PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

Determinación de minerales en pescados continentales ecuatorianos por espectrofotometría de absorción atómica de llama

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

KARLA NATASHA RAMOS ALVARADO

Quito, 2018

CERTIFICACIÓN

Certifico que la Disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas, con mención en Química Analítica de la Srta. Karla Natasha Ramos Alvarado ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

M.Sc. Eliza Jara
Directora de la Disertación
Quito, 25 de julio de 2018

DEDICATORIA

A mis padres, los mejores que Dios escogió para guiarme en este hermoso camino.

A mi hermana, mi amiga y compañera de juegos y peleas.

AGRADECIMIENTO

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por brindarme el espacio y los recursos necesarios para realizar el presente trabajo de disertación, en especial al Mtr. Pablo Pozo por su soporte y financiamiento como parte de la línea de investigación que dirige.

A mi directora M.Sc. Eliza Jara por su guía, apoyo y exigencia en cada una de las etapas de este trabajo.

A Dr. Pablo López, que colaboró en el análisis de resultados con su valioso aporte sobre la relación entre sodio y potasio, y calcio y magnesio.

Tabla de contenido

RESUMEN 1
ABSTRACT 2
INTRODUCCIÓN 3
1.1 ALIMENTOS Y NUTRIENTES 4
1.1.1 Sodio 5
1.1.2 Potasio 6
1.1.3 Calcio 6
1.1.4 Magnesio 6
1.1.5 Hierro 6
1.1.6 Zinc 7
1.1.7 Cobre 7
1.1.8 Manganeso 7
1.2 APORTE NUTRICIONAL DE LOS PESCADOS 8
1.3 PESCADOS ECUATORIANOS CONTINENTALES 9
OBJETIVOS 11
MATERIALES Y MÉTODOS 12
2.1 MUESTREO 12
2.2 PREPARACIÓN DE MUESTRAS 12
2.3 ANÁLISIS DE MINERALES 14
2.3.1 Instrumentación 14
2.3.2 Procedimiento 14
2.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE RESULTADOS 17
RESULTADOS Y DISCUSIÓN 18
3.1 ASEGURAMIENTO DE RESULTADOS 18
3.1.1 Fortificaciones 18
3.1.2 Efecto matriz 20
3.2 ANÁLISIS DE MINERALES POR ESPECIE 22
3.2.1 Sodio 22
3.2.2 Potasio 23
3.2.3 Calcio 24
3.2.4 Magnesio 26
3.2.5 Zinc 27
3.2.6 Cobre 28
3.2.7 Manganeso 29
3.2.8 Hierro 31

3.3 APORTE NUTRICIONAL DE MACRO Y MICROELEMENTOS 32
CONCLUSIONES 38
RECOMENDACIONES 40
BIBLIOGRAFÍA 41
ANEXOS 47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Contenido de sodio en pescados continentales ecuatorianos (mg Na/100 g porción comestible) 22

Figura 2. Contenido de potasio en pescados continentales ecuatorianos (mg K/100 g porción comestible) 24

Figura 3. Contenido de calcio en pescados continentales ecuatorianos (mg Ca/100 g porción comestible) 25

Figura 4. Contenido de magnesio en pescados continentales ecuatorianos (mg Mg/100 g porción comestible) 26

Figura 5. Contenido de zinc en pescados continentales ecuatorianos (mg Zn/100 g porción comestible) 27

Figura 6. Contenido de cobre en pescados continentales ecuatorianos (mg Cu/100 g porción comestible) 28

Figura 7. Contenido de manganeso en pescados continentales ecuatorianos (mg Mn/100 g porción comestible) 30

Figura 8. Contenido de hierro en pescados continentales ecuatorianos (mg Fe/100 g porción comestible) 31

Figura 9. Miligramos de macro-elementos por cada 100 g de porción comestible de pescado 33

Figura 10. Miligramos de micro-elementos por cada 100 g de porción comestible de pescado 36

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación de minerales 5

Tabla 2: Recopilación de estudios relativos al contenido de minerales en pescados 9

Tabla 3: especies de pescados continentales analizados 10

Tabla 4: Clasificación de muestras de acuerdo a su origen 12

Tabla 5: Factores de diluciones para análisis de Na, K, Ca y Mg 15

Tabla 6: Concentración de estándares para curvas de calibración 16

Tabla 7: Condiciones de análisis para cada mineral 16

Tabla 8: Porcentaje de recuperación de fortificaciones en atún 18

Tabla 9 Comparación de curvas de calibración obtenidas con estándares acuosos (CCM) y estándares en matriz de tilapia (MMC) 21

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Cálculo de fortificaciones 47
Anexo 2: Certificado estándar de sodio 48
Anexo 3: Certificado estándar de potasio 49
Anexo 4: Certificado estándar de calcio.....50
Anexo 5: Certificado estándar de magnesio 51
Anexo 6: Certificado estándar de zinc.....52
Anexo 7: Certificado estándar de hierro.....53
Anexo 8: Certificado estándar de cobre 54
Anexo 9: Certificado estándar de manganeso.....55
Anexo 10: Pruebas de Rangos Múltiples 56

RESUMEN

En el presente trabajo de disertación se determinó sodio, potasio, calcio, magnesio, zinc, hierro cobre y manganeso en catorce especies de pescados continentales ecuatorianos mediante espectrofotometría de absorción atómica de llama. Se recolectaron las muestras de pescados en tres mercados de alto flujo comercial en el Ecuador Mercado Santa Clara en Quito, Mercado del Río en Babahoyo y Mercado la Mariscal en Puyo; las muestras se procesaron para obtener la porción comestible y se digestaron mediante un sistema cerrado asistido por microondas con ácido nítrico. El aseguramiento de los resultados se llevó a cabo mediante ensayos de fortificación, los cuales determinaron al método como eficiente exacto y preciso. Se prepararon curvas de calibración con estándares de cada metal y componentes de la matriz para eliminar el efecto matriz presente previamente detectado y se cuantificaron los metales para determinar la calidad nutricional de las especies analizadas. Se realizó además un análisis estadístico de datos para establecer grupos homogéneos. Se encontró que el Guachinche (*Hoplias microlepis*) recolectado en Puyo presenta mayor cantidad de zinc, 1.07 mg/100g, la Dama de rio (*Brycon dentex*) mayor cantidad de cobre 0.08 mg/100g, Guachinche de criadero (*Hoplias microlepis*) recolectado en Babahoyo mayor cantidad de manganeso 0.22 mg/100g y Jandia del Puyo (*Rhamdia quelen*) mayor contenido de hierro 0.74 mg/100g de porción comestible. Las especies de pescados que poseen un mejor potencial nutricional son la Carpa del Puyo (*Cyprinus carpio*), Corvina (Sciaenidae), Trucha (*Oncorhynchus mykiss*), Guachinche (*Hoplias microlepis*) y Dama (*Brycon dentex*) debido a su relación entre K/Na y Mg/Ca.

Palabras clave: pescados continentales, pescados ecuatorianos, espectrofotometría de absorción atómica, potencial nutricional, efecto matriz

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the quantity of sodium, potassium, calcium, magnesium, copper, iron, zinc and manganese, in fourteen species of freshwater Ecuadorian fishes by means of atomic absorption spectrophotometry. Test samples were collected at markets: Santa Clara in Quito, Mercado del Rio in Babahoyo and Mariscal in Puyo. Samples were gutted and cleaned in order to obtain the muscle (edible part), which was digested in a microwave system with nitric acid. The content of metals was determined with matrix matched calibration with the objective to avoid matrix effect. Recovery tests showed that the method was accurate and precise. Statistical analysis was performed to assess variability and establish homogenous groups. It was found that Guachinche (*Hoplias microlepis*) has the highest content of zinc, 1.07 mg/100g, Dama (*Brycon dentex*) the highest of copper 0.08 mg/100g, Guachinche (of farm) (*Hoplias microlepis*) the highest of manganese 0.22 mg/100g and Jandia from Puyo (*Rhamdia quelen*) the highest of iron 0.74 mg/100g. Species which had the best nutritional potential are Carpa from Puyo (Cy*prinus carpio*), Corvina (Sciaenidae), Trucha (*Oncorhynchus mykiss*), Guachinche (*Hoplias microlepis*) and Dama (*Brycon dentex*) because of their K/Na and Mg/Ca ratio.

Key words: freshwater fishes, Ecuadorian fishes, atomic absoption spectrophotometry, nutritional potential, matrix effect

INTRODUCCIÓN

En el presente trabajo de disertación se determinó el contenido de ocho elementos: hierro, zinc, calcio, magnesio, sodio, potasio, cobre y manganeso, componentes importantes en el estudio proximal de alimentos, en catorce especies de pescados continentales ecuatorianos, a fin de conocer el aporte nutricional de los pescados que se consumen en el Ecuador, tanto de especies endémicas como introducidas.

El estudio previo realizado por Rodríguez (2017) aporta información valiosa acerca de los macro nutrientes, contenido de cenizas y humedad de peces ecuatorianos, pero no se abarca información de los elementos minerales. En la región, investigaciones de composición proximal similares se han realizado en Costa Rica y Venezuela, (Fonseca & Chavarría, 2017; Rojas, Mata, Oliveros, & Salazar-Lugo, 2013), mientras que a nivel global se encuentran estudios de peces de Portugal, Pakistán, Turquía y el Mar Mediterráneo que se enfocan en el análisis de ácidos grasos, minerales y otros elementos como: mercurio, selenio, colesterol, proteínas y vitaminas (Afonso et al., 2013; Gokoglu, Yerlikaya, & Cengiz, 2004; Islam & Joadder, 2005; Martínez, Periago, Santaella, & Ros, 2000).

La creciente demanda de conocimiento acerca de la composición de los alimentos, específicamente su valor nutricional, por parte de un sector de la sociedad, se debe al interés en mantener dietas bajas en grasa y altas en proteína, saludables, variadas y nutritivas; por otro lado, los organismos internacionales como la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, siglas en inglés) y Organización Mundial de la Salud (OMS) necesitan datos confiables y actuales para elaborar programas y políticas de erradicación de la desnutrición y velar por la seguridad alimentaria de la humanidad (Rittenschober, Stadlmayr, Nowak, Du, & Charrondiere, 2016).

La información recolectada en esta investigación, si bien es preliminar, permitirá aplicaciones posteriores en la elaboración de dietas y guías de alimentación que mitiguen problemas de desnutrición, con datos de las especies de pescados disponibles comercialmente en el país.

1.1 ALIMENTOS Y NUTRIENTES

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2001) define como alimento a toda sustancia procesada, semi-procesada o en estado natural que se utiliza para el consumo humano, incluyendo bebidas, gomas de mascar y cualquier otro aditivo para la manufactura, preparación o tratamiento de los mismos. Los alimentos están relacionados con la cultura, la geografía, el estilo de vida, las costumbres y la economía (Counihan & Van Esterik, 2013).

Los alimentos contienen más de sesenta elementos químicos, sin embargo, sólo algunos son considerados como nutrientes porque intervienen en el metabolismo humano (Badui, 2006); éstos se incorporan al organismo por un proceso involuntario y se clasifican en:

- **Macronutrientes:** el organismo los requiere en mayor cantidad, por tanto, la medida de evaluación de la dosis de ingesta recomendada se realiza en gramos. Su aporte de energía es de 4 calorías por gramo de proteína o carbohidrato y 9 calorías por gramo de grasa (FAO, 2015).

- **Micronutrientes:** el organismo los requiere para su crecimiento, desarrollo y mantenimiento**;** se encuentran en los alimentos en menor cuantía y el cuerpo los necesita en pequeñas cantidades. Se clasifican en minerales y vitaminas.

La presencia de minerales en los alimentos es generalmente menor al 1%. Según James (1999) esta cantidad depende del mineral específico, de las condiciones del medio en que creció la fuente de alimento o, de su dieta si se

trata de una fuente animal. En la Tabla 1 se observan las concentraciones típicas de los minerales mayoritarios y traza.

Tabla 1: Clasificación de minerales (Ceirwyn, 1994)

Elementos mayoritarios	Elementos traza
> 0.01% o 100 ppm	< 0.01% o 100 ppm
Sodio	Hierro
Potasio	Zinc
Calcio	Cobre
Magnesio	Manganeso
Fósforo	Cobalto
Cloro	Selenio

A continuación, se detalla información importante, desde el punto de vista nutricional, de cada uno de los minerales en estudio:

1.1.1 Sodio

Está presente en el líquido extracelular y en el plasma sanguíneo, se encarga de regular: la presión osmótica, la acidez y la carga eléctrica, además participa en la contracción muscular y la conducción nerviosa, por tanto, un exceso en el cuerpo puede ser causante de hipertensión arterial (Badui, 2006). Este mineral está relacionado con la absorción del calcio en los huesos y compite con éste por su reabsorción en los tubos renales (FAO & WHO, 2004). La dosis recomendada para hombres y mujeres de entre 19 y 30 años es de 1500 mg (Brown, 2010).

1.1.2 Potasio

Actúa conjuntamente con el sodio en la transmisión de impulsos nerviosos, en el metabolismo de azúcares y la regulación del equilibrio ácido-base en los líquidos corporales (Mogobe, Mosepele, & Masamba, 2015). La dosis requerida es de 4700 mg/día (Brown, 2010).

1.1.3 Calcio

Es el componente principal de los huesos y dientes. Adicionalmente, este elemento cumple funciones metabólicas esenciales, contribuye en: la contracción muscular, coagulación de la sangre, transmisión de impulsos nerviosos, activación enzimática y hormonal y el transporte del oxígeno (FAO, 2012). Se recomienda una ingesta diaria de 800 mg para adultos y niños en crecimiento, dosis que debe incrementarse en un 50% para mujeres embarazadas (Badui, 2006).

1.1.4 Magnesio

Interviene en la formación de huesos y dientes, en el mantenimiento del potencial eléctrico de los tejidos nerviosos y membranas celulares, también actúa como coenzima en el metabolismo de hidratos de carbono, además, es uno de los componentes de los líquidos intracelulares y participa en la síntesis de ADN y ARN. La ingesta diaria recomendada es de 220-206 mg/día para mujeres y hombres entre 19 y 65 años, respectivamente (FAO & WHO, 2002).

1.1.5 Hierro

Cumple numerosas funciones, la principal es el transporte de oxígeno por la hemoglobina presente en los eritrocitos y la mioglobina que se encarga de captar el oxígeno en los músculos. El cuerpo humano recicla este elemento cuando los eritrocitos envejecen y mueren, por tanto, de los 4 - 3 g de hierro que tiene en promedio el cuerpo, solo se desecha 1 g diario el cual se debe reemplazar mediante la alimentación. La ingesta diaria recomendada para

mujeres y hombres mayores de 18 años es de 19 y 10 mg/día, respectivamente (FAO & WHO, 2002). El hierro en las fuentes de alimento animal está presente en forma orgánica de tal manera que se puede absorber hasta un 25% a diferencia de las fuentes de alimento vegetal donde se encuentra en su forma inorgánica, por consiguiente su absorción en el organismo es menor, entre el 2 y 10% de acuerdo a la composición de la dieta (Smith et al., 2013).

1.1.6 Zinc

En el cuerpo de un adulto humano está presente entre 2 a 3 g y el requerimiento es 15 mg diarios (FAO, 2012), ya que cumple un rol central en el sistema inmunológico y participa en el control homeostático; además, es un componente esencial de enzimas degradadoras de carbohidratos, proteínas y lípidos, estabiliza la estructura molecular de los componentes y membranas celulares, por tanto, contribuye de esta forma al mantenimiento celular y a la integridad de los órganos, juega un papel importante en la transcripción de ácidos nucleicos y su expresión genética (FAO & WHO, 2002).

1.1.7 Cobre

Es un componente de las enzimas que participan en el uso de hierro, oxígeno, colesterol y glucosa por parte del cuerpo, también influye en el crecimiento, el desarrollo cerebral y sistema inmune. La ingesta recomendada es de 900 µg/día para hombres y mujeres (Brown, 2010).

1.1.8 Manganeso

Su función principal es la formación de grasa corporal y hueso, su deficiencia en el organismo provoca el incremento de la concentración de glucosa y triglicéridos en la sangre e induce la pérdida de peso. La ingesta diaria recomendada es 2.3 mg para mujeres y 1.8 mg para hombres (Brown, 2010).

1.2 APORTE NUTRICIONAL DE LOS PESCADOS

En general las fuentes de alimento de origen animal poseen mayor cantidad de micronutrientes biodisponibles. Los pescados contienen proteína de alta calidad, minerales y vitaminas, además son ricos en hierro, selenio, zinc, iodo, y si se consumen completos, son fuentes de calcio, vitamina A y C (Smith et al., 2013). Estudios de composición proximal previos destacan el bajo contenido graso e importante aporte mineral de los pescados de agua dulce; esto último con base en la cuantificación de cenizas (Apuparo & Sinchi, 2012; Rodríguez, 2017).

