

## 7 Capítulo

### DETERMINACIÓN DE VITAMINAS HIDROSOLUBLES Y LIPOSOLUBLES EN EL FRUTO ZAPOTE (QUARARIBEA CORDATA: MALVACEAE)

**Jaime Narváez Camacho**

*Universidad Santiago de Cali*

<https://orcid.org/0000-0003-0595-6143>

**Jorge Enrique Castillo Ayala**

*Universidad Santiago de Cali*

<https://orcid.org/0000-0002-4320-0761>

## INTRODUCCION

El zapote de la variedad quararibea cordata: malvaceae es un fruto originario de la amazonia latinoamericana y es distribuido principalmente en la región andina, el fruto es poco aprovechado debido al desconocimiento de las propiedades nutritivas que lo componen. La pulpa del fruto es comestible, fibrosa, de color naranja, sabor dulce y aromático. (ALEGRÍA, HOYOS, & PRADO, 2007).

El zapote es ampliamente consumido en la región andina, éste se consume principalmente en estado natural, es decir, se corta en trozos y es consumido de forma directa, aunque también se pueden elaborar jugos, dulces y productos horneados.

Se pretende con la investigación determinar el contenido de vitaminas presentes en el fruto utilizando técnicas analíticas validadas estadísticamente. Las técnicas analíticas a utilizar están basadas en cromatografía líquida de alta eficiencia o HPLC.

Las vitaminas hidrosolubles como su nombre lo indica son solubles en medios acuosos, forman parte de sistemas enzimáticos que catalizan el metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas. Se encuentran en los alimentos unidas a coenzimas y se liberan en el aparato digestivo por medio de enzimas (Cordoba, 2013).

Las vitaminas liposolubles con sustancias orgánicas, de naturaleza y composición variada, que participan en reacciones metabólicas intracelulares específicas. Pese a su carácter de nutrientes naturales, las vitaminas no desempeñan funciones plásticas ni energéticas. Muchas de las vitaminas integran sistemas enzimáticos, actuando como coenzimas o formando parte de la molécula de coenzimas. Otras cumplen su papel de un modo similar al de las hormonas, por esto son participantes esenciales de numerosas vías metabólicas y procesos fisiológicos. Se necesitan en pequeñas cantidades, por lo que no se le pueden considerar como alimento propiamente dicho, aunque su presencia es imprescindible para el desarrollo normal del organismo. No pueden ser sintetizados por el organismo, razón por la cual deben ser provistas por los alimentos. (Cordoba, 2013).

La Cromatografía líquida es una técnica de análisis que es ampliamente utilizada en la determinación de componentes químicos de diferentes naturalezas (orgánicos o inorgánicos), se debe aclarar que la cromatografía líquida es una técnica de separación y no debe confundirse con una prueba de identificación. El análisis se basa en los tiempos de retención de los analitos sometidos a la corrida cromatográfica (tiempo de análisis) comparando los tiempos de retención obtenidos con patrones primarios de las sustancias a analizar los cuales deben tener un alto grado de pureza y estar certificados para este tipo de análisis.

El principio de la cromatografía de fase reversa es la separación de distintos componentes de la muestra mediante absorción selectiva de los componentes de la misma en una fase estacionaria, la cual está compuesta por un componente químico apolar el cual tendrá una afinidad química con las vitaminas a determinar.

También se compone de una fase móvil, la cual pasa a través de todo el sistema cromatográfico de forma constante, la fase móvil debe ser polar o tener una polaridad moderada, en la misma deben ser solubles los analitos a determinar para que estos no se queden retenidos permanentemente en la fase estacionaria y puedan fluir al detector una vez son separados.

## DESARROLLO:

El Zapote de la variedad Quararibea Cordata Malvaceae es un fruto exótico de la región andina al cual se le atribuyen diferentes propiedades nutricionales; según las normas actuales que legislan el etiquetado de los alimentos (INVI-MA, 2011), cualquier bondad nutricional que se le atribuye a los alimentos que se comercializan en el país deben ser demostrados mediante pruebas químicas o biológicas.

El proyecto de determinación de vitaminas en Zapote nace de la necesidad de desarrollar un método analítico el cual permita la determinación simultánea de vitaminas según su naturaleza (hidrosoluble o liposoluble) en frutas, en su momento se definió validar los métodos analíticos en un fruto que sea de amplio consumo a nivel regional y al cual no se le haya realizado este tipo de estudios a nivel nacional, por esta razón y junto con el Director de Trabajo de Grado es seleccionado el fruto Zapote.

