



**Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud  
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

**TESIS**

**“DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE ÁCIDO ASCORBICO EN  
JUGOS DE NARANJA ENVASADOS”**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**BACHILLER: CALLATA CHINO SOLEDAD**

**ASESOR: MG. COSTILLA GARCIA EDGARD LUIS**

**LIMA – PERÚ**

**2016**

## **DEDICATORIA**

**A DIOS** y a mi Madre por haberme dado la fortaleza, sabiduría y lograr la realización de éste trabajo tan importante, muchas gracias por todas tus bendiciones recibidas día a día.

## **AGRADECIMIENTO**

**Al Mg. Luis Costilla García** por todo su apoyo incondicional, paciencia y dedicación para poder llevar a cabo la realización de este trabajo tan importante.

## RESUMEN

El objetivo general de este estudio fue cuantificar Ácido ascórbico por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en jugos de naranja envasado, comercializados en supermercados de Lima Metropolitana. La técnica utilizada para la determinación de contenido de ácido ascórbico fue Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) con columna de fase reversa. Las lecturas se realizaron por duplicado, obteniendo los siguientes resultados: 21, 63, 133, 138, 12, 511, 400, 2, 116 y 2 ppm en orden de muestras analizadas. De acuerdo con los resultados obtenidos se puede concluir que las muestras analizadas difieren significativamente en el contenido de ácido ascórbico, además que el 80% de las muestras no cumplen con el nivel de ácido ascórbico establecido en normas internacionales de Venezuela y España, y no contienen el nivel declarado en su etiqueta, de esto se concluye que existe pérdida de contenido de ácido ascórbico en el jugo de naranja.

## **ABSTRACT**

The overall objective of this study was to quantify ascorbic acid by high performance liquid chromatography (HPLC) in orange juice packaging, sold in supermarkets in Lima. The technique used for the determination of ascorbic acid content was High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with reversed phase column. Readings were performed in duplicate, with the following results: 21, 63, 133, 138, 12, 511, 400, 2, 116 and 2 ppm by samples tested. According to the results one can conclude that the analyzed samples differ significantly in the ascorbic acid content, plus 80% of the samples do not meet the ascorbic acid level established by international standards of Venezuela and Spain, and contain the level declared on the label, this is concluded that there is loss of ascorbic acid in orange juice.

## INDICE

DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTO.....	III
RESUMEN.....	IV
ABSTRACT.....	V
INTRODUCCIÓN .....	VIII
<b>CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>10</b>
1.1 Descripción de la Realidad Problemática.....	10
1.2 Formulación del Problema .....	11
1.3. Objetivos .....	11
1.3.1. Objetivo General.....	11
1.3.2. Objetivos Específicos .....	11
1.4. Hipótesis de la Investigación.....	12
1.4.1. Hipótesis General.....	12
1.4.2. Hipótesis Secundarias.....	12
1.5. Justificación e Importancia de la Investigación .....	12
<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>14</b>
2.1. Antecedentes de la Investigación. ....	14
2.2. Bases Teóricas .....	17
2.2.1. Naranja.....	17
2.2.1.1. Taxonomía y morfología .....	18
2.2.2. Jugo o zumo de fruta .....	20
2.2.3. Generalidades del Jugo de naranja.....	22
2.2.4. Propiedades del Jugo de Naranja.....	23
2.2.5. Ácido ascórbico.....	23
2.2.5.1. Propiedades Físicas y Químicas .....	23
2.2.5.2. Características Fisiológicas.....	24
2.2.5.3. Necesidades diarias de Ácido Ascórbico.....	25
2.2.5.4. Deficiencia de ácido ascórbico .....	26
2.3. Definición de Términos Básicos .....	27
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>29</b>
<b>METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>29</b>

<b>3.1. Tipo de Investigación.....</b>	<b>29</b>
<b>3.1.1. Método .....</b>	<b>29</b>
<b>3.1.2. Técnica.....</b>	<b>29</b>
<b>3.1.3. Diseño .....</b>	<b>29</b>
<b>3.2. Población y Muestreo de la Investigación.....</b>	<b>29</b>
<b>3.2.2. Población .....</b>	<b>29</b>
<b>3.2.3. Muestra .....</b>	<b>30</b>
<b>3.3. Variables e Indicadores .....</b>	<b>30</b>
<b>3.4. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos .....</b>	<b>31</b>
<b>3.4.1. Técnica.....</b>	<b>31</b>
<b>3.4.2. Método .....</b>	<b>31</b>
<b>3.4.2.1. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).....</b>	<b>32</b>
<b>3.4.3. Equipos.....</b>	<b>37</b>
<b>3.4.4. Reactivos y materiales.....</b>	<b>37</b>
<b>3.4.5. Instrumento .....</b>	<b>38</b>
<b>3.5. Procedimiento.....</b>	<b>38</b>
<b>3.5.1. Preparación de soluciones estándar.....</b>	<b>38</b>
<b>3.5.2. Preparación de la muestra.....</b>	<b>38</b>
<b>3.5.3. Condiciones analíticas .....</b>	<b>39</b>
<b>3.5.4. Identificación y cuantificación.....</b>	<b>40</b>
<b>CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS .....</b>	<b>41</b>
<b>4.1. Resultados .....</b>	<b>41</b>
<b>4.2. Análisis de los Resultados y Discusiones .....</b>	<b>45</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>47</b>
<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>48</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>49</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>52</b>
<b>MATRIZ DE CONSISTENCIA.....</b>	<b>52</b>

## INTRODUCCIÓN

El consumo de jugos y néctares de frutas se ha incrementado en el mundo debido a las recomendaciones para una mejor nutrición y una alimentación mucho más saludable, representando un importante segmento de la industria de bebidas. Los jugos de frutas tienen un gran potencial en el mercado de los productos alimenticios debido al incremento del consumo de bebidas que proporcionan vitaminas y minerales.<sup>1</sup>

Dentro de ellos, el jugo de naranja es una fuente importante de ácido ascórbico para los seres humanos y su consumo en los últimos años aumentó a tasas muy rápidas. El ácido ascórbico o vitamina C, es una vitamina hidrosoluble presente en frutas y vegetales, es un antioxidante y captador de radicales libres, es esencial para mantener la integridad del organismo, en especial para la reparación de los tejidos y la formación de colágeno, y ayuda a la absorción del hierro que se ingiere a partir de alimentos vegetales.<sup>2</sup>

La Food and Drug Administration (FDA) Dirección de Alimentos y Medicamentos, clasifica el ácido ascórbico sintético como un aditivo alimenticio "generalmente reconocido como seguro". Se adiciona a una amplia variedad de alimentos, tanto por razones nutricionales como técnicas.

Entre las funciones del AA, están la fijación del oxígeno: Cuando los alimentos se embotellan o se enlatan estos contienen oxígeno, que podría reaccionar con varias moléculas del alimento, provocando rancidez, pérdida de color, entre otras características.<sup>3</sup>

El consumo adecuado de vitamina C es muy importante para mantener muy bien hidratado el organismo, especialmente en aquellas personas con una actividad física constante. Es muy famoso también su papel preponderante en mantener fortalecido el sistema inmunológico, lo que

como consecuencia nos da una alta protección a enfermedades infecciosas.<sup>3</sup>

Sin embargo, el ácido ascórbico presente en los jugos de fruta se oxida fácilmente y se pierde durante el procesamiento y/o almacenamiento de los jugos, la velocidad de pérdida está en función también de las condiciones de almacenamiento.<sup>1</sup>

Es así que el presente trabajo da conocer los niveles reales de ácido ascórbico contenidos en los jugos de naranja envasados, y compara con normas internacionales, además de evidenciar si en realidad aportan los niveles mínimos requeridos y pueden ser considerados como fuente importante de vitamina C en la dieta, esta determinación se hizo mediante el método de cromatografía líquida, método establecido según la regulación del Codex Alimentario.

## **CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **1.1 Descripción de la Realidad Problemática**

En la actualidad, por el estilo de vida que se lleva, la preparación de alimentos en casa ha disminuido, dentro de esto la preparación del jugo de naranjas en casa, lo que ha llevado a la practicidad de adquirirlos en los supermercados, esto ha llevado a la población peruana a ser consumidores de estos productos.

El jugo de naranja es el que se más se elabora en el mundo y su valor nutritivo radica en su alto contenido de ácido ascórbico. Sin embargo, esta vitamina es muy sensible a diversas formas de degradación.

Entre los numerosos factores que pueden influir en los mecanismos degradativos se pueden citar la temperatura, la concentración de sal y azúcar, el pH, el oxígeno, las enzimas, los catalizadores metálicos, la concentración inicial de ácido y la relación ácido ascórbico – ácido dehidroascórbico (su forma oxidada). Todos estos factores están relacionados con las técnicas de proceso y con la composición del producto que se procese.

Es muy variada y bien conocida la actividad biológica del ácido ascórbico en el ser humano, y como la mayoría de los nutrientes, debería ser preservada poniendo especial importancia en las operaciones y procesos involucrados en los distintos métodos de conservación.

Es así que a nivel internacional existen distintas normas que regulan los procesos de elaboración de jugos, estableciendo las condiciones óptimas en cada uno de los pasos que integran el proceso, y que a su vez establecen requisitos que estos deben

mantener en cuanto sus características físicas, químicas y nutricionales esenciales, así como color, aroma y sabor característicos de las frutas de las que provienen.

## **1.2 Formulación del Problema**

¿Tendrán los jugos de naranja envasados, expendidos en los supermercados de Lima Metropolitana, los valores mínimos de ácido ascórbico establecidos por, la Norma Venezolana COVENIN 1699:1994 y el Real Decreto 1518/2007 de España?

## **1.3. Objetivos**

### **1.3.1. Objetivo General**

Determinar la concentración de ácido ascórbico en los jugos de naranja envasados expendidos en supermercados de Lima Metropolitana.

### **1.3.2. Objetivos Específicos**

- Comparar la concentración de ácido ascórbico en los jugos de naranja envasados, expendidos en supermercados de Lima Metropolitana, con los valores establecidos por la Norma Venezolana COVENIN 1699:1994.
- Comparar la concentración de ácido ascórbico en los jugos de naranja envasados, expendidos en supermercados de Lima Metropolitana, con los valores establecidos por el Real Decreto 1518/2007 de España.
- Comparar la concentración de ácido ascórbico en los jugos de naranja envasados, expendidos en

supermercados de Lima Metropolitana, con la concentración declarada en su rotulado.

## **1.4. Hipótesis de la Investigación**

### **1.4.1. Hipótesis General**

Los jugos de naranja envasados, expendidos en los supermercados de Lima Metropolitana, presentan ácido ascórbico.

### **1.4.2. Hipótesis Secundarias**

- La concentración de ácido ascórbico en los jugos de naranja envasados, expendidos en los supermercados de Lima Metropolitana, es menor al valor mínimo establecido por la Norma Venezolana COVENIN 1699:1994.
- La concentración de ácido ascórbico en los jugos de naranja envasados, expendidos en los supermercados de Lima Metropolitana, es menor al valor mínimo establecido por el Real Decreto 1518/2007 de España.
- La concentración de ácido ascórbico de los jugos de naranja envasados, expendidos en los supermercados de Lima Metropolitana, no corresponde a la concentración declarada en su rotulado.

## **1.5. Justificación e Importancia de la Investigación**

La salud del ser humano es de vital importancia, para ello debe tener una dieta saludable, para poder así poder protegerse de enfermedades que afectan su bienestar; es por ello que el

desarrollo de la ciencia y tecnología han hecho que los alimentos sean más fáciles y rápidos de consumir, sin embargo muchos de los procesos aplicados pueden afectar en la calidad final de los alimentos, afectando principalmente el valor nutricional.

El jugo de naranja es una fuente importante de ácido ascórbico, la ingesta de esta vitamina favorece la actividad de enzimas, participa en el procesamiento de algunas hormonas peptídicas, favorece la absorción intestinal del hierro, a nivel tisular tiene una función importante en la síntesis de colágeno; además se sabe que su deficiencia produce escorbuto, que es una enfermedad en la que se produce colágeno defectuosamente por lo que la reparación tisular no es normal, es lenta, hay fragilidad capilar con procesos hemorrágicos y anomalías óseas y puede ser potencialmente letal.