La FAO en la guía nutricional para la familia (Burges & Glasauer, 2006) propone el consumo de carne de pescado porque es una buena fuente de ácidos grasos, ya que cada 100 g de parte comestible contienen 0.8 g de materia grasa. Otros estudios realizados sobre la composición de esta fracción grasa afirman que la carne de pescado contiene ácidos grasos insaturados y ácidos grasos esenciales como el Omega - 3, 6 y 9 (Vargas, 2017), conocidos por su valor nutracéutico.

Considerando su importancia nutricional, los minerales de mayor relevancia para la caracterización proximal del pescado son: hierro, zinc, calcio, magnesio, sodio, potasio, cobre y manganeso. Todos ellos se encuentran en cantidades variables, dependiendo de la especie, la época del año, la habilidad circundante de cada organismo, su alimentación, si es de naturaleza carnívora o herbívora, la composición salina de su hábitat y la temperatura del agua (FAO, 1989), tal como se aprecia en la Tabla 2.

Tabla 2: Recopilación de estudios relativos al contenido de minerales en pescados

Mineral	(Afonso et al., 2013)	(Gokoglu et al., 2004)	(Martínez et al., 2000)	(Mogobe et al., 2015)	(Olmedo et al., 2013)	(Betan-court, 2017)
	mg/kg	mg/kg	mg/100 g	mg/100 g	mg/kg	mg/100 g
Ca	82-215	632	17.7-80.1	413-1290	-	-
Mg	248-366	409	35.3-36.9	34-58	-	-
Fe	2.4-3.9	2.10	0.33-0.8	1.65-6.40	-	0.79-5.31
Zn	2.8-4.0	9.68	0.41-0.70	1.63-8.47	1.274-14.173	0.79-2.37
Na	929-2187	455	124-160	86-145	-	-
K	3261-3638	3060	286-446	245-443	-	-
Mn	0.12-0.25	0.78	-	0.06-1.08	0.013-2.192	-
Cu	0.13-0.31	0.33	0.04-0.29	0.02-0.21	0.057-3.148	-

1.3 PESCADOS ECUATORIANOS CONTINENTALES

Según Barriga (2012) en el Ecuador hay 1716 especies de peces registradas, 765 son marinos y 951 de agua dulce, en comparación con los países vecinos Perú y Colombia, Ecuador posee una gran riqueza y mayor variedad. Se han estudiado numerosas especies endémicas e introducidas que son fuente de alimentación para la población local y foránea.

Rodríguez (2017) y Vargas (2017) efectuaron un estudio proximal de dieciocho especies de pescados ecuatorianos de rio y criadero, con el fin de determinar su valor nutricional en función del contenido de ácidos grasos esenciales y de proteína, para ello se realizaron análisis de humedad, proteína, grasa y cenizas totales y la determinación del perfil lipídico. Entre las especies de pescados con alto valor nutricional encontraron que la Tilapia Roja, Corvina de río, Tilapia y Guanchiche son los más saludables por su contenido bajo en grasa y alto en proteínas, que la Trucha, Dama y Carpa posen un alto contenido de minerales, el Bagre de agua dulce, la Trucha y la Tilapia tienen un alto contenido de ácidos grasos omega, cuyo consumo beneficia la salud de las personas.

En el presente trabajo se analizaron catorce especies, que serán descritas a continuación:

Tabla 3: Especies de pescados continentales analizados

Nombre común	Nombre científico	Descripción
Carpa	*Cyprinus carpio*	Variedad introducida que se cría con finalidad ornamental más que alimenticia
Cachama	*Colossoma macropomum*	Especie migratoria nativa del nororiente amazónico, está distribuida por Latinoamérica
Chalaco	*Bathygobius andrei*	Se encuentra en la región occidental del Pacifico desde Guatemala hasta el norte de Perú
Guachinche	*Hoplias microlepis*	Especie nativa, hay registros de su presencia en Perú y Costa Rica
Trucha	*Oncorhynchus mykiss*	Variedad introducida e invasora, la coloración rosa anaranjada del músculo se debe a los camarones de agua dulce que consume
Dama	*Brycon dentex*	Hay registro de su presencia en el norte de Perú; Ríos: Esmeraldas, Guayas, Cayapas
Tilapia	*(Oreochromis aureus, Oreochromis mossambicus Oreochromis niloticus)*	Especie introducida, según Jiménes et al. (2015) la producción se concentra en la provincia de El Oro
Corvina	*Sciaenidae*	Habita en la cuenca del rio Guayas, en la zona Intermareal Santiago Cayapas y Esmeraldas
Jandia	*Rhamdia quelen*	Variedad nativa que se distribuye en las zonas ictio-hidrográficas del Ecuador del Alto Pastaza, Upano Zamora, y Napo Pastaza
Bagre	*Astroblepus ubidiai*	Especie endémica de América del Sur, se distribuye en la sierra norte, cuenca del rio Santiago y la provincia del Azuay

La descripción del hábitat, alimentación, comportamiento, características físicas y morfológicas de las especies mencionadas en la Tabla 3 se encuentra detallada en listas de peces, guías de pescados y publicaciones del área de la biología descriptiva como: Barriga, 2012; Bearez, 1996; Findley & Tassell, 2015; Jiménes et al., 2015; Moncayo & Noboa, 2014; Rojas et al., 2013.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar el contenido de calcio, magnesio, hierro, zinc, sodio, potasio, cobre y manganeso en pescados continentales ecuatorianos mediante espectrofotometría de absorción atómica de llama, a fin de determinar el aporte nutricional de las diferentes especies.

Objetivos específicos

- Cuantificar hierro, zinc, calcio, magnesio, sodio, potasio, cobre y manganeso en 14 especies de pescados continentales ecuatorianos.
- Determinar las especies de pescados con mayor contenido de cada mineral.
- Comparar la calidad nutricional de las especies estudiadas con lo reportado en la literatura.

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 MUESTREO

Las muestras de pescados continentales ecuatorianos se recolectaron mediante muestreo aleatorio simple en tres mercados de alto flujo, en las ciudades de Quito, Babahoyo y Puyo durante los meses de agosto y diciembre de 2016 (Tabla 4) como parte de un proyecto de investigación previo, donde se consumieron las muestras de Dica, Guadina, Ratón y Chame en su totalidad, razón por la cual no forman parte de este estudio. Se adquirieron tres ejemplares de cada pescado de acuerdo a su tamaño, se almacenaron en fundas plásticas herméticas; para su transporte se utilizó un contenedor con hielo, posteriormente en el laboratorio se depositaron en un congelador a 4 °C hasta su preparación.

Tabla 4: Clasificación de muestras de acuerdo a su origen

Quito, Pichincha Santa Clara	Babahoyo, Los Ríos Mercado del Río	Puyo, Pastaza Mercado La Mariscal
Trucha Corvina	Guachinche de río Guachinche de criadero Tilapia Chalaco Dama	Tilapia Tilapia Roja Jandia Guachinche Bagre Cachama Carpa

2.2 PREPARACIÓN DE MUESTRAS

En este procedimiento se utilizaron: ácido nítrico y ácido clorhídrico Fisher Scientific libres de metales, peróxido de hidrógeno al 30% v/v Scharlau grado analítico ACS, óxido de lantano y cloruro de cesio Fisher Scientific grado analítico, estándares de calibración de sodio, potasio, calcio, magnesio, hierro, zinc, cobre y manganeso Accu Standard de 1000 µg/mL (Anexos 2-9), acetileno grado 2,5 y agua tipo I purificada con el sistema MicroPure UV with tank marca Thermo –Scientific. Para minimizar el riesgo de contaminación, el material se dejó durante 24 horas en ácido nítrico 4M y posteriormente se lavó con agua tipo I.

Las muestras se descongelaron a temperatura ambiente, se retiraron las escamas, vísceras, huesos, cabezas y colas para obtener exclusivamente el músculo y la piel, posteriormente se procesaron las porciones en un triturador de alimentos Black & Decker Power Pro por tres ocasiones para disminuir el tamaño de partícula y homogenizar, como lo recomienda la AOAC en el método 35.1.01 (AOAC 2012), por último las muestras se secaron en una estufa Binder FD 115, a 60 °C por 24 horas y se almacenaron a 4 °C en congelación hasta su posterior tratamiento.

Aproximadamente 0,5 g de muestra de pescado se digestó en el microondas CEM MARS 6 por 15 minutos en envases de teflón cerrados con 5 mL de HNO_3 y 2 mL de H_2O_2. El horno microondas fue programado para alcanzar una potencia de 800 W y 200 °C por 15 minutos, con un periodo igual de enfriamiento, las soluciones se aforaron a 50 mL con HNO_3 0.1M y se transfirieron a envases de polietileno de baja densidad, descontaminados para su análisis de acuerdo con el método AOAC 999.10.

El microondas utilizado en este trabajo fue CEM MARS 6 One Touch, posee magnetrones secuenciales que generan ondas de 2450 MHz para calentar la muestra a altas temperaturas, destruir la matriz y dejar en libertad a los analitos en un entorno líquido para su posterior cuantificación. El sistema es de vasos cerrados y el calentamiento es más rápido debido a la acción de las ondas electromagnéticas sobre el ácido dieléctricamente conductor, porque sus dipolos en presencia del campo magnético fluctuante giran ocasionando numerosas colisiones moleculares por segundo de manera uniforme en toda la muestra (Menéndez & Moreno, 2017).

2.3 ANÁLISIS DE MINERALES

2.3.1 Instrumentación

Se utilizó el espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer AAnalyst 400, lámparas de cátodo hueco mono elemento Perkin Elmer, el software WinLab32AA y la atomización de la muestra se realizó mediante la técnica de llama constituida por aire y acetileno.

El principio de la técnica se basa en la absorción de radiación; el instrumento permite formar un vapor atómico, esto provoca que las partículas de la muestra se exciten con una fuente de radiación electromagnética del mineral de interés, de forma que el detector capta la diferencia entre la potencia incidente P_0 y la potencia transmitida, la absorbancia A se calcula de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\boldsymbol{Absorbancia = log \frac{Po}{p}} \qquad (1)$$

Conjuntamente, se usa la ley de Lambert-Beer, que establece que la concentración del analito es directamente proporcional a la absorbancia dentro de un rango limitado (Skoog, Holler, & Nieman, 2001). En base a lo cual se cuantifica cada mineral a partir de la medida de absorbancia de la solución en la que se encuentra.

2.3.2 Procedimiento

De acuerdo a los resultados obtenidos en pruebas preliminares realizadas con una muestra de atún (*Thunnus alalunga*) se determinó la presencia de efecto matriz, que se define como el efecto combinado de todos los componentes de las muestras que no son el analito en una medida cuantitativa (Kościelniak & Wieczorek, 2016). El efecto matriz impide una correcta cuantificación del analito.

Para compensar este efecto, se elaboraron curvas de calibración sobre una matriz similar a la del analito, en correspondencia con el método *matrix-matched calibration*, el cual entra en la categoría de estándar interno (Kruve, n.d.). Sin embargo, se emplearon muestras de tilapia tratadas de acuerdo al método AOAC 999.10 ya que la naturaleza de los pescados analizados al ser de agua dulce, es similar en composición más a la tilapia que al atún, la cual es una especie marina.

Todas las muestras se almacenaron en refrigeración hasta su lectura. A las soluciones de calibración de sodio y potasio se agregó $CsCl_{(ac)}$ FisherScientific grado analítico, hasta obtener una concentración de 0.5% para eliminar las interferencias de ionización. Las muestras digestadas de pescados se diluyeron con HNO_3 0.1M y se adicionó CsCl al igual que a los blancos de control de acuerdo al método AOAC 985.35.

Tabla 5: Factores de diluciones para análisis de Na, K, Ca y Mg

	Factores de dilución			
Muestra	Na	K	Ca	Mg
Cachama del Puyo	20.0	200.0	100.0	10.0
Chalaco de Babahoyo	25.0	200.0	100.0	10.0
Guachinche de criadero de Babahoyo	20.0	200.0	133.3	10.0
Trucha Quito	10.0	200.0	20.0	10.0
Carpa del Puyo	1.4	200.0	10.0	10.0
Corvina de Quito	20.0	200.0	10.0	10.0
Guachinche Puyo	20.0	200.0	10.0	10.0
Guachinche rio Babahoyo	33.3	200.0	33.3	10.0
Jandia Puyo	14.3	200.0	33.3	10.0
Bagre Puyo	14.3	200.0	14.3	10.0
Tilapia de rio Babahoyo	33.3	200.0	3.3	10.0
Tilapia del Puyo	50.0	100.0	100.0	10.0
Tilapia Roja	100.0	100.0	20.0	10.0
Dama de rio	33.3	200.0	100.0	10.0

Para calcio y magnesio se utilizó La_2O_3 en las soluciones de calibración, muestras y blancos hasta obtener una concentración del 0.1 %, con el fin de

evitar las interferencias química con fosfatos; las muestras para la lectura de calcio se diluyeron de acuerdo a su concentración, para obtener un valor confiable dentro del rango de la curva de calibración, como se describe en la Tabla 5, en el caso de Cu, Mn, Fe y Zn se realizó la lectura directa de las muestras digestadas.

Las concentraciones de los cinco puntos de cada curva de calibración se indican en la Tabla 6.

Tabla 6: Concentración de estándares para curvas de calibración

Na (mg/L)	K (mg/L)	Ca (mg/L)	Mg (mg/L)	Cu (mg/L)	Mn (mg/L)	Fe (mg/L)	Zn (mg/L)
0.100	0.150	0.300	0.150	0.050	0.050	0.150	0.100
0.125	0.250	0.500	0.250	0.100	0.100	0.250	0.125
0.250	0.500	0.800	0.500	0.125	0.125	0.500	0.250
0.500	0.750	1.000	0.750	0.250	0.250	1.000	0.500
1.000	1.000	1.200	1.000	0.500	0.500	1.500	1.000

Para la selección de los parámetros instrumentales (Tabla 7), se tomó como referencia las condiciones sugeridas por el fabricante del instrumento, cuya aceptabilidad fue comprobada en los trabajos de Dávila (2015) y Betancourt (2017).

Tabla 7: Condiciones de análisis para cada mineral

Mineral	Longitud de onda (nm)	Slit (Ancho/Altura) (nm/mm)	Relación Aire-Acetileno
Na	586.00	1.8/1.06	10:2.5
K	766.49	2.7/0.45	10:2.02
Ca	422.67	2.7/0.6	10:2.70
Mg	285.21	2.7/0.5	10:1.86
Cu	324.75	2.7/0.8	10:2.5
Mn	279.48	1.8/0.6	10:2.50
Fe	248.33	1.9/1.35	10:2.5
Zn	213.86	2.7/1.8	10:2.5

2.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE RESULTADOS

Para el análisis de datos se consideró la media ya que las pruebas se realizaron por triplicado para asegurar la precisión de los mismos, se aplicó la prueba estadística de Dixon para eliminar los valores atípicos y también se empleó la prueba de Rangos Múltiples, para establecer si hay diferencias estadísticas significativas entre las medias, mediante la agrupación de especies homogéneas que no presentan diferencias significativas (Muñoz, 2011). El software que se utilizó para este análisis fue STATGRAPHICS, versión 16.103.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 ASEGURAMIENTO DE RESULTADOS

3.1.1 Fortificaciones

Dentro de los parámetros para la validación y verificación de métodos analíticos se encuentran los ensayos de fortificación, en el presente estudio se realizó una fortificación de muestras de atún con los ocho metales analizados independientemente, para evaluar la eficiencia del método utilizado y la exactitud de los resultados obtenidos además establecer que el método es adecuado para la determinación de metales en pescados y que las modificaciones realizadas no afectan su desempeño ni la confiabilidad de los resultados obtenidos.

La recuperación de un analito es la respuesta del detector a la fracción de la sustancia agregada a la muestra antes del análisis, a ésta se la denomina muestra fortificada y a la muestra original se la conoce como muestra sin fortificar, en el Anexo 1 se detalla un cálculo para el caso de la recuperación del calcio. El ensayo permite ver el rendimiento del método analítico en el proceso de extracción y comparar la cantidad del analito presente en las muestras de atún originalmente y después de la adición de una cantidad conocida. Se realizó la prueba de recuperación de fortificaciones a nivel medio cuyo criterio de aceptación para este parámetro es entre 80 y 120 % de acuerdo a la AOAC para analitos en un rango de concentración de ppm (Duffau et al., 2010).