En la primera socialización del proyecto, la cual se realizó en el mes de octubre del año 2012 en la Semana de la Química celebrada por la Facultad de Ciencias Básicas de la Universidad Santiago de Cali, se expone la importancia de tener una técnica validada para este tipo de análisis y la posibilidad de la misma de ser publicada en revistas científicas a nivel nacional e internacional, el proyecto fue reconocido por los evaluadores como el mejor en su categoría brindando el aval para ser presentado en el Encuentro Departamental de Semilleros de Investigación.

Este aval permitió dar a conocer el trabajo a nivel departamental y que otras unidades de la Universidad Santiago de Cali nos apoyaran en este nuevo periplo hacia el Encuentro Nacional de Investigaciones, aval que se consigue en el mes de mayo de 2013 gracias a la obtención de un puntaje sobresaliente en la presentación en este evento.

El proyecto de determinación de vitaminas llama la atención de un grupo de empresarios del departamento del Valle del Cauca, los cuales deciden apoyar económicamente la totalidad de la investigación aportando los insumos y equipos necesarios para llevar a cabo dicha investigación, el apoyo recibido permite un mejor desarrollo del trabajo pronosticando tener productos entregables para enero del 2014.

Inicialmente se le otorgó a la técnica analítica a desarrollar un papel principal en la investigación dejando a un lado el potencial nutricional que pudiese llegar a contener el fruto. Debido a la buena aceptación del trabajo se decidió darle unos ajustes al enfoque de presentación, estos ajustes se realizan con el fin de brindarle al Zapote un protagonismo mayor debido al impacto social y económico que pudiese llegar a tener en Colombia.

Debido a la fuerte revisión bibliográfica que se realizó, se logró determinar que en Colombia no se han reportado estudios referentes al contenido vitamínico en el fruto que favorezcan y promuevan su comercialización doméstica o con fin de exportación hacia países con los que actualmente se cuenta con tratados de libre comercio, para lo cual uno de los principales requisitos es declarar su aporte nutricional, para este caso su contenido de vitaminas conforme a la legislación vigente para cada país.

Por tanto, determinar el contenido de vitaminas presentes en este fruto tropical y lograr su etiquetado nutricional permitirá no solo promover su consumo local, sino que favorecerá su comercialización internacional, brindando una oportunidad económica importante para las familias (empresarios o campesinos cultivadores) que dependen de la comercialización de este fruto.

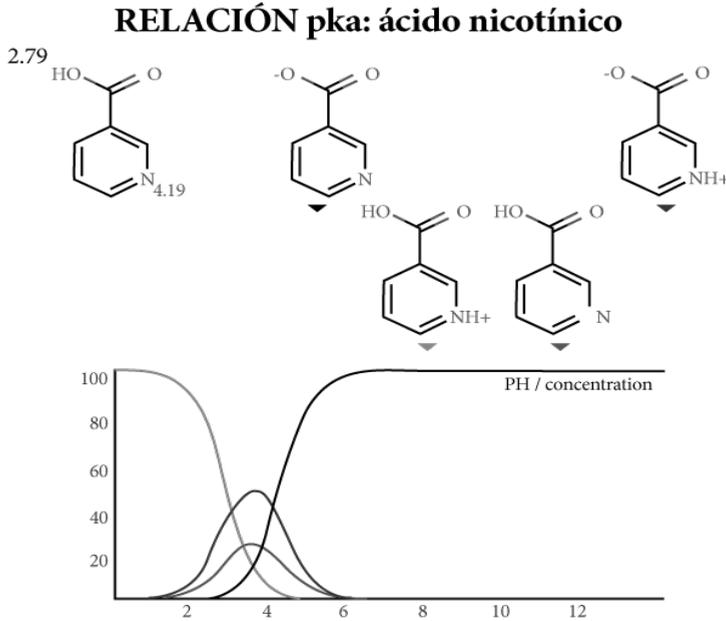
### **Es por esto que se plantea como objetivo principal de la investigación:**

Determinar el contenido de vitaminas hidrosolubles (Vitamina C, B1, B2, B3, B6 y B9) y liposolubles (Vitaminas A, D y E) presentes en el fruto zapote de la variedad Quararibea cordata Malvaceae mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) para establecer su aporte nutricional conforme a la resolución 333 DE 2011 del INVIMA que aplica para el etiquetado de alimentos en el territorio colombiano.

En la determinación de vitaminas solubles (Vitamina C, B1, B2, B3, B6 y B9) se busca que las 6 vitaminas se puedan determinar en un solo análisis o corrida cromatográfica, se ha determinado que el proceso crítico en la determinación de las mismas es el proceso de extracción de vitaminas en el fruto Zapote, debido a lo compleja que es la matriz (todas las sustancias extraídas en medio acuoso) del fruto.