Actualmente los jugos de naranja envasados que se expenden en los supermercados son una alternativa fácil y común en la población limeña; y podrían ser considerados una fuente de ácido ascórbico en la dieta.

Es por ello que surgió la necesidad de evaluar el contenido de ácido ascórbico en dichos productos para verificar el cumplimiento con los requerimientos de ácido ascórbico establecidos en regulaciones internacionales como la Norma Venezolana COVENIN 1699:1994 y el Real Decreto 1518/2007 de España, además de evaluar si cumplen con el valor de ácido ascórbico que declaran en su rotulado.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes de la Investigación.

**Autor: Viviana Sandoval, CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO (VITAMINA C) EN JUGOS DE NARANJA NATURALES COMERCIALIZADOS EN SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD DE GUATEMALA**

En Guatemala en el año 2006, se realizó un trabajo de investigación para la cuantificación de ácido ascórbico (Vitamina C) en jugos de naranja comercializados en supermercados de la ciudad, el trabajo se realizó teniendo como universo tres marcas preferidas por el consumidor, analizando 10 muestras por marca, en cuatro supermercados de mayor afluencia. El método utilizado para el análisis cuantitativo de vitamina C, fue el requerido por la farmacopea de los Estados Unidos, que señala la determinación mediante análisis volumétrico. Los resultados de esta investigación demostraron que la calidad de jugos de naranja naturales de las tres marcas nacionales evaluadas expendida en los supermercados de la ciudad de Guatemala no cumplen con los requerimientos mínimos del contenido de ácido ascórbico, que es de 350 mg como mínimo por cada litro de jugo, valor establecido por la normativa COGUANOR NGO 34 008.<sup>2</sup>

**Autores: Liliana Acurio, José Villacis, Diego Salazar, Lander Perez, Alex Valencia, EFECTO DE LA TEMPERATURA Y RADIACIÓN ULTRAVIOLETA DE ONDA CORTA EN EL CONTENIDO DE ÁCIDO L-ASCÓRBICO EN ZUMO DE NARANJA (*Citrus sinensis*).**

En el siguiente trabajo, durante el procesado de zumo de naranja se producen pérdidas considerables de vitamina C, disminuyendo así la cantidad de este compuesto con amplia actividad biológica. El objetivo de este estudio fue determinar un modelo matemático que permita describir la tasa de pérdida de ácido L-ascórbico en un proceso de calentamiento y radiación ultravioleta de onda corta en zumo de naranja. El efecto de la temperatura se determinó durante 3 horas con un baño termostático a 20; 62 y 92 °C (manteniéndose una precisión de 1 °C). Para el proceso lumínico las muestras fueron colocadas en una cámara provista con dos lámparas UVC y sometidas durante 3 horas a 30, 40 y 50 cm de la fuente de radiación. Cada 15 minutos se extrajeron muestras para valorar el contenido de ácido L-ascórbico con 2,6-diclorofenolindofenol. En ambos casos, la cinética de degradación fue de primer orden. Los resultados indican que a 92 °C se degradó el 48% del ácido ascórbico total inicial; el empleo de radiación ultravioleta de onda corta hizo que la pérdida de ácido ascórbico no excediese el 16 %del total inicial.<sup>8</sup>

**Autor: Manuel Vásquez, EFECTO DEL ENVASE SOBRE LA ESTABILIDAD DE VITAMINA C EN CAMELOS DE GELATINA.**

En Argentina, en el año 2012 se realizó un estudio de la degradación del ácido ascórbico (vitamina C) contenido en caramelos de gelatina fortificados en diferentes envases, polímeros, con variaciones en la permeabilidad al oxígeno y se evalúa la influencia de los factores externos en su

concentración a lo largo de la vida útil del producto. Los sistemas producto-envase se almacenaron bajo condiciones normales de temperatura y humedad por un período de 12 meses simulando las condiciones habituales de conservación del producto. La concentración del ácido ascórbico se determinó regularmente mediante una valoración con 2,6 dicloroindofenol, AOAC método oficial 967.21. Durante el ensayo se evidenció una degradación del ácido ascórbico representada por una cinética reversible de primer orden con una estabilización de la concentración en un valor cercano al 50% de la concentración inicial de la vitamina a los 365 días posteriores al envasado. Las alternativas de los envases evaluados no presentan diferencias en los resultados de la concentración final de ácido ascórbico. A partir de los 50 días posteriores al envasado se observa una estabilización, este resultado evidenciaría la propiedad de barrera ejercida por los envases utilizados impidiendo la disponibilidad de oxígeno para la reacción de oxidación del ácido ascórbico.<sup>9</sup>

**Autor: TANIA Gutiérrez, OLGA Hoyos y MARTHA Páez, DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN UCHUVA (*Physalis peruviana L.*), POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN.**

El ácido ascórbico (AA) es una vitamina esencial en la dieta humana, y su determinación por técnicas sensibles y rápidas, es importante para evaluar su estabilidad en diferentes alimentos. Actualmente la búsqueda de fuentes naturales de AA, reviste gran interés por las características antioxidantes de la vitamina; la uchuva (*Physalis peruviana L.*), fruto silvestre de los Andes suramericanos, registra contenidos de 20 a 32 mg de AA por cada 100 g de pulpa, siendo así, un cultivo promisorio para incluir en los registros de las fuentes comunes de esta vitamina. El objetivo

principal de este estudio, fue encontrar las condiciones óptimas para la extracción, identificación y cuantificación por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) del AA presente en la uchuva (*Physalis peruviana* L.); para ello se analizaron diferentes metodologías reportadas para el proceso de extracción. Por el método del ácido fosfórico se encontraron porcentajes de recuperación entre el 92,36 y 100,4 %; las condiciones de operación más adecuadas para la cuantificación del AA por CLAR, fueron, fase móvil: NaH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> al 1 % pH = 2,7; fase estacionaria: Hypersil C18 ODS μ5 m x 4,0 mm x 250 mm; longitud de máxima absorción: 265 nm y un flujo: 0,9 mL/min. La metodología de cuantificación presentó linealidad, precisión, exactitud y sensibilidad a un nivel de confianza del 95%. El contenido de AA determinado para la uchuva fue de 0,3320 mg (s 0,0262)/ g de muestra, la estandarización del método de cuantificación del AA por CLAR ofrece la oportunidad de realizar posteriores investigaciones acerca de la estabilidad de la vitamina en la uchuva.<sup>1</sup>

## **2.2. Bases Teóricas**

### **2.2.1. Naranja**

La naranja como fruto es una baya especial, formada por una piel externa más o menos rugosa y de color anaranjado, con abundantes glándulas que contienen un aceite esencial perfumado, y una parte intermedia adherida a la anterior, blanquecina y esponjosa (fibra). Finalmente, posee una parte más interna y más desarrollada, dividida en una serie de gajos.

En su composición también cabe destacar la elevada cantidad de ácido ascórbico. (Una naranja de tamaño medio aporta 82 mg de ácido ascórbico, siendo 60 mg la ingesta

recomendada al día para este nutriente). También contiene cantidades apreciables de folatos, y en menor cantidad, vitamina A.

Este último es capaz de potenciar la acción de la vitamina C, favorecer la absorción intestinal del calcio, y facilitar la eliminación de residuos tóxicos del organismo.

#### **2.2.1.1. Taxonomía y morfología**

El naranjo, cuyo nombre científico es *Citrus sinensis* (L.) Osb, es un árbol leñoso perteneciente a la familia *Rutaceae*. Se trata de un árbol de hoja perenne cuyo ciclo de cultivo es anual. En los climas templados, éste queda condicionado por la temperatura ya que se produce el fenómeno conocido como período de latencia, cesando su crecimiento vegetativo aunque no su actividad fisiológica.

Posee un porte reducido que oscila entre los 6 y 10 metros. Sus ramas son poco vigorosas y se caracteriza por tener un tronco corto. Sus hojas son de limbo grande, alas pequeñas y espinas no muy acusadas. Las flores, blancas y aromáticas, se pueden encontrar solas o bien agrupadas y además con o sin hojas. Los brotes con hojas (campaneros) son los que mayor cuajado y mejores frutos dan.

El exocarpo se encuentra en la parte externa de la corteza, está formada por una epidermis compuesta de células parenquimáticas que contienen aceites esenciales y cloroplastos,

proporcionándole éstos el color verde a los frutos inmaduros.

El mesocarpo, es la capa intermedia, se caracteriza por una textura pomposa y por ser de color blanco. En el endocarpo se encuentra la esencia del fruto ya que en él residen los tricomas, que originan durante el desarrollo del fruto las vesículas de zumo.

#### **2.2.1.2. Valor nutricional**

El papel de los cítricos en el suministro de nutrientes y valor medicinal ha sido reconocido desde la antigüedad. De entre sus beneficios cabe destacar el hecho de que proporcione la suficiente vitamina C según las recomendaciones dietéticas. Además los flavonoides procedentes sobre todo de los jugos cítricos procedentes de las naranjas y los pomelos, son muy efectivos para mejorar la circulación de la sangre y poseen por otro lado propiedades antialérgicas, anticancerígenas y antivirales.

Los pomelos y las naranjas también contienen fibra y pectina, sustancias que son conocidas por su capacidad de reducir el riesgo de ataques de corazón si su ingesta es diaria. El consumo de los cítricos en general y de las naranjas en particular es sumamente importante ya que los nutrientes y los factores promotores de una correcta salud (especialmente los antioxidantes) que proceden de estas fuentes son directamente asimiladas por el cuerpo y la pérdida de nutrientes es insignificante en comparación con los jugos de zumos procesados.

Además, las naranjas aportan carotenoides con actividad provitamínica A (a-caroteno, b-caroteno y criptoxantina). Numerosos estudios epidemiológicos sugieren la importancia de estos carotenoides en la prevención de distintos tipos de cáncer y en la protección frente a enfermedades cardiovasculares. También contiene otros carotenoides sin actividad provitamínica A, como la luteína y la zeaxantina, que están presentes en la retina y el cristalino del ojo, y se asocian inversamente con el riesgo de padecer cataratas y degeneración macular. Las naranjas presentan en su composición ácidos orgánicos, como el ácido málico y el ácido cítrico, que es el más abundante.

### **2.2.2. Jugo o zumo de fruta**

Líquido sin fermentar, pero fermentable, que se obtiene de la parte comestible de frutas frescas en buen estado y debidamente maduras, o de frutas que se han mantenido en buen estado por procedimientos adecuados, inclusive por tratamientos de superficie aplicados después de la cosecha de conformidad con las disposiciones pertinentes establecidas en la legislación nacional o en su ausencia por la Comisión del Codex Alimentarias.

Algunos jugos podrán elaborarse junto con sus vesículas (botellitas), semillas y cáscara, que normalmente no se incorporan al jugo, cuando no puedan eliminarse mediante las buenas prácticas de fabricación (BPF).

Los jugos se preparan mediante procedimientos adecuados que mantienen las características físicas, químicas, sensoriales y nutricionales esenciales de los jugos de la fruta de que proceden.

Podrán ser turbios o claros y podrán contener componentes restablecidos de sustancias aromáticas y aromatizantes volátiles, elementos todos ellos que deberán obtenerse por procedimientos físicos adecuados y que deberán proceder del mismo tipo de fruta. Podrán añadirse pulpa y células obtenidas por procedimientos físicos adecuados del mismo tipo de fruta.