Tabla 8: Porcentaje de recuperación de fortificaciones en atún

Analito	Repetición			% Recuperación	RSD
	1°	2°	3°		
Ca	88.9	92.3	99.2	93.5	5.6
Mg	82.9	85.5	82.1	83.5	2.1
Fe	86.4	81.6	83.2	83.7	2.9
Zn	88.4	85.1	89.1	87.5	2.5
Mn	84.5	84.8	82.0	83.8	1.8
Cu	81.9	80.3	82.5	81.6	1.4
Na	109.0	87.0	98.9	98.3	11.2
K	104.5	105.7	108.2	106.1	1.8

De acuerdo a los resultados obtenidos descritos en la Tabla 8, se puede considerar que las recuperaciones son adecuadas, están dentro del rango de aceptación determinado por el Codex Alimentarius (FAO, 2001) y obtenidos en estudios similares (Betancourt, 2017; Psoma, Pasias, Rousis, Barkonikos, & Thomaidis, 2014). Se obtuvo una recuperación lo más cercana a 100% para el Na de 98.3 %, para K de 106.1 y Ca de 93.5 %, sin embargo, para el cobre se obtuvo un porcentaje de recuperación del 81.6 %, este valor es bajo, y demuestra un proceso de extracción deficiente que se puede deber a la concentración original de Cu en la muestra, de 37 mg/kg de pescado, muy baja en comparación a los otros metales analizados.

La taza de extracción de Cu en un estudio similar, demuestra que el H_2O_2 tiene un rol importante al controlar la separación de este metal de la materia orgánica, ya que al disociarse el agua oxigenada forma el ion OH^- y éste ataca a los aminoácidos, carbohidratos y ácidos grasos polinsaturados causando su oxidación (Manutsewee, Aeungmaitrepirom, Varanusupakul, & Imyim, 2007), por lo tanto, se podría cuestionar la cantidad del reactivo utilizado.

Como se observa en la Tabla 8, para el hierro y el zinc se alcanzan recuperaciones de 83.7 % y 87.5 % respectivamente. En un estudio similar, Betancourt (2017) se obtienen recuperaciones de 97 % para hierro y 96 % para zinc, sin embargo, las recuperaciones obtenidas se encuentran dentro de parámetros establecidos y cumplen con el criterio de aceptación.

Las observaciones de precisión de las fortificaciones realizadas en base a un análisis por triplicado dan como resultado valores de coeficiente de variación RSD (*Relative Standard Deviation*) menores al 15% como se establece para la metodología analítica (AOAC, 2012), con 11% en el caso del Na como valor máximo y 1.4 % en el caso del Cu, como valor mínimo.

3.1.2 Efecto matriz

La calibración de un método analítico es la construcción de una relación teórica entre la señal instrumental y la concentración del analito en muestras de concentración conocidas preparadas a partir de material certificado, denominadas también como estándares de calibración, del cual se obtiene un gráfico de calibración. Si el modelo de la función de calibración es preciso y cercano al comportamiento real, la cuantificación del analito será mejor ya que se acercará más a la realidad, sin embargo, hay algunos factores que modifican el comportamiento de los analitos, hay interferencias de la misma muestra que pueden actuar inhibiendo o aumentando la señal del analito (Kościelniak & Wieczorek, 2016).

Se realizó una comparación entre los parámetros de dos métodos de calibración conocidos, el del estándar externo o *Calibration Curve Method* (CCM siglas en inglés), un procedimiento simple y relativamente fácil, y el segundo *Matrix – matched Calibration* (MMC, siglas en inglés), que es una modificación que mejora el desempeño del método analítico, que permite corregir o compensar el efecto matriz.

Se observa el efecto de los componentes de la matriz, ya que causan una interferencia que se demuestra en la Tabla 9 en todos los metales analizados a excepción de cobre y manganeso, ya que las diferencias entre las pendientes son mayores al 10 %. El efecto es ampliamente identificado en Na, K, Ca y Mg, ya que la diferencia de la pendiente es notoria; en el caso del Na, es la tercera parte en la curva de calibración modelada con los estándares preparados en matriz, esto quiere decir que, suponiendo un mismo valor de absorbancia, si la cuantificación de sodio no se realiza con este modelo, el valor obtenido sería tres veces mayor al real.

Tabla 9 Comparación de curvas de calibración obtenidas con estándares acuosos (CCM) y estándares en matriz de tilapia (MMC)

Metal	Calibración	Pendiente	Intercepto	Coeficiente de correlación R^2
Na	CCM	0.4774	0.01411	0.9984
	MMC	0.1501	-0.00299	0.9995
K	CCM	0.3495	0.01054	0.9985
	MMC	0.2368	0.01295	0.9961
Zn	CCM	0.3412	0.00737	0.9995
	MMC	0.3380	0.00781	0.9986
Cu	CCM	0.0992	-0.00566	0.9967
	MMC	0.1058	0.00056	0.9998
Mn	CCM	0.1279	-0.0009	0.9998
	MMC	0.1257	-0.0162	0.9982
Fe	CCM	0.0530	0.00073	0.9999
	MMC	0.0636	-0.00083	0.9991
Ca	CCM	0.1269	0.00304	0.9987
	MMC	0.0824	-0.00031	0.9993
Mg	CCM	0.1791	0.00490	0.9976
	MMC	0.1167	-0.00158	0.9930

El efecto que se observa en los cinco de seis metales que presentan efecto matriz en la Tabla 9, se caracteriza por un aumento de la señal del analito con excepción del hierro, donde se revela un efecto inverso, caracterizado por inhibir la señal del analito, ya que el valor de la pendiente es menor en la curva de calibración construida con los estándares preparados en ácido nítrico 0.1M.

Para eliminar las interferencias causadas por los componentes de la muestra que no son el analito, demostradas en el análisis de pendientes, se realizó la cuantificación de todas las muestras con las curvas de calibración con estándares en matriz, así se suprime el efecto y la cuantificación no tiene errores sistemáticos debido a un modelo de calibración errado. Para el análisis del cobre

y del manganeso, metales que no presentaron efecto matriz, no hay diferencia en la cuantificación si se realiza con cualquiera de los dos métodos de calibración, sin embargo, para guardar concordancia con los demás analitos, se utilizaron las curvas de calibración preparadas en matriz.

3.2 ANÁLISIS DE MINERALES POR ESPECIE

Se realizó el análisis de minerales por triplicado con la finalidad de obtener resultados que permitan estimar su precisión, es decir establecer un margen de error dentro del cual se encuentra el valor reportado, este se expresa mediante las barras de error de cada figura a continuación.

3.2.1 Sodio

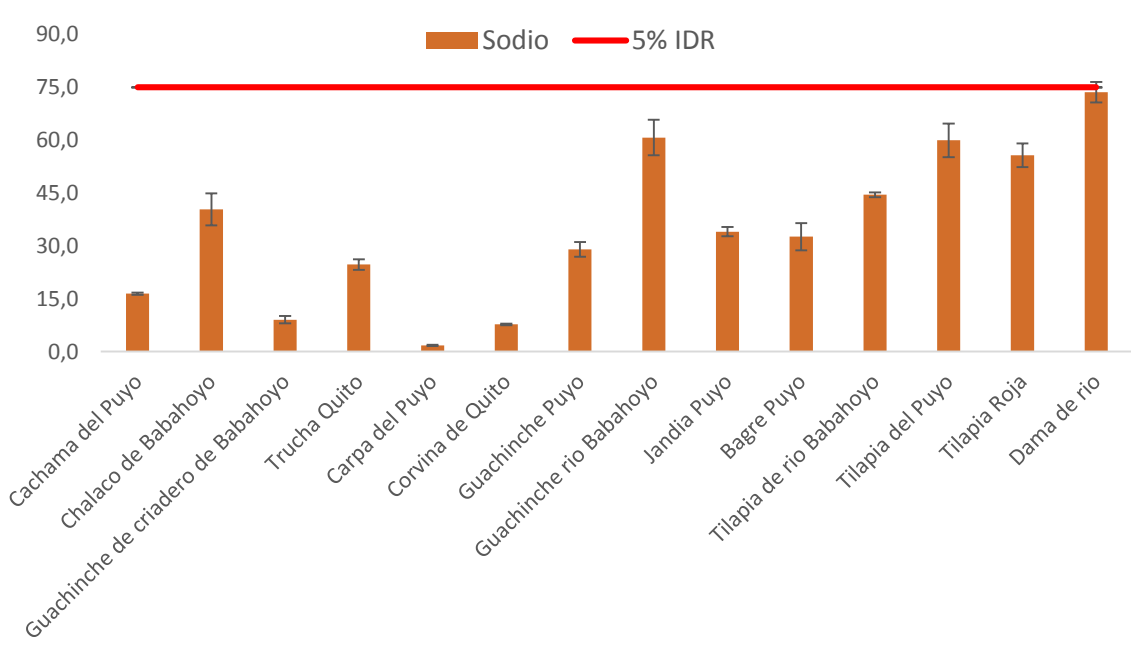


Figura 1. Contenido de sodio en pescados continentales ecuatorianos (mg Na/100 g porción comestible)

Como se observa en la Figura 1, son pocas las especies que se acercan al 5 % de la ingesta diaria recomendada, ya que la mayoría de pescados continentales ecuatorianos presentan una concentración de sodio menor a 60

mg/100g de porción comestible. Las especies de pescados que presentan mayor cantidad de sodio son la Dama de río con 73.6 mg/100g, seguida del Guachiche de río Babahoyo con 60.7 mg/100g y la Tilapia el Puyo con 59.9 mg/100g, el contenido de sodio reportado por otros estudios es similar al encontrado en este trabajo, Gokoglu et al.(2004) reporta 54.4 mg/100g, Mogobe et al. (2015) publica concentraciones entre 86 y 145 mg/100g en especies de pescados de lagos de agua dulce.

Al efectuar el análisis de grupos homogéneos (Anexo 10), se distingue que el contenido de sodio en la Carpa es significativamente diferente de aquel en los otros pescados; con valores ligeramente inferiores (60 mg) el Guachinche recolectado en Babahoyo y la Tilapia recolectada en Puyo conforman un grupo homogéneo, lo que significa que ambos contienen cantidades de sodio equivalentes. Cabe señalar que se observan diferencias significativas entre peces de criadero y de río, así como entre muestras de una misma especie recolectadas en diferentes lugares, afirmando lo expuesto por la FAO, en relación a la influencia de dichos factores en la composición proximal del pescado.

3.2.2 Potasio

El contenido de potasio de la mayoría de las especies analizadas es cercano al 5 % de la ingesta diaria recomendada, por esta razón y su aporte bajo en sodio, la carne de los pescados continentales ecuatorianos podría ser considerada como alimento recomendado en dietas para pacientes con hipertensión arterial.

La cantidad más alta de este metal se encuentra en la Dama de rio, que presenta un contenido de 591 mg/100g, seguida de la Corvina de río con 469 mg/100g y el Chalaco de Babahoyo con 303 mg/100g, valores que se encuentran dentro del rango 19 – 502 mg/100g publicado por la FAO (1998) y otros estudios

similares más contemporáneos que reportan medias de 306 mg/100g (Gokoglu et al., 2004), 326 mg/100g.

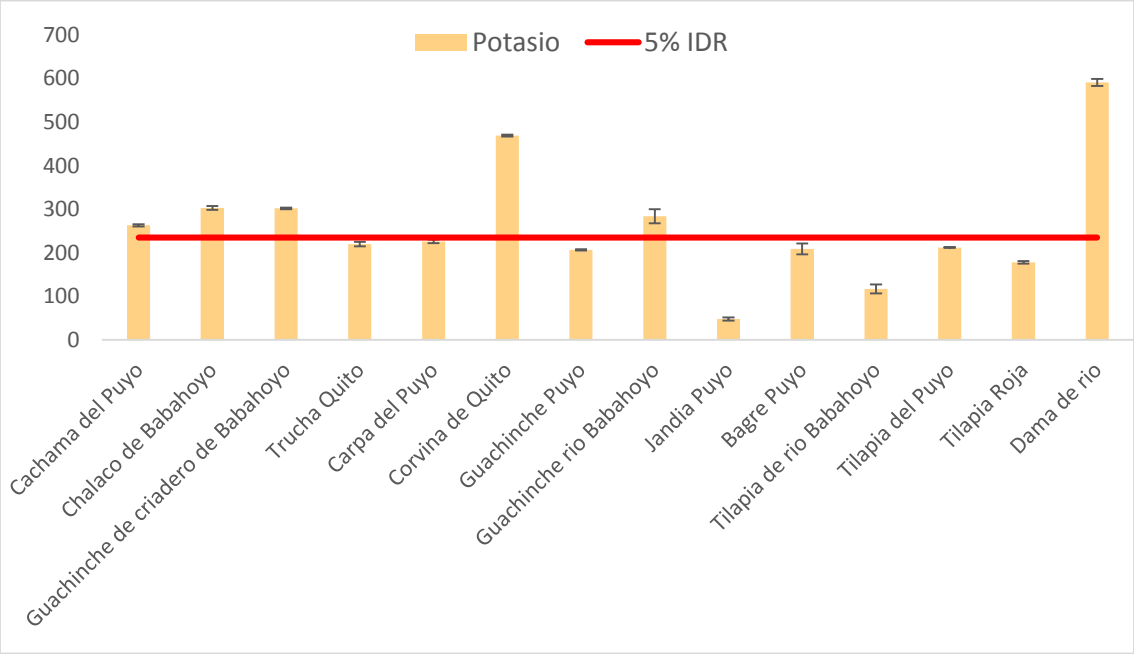


Figura 2. Contenido de potasio en pescados continentales ecuatorianos (mg K/100 g porción comestible)

El análisis de grupos homogéneos detallado en el Anexo 10, aporta datos relevantes sobre el contenido de potasio en la Tilapia Roja y la Trucha, el cual es significativamente diferente al de la Tilapia del Puyo, y el Guachinche, y de la Corvina y la Dama de Río, pares de especies que presentan un contenido similar de potasio por cada 100 g de porción comestible, es preciso mencionar que el contenido de este mineral varía significativamente entre la misma especie, ya que las tres variedades de Tilapia no comparten un mismo grupo.

3.2.3 Calcio

La Figura 3, indica que la cantidad de calcio que proporcionan los pescados ecuatorianos continentales es apreciable, ya que en varios casos supera el 5 % de la ingesta diaria recomendada, establecida en 800 mg/día.

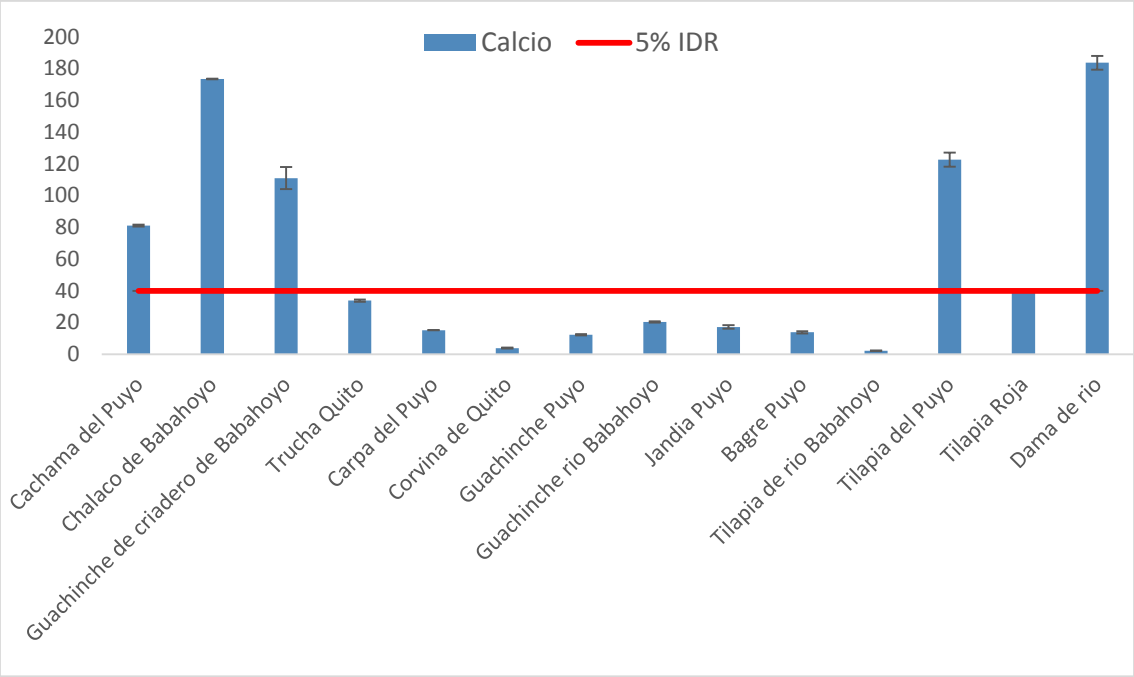


Figura 3. Contenido de calcio en pescados continentales ecuatorianos (mg Ca/100 g porción comestible)

El contenido de calcio encontrado en las especies de pescados continentales ecuatorianos varía entre 2 y 184 mg/100g siendo la Dama de rio la especie con mayor contenido, seguida del Chalaco de Babahoyo y la Tilapia del Puyo, los valores encontrados concuerdan con otros estudios que reportan concentraciones entre 17.7 a 80.1 mg/100g (Martínez et al., 2000) 19 a 881 mg/100g (FAO, 1998) y valores un poco menores como los encontrados por Afonso et al. (2013) de 8.2 a 21.5 mg/100g.

