</b>			<b>0,3553</b>
<b>Valor teórico</b>			<b>5,99</b>

**Tabla 44: Estudio de altos y bajos de acuerdo a la semana de análisis en haba**

	Semana			Totales
	1	2	3	
Bajo	8	5	6	19
Alto	1	4	3	8
Totales	9	9	9	27

**Tabla 45: Prueba Ji Cuadrado en haba**

Categorías	Fo	Ft	Cuadrados/totales
B1	8	6,3333	0,4386
B2	5	6,3333	0,2807
B3	6	6,3333	0,0175
A1	1	2,6667	1,0417
A2	4	2,6667	0,6667
A3	3	2,6667	0,0417
<b>Sumatoria</b>			<b>2,4868</b>
<b>Valor teórico</b>			<b>5,99</b>

**Tabla 46: Estudio de altos y bajos de acuerdo a la semana de análisis en arroz**

	Semana			
	1	2	3	Totales
Bajo	6	6	4	16
Alto	3	3	5	11
Totales	9	9	9	27

**Tabla 47: Prueba Ji Cuadrado en arroz**

Fo	Ft	Cuadrados/totales
6	5,3333	0,0833
6	5,3333	0,0833
4	5,3333	0,3333
3	3,6667	0,1212
3	3,6667	0,1212
5	3,6667	0,4848
<b>Sumatoria</b>		<b>1,2273</b>
<b>Valor teórico</b>		<b>5,99</b>

**Tabla 48: Estudio de altos y bajos de acuerdo a la semana de análisis en lenteja**

	Semana			
	1	2	3	Totales
Bajo	5	2	3	10
Alto	4	7	6	17
Totales	9	9	9	27

**Tabla 49: Prueba Ji Cuadrado en lenteja**

Fo	Ft	Cuadrados/totales
5	3,3333	0,8333
2	3,3333	0,5333
3	3,3333	0,0333
4	5,6667	0,4902
7	5,6667	0,3137
6	5,6667	0,0196
<b>Sumatoria</b>		<b>2,2235</b>
<b>Valor teórico</b>		<b>5,99</b>

**Tabla 50: Estudio de altos y bajos de acuerdo a la semana de análisis en soya**

	Semana			Totales
	1	2	3	
Bajo	1	5	4	10
Alto	8	4	5	17
Totales	9	9	9	27

**Tabla 51: Prueba Ji Cuadrado en soya**

Fo	Ft	Cuadrados/totales
1	3,3333	1,6333
5	3,3333	0,8333
4	3,3333	0,1333
8	5,6667	0,9608
4	5,6667	0,4902
5	5,6667	0,0784
<b>Sumatoria</b>		<b>4,1294</b>
<b>Valor teórico</b>		<b>5,99</b>

**Tabla 52: Media y desviación estándar de cada matriz**

<b>Muestra</b>	<b>Media</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Tamaño Muestral</b>
Arveja	319,4033	31,2598	27
Garbanzo	277,9394	30,8888	27
Lenteja	346,2612	30,3404	27
Soya	265,9575	90,5739	27
Maní	739,0514	59,2526	27
Arroz	108,7924	29,5456	27
Haba	481,5445	164,8514	27

**Tabla 53: Prueba t de Student para cada muestra analizada**

<b>Muestra</b>	<b>Media</b>	<b>Valor teórico</b>	<b>t Tabulada</b>	<b>t Calculada</b>
Arveja	319,4033	375,0000	1,7056	9,2415
Garbanzo	277,9394	292,0000	1,7056	2,3653
Lenteja	346,2612	313,0000	1,7056	5,6963
Soya	265,9575	915,0000	1,7056	37,2347
Maní	739,0514	477,0000	1,7056	22,9803
Arroz	108,7924	135,0000	1,7056	4,6091
Haba	481,5445	346,0000	1,7056	4,2723

## DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Andrés Sebastián Correa Espinosa, con C.I. 171694728-6 autor del trabajo de graduación intitulado: “Determinación de fósforo en arroz, arveja, garbanzo, haba, lenteja, maní y soya mediante Espectroscopía Ultravioleta Visible.”, 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 04 de marzo de 2016

Sr. Andrés Sebastián Correa Espinosa

CI: 171694728-6