Un jugo de un solo tipo es el que se obtiene de un solo tipo de fruta. Un jugo mixto es el que se obtiene mezclando dos o más jugos, o jugos y purés de diferentes tipos de frutas. <sup>(13,14)</sup>

El jugo de fruta se obtiene como sigue:

- a)** Jugo o Zumo de fruta exprimido directamente por procedimientos de extracción mecánica. Entiéndase éste como el jugo recién exprimido. <sup>(15)</sup>
- b)** Jugo o Zumo de fruta a partir de concentrados, mediante reconstitución del jugo concentrado de fruta.
- c)** Jugo (zumo) concentrado de fruta: es el producto que se ha eliminado físicamente el agua en una cantidad suficiente para elevar el nivel de grados Brix al menos en un 50 % más que el valor Brix establecido para el jugo reconstituido de la misma fruta. En la producción de jugo destinado a la elaboración de concentrados se utilizarán procedimientos adecuados, que podrán combinarse con la difusión simultánea con agua de pulpa y células y/o el hollejo de fruta, siempre que los sólidos solubles de fruta extraídos con agua se añadan al jugo primario en la línea de producción antes de proceder a la concentración. Los concentrados de jugos de fruta podrán contener componentes restablecidos de sustancias aromáticas y aromatizantes volátiles, elementos todos ellos que deberán obtenerse por procedimientos físicos adecuados y que deberán proceder del mismo tipo de fruta. Podrán añadirse pulpa y

células obtenidas por procedimientos físicos adecuados del mismo tipo de fruta. <sup>(15)</sup>

- d)** Jugo (zumo) de fruta extraído con agua: es el producto que se obtiene por difusión con agua de:
- Fruta pulposa entera cuyo jugo no puede extraerse por procedimientos físicos.
  - Fruta deshidratada entera: Estos productos podrán ser concentrados y reconstituidos. <sup>(15)</sup>

### **2.2.3. Generalidades del Jugo de naranja**

El jugo, es la parte líquida de la fruta que se obtiene por la aplicación de presión sobre ésta. El jugo de naranja es el que se más se elabora en el mundo y su valor nutritivo radica en su alto contenido de ácido ascórbico

Para obtener un jugo de naranja de alta calidad es recomendable usar fruta fresca, no obstante en la mayoría de las industrias el jugo se elabora a partir de una base concentrada que es más fácil de conservar y manipular. Además se le agrega azúcar para bajar costos de producción.

La conservación del jugo de naranja natural se lleva a cabo por el tratamiento con calor (pasteurización), la asepsia durante la preparación y llenado, la baja acidez del producto, y la conservación en ambientes refrigerados.

El proceso de elaboración de jugo de naranja a partir de fruta fresca, consiste en seleccionar, lavar y exprimir las naranjas para extraer el jugo. Seguidamente se filtra para separar las semillas y sólidos en suspensión y por último se pasteuriza y llena en envases de vidrio, plástico, hojalata o cartón, según el nivel tecnológico que se tenga.

#### **2.2.4. Propiedades del Jugo de Naranja.**

El jugo de la naranja es generoso en vitaminas. Junto a gran cantidad de ácido ascórbico, altamente asimilable, se encuentran las vitaminas A - en forma de caroteno - B1, B2 y B6. También es muy rico en sales minerales, sobre todo Potasio y Calcio. La naranja contiene de 40 a 50 mg de ácido ascórbico.

Los procesos de elaboración de jugos deben mantener sus características físicas, químicas y nutricionales esenciales, como color, aroma y sabor característicos de las frutas de las que provienen.

#### **2.2.5. Ácido ascórbico**

##### **2.2.5.1. Propiedades Físicas y Químicas**

El ácido ascórbico es un compuesto blanco, cristalino o ligeramente amarillo, inodoro que se oscurece de manera gradual al exponerlo a la luz, en estado seco es estable al aire, pero en solución se deterioran con rapidez en presencia de aire, su punto de fusión es alrededor de 190 °C, en cuanto a su solubilidad es de 1 gr por 3 mL de agua o 40 mL de alcohol; insoluble en cloroformo, éter o benceno. Existe en la naturaleza en su forma reducida y oxidada; ácido L-ascórbico y ácido dehidroascórbico respectivamente, ambas formas tienen la misma actividad biológica. El ácido ascórbico es una cetolactona de seis carbonos, que tiene relación estructural con la glucosa, se oxida de modo reversible en el organismo hacia ácido dehidroascórbico.

El ácido ascórbico sufre reacciones de oxidación-reducción pudiendo determinar esta reacción a través de un indicador como el yodo o el 2,6-dicloroindofenol observando cambio de color morado o rosado, respectivamente. El ácido ascórbico tiene un carbono con actividad óptica y la acción contra el escorbuto reside en la acción del isómero L.

La oxidación del ácido ascórbico es acelerada por calor, luz, álcali, enzimas oxidativas y trazas de cobre y hierro.

#### **2.2.5.2. Características Fisiológicas**

El ácido ascórbico o vitamina C, es una vitamina hidrosoluble presente en frutas y vegetales tales como los cítricos y las verduras frescas.

El ácido ascórbico es un antioxidante y captador de radicales libres, es esencial para mantener la integridad del organismo, en especial para la reparación de los tejidos y la formación de colágeno.

El ácido ascórbico funciona como un cofactor en diversas reacciones de hidrolización y amidación. De este modo, se requiere para facilitar la conversión de algunos residuos de prolina y lisina que se encuentran en la procolágena, para la síntesis de colágeno.

Otras de sus funciones son reducir el hierro férrico no hem al estado ferroso en el estómago; el ácido ascórbico también favorece la absorción intestinal de hierro. La vitamina C es esencial para la cicatrización de las fracturas óseas.

A nivel tisular la función del ácido ascórbico se relaciona con la síntesis de colágeno, proteoglicanos y otros

componentes orgánicos de la matriz intercelular de tejidos tan diversos como, dientes, huesos, y endotelio capilar.

El ácido ascórbico es necesario para la formación y la reparación del colágeno. Es oxidado, de forma reversible a ácido dehidroascórbico, estando ambas formas implicadas en las reacciones de óxido-reducción. La vitamina C participa en el metabolismo de la tirosina, carbohidratos, norepinefrina, histamina, fenilalanina y hierro. Otros procesos que requieren del ácido ascórbico son la síntesis de lípidos, de proteínas y de carnitina; la resistencia a las infecciones; hidroxilación de la serotonina, mantenimiento de la integridad de los vasos sanguíneos y respiración celular.

La vitamina C también regula la distribución y almacenamiento del hierro evitando la oxidación del tetrahidrofolato.

### **2.2.5.3. Necesidades diarias de Ácido Ascórbico**

Las dosis necesarias de esta vitamina son de 90 mg en hombres y 75 mujeres. Estas dosis pueden variar de acuerdo a otros condicionantes o necesidades especiales. Así las mujeres deberían aumentar las dosis durante el embarazo y durante la lactancia. Resulta muy sencillo adquirir las necesidades básicas diarias de esta vitamina a través de una alimentación rica en alimentos vegetales naturales. Así por ejemplo, la dosis se supera con creces cuando se come una papaya mediana (188 mg), una guayaba (165 mg), un vaso de jugo de naranja (124 mg) o una naranja mediana (80 mg).

Otras veces se debe tomar varios alimentos para llegar a las mismas o tomar suplementos para conseguir las dosis adecuadas para cada momento.

#### **2.2.5.4. Deficiencia de ácido ascórbico**

La deficiencia de ácido ascórbico se manifiesta en escorbuto, que es una formación de colágeno defectuosa, es el resultado de la deficiencia de la hidroxilación del procolágeno y de la formación de colágeno en ausencia de la ácido ascórbico.

El colágeno sin hidroxilar es inestable y no puede proceder a la reparación normal de los tejidos. Esto se traduce en una fragilidad capilar con procesos hemorrágicos, retrasos en la cicatrización de heridas y anomalías óseas.

El cuadro clínico de escorbuto en el hombre puede describirse como un deterioro del colágeno intercelular. La hemorragia es común, la aparición de petequias en la piel ante una ligera impresión, esto indica fragilidad de la pared de los capilares. Los huesos son quebradizos y dejan de crecer, la anemia es frecuente debido al deterioro del sistema hematopoyético ya que el ácido ascórbico favorece la absorción de hierro.

Otro de los síntomas del escorbuto es encías rojas, hinchadas y sangrantes, hemorragias subcutáneas, hinchazón de las articulaciones. Sin llegar a este cuadro, a veces la deficiencia de ácido ascórbico presenta alguno de estos síntomas de forma leve.

### 2.3. Definición de Términos Básicos

- **Grado Brix:** se utiliza en el sector de alimentos, para medir la cantidad aproximada de azúcares en zumos de fruta, vino o bebidas suaves, y en la industria azucarera.
- **Sistemas enzimáticos:** está constituido por una cadena o secuencia de enzimas destinadas a activar o a inhibir las 2 etapas del metabolismo celular (anabolismo y catabolismo). Están formados por la enzima propiamente dicha (apoenzima), el sustrato o los sustratos un grupo proteico (o coenzimas) y sustancias activadoras.
- **Ácido ascórbico:** es un cristal incoloro, inodoro, sólido, soluble en agua, con un sabor ácido. Es un ácido orgánico, con propiedades antioxidantes, proveniente del azúcar.
- **Flavonoides:** son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo de los daños producidos por sustancias o elementos oxidantes como los rayos ultravioleta, la contaminación ambiental y de sustancias nocivas presentes en los alimentos.
- **Oxidación:** es una reacción química donde un metal o un no metal cede electrones, y por tanto aumenta su estado de oxidación.
- **Isómeros:** son compuestos que tienen la misma composición atómica pero diferente fórmula estructural.
- **Cofactor:** Un cofactor es un componente no proteico, termoestable y de baja masa molecular, necesario para la acción de una enzima.
- **Hidroxilación:** es una reacción química en la que se introduce un grupo hidroxilo(OH) en un compuesto reemplazando un átomo de hidrógeno, oxidando al compuesto.
- **Zumo:** es la sustancia líquida que se extrae de los vegetales o frutas, normalmente por presión, aunque el conjunto de

procesos intermedios puede suponer la cocción, molienda o centrifugación de producto original.

## CAPÍTULO III

### METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

#### 3.1. Tipo de Investigación

##### 3.1.1. Método

Inductivo

Se dice método inductivo debido a que se coge un caso en particular y se logra generalizar el resultado obtenido.

##### 3.1.2. Técnica

Observacional - Prospectiva – transversal.

La investigación retrospectiva también llamada bibliográfica se refiere a aquella que se basa en asuntos, datos u observaciones ya pasados y que el investigador toma y analiza, asumiendo la veracidad de los datos u observaciones. Transversal debido a que el estudio se circunscribe a un momento puntual, un segmento de tiempo durante el año a fin de medir o caracterizar la situación en ese tiempo específico.

##### 3.1.3. Diseño

No experimental.

#### 3.2. Población y Muestreo de la Investigación

##### 3.2.2. Población

Está constituida por los jugos de naranja envasado expendidos en los supermercados de Lima Metropolitana, en todas sus marcas y presentaciones, encontrándose las siguientes marcas: Cifrut, Tampico, Selva, Frugos,

Ecofresh, Watts, Gloria, Beberash, Disfruta, Frugos de Campo.

### 3.2.3. Muestra

Se eligieron como muestras de jugos de naranja envasados; en sus distintas variedades, reuniéndose en total de 10 muestras, que se compraron en los supermercados como: Cifrut, Tampico, Selva, Frugos, Ecofresh, Watts, Gloria, Beberash, Disfruta, Frugos de Campo.

### 3.3. Variables e Indicadores

- **Variable Independiente (X):**  
Jugos de naranja envasados, expendidos en supermercados de Lima Metropolitana.
- **Variable Dependiente (Y):**  
Concentración de Ácido Ascórbico.

	<u>VARIABLES</u>	<u>INDICADORES</u>
<b>Independiente (X)</b>	<b>Jugo de Naranja Envasados</b>	Marcas de Jugos: Cifrut, Tampico, Selva, Frugos, Ecofresh, Watts, Gloria, Beberash, Disfruta, Frugos de Campo
<b>Dependiente (Y)</b>	<b>Concentración de ácido ascórbico.</b>	<b>Norma Venezolana COVENIN 1699:1994.</b> -- > 350 ppm
		<b>Real Decreto 1518/2007 de España</b> -- >Mínimo 200 ppm

Fuente: Elaboración Propia.