Después de realizar el análisis de grupos homogéneos, es relevante mencionar que tanto la Corvina, y la Tilapia de río, el Bagre y el Guachinche recolectados en la ciudad del Puyo de la región del río Pastaza, y la Jandia y la Carpa conforman tres grupos homogéneos, lo que revela la similitud entre estas parejas de pescados, confirmando lo publicado (FAO, 1998) acerca de su composición de acuerdo a las condiciones ambientales a las que se expone durante su desarrollo.

3.2.4 Magnesio

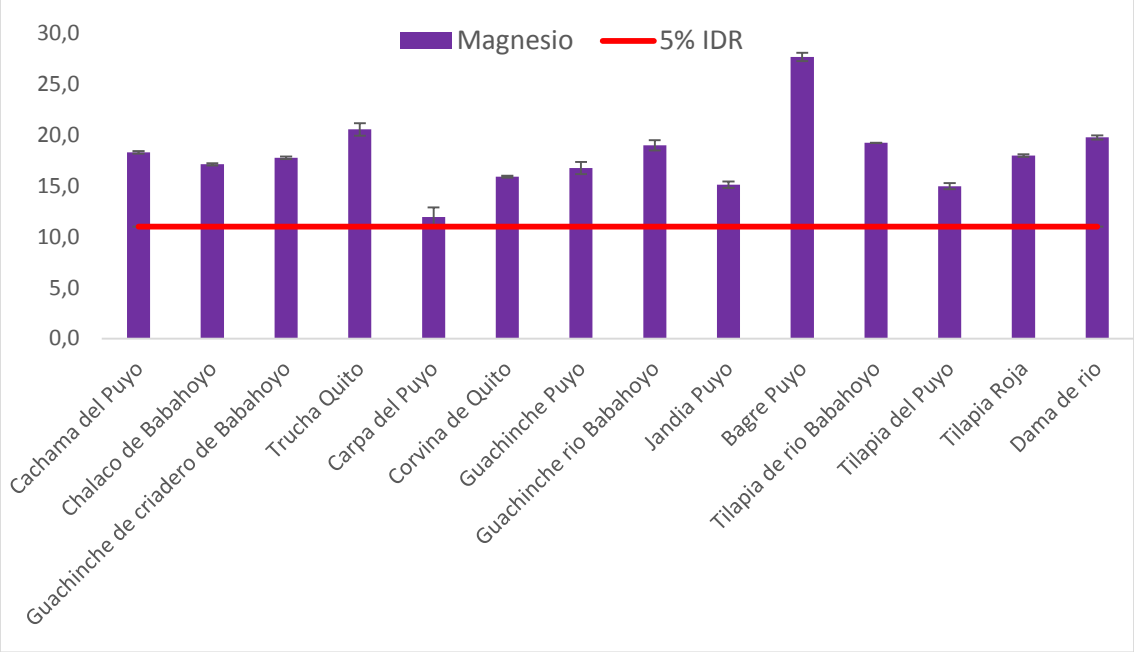


Figura 4. Contenido de magnesio en pescados continentales ecuatorianos (mg Mg/100 g porción comestible)

Respecto al aporte de magnesio, la Figura 4 evidencia que todos los pescados ecuatorianos continentales ecuatorianos contienen una cantidad mayor al 5 % de la ingesta diaria recomendada, establecida en 220 mg/día. El rango en el que se mantienen está entre 12.0 y 27.7 mg/100g, siendo el Bagre del Puyo, la especie con mayor contenido de magnesio y la Carpa la especie con menor cantidad. Martínez et al.(2000) reporta resultados entre 35.3 y 36.9 mg/100g en pescados de gran consumo en España, Gokoglu et al. (2004) publica una concentración de 40.9 mg/100g.

La Corvina, el Guachinche y la Dama de Río conforman un grupo homogéneo, lo que asocia a las tres especies con una cantidad de magnesio equivalente, de tal forma que si se consumen 100 g de cualquiera de estos tres pescados se realizaría un aporte similar de magnesio en la dieta diaria, a diferencia de Guachinche de criadero y el Chalaco, los que conforman un segundo grupo homogéneo y la Tilapia, la Cachama y el Chalaco, el tercer grupo

homogéneo. Es necesario rescatar que la variación del contenido de magnesio entre las especies de pescados ecuatorianos analizados es menor en comparación con los otros metales, ya que se conforman hasta tres grupos homogéneos.

3.2.5 Zinc



Figura 5. Contenido de zinc en pescados continentales ecuatorianos (mg Zn/100 g porción comestible)

La concentración de zinc en las tres especies analizadas, Guachinche de Puyo, Guachinche de rio Babahoyo y Dama de río es mayor a 0.75 mg/100g de pescado, valor que representa el 5 % de la ingesta diaria recomendada (15 mg para adultos) como se observa en la Figura 5.

Afonso et al. (2013) reporta contenidos de zinc en especies de pescados de la costa Portuguesa de 0.28 a 0.40 mg/100 g, Gokoglu et al.,(2004) en trucha reporta un contenido de 0.968 mg/100g y Betancourt (2017) un rango de 0.789

a 2.37 mg/100g en algunas especies de pescados marinos ecuatorianos, y Martínez et al. (2000) de 0.41 a 0.70mg en especies de pescados del mar mediterráneo, todas éstas similares, sin embargo, otro estudio realizado por Mogobe et al. (2015) reporta concentraciones de zinc mucho mayores en pescados africanos en el rango de 1.63 a 8.47 mg/100g.

El contraste de la mínima diferencia significativa LSD, (*Least Significant Difference*, por sus siglas en Ingles) método de comparaciones múltiples permite agrupar a la Trucha, la Tilapia Roja y la Corvina en un mismo grupo homogéneo, el cual posee medias significativamente diferentes a la Tilapia de Rio, Cachama y Chalaco; la Tilapia y la Cachama también comparten un grupo homogéneo con la Jandia del Puyo y el cuarto grupo homogéneo lo conforman Jandia, Carpa y Dama de Río también es relevante la presencia de varios grupos homogéneos en este caso al igual que en la concentración de magnesio, ya que se observan cuatro grupos homogéneos.

3.2.6 Cobre

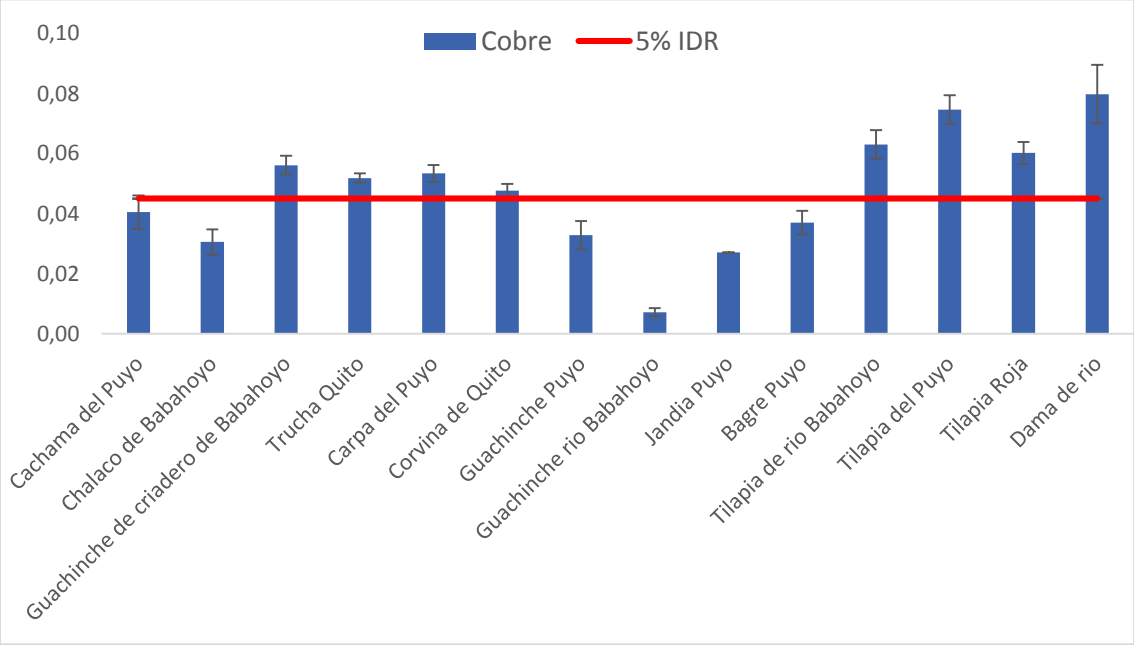


Figura 6. Contenido de cobre en pescados continentales ecuatorianos (mg Cu/100 g porción comestible)

Ocho especies de pescados continentales ecuatorianos tienen un contenido de cobre mayor al 5 % de la ingesta diaria recomendada (0.9 mg). El Guachinche de rio de Babahoyo, la Jandia de Puyo y el Chalaco de Babahoyo, tienen el mayor contenido de las especies analizadas, según se evidencia en la Figura 6. Estudios similares publicados reportan concentraciones muy inferiores de 0.0057 mg/100g (Olmedo et al., 2013) en comparación con las concentraciones de cobre encontradas en el presente estudio ya que la más baja se encuentra en el Guachinche de rio de Babahoyo con 0.01 mg/100g; otros estudios como Gokoglu et al.(2004) que reporta concentraciones de 0.033 mg/100g en trucha, Martínez et al. (2000) de 0.04 a 0.29 mg no presentan mayores diferencias con las concentraciones encontradas.

En el caso del contenido de cobre se observan cinco grupos homogéneos de acuerdo al análisis de rangos múltiples detallado en el Anexo 10, el grupo más numeroso lo conforman la Carpa, el Guachinche de criadero, la Tilapia Roja, la Dama de rio y la Tilapia de Río. Cabe señalar que el Guachinche de Babahoyo al no estar en el mismo grupo homogéneo, presenta un contenido de cobre significativamente diferente al de criadero, esto afirma lo expuesto por los cultivadores de pescado, ya que modificando su alimentación pueden conseguir pescados con un contenido de nutrientes, calidad, tamaña y sabor diferente (Maura Rayó, 1990).

3.2.7 Manganeso

El aporte de manganeso que proporciona el Guachinche de criadero de Babahoyo y la Jandia de Puyo es mayor al realizado por cualquier otra especie (Figura 7), ambos superan el 5 % de la ingesta diaria recomendada (2 mg). Estas especies, consideradas endémicas y comercializadas con gran éxito en las zonas del Puyo y Babahoyo, podrían recomendarse como una fuente de manganeso en la dieta.

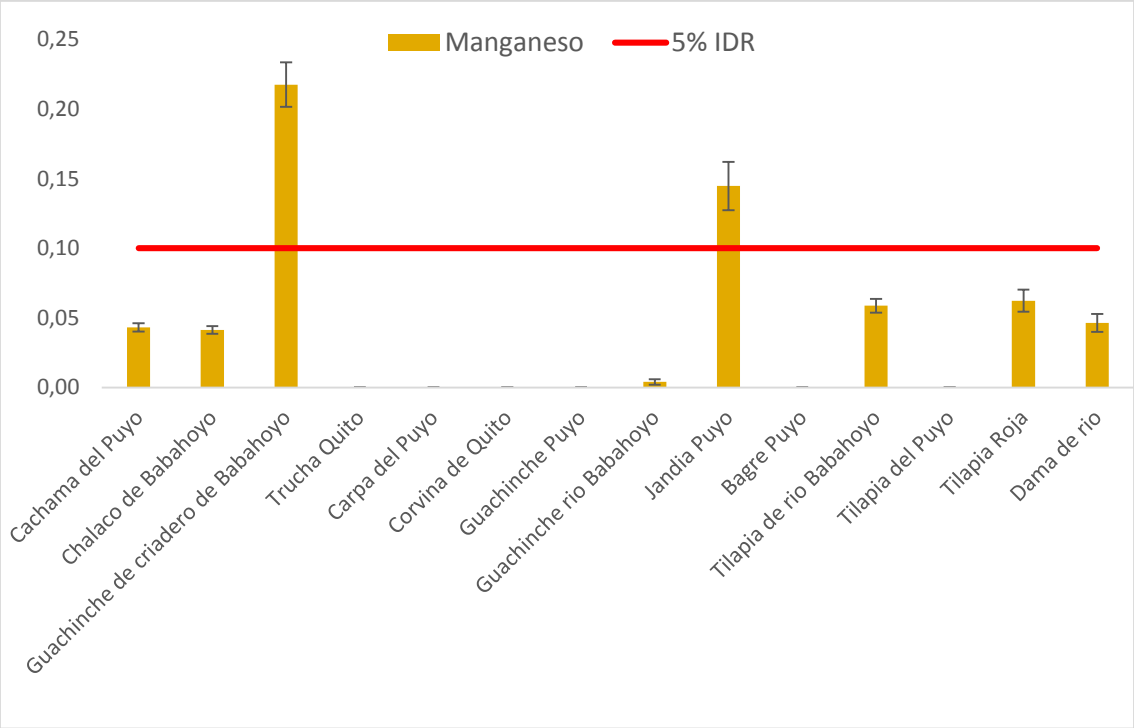


Figura 7. Contenido de manganeso en pescados continentales ecuatorianos (mg Mn/100 g porción comestible)

Seis de las especies de pescados ecuatorianos analizados no evidencian una cantidad de manganeso medible mediante la técnica utilizada, ya que su concentración es menor al límite de detección. Estudios de composición proximal reportan valores similares a los encontrados en este trabajo de disertación para especies de pescados de Portugal entre 0.012 y 0.025 mg por cada 100 g de porción comestible (Afonso et al., 2013), de España entre 0.0013 y 0.2192 mg/100g (Olmedo et al., 2013) y 0.06 y 1.08 mg/100g en pescados de origen africano (Mogobe et al., 2015), concentraciones mayores se reportan para Trucha de origen turco (Gokoglu et al., 2004).

La evaluación de rangos múltiples revela la existencia de seis grupos homogéneos, la Dama de rio y el Guachinche no presenta medias significativamente diferentes, pero sí lo hacen con las medias de las demás especies de pescados, por consiguiente, se puede asegurar que el aporte de manganeso tanto de la Dama de rio como del Guachinche es similar. La Tilapia

de rio y la tilapia Roja conforman otro grupo homogéneo, esta característica se podría atribuir a que son especies de pescados de la misma familia *Oreochromis*.