### **3.4. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos**

Luego de recolectar las muestras correspondientes, estas fueron enlistadas teniendo en cuenta la marca. Posteriormente se llevó a cabo el análisis cuantitativo de Ácido Ascórbico mediante el método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).

#### **3.4.1. Técnica**

Todas las muestras serán procesadas según la norma del Codex Alimentario para la determinación de Ácido ascórbico por método de Cromatografía líquida de Alta Resolución. Los datos obtenidos serán analizados y comparados con límites máximos establecidos.

#### **3.4.2. Método**

La cromatografía es un poderoso método de separación que tiene aplicación en todas las ramas de la ciencia, este método de separación consiste en múltiples etapas en las que los componentes de una muestra se distribuyen entre dos fases, una de las cuales es la fase estacionaria la otra la fase móvil. La fase estacionaria puede ser un sólido, un líquido absorbido sobre un sólido o un gel. La fase estacionaria puede estar empacada en una columna, extendida como una capa, distribuida como película o aplicada mediante otras técnicas. La fase móvil puede ser gaseosa o líquida o un fluido supercrítico. La separación puede basarse en adsorción, distribución de masa (partición) o intercambio iónico; o puede basarse en diferencias entre las propiedades fisicoquímicas de las moléculas, tales como tamaño, masa o volumen.

Los tipos de cromatografía útiles en el análisis cualitativo y cuantitativo que se emplean en los procedimientos

cromatográficos de la *USP* son: cromatografía en columna, de gases, en papel, en capa delgada (incluyendo la cromatografía en capa delgada de alta resolución) y de líquidos presurizados (comúnmente llamada cromatografía líquida de alta presión o cromatografía líquida de alta resolución.)

#### **3.4.2.1. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)**

La cromatografía de líquidos de alta resolución es la técnica analítica de separación más ampliamente utilizadas, la razón de la popularidad de esta técnica son su sensibilidad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, su idoneidad para las separaciones de especies no volátiles o termolábiles y, sobre todo, su gran aplicabilidad a sustancias que son de primordial interés en la industria, en muchos campos de la ciencia y para la sociedad en general.

Esta cromatografía se basa en que la fase móvil es un líquido y la fase estacionaria es un sólido; la fase móvil es introducida en el sistema a altas presiones para arrastrar las sustancias a analizar las cuales se separan en la fase estacionaria, con la consecuente detección de cada una de ellas después es integrado para ser evaluado por el experimentador.

Los componentes de un Cromatógrafo líquido de alta resolución son:

- Bomba de presión.
- Inyector.
- Horno de columna (Columna cromatográfica).
- Detector.
- Integrador.

○ **Bomba**

Bombas de pistón recíproco: constan de un pistón conducido por una leva unida a un pequeño motor que se mueve rápidamente atrás y adelante en una cámara hidráulica variando su volumen entre 35-400  $\mu\text{L}$ . En la carrera atrás, la válvula de separación con la columna está cerrada, y el pistón aspira el solvente del reservorio de la fase móvil. En la carrera hacia delante, la bomba empuja el solvente hacia la columna desde el reservorio. Se puede conseguir un amplio rango de flujos alterando el volumen de la carrera del pistón durante cada ciclo, o alterando la frecuencia con que éste realiza una carrera.

La presencia de dobles y triples cabezas de bomba constante en idénticas unidades de cámara de pistón que operan a 180 o 120 grados fuera de fase, permiten un bombeo significativamente suave porque se llena una bomba mientras la otra está en el ciclo de expulsión.

**Bombas tipo jeringa:**

Son más adecuadas para pequeñas columnas porque expulsan solo un volumen finito de fase móvil antes de rellenarse.

Estas bombas tienen un volumen de 250 a 500 mL. Operan mediante un tornillo conductor motorizado que bombea fase móvil a la columna a flujo constante. La velocidad de flujo de expulsión se controla cambiando el voltaje del motor.

### **Bombas de presión constante:**

La fase móvil es conducida a través de la columna mediante la presión de un cilindro de gas. Una fuente de gas a baja presión se necesita para generar altas presiones en el líquido. La disposición de las válvulas permite rellenar rápidamente la cámara del solvente cuya capacidad está sobre los 70 mL, proporcionando relaciones de flujo de fase móvil continuas.

#### ○ **Inyector**

El inyector para HPLC consiste normalmente en una válvula de inyección y un bucle. Un pequeño volumen de muestra (previamente disuelta) se carga en una jeringa y es inyectada en el bucle por la válvula de inyección. Un giro del rotor de la válvula cierra la válvula y pone en comunicación el bucle que contiene la muestra con la corriente de fase móvil que va de la bomba a la columna. El volumen del bucle determina la cantidad inyectada y puede ir desde 5  $\mu\text{L}$  hasta 500  $\mu\text{L}$ .

La inyección a flujo parado es un método especial por el cual la bomba se detiene para realizar la inyección a presión atmosférica, este sistema se utiliza cuando se trabaja a muy alta presión

#### ○ **Columna**

En HPLC se usan diversos tipos de columnas secundarias que se asocian a la columna de separación con otros fines específicos:

- **Precolumnas:** se colocan antes de la columna de separación y sirven como factor de protección que prolonga la vida y el uso de la columna separativa. Están diseñadas para filtrar y retirar: 1) partículas que obstruyan la columna de separación; 2) compuestos e iones que pudieran aumentar el ruido de fondo, disminuyendo la resolución y la sensibilidad, y creando falsos picos; 3) compuestos que podrían causar precipitación en contacto con la fase

estacionaria o la fase móvil y 4) compuestos que podrían coeluir y causar picos extraños e interferir con la detección y cuantificación. Este tipo de columnas deben ser cambiadas regularmente con el fin de optimizar sus funciones protectoras.

- **Columnas para derivatizar (pre- o postcolumna separativa):** son columnas que modifican químicamente el compuesto a una molécula con el que se van a obtener datos potencialmente tangibles que pueden complementar a otros resultados analizados anteriormente. Acetilación, sililación o hidrólisis ácida son algunas técnicas de derivatización.

En las columnas analíticas es en las que realmente se lleva a cabo la separación.

**Columnas capilares:** los avances en HPLC han llevado a estas pequeñas columnas analíticas, también conocidas como micro columnas. Las columnas capilares tienen un diámetro menor a 1 mm, y hay de tres tipos: tubular abierto, parcialmente empacadas, y fuertemente empacadas. Estas columnas permiten trabajar con volúmenes de muestra de nL, disminuyendo el flujo y el volumen de solvente usado lo que puede llevar a una disminución de los costes. Sin embargo, la mayoría de las condiciones y la instrumentación deben ser miniaturizadas, la relación de flujo puede ser difícil de reproducir, el gradiente de elución no es tan eficiente, y se debe tener mucho cuidado cuando se cargan volúmenes de muestra tan pequeños.

**Columnas de micro calibre y de calibre estrecho:** se usan para pequeños volúmenes de muestra. El diámetro típico es de 1-2 mm. Como en las columnas capilares, los instrumentos deben ser modificados para acomodarse a la pequeña capacidad de estas columnas. Sin embargo, excepto la ventaja de la pequeña cantidad de muestra y de volumen de la fase móvil, no se ha notado un

incremento en la sensibilidad a la cantidad de materia inyectada sin pérdida significativa en la resolución.

**Columnas estándar:** son las que se usan comúnmente. Su tamaño más habitual es de 2,4 mm de diámetro y 250 mm de largo, con un tamaño de partícula de 5  $\mu\text{m}$  de diámetro. Las partículas pueden ser de sílica o de otros polímeros especiales que les confiere resistencia a determinadas condiciones (pH extremos) y a su vez pueden ser de forma esférica o irregular. Las partículas son de naturaleza porosa a fin de aumentar mucho la superficie de interacción con los analitos, y dado que también influye en la separación, se tiene en cuenta el diámetro de poro. Hay variaciones, pero los poros de las partículas suelen ser de entre 100 y 300 Å.

**Columnas rápidas:** la razón principal para usar estas columnas es aumentar el número de muestras que se pueden procesar en un tiempo dado. Para muchas columnas, incrementando el flujo o la relación de migración a través de la fase estacionaria se afectará adversamente la resolución y la separación. Así pues, las columnas rápidas se diseñan para rebajar el tiempo sin llegar a significativas desviaciones en los resultados. Estas columnas tienen el mismo diámetro interno pero son mucho más cortas que la mayoría de las columnas, y están empacadas con pequeñas partículas que son típicamente de 3  $\mu\text{m}$  de diámetro. Las ventajas incluyen incremento de la sensibilidad, descenso en el tiempo de análisis, descenso en la fase móvil usada, e incremento en la reproducibilidad.

**Columnas preparativas:** son columnas utilizadas con el objeto de permitir purificar grandes cantidades de muestra (mg). Una columna preparativa normalmente tiene un gran diámetro porque está diseñada para facilitar grandes volúmenes de inyección.

- **Detector**

Los detectores utilizados para HPLC siempre trabajan bajo condiciones de flujo continuo, la muestra disuelta en la fase móvil atraviesa una celda de flujo en la que es detectada. Normalmente, las muestras llegan en cantidades de ng al detector, pero en análisis de trazas, esta cantidad puede llegar a ser de fg e incluso de muy pocas moléculas.

La respuesta del detector al paso de la sustancia está basada en un amplio rango de características físicas y químicas de las sustancias. Es por esto que no existe un detector universal, sino que cada sustancia, en principio, debe analizarse con el detector más adecuado dependiendo de su naturaleza físico-química, del tipo de análisis que se lleve a cabo y del tipo de instrumentación de la que se disponga.

### **3.4.3. Equipos.**

- Cromatógrafo líquido de Alta Resolución (detector UV  $\lambda=254$  nm)
- Columna analítica RP18 (250 x 4,6 mm x 5  $\mu$ m).
- Balanza analítica.
- Ultrasonido digital
- Dispositivo de filtración de vacío.

### **3.4.4. Reactivos y materiales**

- Metanol Grado HPLC
- Agua ultra pura
- Ácido metafosfórico Grado P.A.
- Estándar de Ácido L-ascórbico.
- Filtro de membrana de nylon poro 5 micras
- Fiola de vidrio clase AS.
- Pipetas de vidrio volumétricas clase AS.

- Pipetas de vidrio lineales clase AS.
- Probetas de vidrio clase AS.
- Agitador de vidrio.
- Viales de vidrio con tapa.
- Frascos de vidrio de 1 litro.

#### **3.4.5. Instrumento**

El instrumento viene a ser el protocolo brindado por el laboratorio CETOX S.A.C en donde se mandaron a analizar las muestras, así como, los programas usados en la investigación en este caso Formato Excel.

#### **3.5. Procedimiento**

##### **3.5.1. Preparación de soluciones estándar.**

Para realizar la curva de calibración se preparó una solución stock de 20 000 ppm a partir de vitamina C con un 100% pureza (laboratorios Fagrón) en ácido meta fosfórico al 4.5% p/v, a partir de esta solución se prepararon cuatro estándares de 50, 100, 150 y 200 ppm, aforándose a 10 ml con ácido meta fosfórico al 4.5%.

##### **3.5.2. Preparación de la muestra.**

Las muestras de jugos fueron sometidas a ultrasonido por espacio de 10 minutos y luego fueron filtradas a través de filtros de membrana de 0.45  $\mu$ M y depositadas en los viales del equipo.

Los análisis de vitamina C, fueron realizados usando un equipo HPLC "Chromaster" Marca Hitachi con detector de Arreglo de Diodos (DAD) y Detector de Fluorescencia (FL), equipado con Bomba cuaternaria con gradiente, desgasificador de 6 canales, y automuestreador.

Como fase móvil se utilizó 600 ml de agua ultra pura acidulada con ácido sulfúrico concentrado hasta alcanzar un pH 2.2 (2 a 3 gotas). Como estacionaria se utilizó una columna Lichrocar RP18, de 250 x 4.6 mm y un tamaño de partícula de 2 micras. El flujo de la fase móvil fue de 1 mL/minuto, la lectura fue a 245 nm, y el volumen de inyección fue de 10 uL para los estándares y muestras. Las lecturas se realizaron por duplicado.