3.2.8 Hierro

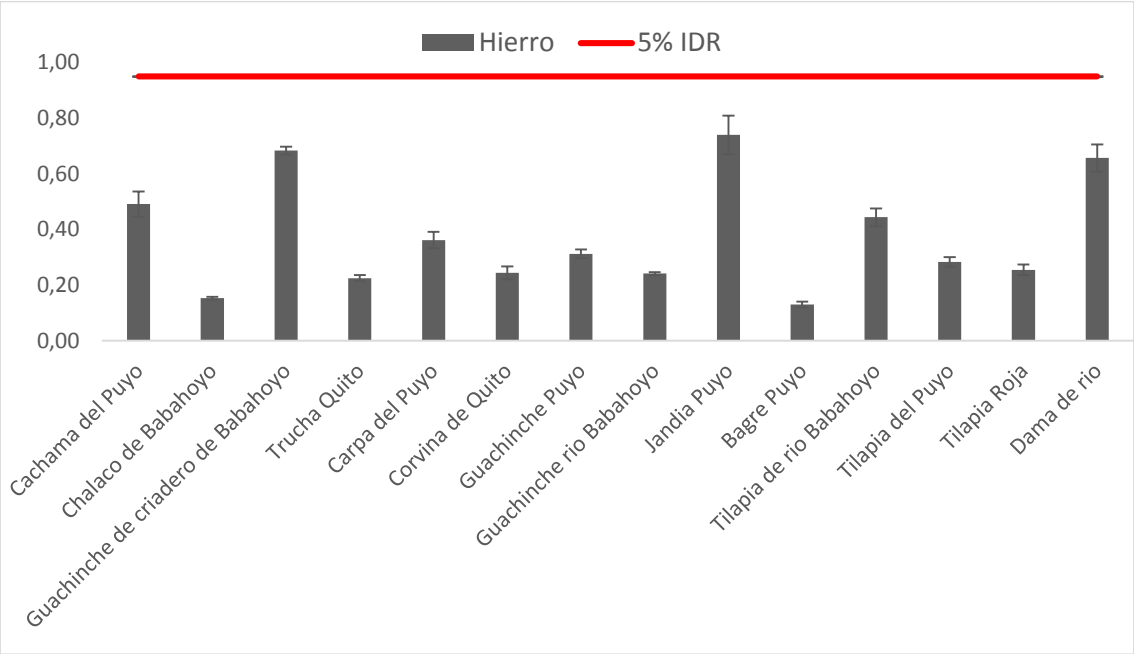


Figura 8. Contenido de hierro en pescados continentales ecuatorianos (mg Fe/100 g porción comestible)

Los pescados continentales ecuatorianos analizados no aportan una cantidad considerable de hierro, por si solos, ya que, en ningún caso el contenido de este metal alcanza a cubrir el 5 % de la ingesta diaria recomendada, que según la OMS es de 19 mg/día para mujeres, sin embargo, hay que considerar que la IDR para hombres es mucho menor, 10 mg/día y para mujeres embarazadas sube hasta 60 mg/día.

El contenido de hierro en las especies de pescados analizadas varía entre 0.15 y 0.74 mg/100g de porción comestible, siendo Jandia del Puyo seguida de Guachinche de criadero de Babahoyo y Dama de rio, los pescados con mayor cantidad de hierro en orden descendente. Estudios reportan concentraciones

más altas en especies de pescados marinos ecuatorianos porque se reporta que el contenido de hierro varía entre 0.79 y 5.31 mg/100g (Betancourt, 2017) y 1.65 a 6.40 mg/100g en pescados africanos (Mogobe et al., 2015), sin embargo, en estudios con pescados del Mar Mediterráneo se reportan concentraciones de hierro similares a las obtenidas en el presente trabajo, entre 0.33 a 0.8 mg/100g (Martínez et al., 2000).

Al realizar el análisis de grupos homogéneos adjunto en el Anexo 10, se diferencia el contenido de hierro en la Jandia del Puyo y el Guachinche de criadero, al de los otros pescados, ya que presentan una concentracion de hierro alta y significativamente diferente a la de las demás especies analizadas. Cabe mencionar que las dos variedades de Tilapia, la Tilapia Roja y la recolectada en el Puyo comparten un mismo grupo homogéneo, en otros términos, poseen cantidades de hierro que no son significativamente diferentes, sin embargo se observan las mismas diferencias significarivas entre especies de criadero y de río debidas a las condiciones de alimentacion, hábitat y comportamiento migratorio mencionado en puntos anteriores.

3.3 APORTE NUTRICIONAL DE MACRO Y MICROELEMENTOS

En los estudios de composición proximal de alimentos, la determinación de la cantidad de cenizas es un parámetro importante; en general, este contenido no presenta gran variación, ya que se mantiene entre 0.8 y 1.5 g/100g de porción comestible (Afonso et al., 2013; Fonseca & Chavarría, 2017), su importancia se dirige también a la identificación de posibles adulteraciones de alimentos con minerales como en el caso de productos lácteos con carbonatos, (Peralta, Maldonado, & Centeno, n.d.), sin embargo en el presente análisis proximal realizado se efectuó un estudio más profundo acerca de la composición de las cenizas para determinar los minerales presentes que se detalla en las Figuras 9 y 10.

El análisis proximal previo realizado por Rodríguez (2017) aporta información acerca del contenido de ceniza presente, este valor hace referencia a la cantidad de residuos inorgánicos posteriores a la calcinación de las muestras, es decir la cantidad de minerales. Se destaca que las especies con mayor contenido de cenizas son la Dama con 0.43 % y la Carpa con 0.42 %, consecuentemente con este reporte la cantidad de minerales encontrados en la Dama es alto, sin embargo, el Chalaco y la Corvina son las especies que le siguen en concentración, y no la Carpa, esta diferencia se puede deber a posibles volatilizaciones o pérdidas de elementos que se dan cuando la determinación de cenizas se hace en un sistema abierto.

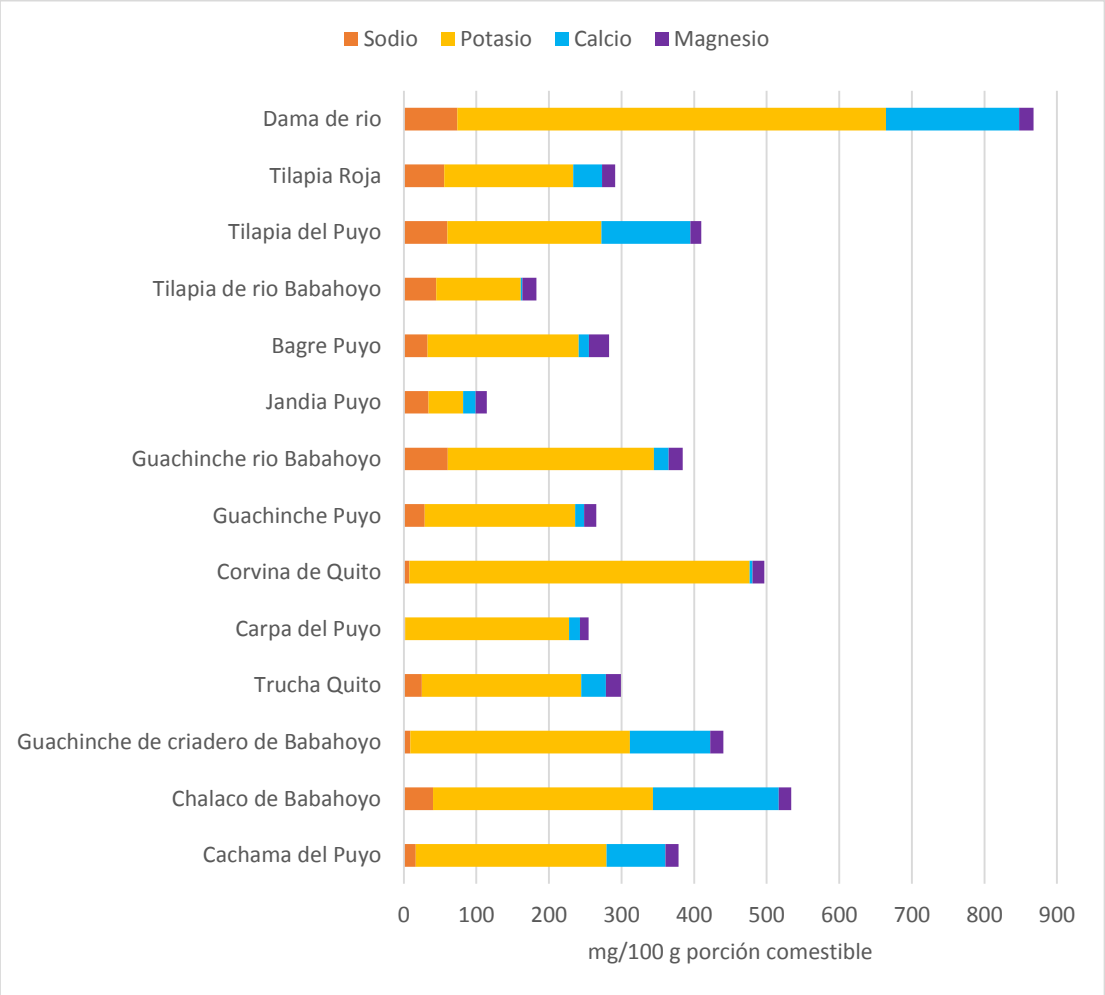


Figura 9. Miligramos de macro-elementos por cada 100 g de porción comestible de pescado

El contenido de sodio en las especies de pescados ecuatorianos continentales varía poco en comparación con el potasio y el calcio como se aprecia en la Figura 9, el magnesio se mantiene relativamente similar en las catorce especies de pescados continentales, como se indicó previamente en la Figura 4. De acuerdo a la FAO (1998), la composición química del pescado está estrechamente relacionada con la alimentación, desplazamiento migratorio y cambios sexuales relacionados con la época de desove, que depende de las estaciones del año. Esto se confirma al evidenciar las diferencias entre muestras de una misma especie recolectadas en diferentes locaciones geográficas, así como, al comparar entre especies silvestres y de criadero.

Sin embargo, el análisis de los minerales por separado no aporta gran información con respecto a su comportamiento en el organismo, por consiguiente, es necesario su estudio en conjunto. Según Zárate (2008) la relación entre sodio y potasio es crítica; el potasio es un catión intracelular que se encuentra en una relación de 38:1 entre el espacio intra y extra celular gracias al mecanismo basolateral de ATPasa de Na^+ y K^+ que es esencial en la regulación de la función neuromuscular. El funcionamiento de este mecanismo se ve alterado en problemas de salud como la insuficiencia cardíaca, enfermedad renal y cirrosis hepática.

Si el balance entre la cantidad de potasio intracelular y extracelular se altera, se pueden desarrollar algunas patologías; estudios demuestran que poblaciones con alimentación natural, con una ingesta de potasio tres veces mayor a la ingesta de sodio tienen una prevalencia de hipertensión menor al 3%, a diferencia de la alta incidencia en poblaciones industrializadas que mantienen una dieta en base de alimentos procesados, los cuales suministran una relación de potasio - sodio de 0.4. Por esta razón la OMS (2017) recomienda el consumo de alimentos ricos en potasio y bajos en sodio ya que se conoce que 32 % de muertes en el mundo son por problemas cardiovasculares.

Adicionalmente, existe una relación entre la bomba sodio-potasio ATPasa y el calcio, ya que su inhibición por déficit de potasio provoca un cambio en las membranas celulares y, por consiguiente, un intercambio de calcio entre interior y el exterior de las células descompensado. Algunas investigaciones recomiendan el consumo de potasio ya que evita la excreción urinaria de calcio y la resorción ósea después de un consumo excesivo de cloruro de sodio, además para mantener un adecuado equilibrio hidrosalino, y un óptimo metabolismo de hidratos de carbono. (Barragan, 2012; Zárate, 2008). Para alcanzar estas metas, se podría considerar dietas con pescados continentales ecuatorianos como la Cachama del Puyo (K:Na 16), Guachinche de criadero de Babahoyo (33), Trucha Quito (9), Carpa del Puyo (130), Corvina de Quito (60) y Dama de río (8), cuyas relaciones potasio – sodio son altas.

De igual forma, el estudio de calcio y magnesio requiere una evaluación en conjunto. Un índice de ingesta bajo refleja una relación directa con la incidencia de cáncer de colon y enfermedades coronarias y diabetes (Dai et al., 2007). Estudios médicos demuestran que la población de China presenta una ocurrencia de cáncer de colon menor a la de Norte América, y concluyen que el índice de ingesta de Ca/Mg es un indicador clave para determinar la incidencia de esta enfermedad ya que es muy diferente en las poblaciones estudiadas (Dai et al., 2013).

El calcio y el magnesio compiten directa o indirectamente por su absorción en el intestino y son antagonistas de forma natural, por lo que, aunque se cumpla con el consumo diario recomendado de Mg, éste debe mantener una relación a la ingesta de calcio no mayor a 1.7, para alcanzar un balance óptimo (Dai et al., 2007). Las especies de pescados continentales ecuatorianos que cumplen con una relación Ca:Mg menor a 1.7 son: Trucha Quito, Carpa del Puyo, Corvina de Quito, Guachinche Puyo, Guachinche rio Babahoyo, Jandia Puyo, Bagre Puyo y Tilapia de rio Babahoyo.

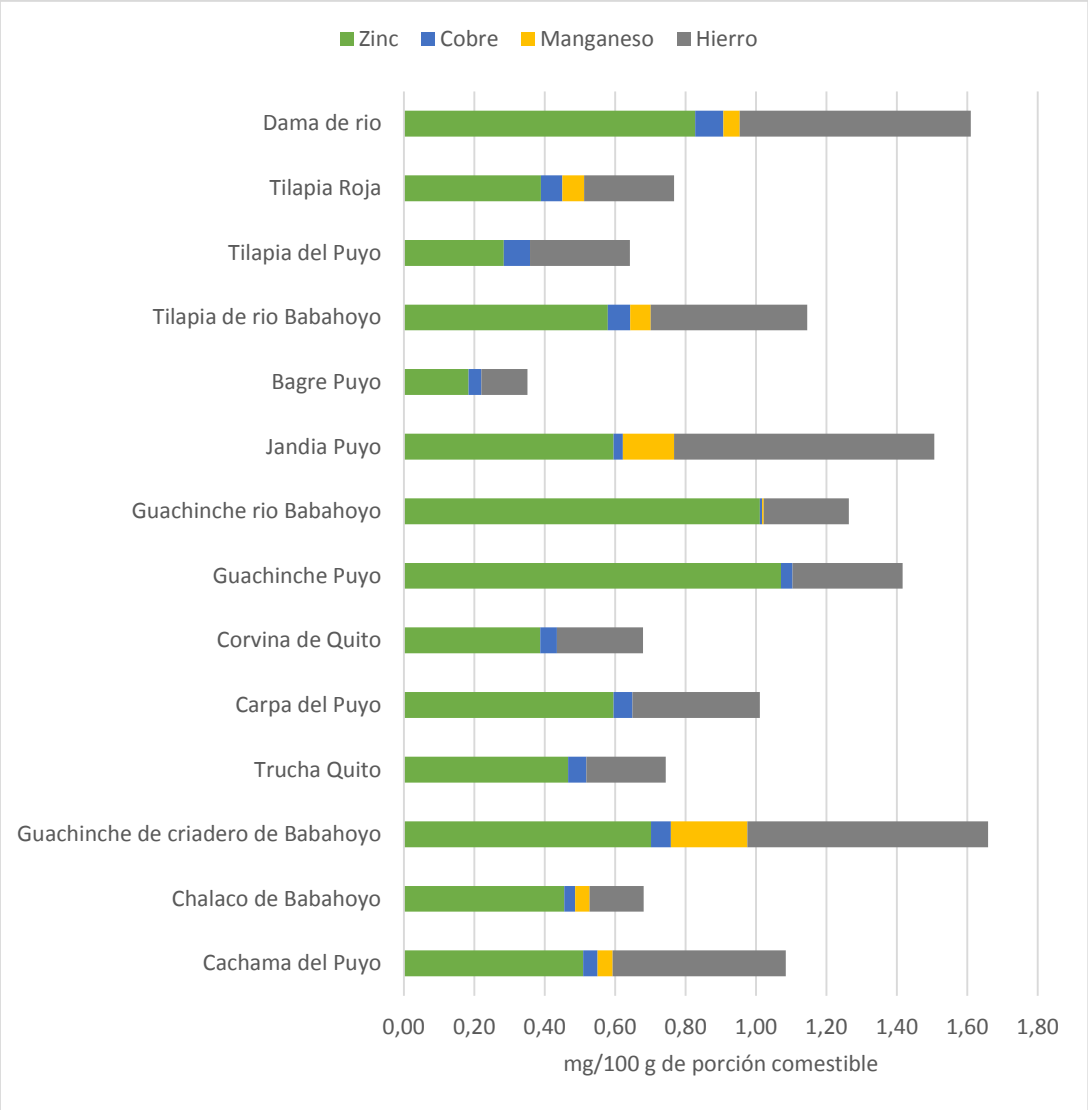


Figura 10. Miligramos de micro-elementos por cada 100 g de porción comestible de pescado

El análisis de micro elementos Zn, Cu, Mn y Fe detallado en el Figura 10 permite establecer que las especies con mayor contenido de micro elementos son la Dama de rio, el Guachinche de criadero de Babahoyo y la Jandia de Puyo ya que sus contenidos de hierro y zinc son altos y proporcionalmente similares, a diferencia de las dos variedades de Guachinche silvestres, tanto de Puyo como de Babahoyo, que presentan un contenido de zinc mayor a 1 mg/100g de porción comestible y bajo contenido de hierro.