El tiempo de retención fue de 4.5 minutos para el ácido ascórbico en las condiciones mencionadas.

### **3.5.3. Condiciones analíticas**

**Columna analítica** : Lichrocar RP18, de 250 x 4.6 mm

**Fase móvil** : Agua ultra pura acidulada con ácido sulfúrico pH 2.2

**Flujo** : 1 mL/min

**Volumen de inyección:** 10 µl

**Detección** : UV 254 nm

**Temperatura** : Ambiente.

#### **3.5.4. Identificación y cuantificación**

La identificación se realizó mediante la comparación del tiempo de retención del analito en la muestra analizada con el tiempo de retención del patrón de calibración. El análisis cuantitativo se realizó usando el método estándar externo por el cálculo de la concentración en la muestra analítica de la ecuación de la curva de calibración (la dependencia de la superficie o la altura del pico en la concentración de patrón en mg/l; concentración en la muestra debe estar en el intervalo entre el punto de la curva de calibración más bajo y el más alto) y mediante un nuevo cálculo en la muestra original.

Se comparó el contenido calculado del ácido ascórbico con el contenido declarado de vitamina C en la etiqueta de la muestra, y con los niveles mínimos establecidos por la Norma Venezolana COVENIN 1699:1994; y el Real Decreto 1518/2007 de España.

## CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

### 4.1. Resultados

**Cuadro N° 01: Determinación Cuantitativa de Ácido Ascórbico en jugos de naranja expendidas en Supermercados de Lima Metropolitana.**

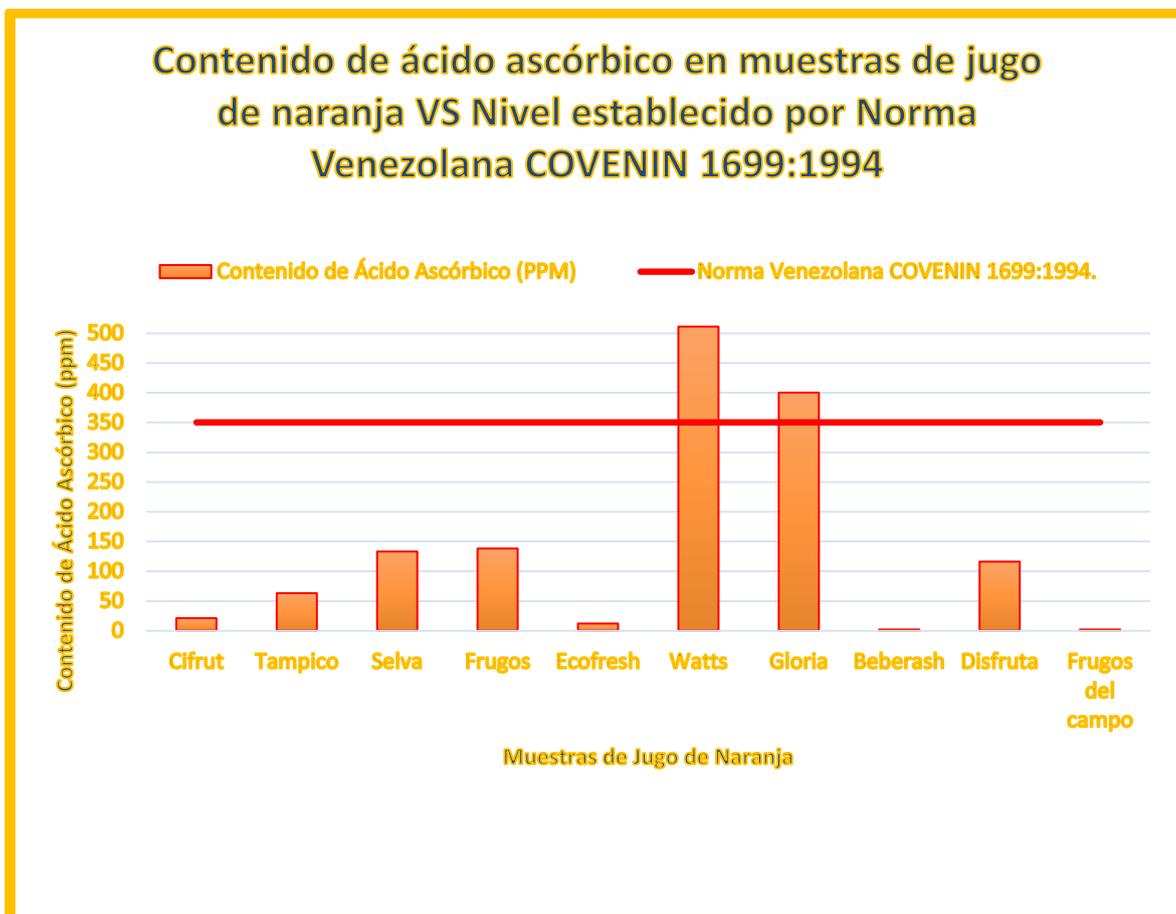
Nro. de muestra	Marca	Contenido de Ácido Ascórbico (ppm)
1	Cifrut	21
2	Tampico	63
3	Selva	133
4	Frugos	138
5	Ecofresh	12
6	Watts	511
7	Gloria	400
8	Beberash	2
9	Disfruta	116
10	Frugos del campo	2

**Promedio: 139.8 ppm**

**Fuente:** Elaboración Propia.

**Interpretación:** En el presente cuadro se puede observar los valores hallados de Ácido Ascórbico (ppm) en muestras de jugo de naranja de diferentes marcas analizados, siendo la marca Gloria la de mayor contenido y las marcas Beberash y Frugos del campo las de menor contenido.

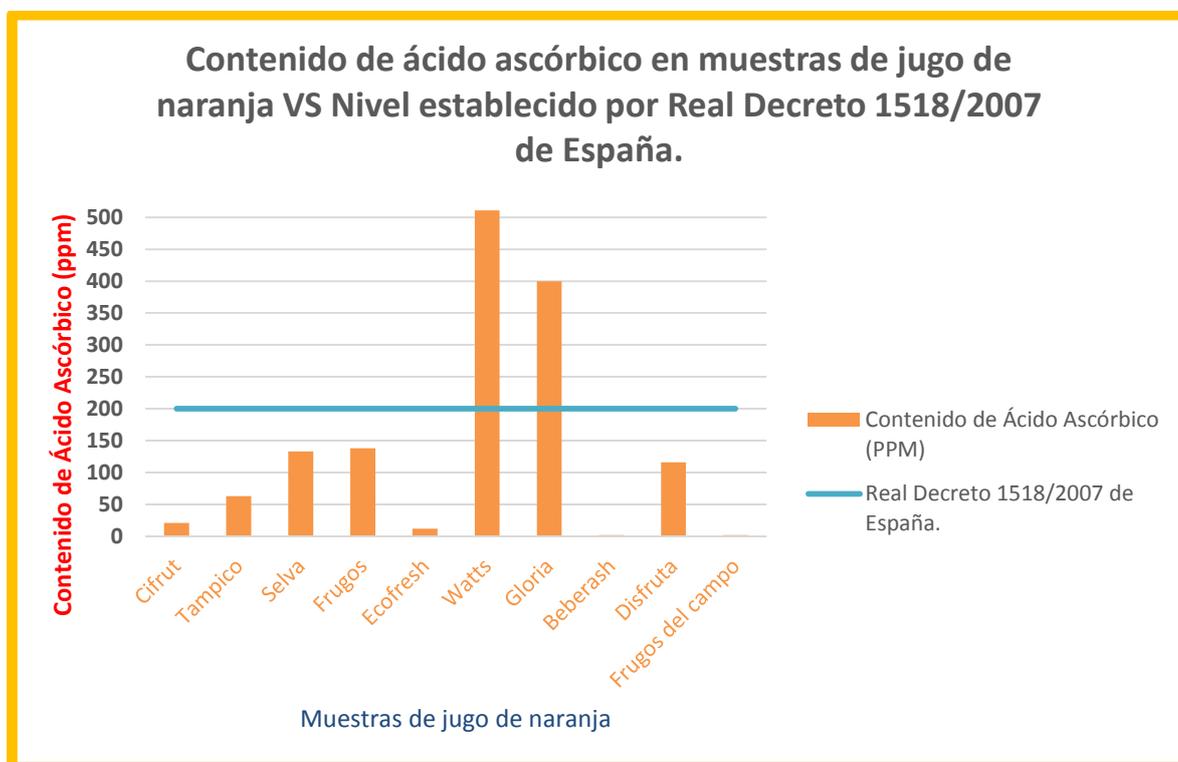
**Cuadro N° 02: Comparación de contenido Ácido Ascórbico en jugos de naranja expendidos en Supermercados de Lima Metropolitana vs Nivel establecido por Norma Venezolana COVENIN 1699:1994**



**Fuente:** Elaboración Propia.

**Interpretación:** En el gráfico se observan los valores de ácido ascórbico hallados, en comparación con el valor parámetro (350 ppm), solo dos marcas: Watts y Gloria cumplen con el valor mínimo establecido.

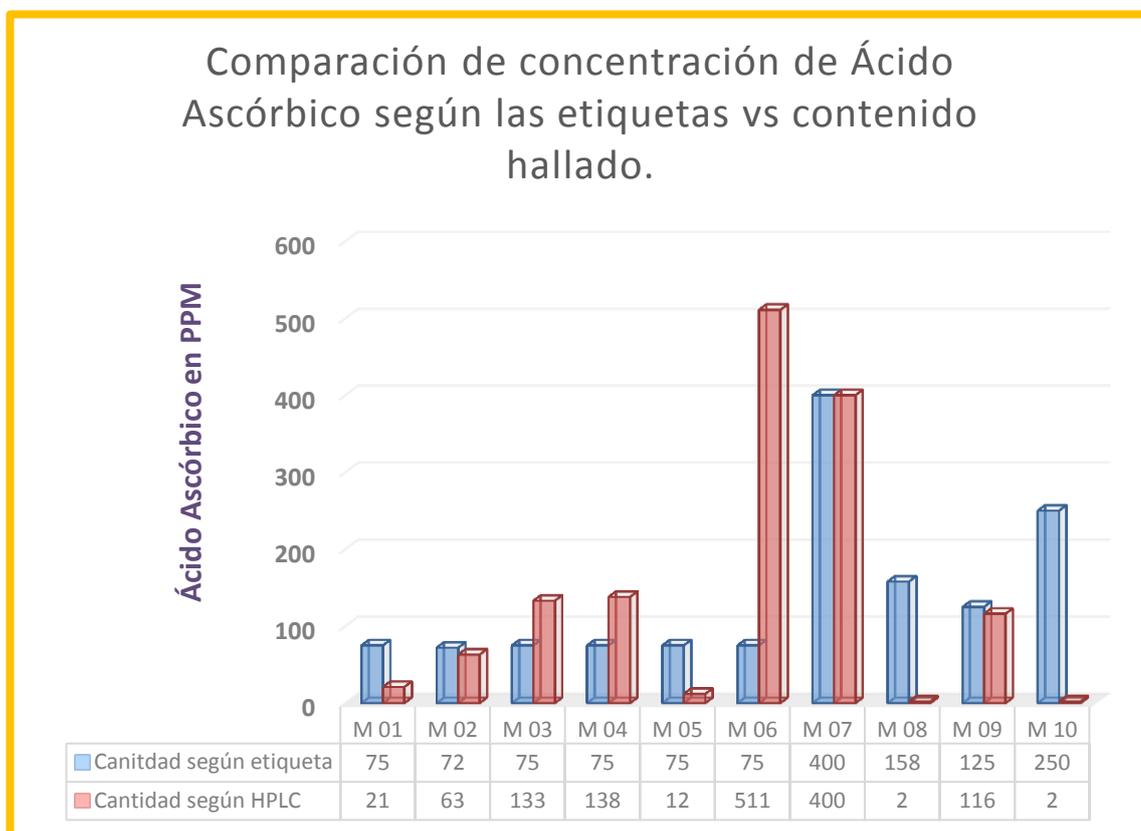
**Cuadro N° 03: Comparación de contenido Ácido Ascórbico en jugos de naranja expendidos en Supermercados de Lima Metropolitana vs Nivel establecido por Real Decreto 1518/2007 de España.**



**Fuente:** Elaboración Propia.

**Interpretación:** En el gráfico se observan los valores de ácido ascórbico hallados, en comparación con el valor parámetro (200 ppm), solo dos marcas: Watts y Gloria cumplen con el valor mínimo establecido.