De forma global, las especies de pescados continentales ecuatorianos que poseen un mejor potencial nutricional son la Carpa del Puyo, Corvina de Quito, Trucha, Guachinche y Dama, sin embargo, estos alimentos no hacen un aporte de minerales considerable por si solos, y deben complementarse con una dieta variada que permita alcanzar las ingestas diarias recomendadas y las relaciones Na:K y Ca:Mg mencionadas.

CONCLUSIONES

1. Se determinó el contenido de calcio, magnesio, hierro, zinc, sodio, potasio, cobre y manganeso en catorce especies de pescados continentales ecuatorianos satisfactoriamente con la técnica de espectrofotometría de absorción atómica de llama. Algunas especies analizadas proveen alrededor del 5 % de la ingesta diaria recomendada de cada mineral, a excepción de hierro.

2. Se determinó que la Dama de rio (*Brycon dentex*) es la especie de pescado con mayor contenido de sodio, potasio y calcio con 73.6, 591 y 184 mg/100g respectivamente, mientras que el Bagre (*Astroblepus ubidiai*) fue la especie con mayor contenido de Mg con 27.7 mg/100g.

3. En relación al contenido de micro-elementos, se encontró que, en 100 g de porción comestible, el Guachinche (*Hoplias microlepis*) recolectado en Puyo presenta mayor cantidad de zinc, 1.07 mg, la Dama de rio (*Brycon dentex*) mayor cantidad de cobre 0.08 mg, el Guachinche de criadero (*Hoplias microlepis*) recolectado en Babahoyo la mayor cantidad de manganeso 0.22 mg, y la Jandia del Puyo (*Rhamdia quelen*) mayor contenido de hierro, 0.74 mg.

4. Se evidenciaron interferencias debidas a efecto matriz en el análisis de sodio, potasio, calcio, magnesio, hierro y zinc. Al cambiar la cuantificación al método de emparejamiento de matriz *(Matrix-matched calibration*), los valores de recuperación y coeficientes de variación obtenidos con fortificaciones estuvieron en el rango aceptable para todos los metales, por lo que se puede asegurar la calidad de los resultados obtenidos.

5. Al efectuar la relación entre el aporte de K/Na y Ca/Mg, importantes indicadores nutricionales, se establece que las especies de pescados que poseen un mejor potencial nutricional son: Carpa, Corvina de río, Trucha, Guachinche y Dama. Estos pescados se podrían considerar como una fuente de alimento recomendada en pacientes con hipertensión arterial.

RECOMENDACIONES

Las curvas de calibración de calcio y magnesio utilizadas para la cuantificación deben ser preparadas en el momento del análisis o muy cercano al mismo, ya que se detectó un comportamiento inestable por su variación de pendiente, intercepto y coeficiente de correlación.

BIBLIOGRAFÍA

Afonso, C., Lourenço, H. M., Cardoso, C., Bandarra, N. M., Carvalho, M. L., Castro, M., & Nunes, M. L. (2013). From fish chemical characterisation to the benefit-risk assessment--part A. *Food Chemistry*, *137*(1–4), 99–107. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.014

AOAC. (2012). Guidelines for Standard Method Performance Requirements. *Association of Official Analytical Chemists Official Methods of Analysis*. Recuperado de http://www.eoma.aoac.org/app_f.pdf

Apuparo, E., & Sinchi, F. (2012). *Determinación de Macronutrientes en alimentos preparados con cárnicos y pescados más consumidos en la Ciudad de Cuenca*. (Disertación de pregrado). Universidad de Cuenca. Recuperado de http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2481/1/tq1124.pdf

Badui, S. (2006). *Química de los alimentos*. *Ed. Pearson educación*. https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004

Barragan, A. (2012). *Metabolismo Hidrosalino*. Recuperado de http://ebookcentral.proquest.com/lib/pucesp/reader.action?docID=3203844&query=relación+sodio+potasio+alimentos

Barriga, R. (2012). Lista de peces de agua dulce e intermareales del Ecuador. *Revista Politécnica*, *30*(3), 83–119. Recuperado de http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/5068/4/Peces agua dulce-intermareales Ecuador 2012Politecnica30%283%29.pdf

Bearez, P. (1996). Lista de los peces marinos del Ecuador continental, *44*(2).

Betancourt, G. (2017). *Determinación de hierro y zinc en diferentes especies de pescados de la costa ecuatorina por espectrofotometria de absorción atomica de llama (Disertación de pregrado)*. Pontificia Universidad Católica de Quito, Quito, Ecuador.

Brown, J. (2010). *Nutrición en las Diferentes Etapas de la Vida* (2nd ed.). México: McGRAW-HILL INTERAMERICANA.

Burges, A., & Glasauer, P. (2006). Guía de Nutrición de la Familia. *Ciencia*. Organización Mundial de la Salud Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, v. Recuperado de http://www.fao.org/3/a-y5740s/y5740s16.pdf

Ceirwyn, J. (1994). *Analytical chemistry of foods*. Springer US.

Counihan, C., & Van Esterik, P. (2013). Food and Culture A Reader. New York: Routledge.

Dai, Q., Shrubsole, M. J., Ness, R. M., Schlundt, D., Cai, Q., Smalley, W. E., … Zheng, W. (2007). The relation of magnesium and calcium intakes and a genetic polymorphism in the magnesium transporter to colorectal neoplasia risk. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *86*(3), 743–751. https://doi.org/10.1093/ajcn/86.3.743

Dai, Q., Shu, X.-O., Deng, X., Xiang, Y.-B., Li, H., Yang, G., … Zheng, W. (2013). Modifying effect of calcium/magnesium intake ratio and mortality: a population-based cohort study. *BMJ Open*, *3*(2), e002111. https://doi.org/10.1136/bmjopen-2012-002111

Duffau, B., Rojas, F., Guerrero, I., Roa, L., Rodríguez, L., Soto, M., … Sandoval, S. (2010). Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: Recuperado de http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2010/12/Guia Técnica 1 validación de Métodos y determinación de la incertidumbre de la medición_1.pdf

FAO. (1998). *El Pescado fresco su calidad y cambios de su calidad*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Recuperado de http://www.fao.org/docrep/V7180S/v7180s00.htm#Contents

FAO. (2001). *Definitions for the Purposes of the Codex Alimentarius*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Recuperado de http://www.fao.org/docrep/005/Y2200E/y2200e07.htm

FAO. (2012). NUTRICIÓN HUMANA EN EL MUNDO EN DESARROLLO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

Recuperado de http://www.fao.org/docrep/006/W0073S/w0073s00.htm#Contents

FAO. (2015). Macronutrientes y micronutrientes. *2015*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Recuperado de http://www.fao.org/elearning/Course/NFSLBC/es/story_content/external_files/Macronutrientes y micronutrientes.pdf

FAO & WHO. (2004). Vitamin and mineral requirements in human nutrition Second edition. *World Health Organization. Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Recuperado de http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42716/9241546123?sequence=1

FAO, & WHO. (2002). Human Vitamin and Mineral Requirements. Food and Agriculture Organization of the United Nations and the World Health Organisation. Recuperado de http://www.fao.org/docrep/004/y2809e/y2809e00.htm#Cont

Findley, A., & Tassell, V. (2015). Bathygobius andrei. The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T183545A8132311. Recuperado de http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-3.RLTS.T183545A8132311.en%0ACopyright:

Fonseca, C., & Chavarría, F. (2017). Composición proximal en algunas especies de pescado y mariscos. *Uniciencia*, *31*(1), 23–28. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15359/ru.31-1.3

Gokoglu, N., Yerlikaya, P., & Cengiz, E. (2004). Effects of cooking methods on the proximate composition and mineral contents of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). *Food Chemistry*, *84*(1), 19–22. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00161-4

Islam, M. N., & Joadder, M. A. R. (2005). Seasonal Variation of the Proximate Composition of Freshwater Gobi, Glossogobius giuris (Hamilton) from the River Padma. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *8*(4), 532–536.

Jiménes, P., Aguirre, W., Moncayo, E., Ronald, N., Nugra, F., Rebolledo, E., … Valdiviezo, J. (2015). *Guía de peces para aguas continentales en la vertiente occidental del Ecuador*. Esmeraldas, Ecuador: Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Esmeraldas (PUCESE); Universidad del Azuay

(UDA) y Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales (MECN) del Instituto Nacional de Biodiversidad.

Kościelniak, P., & Wieczorek, M. (2016). Univariate analytical calibration methods and procedures. A review. *Analytica Chimica Acta*, *944*, 14–28. https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.09.024

Kruve, A. (n.d.). 5.4 Quantitative estimation of matrix effect, recovery and process efficiency | Validation of liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS) methods (analytical chemistry) course. Recuperado de https://sisu.ut.ee/lcms_method_validation/54-quantitative-estimation-matrix-effect-recovery-process-efficiency

Manutsewee, N., Aeungmaitrepirom, W., Varanusupakul, P., & Imyim, A. (2007). Determination of Cd, Cu, and Zn in fish and mussel by AAS after ultrasound-assisted acid leaching extraction. *Food Chemistry*. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.033

Martínez, I., Periago, M., Santaella, M., & Ros, G. (2000). The content and nutritional signifcance of minerals on fish flesh in the presence and absence of bone. *Food Chemistry 71 (2000) 503-509*.

Maura Rayó, S. (1990). Los piensos en acuicultura. Recuperado de https://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_MG/MG_1990_10_90_58_60.pdf

Menéndez, Á., & Moreno, Á. (2017). *Aplicaciones industriales del calentamiento con energía microondas* (1° edición). Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi. Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=yoS7DgAAQBAJ&pg=PA310&lpg=PA310&dq=funcionamiento+del+microondas+.edu&source=bl&ots=BmFFgOEI6L&sig=YsB9-JUX76kqaaVM4d5iZ0YxSi8&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwit_prz99HaAhUCu1MKHUb-DKg4ChDoAQgkMAA#v=onepage&q=funcionamiento%25

Mogobe, O., Mosepele, K., & Masamba, W. (2015). Essential mineral content of common fish species in Chanoga, Okavango Delta, Botswana. *African Journal of Food Science*, *9*(9), 480–486. https://doi.org/0.5897/AJFS2015.1307

Moncayo, E. L., & Noboa, A. T. (2014). Lista de Peces continentales de la Cuenca del Río, 1–12. Recuperado de http://condor.depaul.edu/waguirre/fishwestec/lista_peces_guayasv2.pdf

Muñoz, G. T. (2011). Manual práctico de Quimiometría. Recuperado de http://www.compostandociencia.com

Olmedo, P., Hernández, A. F., Pla, A., Femia, P., Navas-Acien, A., & Gil, F. (2013). Determination of essential elements (copper, manganese, selenium and zinc) in fish and shellfish samples. Risk and nutritional assessment and mercury-selenium balance. *Food and Chemical Toxicology*, *62*, 299–307. https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.08.076

OMS. (2017). Reducir la ingesta de sodio para reducir la tensión arterial y el riesgo de enfermedades cardiovasculares en adultos. *World Health Organization*. Recuperado de http://www.who.int/elena/titles/sodium_cvd_adults/es/

Peralta, F., Maldonado, E., & Centeno, M. (n.d.). MANUAL DE PRÁCTICAS DE LOS LABORATORIOS DE ALIMENTOS. *Universidad Juárez Autónoma de Tabasco*. Recuperado de http://www.archivos.ujat.mx/2015/div_rios/MP-DAMR-LBR-R01.pdf

Psoma, A. K., Pasias, I. N., Rousis, N. I., Barkonikos, K. A., & Thomaidis, N. S. (2014). Development, validation and accreditation of a method for the determination of Pb, Cd, Cu and As in seafood and fish feed samples. *Food Chemistry*, *151*, 72–78. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.045

Rittenschober, D., Stadlmayr, B., Nowak, V., Du, J., & Charrondiere, U. R. (2016). Report on the development of the FAO/INFOODS user database for fish and shellfish (uFiSh) - Challenges and possible solutions. *Food Chemistry*, *193*, 112–120. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.055

Rodríguez, E. (2017). *Análisis proximal de pescados continentales de mayor consumo humano en Ecuador*. (Disertación de pregrado) Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.

Rojas, L. M., Mata, C., Oliveros, A., & Salazar-Lugo, R. (2013). Histología de branquias, hígado y riñón de juveniles del pez neotropical Colossoma macropomum (Characiformes, Characidae) expuesto a tres temperaturas. *Revista de Biologia Tropical*, *61*(2), 797–806.

Skoog, Holler, J., & Nieman, T. (2001). *Principios de análisis instrumental* (5 edición). Madrid: McGRAW-HILL INTERAMERICANA.

Smith, J., Sones, K., Grace, D., MacMillan, S., Tarawali, S., Herrero, M., & Thompson, B. (2013). Combating Iron Deficiency: Food-based Approaches. *Animal Frontiers*, *3*(1), 268–288. https://doi.org/10.2527/af.2013-0002

Vargas, E. (2017). *Determinación del perfil de ácidos grasos en pescados de agua dulce comercializados en Ecuador*. (Disertación de pregrado) Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.

Zárate, L. (2008). *Sodio & Potasio en busca del equilibreio*. Fundación chilena de hipertensión arterial misión. https://doi.org/http://www.sochob.cl/pdf/Libro%20Sodio%20y%20Potasio%20En%20busca%20del%20Equilibrio.pdf

ANEXOS

Anexo 1: Cálculo de fortificaciones

Fortificación a nivel medio de Ca:

Target 352,5 mg/kg

0.5 mg de pescado se fortifica con 0.17 mg de Ca

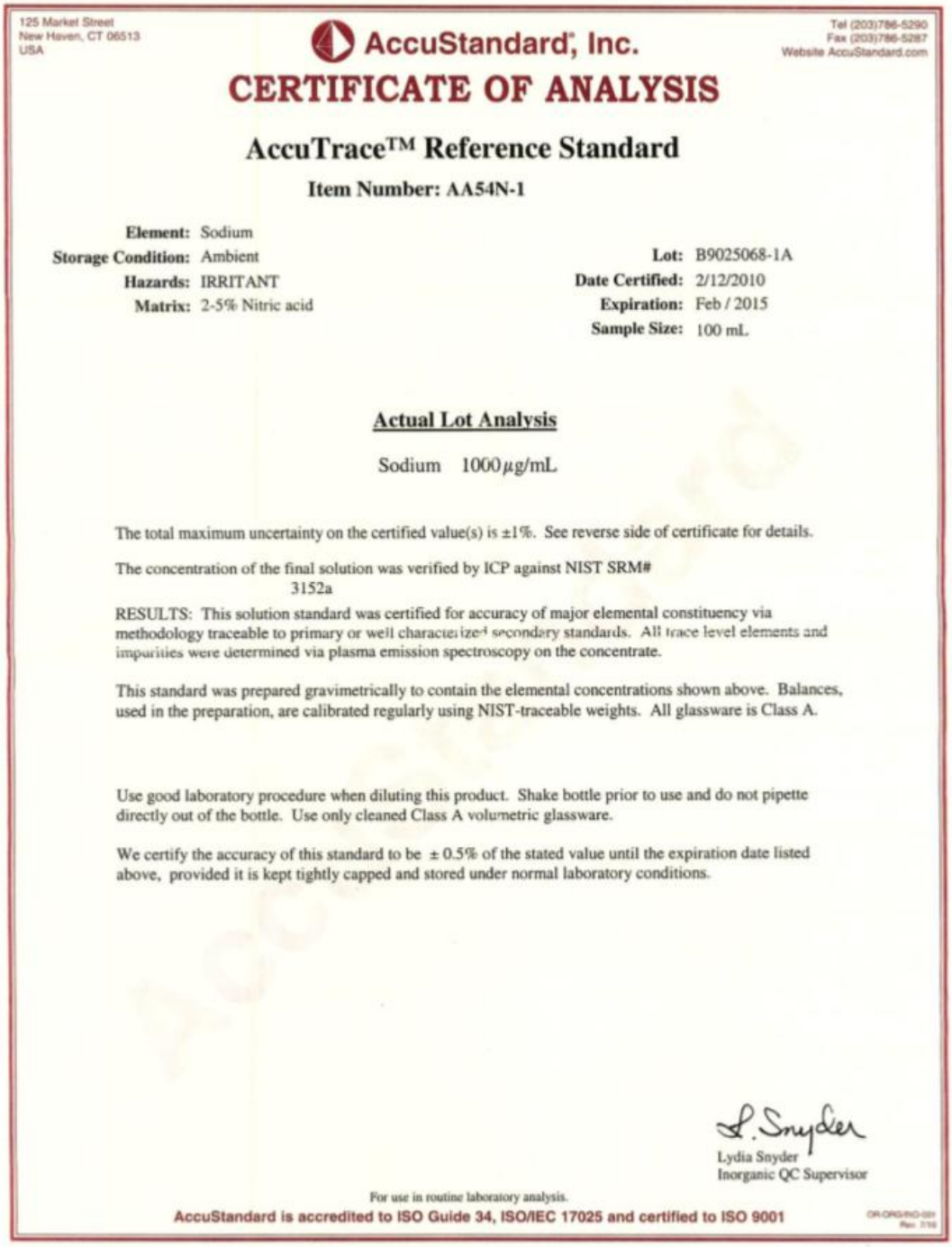
Muestra (g)	Fortificación, concentración de analito adicionada a la muestra enriquecida (mg/kg)	Concentración reportada por el instrumento (mg/L)	Concentración de analito en la muestra (mg/kg)	Concentración de analito medida en la muestra original (mg/kg)	Porcentaje de recuperación
	Ca	C	Ce	Co	% R
0,5055	336	0,639	632,05		88,9
0,5063	336	0,651	642,90	333	92,3
0,504	337	0,673	667,66		99,2

$$\boldsymbol{Fortificación} = \frac{\mathbf{0.17}\ \boldsymbol{mg} * \mathbf{1000}}{\boldsymbol{Muestra}\ (\boldsymbol{g})}$$

$$\boldsymbol{Ce} = \frac{\boldsymbol{C} * \boldsymbol{fd} * \mathbf{50}}{\boldsymbol{Muestra}\ (\boldsymbol{g})}$$

$$\%\ \boldsymbol{R}\ = \frac{(\boldsymbol{Ce} - \boldsymbol{Co})}{\boldsymbol{Ca}}\boldsymbol{x100}$$

Anexo 2: Certificado estándar de sodio



125 Market Street
New Haven, CT 06513
USA

AccuStandard®, Inc.

Tel (203)786-5290
Fax (203)786-5287
Website AccuStandard.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

AccuTrace™ Reference Standard

Item Number: AA54N-1

Element: Sodium
Storage Condition: Ambient
Hazards: IRRITANT
Matrix: 2-5% Nitric acid

Lot: B9025068-1A
Date Certified: 2/12/2010
Expiration: Feb / 2015
Sample Size: 100 mL

Actual Lot Analysis

Sodium 1000 µg/mL

The total maximum uncertainty on the certified value(s) is ±1%. See reverse side of certificate for details.

The concentration of the final solution was verified by ICP against NIST SRM# 3152a

RESULTS: This solution standard was certified for accuracy of major elemental constituency via methodology traceable to primary or well characterized secondary standards. All trace level elements and impurities were determined via plasma emission spectroscopy on the concentrate.

This standard was prepared gravimetrically to contain the elemental concentrations shown above. Balances, used in the preparation, are calibrated regularly using NIST-traceable weights. All glassware is Class A.

Use good laboratory procedure when diluting this product. Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only cleaned Class A volumetric glassware.

We certify the accuracy of this standard to be ± 0.5% of the stated value until the expiration date listed above, provided it is kept tightly capped and stored under normal laboratory conditions.

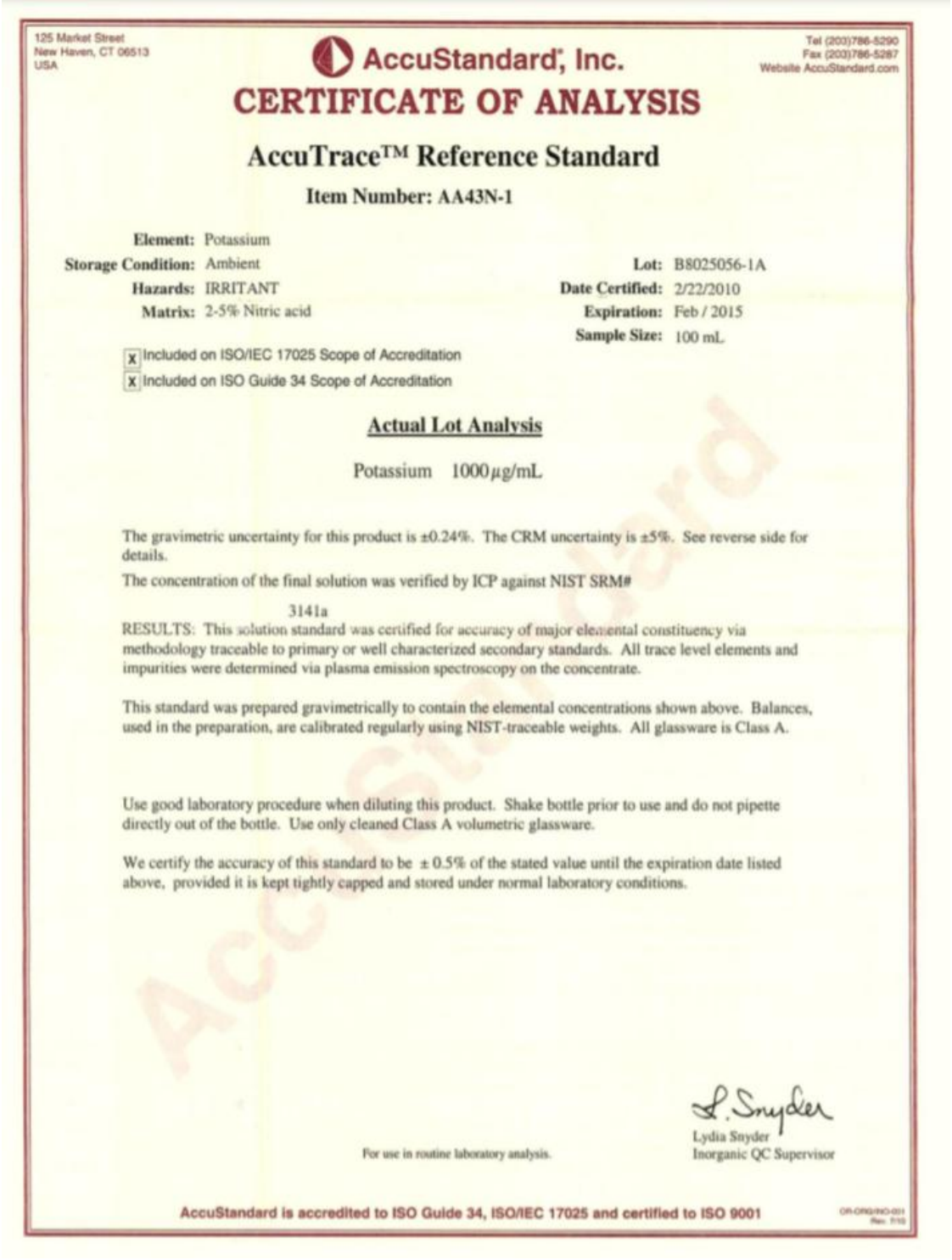
L. Snyder

Lydia Snyder
Inorganic QC Supervisor

For use in routine laboratory analysis.

AccuStandard is accredited to ISO Guide 34, ISO/IEC 17025 and certified to ISO 9001

Anexo 3: Certificado estándar de potasio



125 Market Street
New Haven, CT 06513
USA

AccuStandard, Inc.

Tel (203)786-5290
Fax (203)786-5287
Website AccuStandard.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

AccuTrace™ Reference Standard

Item Number: AA43N-1

Element: Potassium
Storage Condition: Ambient
Hazards: IRRITANT
Matrix: 2-5% Nitric acid

Lot: B8025056-1A
Date Certified: 2/22/2010
Expiration: Feb / 2015
Sample Size: 100 mL

[X] Included on ISO/IEC 17025 Scope of Accreditation
[X] Included on ISO Guide 34 Scope of Accreditation

Actual Lot Analysis

Potassium 1000 µg/mL

The gravimetric uncertainty for this product is ±0.24%. The CRM uncertainty is ±5%. See reverse side for details.

The concentration of the final solution was verified by ICP against NIST SRM# 3141a

RESULTS: This solution standard was certified for accuracy of major elemental constituency via methodology traceable to primary or well characterized secondary standards. All trace level elements and impurities were determined via plasma emission spectroscopy on the concentrate.

This standard was prepared gravimetrically to contain the elemental concentrations shown above. Balances, used in the preparation, are calibrated regularly using NIST-traceable weights. All glassware is Class A.

Use good laboratory procedure when diluting this product. Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only cleaned Class A volumetric glassware.

We certify the accuracy of this standard to be ± 0.5% of the stated value until the expiration date listed above, provided it is kept tightly capped and stored under normal laboratory conditions.

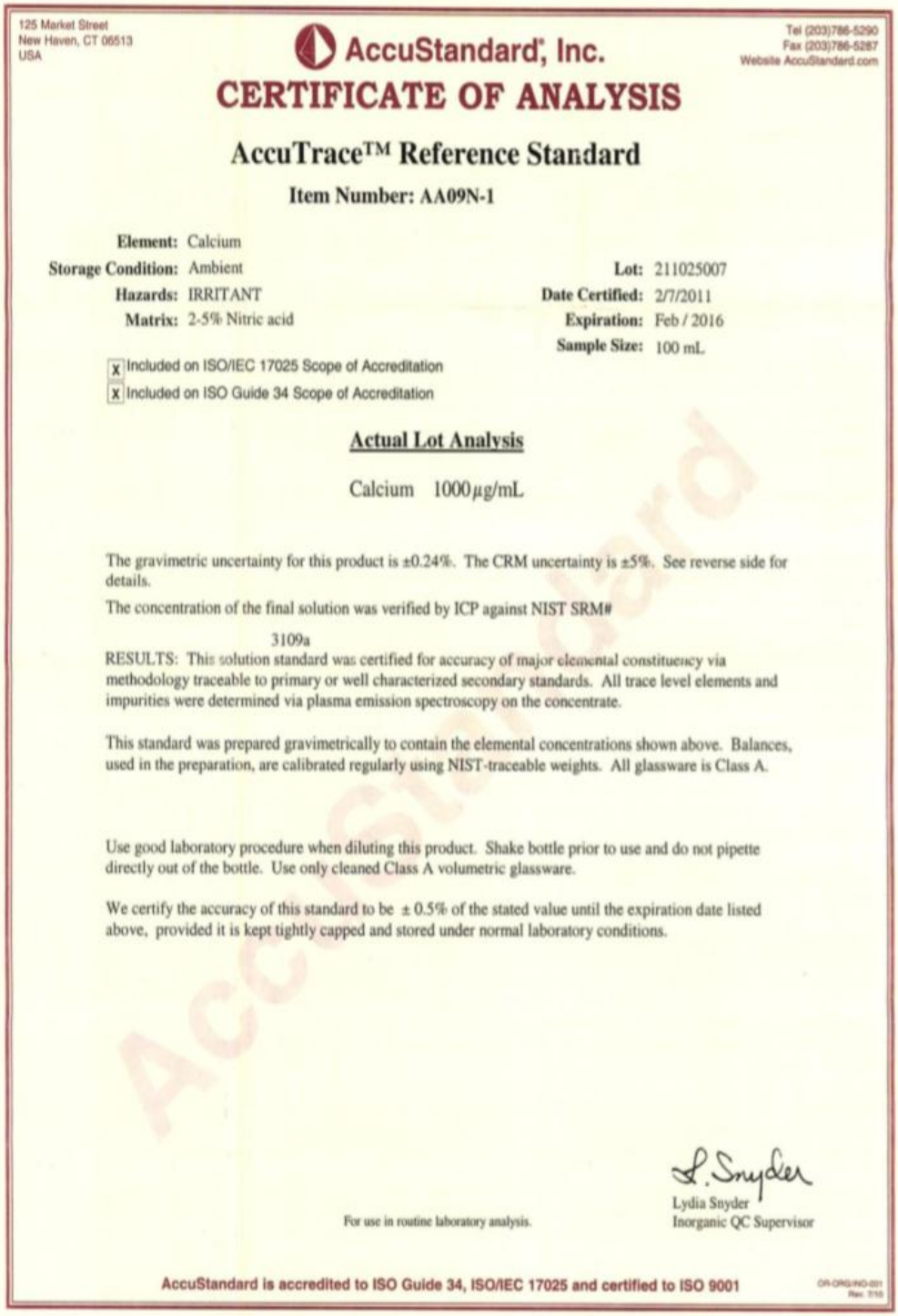
L. Snyder

Lydia Snyder
Inorganic QC Supervisor

For use in routine laboratory analysis.

AccuStandard is accredited to ISO Guide 34, ISO/IEC 17025 and certified to ISO 9001

Anexo 4: Certificado estándar de calcio



125 Market Street
New Haven, CT 06513
USA

AccuStandard, Inc.

Tel (203)786-5290
Fax (203)786-5287
Website AccuStandard.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

AccuTrace™ Reference Standard

Item Number: AA09N-1

Element: Calcium
Storage Condition: Ambient
Hazards: IRRITANT
Matrix: 2-5% Nitric acid

Lot: 211025007
Date Certified: 2/7/2011
Expiration: Feb / 2016
Sample Size: 100 mL

[x] Included on ISO/IEC 17025 Scope of Accreditation
[x] Included on ISO Guide 34 Scope of Accreditation

Actual Lot Analysis

Calcium 1000 µg/mL

The gravimetric uncertainty for this product is ±0.24%. The CRM uncertainty is ±5%. See reverse side for details.

The concentration of the final solution was verified by ICP against NIST SRM# 3109a

RESULTS: This solution standard was certified for accuracy of major elemental constituency via methodology traceable to primary or well characterized secondary standards. All trace level elements and impurities were determined via plasma emission spectroscopy on the concentrate.

This standard was prepared gravimetrically to contain the elemental concentrations shown above. Balances, used in the preparation, are calibrated regularly using NIST-traceable weights. All glassware is Class A.

Use good laboratory procedure when diluting this product. Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only cleaned Class A volumetric glassware.

We certify the accuracy of this standard to be ± 0.5% of the stated value until the expiration date listed above, provided it is kept tightly capped and stored under normal laboratory conditions.

L. Snyder

Lydia Snyder
Inorganic QC Supervisor

For use in routine laboratory analysis.

AccuStandard is accredited to ISO Guide 34, ISO/IEC 17025 and certified to ISO 9001

OR-ORG/INO-001
Rev. 7/10

Anexo 5: Certificado estándar de magnesio

125 Market Street
New Haven, CT 06513
USA

Tel (203)786-5290
Fax (203)786-5287
Website AccuStandard.com

AccuStandard, Inc.

CERTIFICATE OF ANALYSIS

AccuTrace™ Reference Standard

Item Number: AA32N-1

Element: Magnesium
Storage Condition: Ambient
Hazards: IRRITANT
Matrix: 2-5% Nitric acid

Lot: 211025061
Date Certified: 2/17/2011
Expiration: Feb / 2016
Sample Size: 100 mL

[X] Included on ISO/IEC 17025 Scope of Accreditation
[X] Included on ISO Guide 34 Scope of Accreditation

Actual Lot Analysis

Magnesium 1000 µg/mL

The gravimetric uncertainty for this product is ±0.24%. The CRM uncertainty is ±5%. See reverse side for details.

The concentration of the final solution was verified by ICP against NIST SRM# 3131a

RESULTS: This solution standard was certified for accuracy of major elemental constituency via methodology traceable to primary or well characterized secondary standards. All trace level elements and impurities were determined via plasma emission spectroscopy on the concentrate.

This standard was prepared gravimetrically to contain the elemental concentrations shown above. Balances, used in the preparation, are calibrated regularly using NIST-traceable weights. All glassware is Class A.

Use good laboratory procedure when diluting this product. Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only cleaned Class A volumetric glassware.

We certify the accuracy of this standard to be ± 0.5% of the stated value until the expiration date listed above, provided it is kept tightly capped and stored under normal laboratory conditions.

L. Snyder
Lydia Snyder
Inorganic QC Supervisor

For use in routine laboratory analysis.

AccuStandard is accredited to ISO Guide 34, ISO/IEC 17025 and certified to ISO 9001

OR-ORG/INO-001
Rev. 7/10

AccuStandard

Anexo 6: Certificado estándar de zinc

125 Market Street
New Haven, CT 06513
USA

Tel (203)786-5290
Fax (203)786-5287
www.AccuStandard.com

AccuStandard® Inc.

CERTIFICATE OF ANALYSIS

AccuTrace™ Reference Standard

Item Number: AA70N-1

Element: Zinc
Storage Condition: Ambient
Hazards: IRRITANT
Matrix: 2-5% Nitric acid

Lot: 211025060
Date Certified: 2/28/2011
Expiration: Feb / 2016
Sample Size: 100 mL

[x] Included on ISO/IEC 17025 Scope of Accreditation
[x] Included on ISO Guide 34 Scope of Accreditation

Actual Lot Analysis

Zinc 1000 µg/mL

The gravimetric uncertainty for this product is ±0.24%. The CRM uncertainty is ±5%. See reverse side for details.