**Cuadro N° 04: Comparación de contenido Ácido Ascórbico en jugos de naranja expendidos en Supermercados de Lima Metropolitana vs concentración declarada en el etiqueta.**



**Fuente:** Elaboración Propia.

**Interpretación:** En el gráfico se observan los valores de ácido ascórbico hallados, en comparación con el valor declarado en la etiqueta, solo la muestra n° 7 que corresponde a la marca Gloria cumple con el nivel declarado.

## 4.2. Análisis de los Resultados y Discusiones

1. En la presente investigación se realizó la cuantificación de Ácido Ascórbico o Vitamina C en 10 muestras de jugos de naranja. Las marcas se eligieron por la preferencia en los consumidores. de cada una de las muestras de jugo se prepararon dos muestras de cada una para el análisis.
2. Se cuantifico el contenido de vitamina C en ppm de 10 muestras de jugo de naranja, mediante **HPLC**, de las que se obtuvo los siguientes resultados: 21, 63, 133, 138, 12, 511, 400, 2, 116 y 2 ppm en orden de muestras analizadas. Demostrando gran variedad de la cantidad de Ácido Ascórbico, puesto que el Codex alimentario no precisa concentraciones de vitamina C en estos productos.
3. Respecto a la especificación del contenido de Ácido Ascórbico o Vitamina C en las etiquetas de las 10 muestras analizadas encontramos que:
  - Las muestras 1, 3, 4,5 y 6 reportan contener 75 ppm de vitamina C, valores que no coincide a las obtenidas en el análisis las cuales fueron 21, 133, 138, 12 y 511 respectivamente.
  - La muestra 2 reporta contener 72 ppm de Ácido Ascórbico o vitamina C, valor que no coincide al obtenido en el análisis la cual fue 63.
  - La muestra 8 reporta contener 158 ppm de Ácido Ascórbico o vitamina C, valor que no coincide al obtenido en el análisis la cual fue 02 encontrándose debajo del límite inferior.
  - La muestra 9 reportan contener 125 ppm de Ácido Ascórbico o vitamina C, valor que no coincide al obtenido en el análisis la cual fue 116.

- La muestra 10 reportan contener 250 ppm de Ácido Ascórbico o vitamina C, valor que no coincide al obtenido en el análisis la cual fue 2.
  - Respecto a la muestra 7 reporta contener 400 ppm de Ácido Ascórbico o vitamina C, siendo este igual al valor obtenido en el análisis.
4. Los niveles más bajos de ácido ascórbico corresponden a las marcas Beberash y Frugos del Campo, siendo el valor 2 ppm.
  5. Solo las marcas Watts y Gloria cumplen con el contenido mínimo establecido, (511 y 400 ppm respectivamente) por las normas: Norma Venezolana COVENIN 1699:1994 Real Decreto 1518/2007 de España. El promedio de ácido ascórbico fue de 139.8 ppm el cual no cumple con los parámetros establecidos.
  6. Con los resultados obtenidos podemos que no solo en nuestro país no existe una norma para supervisar si la concentración de ácido ascórbico en los jugos de naranja envasados es la indicada en su rotulo, también en países como Guatemala y Argentina ya que existen trabajos donde se observan que los valores indicados en los encases no son los reales y que muchas empresas no cumplen con los niveles mínimos de ácido ascórbico en jugos de naranja y otros productos de consumo.

## CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos se puede concluir que las muestras analizadas difieren significativamente en el contenido de ácido ascórbico.

1. Se determinó la concentración de ácido ascórbico obteniéndose diferencias entre las 10 muestras siendo la marca Gloria (400 ppm), con mayor concentración y Beberash, Frugos del Campo (2 ppm), con menor concentración.
2. El 80% de las muestras contienen niveles por debajo de los niveles parámetros establecidos por las normas: Norma Venezolana COVENIN 1699:1994 Real Decreto 1518/2007 de España. siendo las marcas Gloria y Watts la únicas que cumplen con los niveles mínimos establecidos.
3. El 80% de las muestras contienen niveles por debajo de los parámetros establecidos por el Real Decreto 1518/2007 de España. Siendo las marcas Gloria Y Watts la únicas que cumplen con dichos parámetros.
4. La hipótesis queda demostrada ya que el 90% de las muestras no contienen el nivel de ácido ascórbico declarado en su etiqueta. Siendo la marca Gloria la única que cumple con el nivel declarado.

## **RECOMENDACIONES**

1. Se sugiere que las autoridades sanitarias velen por la calidad de los productos, por medio de evaluaciones de monitoreo correspondientes a diferentes parámetros de calidad a los productos que se expenden en los supermercados, con una comisión de mayor tamaño a la existente, de manera que el consumidor reciba productos de calidad y que sean inocuos a su salud.
2. El etiquetado debería de ser revisado por las autoridades competentes para asegurar que el consumidor adquiera productos con los estándares de calidad mínimos para asegurarse una nutrición balanceada.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Gutiérrez T. , Hoyos O. y Páez M. Determinación del contenido de ácido ascórbico en uchuva (*physalis peruviana l.*), por cromatografía líquida de alta resolución (clar).Facultad de ciencias agropecuarias [en internet]. 2007[citado el 5 de octubre]; 5(1) 3-7. Disponible en: <http://www.unicauca.edu.co/biotecnologia/ediciones/vol5/9Vol5.pdf>
- 2) Viviana Lisbeth S., Cuantificación De Ácido Ascórbico (Vitamina C ) En Jugos De Naranja Naturales Comercializados En Supermercados De La Ciudad De Guatemala [en internet]. [citado el 12 de octubre del 2015]; 8(1) 5-1.Disponible en: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06\\_2478.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2478.pdf)
- 3) Dragsted L. O., Strube M., Larsen J. C. Cancerprotective factors in fruits and vegetables: Biochemical and biological background. Pharmacol. Toxicol. 72 (suppl. 1), 116, 1993.
- 4) Wang H., Cao G., Prior R. L. Total antioxidant capacity of fruits. J. Agric. Food Chem., 44, 701, 1996.
- 5) Satarug S., Moore M. R. Adverse health effects of chronic exposure to low-level cadmium in foodstuffs and cigarette smoke. Environ. Health Perspect. 112, (10), 1099, 2004.
- 6) Krejpcio Z. Safety of Fresh Fruits and Juices Available on the Polish Market as Determined by Heavy Metal Residues. Polish Journal of Environmental Studies Vol. 14, No 6 (2005), 877-881.
- 7) Harmankaya M. Comparative evaluation of some macro- and micro-element and heavy metal contents in commercial fruit juices. Environ Monit Assess (2012) 184:5415–5420.
- 8) Liliana A., José V., Diego S., Lander P., Alex V., Efecto De La Temperatura Y Radiación Ultravioleta De Onda Corta En El Contenido De Ácido L-Ascórbico En Zumo De Naranja (Citrus sinensis). [en internet]. ]. [citado el 12 de octubre del 2015]. Disponible en:

file:///C:/Users/masiel-uno/Downloads/346-604-1-PB%20(2).pdf

- 9) Manuel V., Efecto del Envase sobre la Estabilidad de vitamina c en caramelos de gelatina. [en internet]. ]. [citado el 12 de octubre del 2015]. Disponible en:  
<http://pa.bibdigital.uccor.edu.ar/34/1/2012.%20Vazquez.%20Efecto%20del%20envase.pdf>.
- 10) Tufuor J. K. Analysis of heavy metals in citrus juice from the Abura-Asebu-Kwamankese District, Ghana. J. Chem. Pharm. Res., 2011, 3(2):397-402.
- 11) E. N. Nzekwe .Determination Of Vitamin C And Metal Ions In Different Fruit Juice Samples From Ekwulobia, Anambra State.
- 12) Guía Técnica para el Cultivo de la Naranja. Dirección Regional de Agricultura San Martín. Dirección de Desarrollo y Competitividad Agraria. Cadena Productiva de Cítricos.
- 13) Sharon S. Cuantificación de Ácido Ascórbico (Vitamina C) en Néctares de Melocotón y Manzana Comercializados en Supermercados de la ciudad Capital [Tesis para optar al título de químico farmacéutico] Guatemala; 2010 [citado el 23 de octubre del 2014]. Disponible en:  
[http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06\\_2987.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2987.pdf)
- 14) Remington. 2003. FARMACIA. 20º Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. Pág. 1688-1689, 1702-1703.
- 15) FAO/OMS. 1989. Norma General para Jugos de Frutas conservados por medios físicos exclusivamente, no regulados por normas individuales. CODEX STAN 164-1989. Roma, s.p.
- 16) Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations. Title 21: Food and Drugs. Estados Unidos de América.
- 17) Pittier, Henri. Plantas usuales de Costa Rica. Editorial Costa Rica. 1978. San José, Costa Rica.
- 18) Unión Europea. Asociación de la Industria de Jugos y Néctares de la Unión Europea.

- 19)** Casas. A. Mallent, D. Montoro,R. (1976). Evaluación Rápida del Contenido en Carotenoides Totales del Zumo de Naranja. Rev.Agroq. Tecnol. Alim. 16, 4, 503-508.
- 20)** Gunnar N. Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo. Metales: propiedades químicas y toxicidad. Cap. 63.pág 63.1-63.72.
- 21)** F. Burriel Martí, F. Lucena Conde, S. Arribas Jimeno, J. Hernández Méndez (2006). «Química analítica de los cationes: Plomo». Química analítica cualitativa (18ª edición edición). Thomson. pp. 426–435
- 22)** Cano, A.; Arnao, M. B. Actividad antioxidante hidrofílica y lipofílica y contenido en vitamina C de zumos de naranja comerciales: relación con sus características organolépticas Ciencia y Tecnología Alimentaria, vol. 4, núm. 3, julio, 2004, pp. 185-189, Sociedad Mexicana de Nutrición y Tecnología de Alimentos México. [citado el 18 de octubre del 2014] disponible en: [www.redalyc.org/pdf/724/72440306.pdf](http://www.redalyc.org/pdf/724/72440306.pdf)
- 23)** Norma general para los aditivos alimentarios CODEX STAN 192-1995. Adoptado en 1995. Revisión 1997, 1999, 2001, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014. [www.codexalimentarius.org/input/.../standards/4/CXS\\_192\\_2014s.pdf](http://www.codexalimentarius.org/input/.../standards/4/CXS_192_2014s.pdf)
- 24)** Norma del CODEX para el etiquetado y la declaración de propiedades de los alimentos para fines medicinales especiales CODEX STAN 180 (1991). ;[citado el 18 de octubre del 2014] disponible en: [www.codexalimentarius.org/input/download/standards/.../CXS\\_180s.pdf](http://www.codexalimentarius.org/input/download/standards/.../CXS_180s.pdf)

## ANEXOS

### MATRIZ DE CONSISTENCIA

**Título:** “DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE ÁCIDO ASCORBICO EN JUGOS DE NARANJA ENVASADOS”

**Presentado por:** Soledad Callata Chino

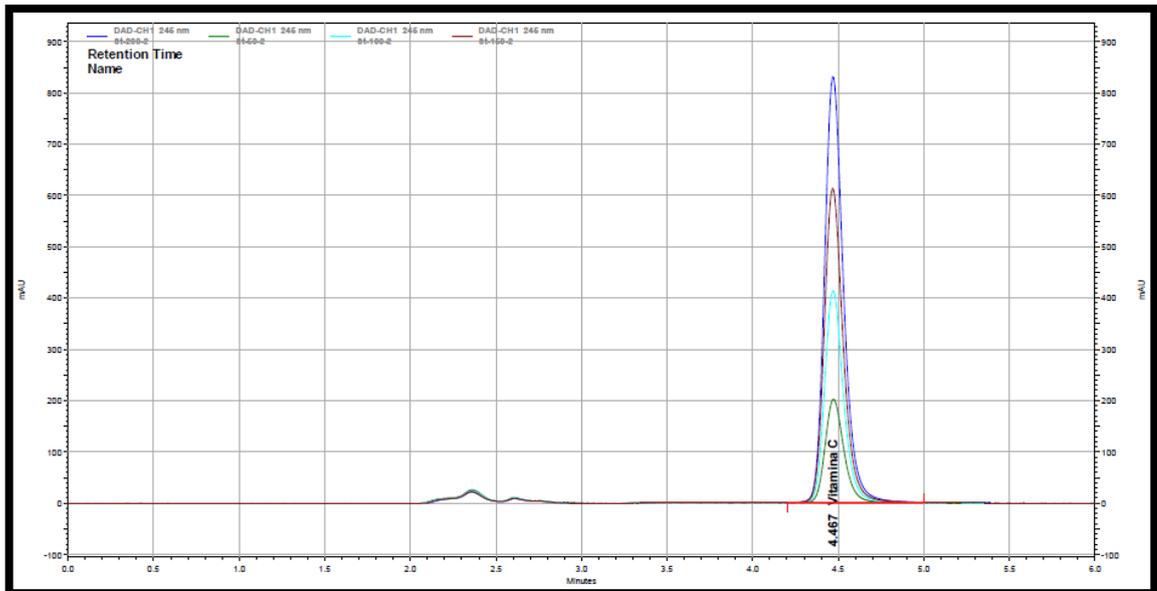
PROBLEMAS	OBJETIVOS	VARIABLES	DISEÑO	
<p><b>1. PROBLEMA GENERAL</b></p> <p>¿Presentarán los jugos de naranja envasados, expendidos en los supermercados de Lima Metropolitana, los valores mínimos de ácido ascórbico establecidos por, la Norma Venezolana COVENIN 1699:1994 y el Real Decreto 1518/2007 de España?</p>	<p><b>1. OBJETIVO GENERAL</b></p> <p>Determinar la concentración de ácido ascórbico en los jugos de naranja envasados expendidos en supermercados de Lima Metropolitana.</p> <p><b>2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Comparar la concentración de ácido ascórbico en los jugos de naranja envasados, con los valores establecidos por la Norma Venezolana COVENIN 1699:1994.</li> <li>• Comparar la concentración de ácido ascórbico en los jugos de naranja envasados, con los valores establecidos por el Real Decreto 1518/2007 de España.</li> <li>• Comparar la concentración de ácido ascórbico en los jugos de naranja envasados, con la concentración declarada en su rotulado.</li> </ul>	<p><b>1. VARIABLES INDEPENDIENTES(X)</b></p> <p>Jugos de naranja envasados, expendidos en supermercados de Lima Metropolitana.</p> <p><b>2. VARIABLE DEPENDIENTES (Y)</b></p> <p><b>Norma Venezolana COVENIN 1699:1994.</b> -- &gt; mínimo 35 mg/100 mL</p> <p><b>Real Decreto 1518/2007 de España</b> -- &gt;Mínimo 200 mg/L.</p>	<p><b>1. TIPO DE INVESTIGACIÓN:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>❖ Inductivo – deductivo.</li> </ul> <p><b>2. MÉTODO DE INVESTIGACIÓN:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>❖ Transversal</li> <li>❖ Retrospectivo</li> </ul> <p><b>3. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>❖ No Experimental</li> </ul>	<p><b>4. POBLACIÓN:</b></p> <p>Jugos de naranja envasados, expendidos en los supermercados de Lima Metropolitana.</p> <p><b>5. MUESTRA:</b></p> <p>Distintas marcas de jugos de naranja envasados expendidos en los supermercados de Lima Metropolitana.</p>

**Cuadro N° 1: Listado de Muestreo**

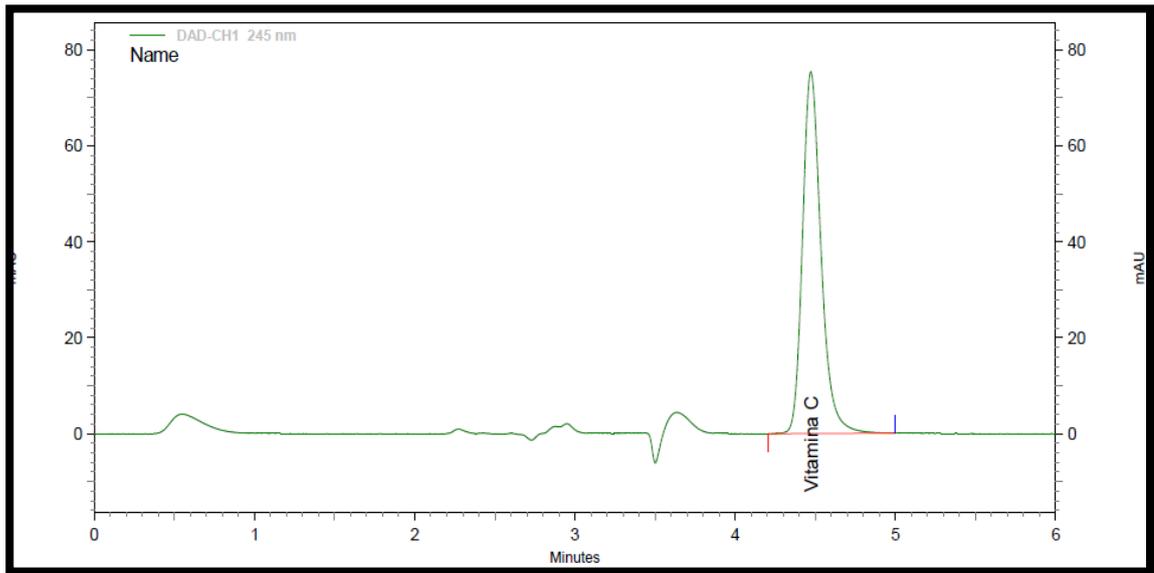
Nro de muestra	Marca
1	Cifrut
2	Tampico
3	Selva
4	Frugos
5	Ecofresh
6	Watts
7	Gloria
8	Beberash
9	Disfruta
10	Frugos del campo

**Fuente: Elaboración Propia.**

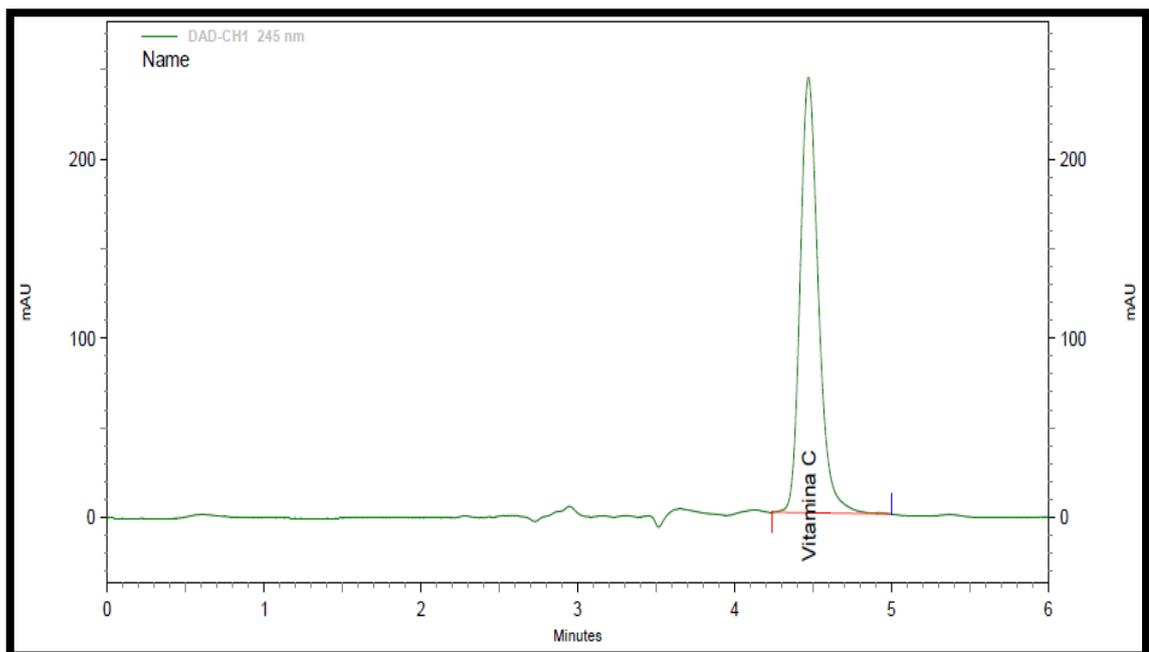
**Figura 01: Cromatograma de las soluciones estándar.**



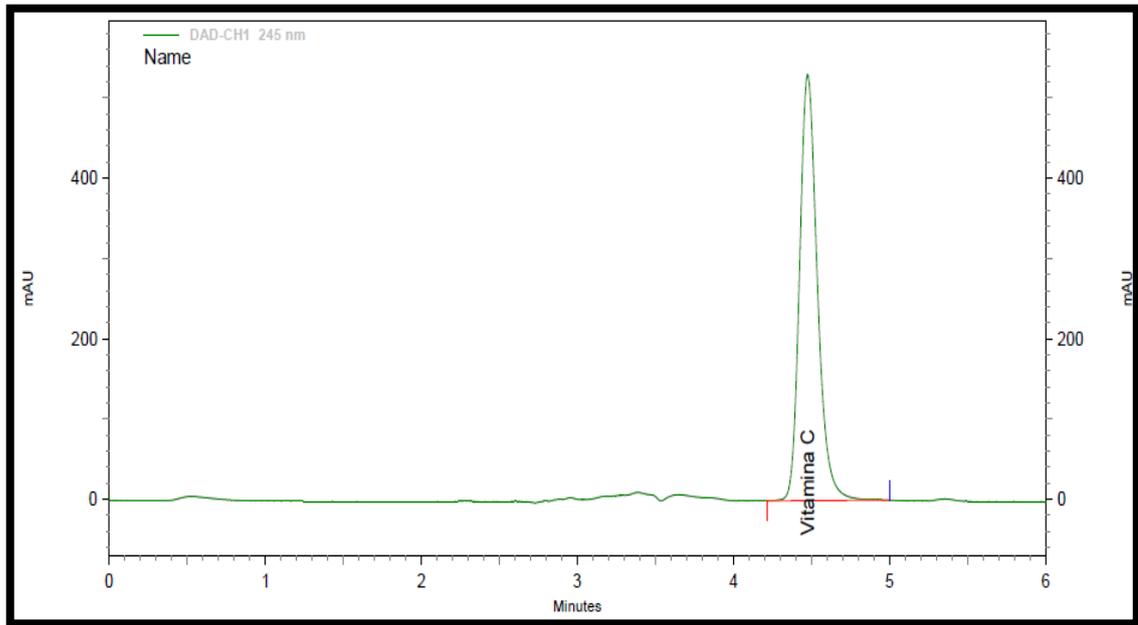
**Figura 02: Cromatograma de la muestra 01.**