The concentration of the final solution was verified by ICP against NIST SRM# 3168a

RESULTS: This solution standard was certified for accuracy of major elemental constituency via methodology traceable to primary or well characterized secondary standards. All trace level elements and impurities were determined via plasma emission spectroscopy on the concentrate.

This standard was prepared gravimetrically to contain the elemental concentrations shown above. Balances, used in the preparation, are calibrated regularly using NIST traceable weights. All glassware is Class A.

Use good laboratory procedure when diluting this product. Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only cleaned Class A volumetric glassware.

We certify the accuracy of this standard to be ± 0.5% of the stated value until the expiration date listed above, provided it is kept tightly capped and stored under normal laboratory conditions.

L. Snyder

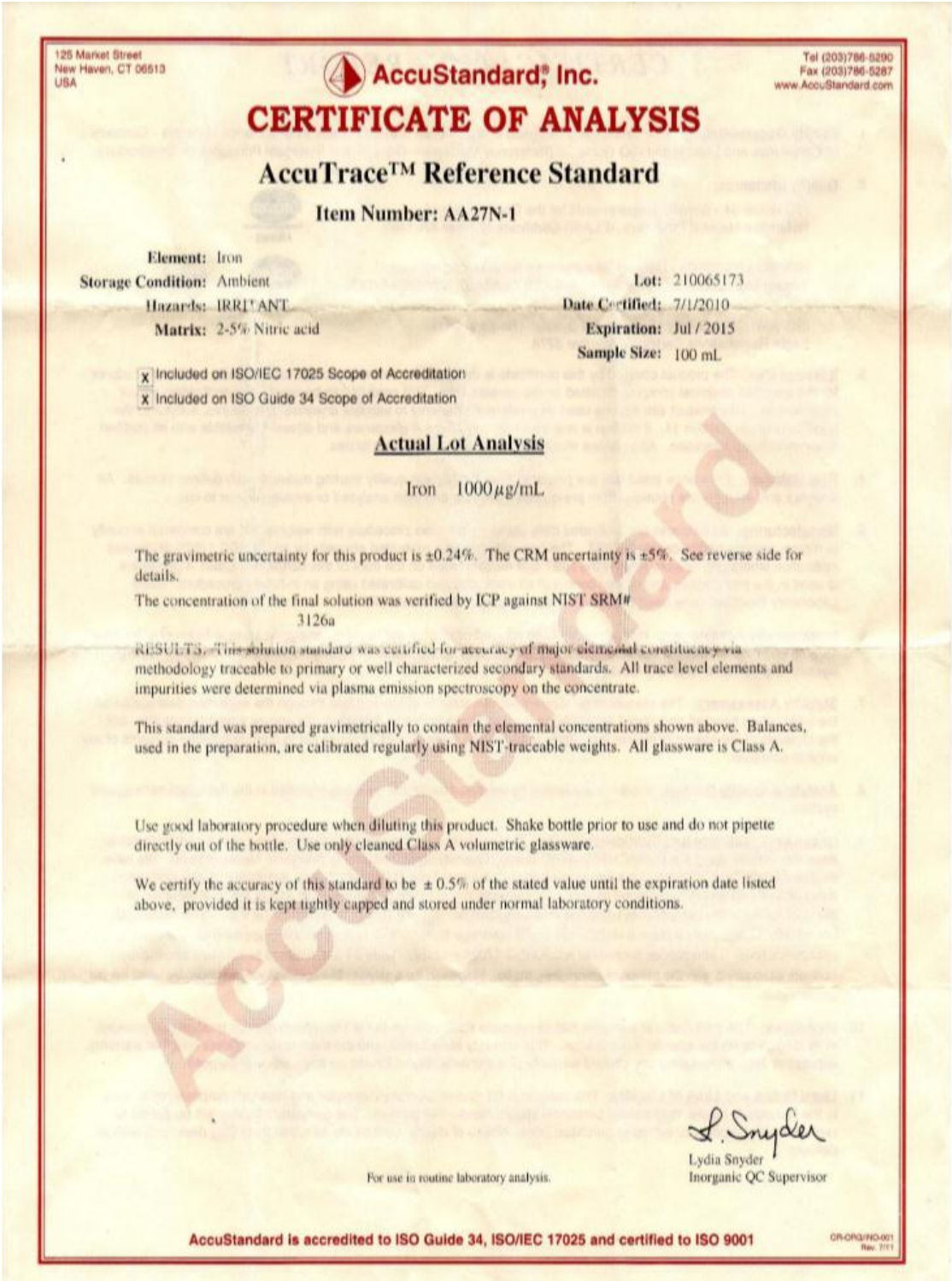
Lydia Snyder
Inorganic QC Supervisor

For use in routine laboratory analysis.

AccuStandard is accredited to ISO Guide 34, ISO/IEC 17025 and certified to ISO 9001

AccuStandard

Anexo 7: Certificado estándar de hierro



125 Market Street
New Haven, CT 06513
USA

AccuStandard, Inc.

Tel (203)786-5290
Fax (203)786-5287
www.AccuStandard.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

AccuTrace™ Reference Standard

Item Number: AA27N-1

Element: Iron
Storage Condition: Ambient
Hazards: IRRITANT
Matrix: 2-5% Nitric acid

Lot: 210065173
Date Certified: 7/1/2010
Expiration: Jul / 2015
Sample Size: 100 mL

[x] Included on ISO/IEC 17025 Scope of Accreditation
[x] Included on ISO Guide 34 Scope of Accreditation

Actual Lot Analysis

Iron 1000 µg/mL

The gravimetric uncertainty for this product is ±0.24%. The CRM uncertainty is ±5%. See reverse side for details.

The concentration of the final solution was verified by ICP against NIST SRM# 3126a

RESULTS: This solution standard was certified for accuracy of major elemental constituency via methodology traceable to primary or well characterized secondary standards. All trace level elements and impurities were determined via plasma emission spectroscopy on the concentrate.

This standard was prepared gravimetrically to contain the elemental concentrations shown above. Balances, used in the preparation, are calibrated regularly using NIST-traceable weights. All glassware is Class A.

Use good laboratory procedure when diluting this product. Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only cleaned Class A volumetric glassware.

We certify the accuracy of this standard to be ± 0.5% of the stated value until the expiration date listed above, provided it is kept tightly capped and stored under normal laboratory conditions.

L. Snyder

Lydia Snyder
Inorganic QC Supervisor

For use in routine laboratory analysis.

AccuStandard is accredited to ISO Guide 34, ISO/IEC 17025 and certified to ISO 9001

AccuStandard

Anexo 8: Certificado estándar de cobre

125 Market Street
New Haven, CT 06513
USA

Tel (203)786-5290
Fax (203)786-5287
Website AccuStandard.com

AccuStandard, Inc.

CERTIFICATE OF ANALYSIS

AccuTrace™ Reference Standard

Item Number: AA15N-1

Element: Copper
Storage Condition: Ambient
Hazards: IRRITANT
Matrix: 2-5% Nitric acid

Density: 1.013 g/mL
Lot: 210105108
Date Certified: 11/4/2010
Expiration: Nov / 2015
Sample Size: 100 mL

[X] Included on ISO/IEC 17025 Scope of Accreditation
[X] Included on ISO Guide 34 Scope of Accreditation

Actual Lot Analysis

Copper 1000 µg/mL

The gravimetric uncertainty for this product is ±0.24%. The CRM uncertainty is ±5%. See reverse side for details.

The concentration of the final solution was verified by ICP against NIST SRM# 3114

RESULTS: This solution standard was certified for accuracy of major elemental constituency via methodology traceable to primary or well characterized secondary standards. All trace level elements and impurities were determined via plasma emission spectroscopy on the concentrate.

This standard was prepared gravimetrically to contain the elemental concentrations shown above. Balances, used in the preparation, are calibrated regularly using NIST-traceable weights. All glassware is Class A.

Use good laboratory procedure when diluting this product. Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only cleaned Class A volumetric glassware.

We certify the accuracy of this standard to be ± 0.5% of the stated value until the expiration date listed above, provided it is kept tightly capped and stored under normal laboratory conditions.

L. Snyder

Lydia Snyder
Inorganic QC Supervisor

For use in routine laboratory analysis.

AccuStandard is accredited to ISO Guide 34, ISO/IEC 17025 and certified to ISO 9001

OR-ORG/INO-001
Rev. 7/10

AccuStandard

Anexo 9: Certificado estándar de manganeso

125 Market Street
New Haven, CT 06513
USA

AccuStandard, Inc.

Tel (203)786-5290
Fax (203)786-5287
Website AccuStandard.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

AccuTrace™ Reference Standard

Item Number: AA33N-1

Element: Manganese
Storage Condition: Ambient
Hazards: IRRITANT
Matrix: 2-5% Nitric acid

Lot: 210105106
Date Certified: 10/28/2010
Expiration: Oct / 2015
Sample Size: 100 mL

[X] Included on ISO/IEC 17025 Scope of Accreditation
[X] Included on ISO Guide 34 Scope of Accreditation

Actual Lot Analysis

Manganese 1000 µg/mL

The gravimetric uncertainty for this product is ±0.24%. The CRM uncertainty is ±5%. See reverse side for details.

The concentration of the final solution was verified by ICP against NIST SRM# 3132

RESULTS: This solution standard was certified for accuracy of major elemental constituency via methodology traceable to primary or well characterized secondary standards. All trace level elements and impurities were determined via plasma emission spectroscopy on the concentrate.

This standard was prepared gravimetrically to contain the elemental concentrations shown above. Balances, used in the preparation, are calibrated regularly using NIST-traceable weights. All glassware is Class A.

Use good laboratory procedure when diluting this product. Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only cleaned Class A volumetric glassware.

We certify the accuracy of this standard to be ± 0.5% of the stated value until the expiration date listed above, provided it is kept tightly capped and stored under normal laboratory conditions.

L. Snyder
Lydia Snyder
Inorganic QC Supervisor

For use in routine laboratory analysis.

AccuStandard is accredited to ISO Guide 34, ISO/IEC 17025 and certified to ISO 9001

OR-ORG/INO-001
Rev. 7/10

AccuStandard

Anexo 10: Pruebas de Rangos Múltiples

Pruebas de Múltiple Rangos para Na por Pescados

Método: 95.0 porcentaje LSD

Pescados	*Casos*	*Media*	*Grupos Homogéneos*
Carpa (PUY)	3	85.3333	X
Corvina (UIO)	3	338.333	X
Guachinche de criadero (BAB)	3	437.667	X
Cachama (PUY)	3	803.333	X
Trucha (UIO)	3	919.333	XX
Bagre (PUY)	3	1131.0	XX
Guachinche (PUY)	3	1246.67	X
Jandia (PUY)	3	1499.33	X
Chalaco (BAB)	3	2044.0	X
Tilapia de rio (BAB)	2	2072.5	X
Tilapia (PUY)	3	2477.67	X
Tilapia Roja	3	2562.0	X
Dama de rio	3	2634.67	X
Guachinche (BAB)	3	2967.67	X

Pruebas de Múltiple Rangos para K por Pescados

Método: 95.0 porcentaje LSD

Pescados	*Casos*	*Media*	*Grupos Homogéneos*
Jandia (PUY)	3	2102.67	X
Tilapia de rio (BAB)	3	5436.33	X
Bagre (PUY)	3	7234.67	X
Tilapia Roja	3	8183.67	X
Trucha (UIO)	3	8185.0	X
Tilapia (PUY)	3	8775.67	X
Guachinche (PUY)	3	8904.67	X
Carpa (PUY)	3	11091.3	X
Cachama (PUY)	3	12845.0	X
Guachinche (BAB)	3	13882.0	X
Guachinche de criadero (BAB)	3	14686.3	X
Chalaco (BAB)	3	15354.0	X
Corvina (UIO)	3	20641.0	X
Dama de rio	3	21144.0	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Ca por Pescados

Método: 95.0 porcentaje LSD

Pescados	*Casos*	*Media*	*Grupos Homogéneos*
Tilapia de rio (BAB)	3	106.333	X
Corvina (UIO)	3	176.0	X
Bagre (PUY)	3	481.667	X
Guachinche (PUY)	3	535.333	X
Carpa (PUY)	3	748.0	X
Jandia (PUY)	3	762.333	X
Guachinche (BAB)	3	994.667	X
Trucha (UIO)	3	1261.0	X
Tilapia Roja	3	1831.67	X
Cachama (PUY)	3	3959.67	X
Tilapia (PUY)	3	5068.0	X
Guachinche de criadero (BAB)	3	5391.67	X
Dama de rio	3	6572.67	X
Chalaco (BAB)	3	8788.0	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Mg por Pescados

Método: 95.0 porcentaje LSD

Pescados	*Casos*	*Media*	*Grupos Homogéneos*
Carpa (PUY)	3	587.333	X
Tilapia (PUY)	3	619.667	X
Jandia (PUY)	3	667.667	X
Corvina (UIO)	3	701.0	X
Dama de rio	3	708.667	X
Guachinche (PUY)	3	722.333	X
Trucha (UIO)	3	766.0	X
Tilapia Roja	3	828.667	X
Guachinche de criadero (BAB)	3	863.667	X
Chalaco (BAB)	3	868.667	XX
Cachama (PUY)	3	895.0	X
Tilapia de rio (BAB)	3	897.0	X
Guachinche (BAB)	3	929.0	X
Bagre (PUY)	3	961.667	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Fe por Pescados

Método: 95.0 porcentaje LSD

Pescados	*Casos*	*Media*	*Grupos Homogéneos*
Bagre (PUY)	3	4.52333	X
Chalaco (BAB)	3	7.74667	X
Trucha (UIO)	3	8.38667	X
Corvina (UIO)	3	10.74	X
Tilapia (PUY)	3	11.7167	XX
Tilapia Roja	3	11.7367	XX
Guachinche (BAB)	3	11.8067	XX
Guachinche (PUY)	3	13.4533	X
Carpa (PUY)	3	17.7833	X
Tilapia de rio (BAB)	3	20.6867	X
Dama de rio	3	23.52	X
Cachama (PUY)	3	23.9967	X
Jandia (PUY)	3	32.5967	X
Guachinche de criadero (BAB)	3	33.1933	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Cu por Pescados

Método: 95.0 porcentaje LSD

Pescados	*Casos*	*Media*	*Grupos Homogéneos*
Guachinche (BAB)	2	0.35	X
Jandia (PUY)	2	1.19	X
Bagre (PUY)	2	1.285	X
Guachinche (PUY)	3	1.41	X
Chalaco (BAB)	2	1.55	X
Trucha (UIO)	3	1.93	X
Cachama (PUY)	2	1.975	X
Corvina (UIO)	3	2.09333	X
Carpa (PUY)	3	2.62	X
Guachinche de criadero (BAB)	3	2.72667	X
Tilapia Roja	3	2.77	XX
Dama de rio	3	2.86	XX
Tilapia de rio (BAB)	3	2.93333	XX
Tilapia (PUY)	3	3.08667	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Zn por Pescados

Método: 95.0 porcentaje LSD

Pescados	*Casos*	*Media*	*Grupos Homogéneos*
Bagre (PUY)	3	6.26	X
Tilapia (PUY)	3	11.9133	X
Trucha (UIO)	3	17.0533	X
Tilapia Roja	3	17.4867	X
Corvina (UIO)	3	17.8633	X
Chalaco (BAB)	3	23.5833	X
Tilapia de rio (BAB)	3	26.3567	XX
Cachama (PUY)	3	26.4867	XX
Jandia (PUY)	2	27.47	XX
Carpa (PUY)	3	29.8733	X
Dama de rio	3	30.52	X
Guachinche de criadero (BAB)	3	36.06	X
Guachinche (PUY)	3	44.1867	X
Guachinche (BAB)	3	48.2533	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Mn por Pescados

Método: 95.0 porcentaje LSD

Pescados	*Casos*	*Media*	*Grupos Homogéneos*
Corvina (UIO)	3	0	X
Guachinche (PUY)	3	0	X
Tilapia (PUY)	3	0	X
Bagre (PUY)	3	0	X
Carpa (PUY)	3	0	X
Trucha (UIO)	3	0	X
Guachinche (BAB)	2	0.15	XX
Dama de rio	2	0.995	X
Chalaco (BAB)	3	2.1	X
Cachama (PUY)	3	2.11	X
Tilapia de rio (BAB)	3	2.73667	XX
Tilapia Roja	3	2.86667	X
Jandia (PUY)	3	6.38	X
Guachinche de criadero (BAB)	3	10.5667	X