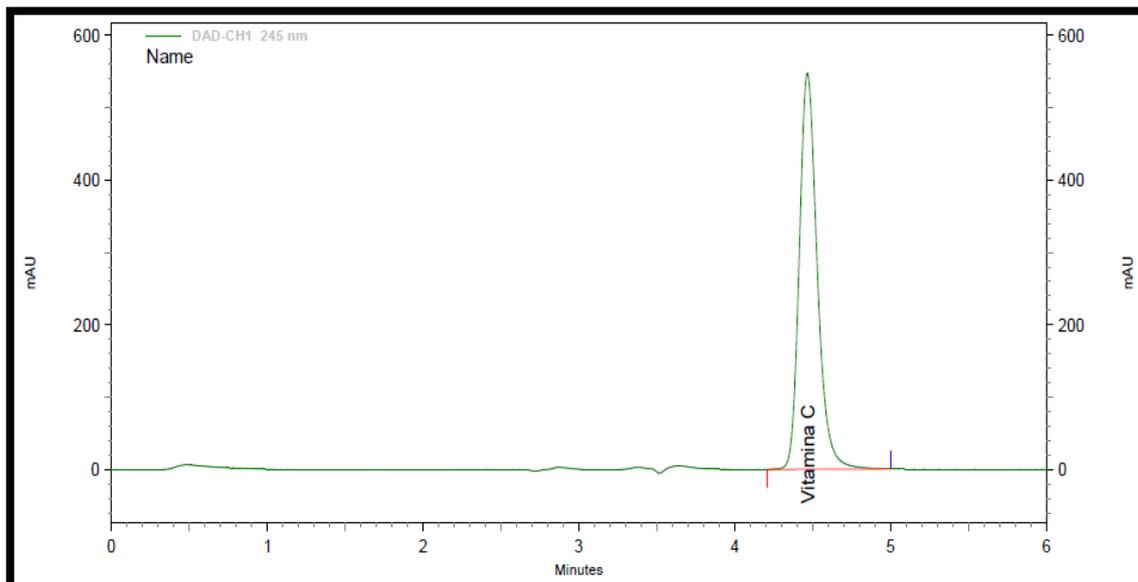
**Figura 03: Cromatograma de la muestra 02**



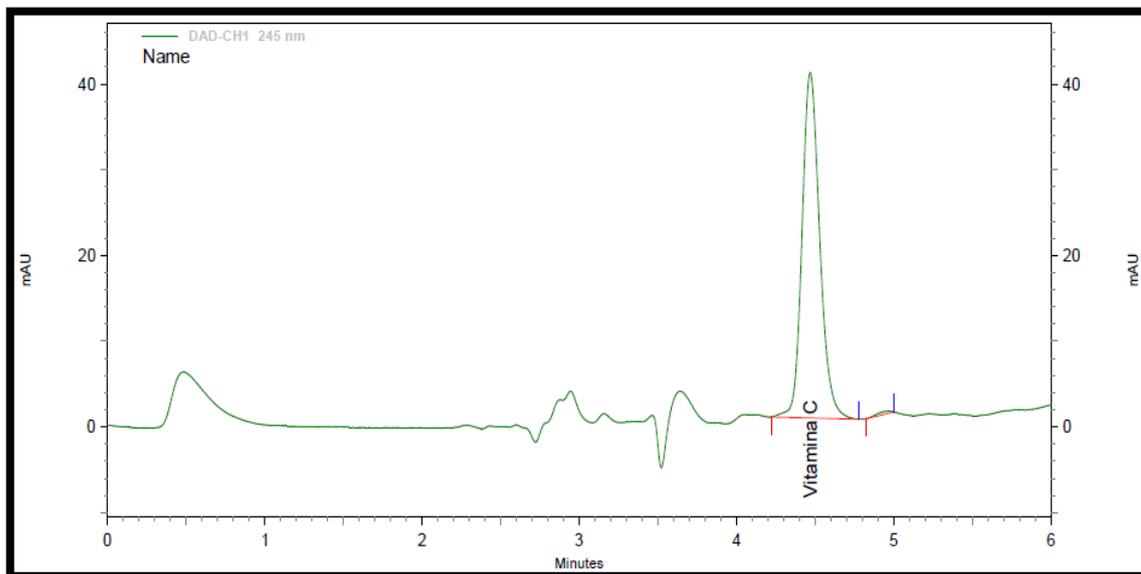
**Figura 04: Cromatograma de la muestra 03**



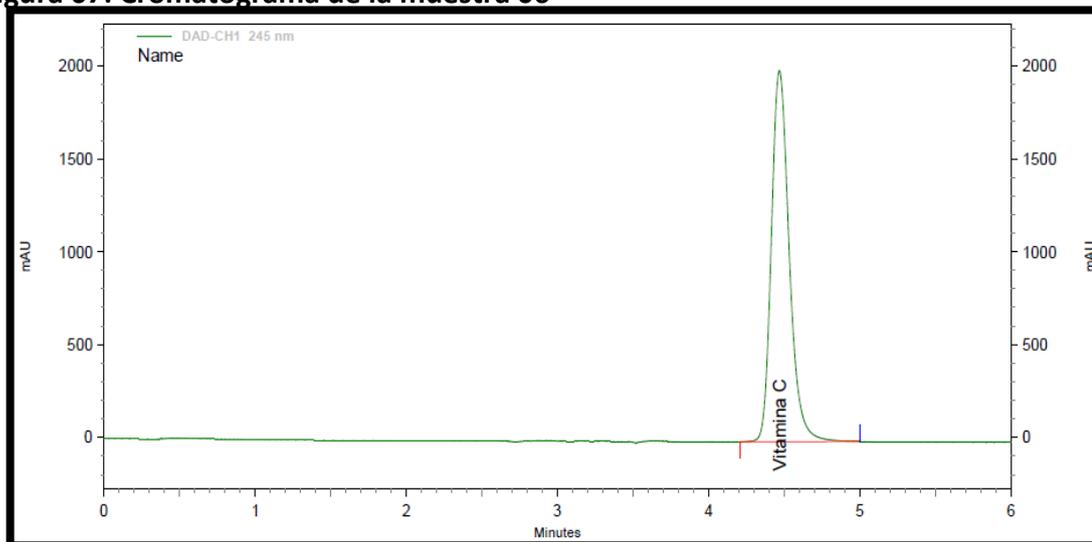
**Figura 05: Cromatograma de la muestra 04**



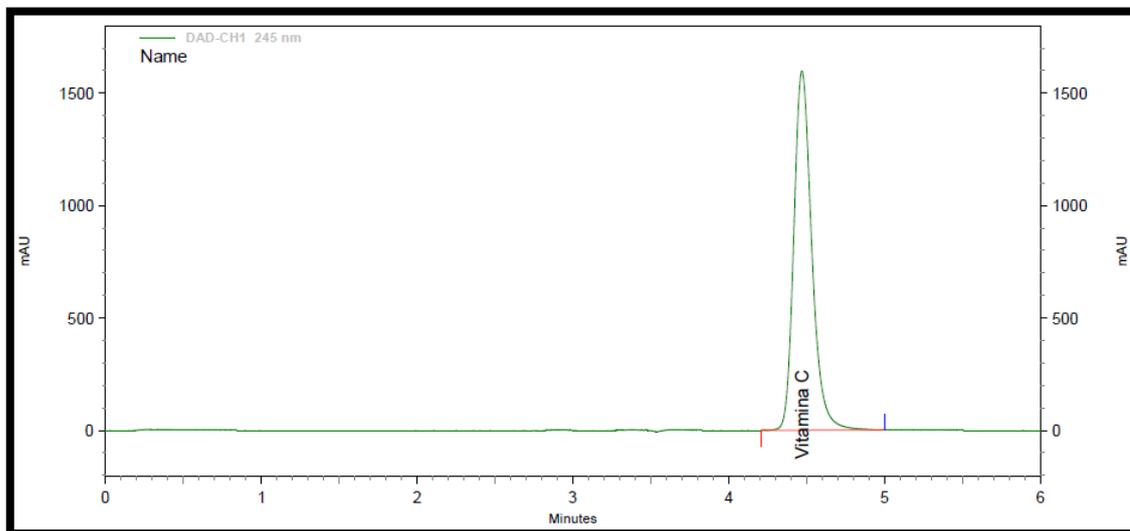
**Figura 06: Cromatograma de la muestra 05**



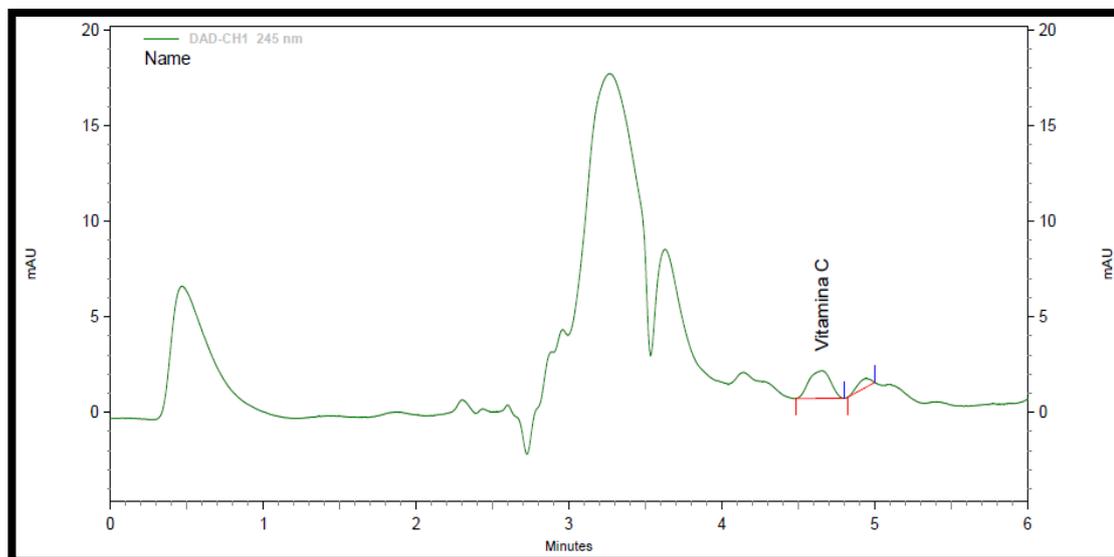
**Figura 07: Cromatograma de la muestra 06**



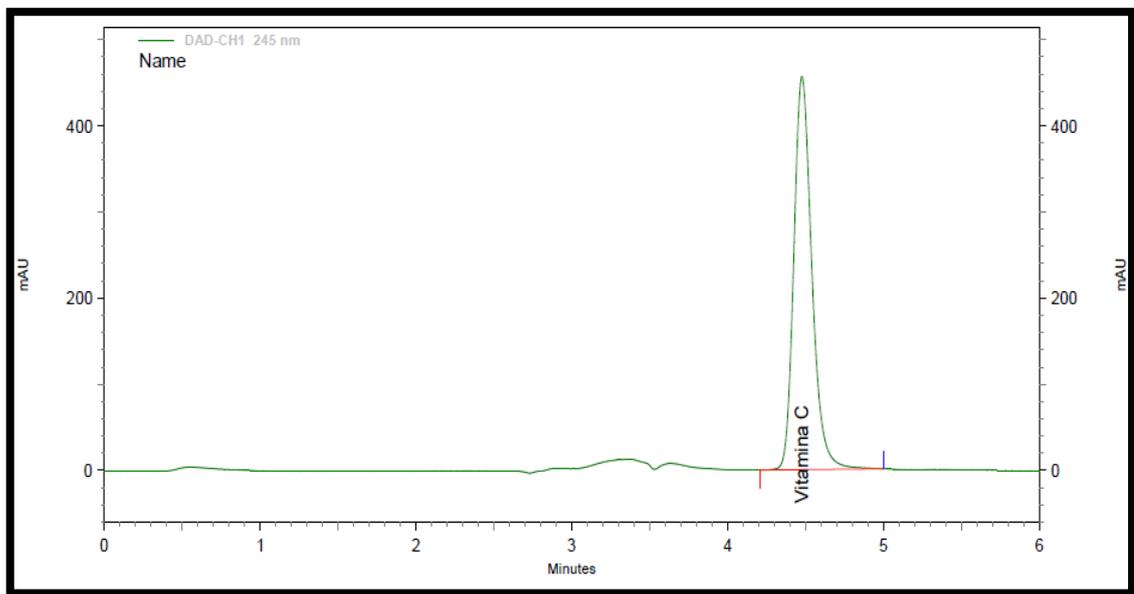
**Figura 08: Cromatograma de la muestra 07**



**Figura 09: Cromatograma de la muestra 08**



**Figura 10: Cromatograma de la muestra 09**



**Figura 11: Cromatograma de la muestra 10**