Para la extracción de vitaminas solubles se han utilizado diferentes medios de extracción, no se han obtenido buenos resultados debido a la formación de especies intermedias en la muestra, debido a la protonación o desprotonación (pérdida o ganancia de hidrógenos) de especies. Ver figura 1.

*Figura 8. Curva de pKa para el ácido Nicotínico(ChemAxon, 2013).*



Como se puede observar en la figura 1, para el caso específico del ácido Nicotínico o vitamina B3 la cual es una de las vitaminas a trabajar, se presenta un alto grado de interferencias a pH ácidos (2 – 5) debido a la formación de 4 especies diferentes. Estas especies formadas deforman los picos obtenidos en las corridas cromatográficas, produciendo análisis no reproducibles y que los picos obtenidos no sean cuantificables debido a que las áreas de los mismos sean pequeñas. Inicialmente se estaba trabajando con una solución de extracción basada en un buffer fosfato a pH 2,5 el cual se encuentra en el rango de interferencias encontradas en la literatura.

Pero, si se observa nuevamente la curva de pKa (figura 1) se puede evidenciar que a pH neutros (entre 6 – 8) no se encuentran interferencias, este comportamiento se observa también en las otras vitaminas hidrosolubles. Por tanto, actualmente se están realizando ensayos con otra solución de extracción la cual está compuesta principalmente por acetato de amonio a pH neutro (Hong Zhang, 2009) los resultados obtenidos hasta el momento aun no son concluyentes.

Para la determinación de las vitaminas liposolubles (Vitaminas A, D y E) se busca, al igual que en la vitaminas hidrosolubles, sean determinadas en una sola corrida analítica. Para el proceso de extracción se ha utilizado el método de saponificación, el cual consiste someter la muestra a calentamiento en un medio alcohólico y con una base fuerte en este caso KOH (hidróxido de potasio) para disociar las grasas presentes en el fruto, terminado el proceso, se extrae la materia insaponificable que no reacciona en el proceso de saponificación con la ayuda de un solvente no polar el cual es afín con las vitaminas liposolubles (Nollet & Toldra, 2012).

Cabe resaltar que en el método de extracción de las vitaminas liposolubles no se presentan interferencia por la matriz del zapote, ya que en el proceso de saponificación se eliminan la mayoría de componentes que podrían ser solubles en el solvente poco polar, ya que al saponificar las grasas pierden su característica no polar convirtiendo las mismas en especies solubles en medios acuosos lo que facilita su eliminación, se iniciara entonces el proceso de validación del método de extracción y el método cromatográfico.

Se está trabajando en el ajuste de las condiciones óptimas de extracción de vitaminas, pues de este depende la obtención de buenos resultados en el análisis cromatográfico de las vitaminas que garanticen resultados reproducibles y repetibles entre sí.

En el proceso de investigación se ha contado con el apoyo de diferentes estamentos de la Universidad Santiago de Cali, los profesores de la Facultad de Ciencias que no solo han aportado ideas para la mejora si no que también han sido evaluadores del proyecto lo que ha permitido mejorar cada día más la investigación, el Área de Dirección de Investigaciones y el Área de Extensión dado que con su apoyo se ha promovido y proyectado la investigación a nivel nacional.

Seguramente se lograrán más cosas con esta investigación, con la ayuda de la Universidad Santiago de Cali y en sinergia con la industria vallecaucana que han creído firmemente en esta investigación que trascenderá las fronteras y se lograra varias publicaciones en diferentes revistas científicas importantes a nivel mundial. El trabajo no sea uno más de tantos que se hacen cada día, estoy convencido que será así porque la Santiago transformó mi mundo.



## BIBLIOGRAFÍA

- ALEGRÍA, J., HOYOS, O., & PRADO, J. (2007). características fisicoquímicas de dos variedades del fruto del zapote (*Matisia Cordata*) comercializadas en el departamento del Cauca.
- Cordoba, U. D. (2013). Vitaminas Hidrosolubles y Liposolubles Retrieved 11 de octubre, 2013, from [http://www.uco.es/zootecniaygestion/menu.php?es\\_caso=0&libro=6](http://www.uco.es/zootecniaygestion/menu.php?es_caso=0&libro=6)
- ChemAxon. (2013). Nicotinic Acid from [www.chemicalize.org](http://www.chemicalize.org)
- Hong Zhang, S. C., Wenjuan Liao, and Yiping Ren. (2009). Fast simultaneous determination of multiple water-soluble vitamins and vitamin-like compounds in infant formula by UPLC-MS/MS. Retrieved from
- INVIMA. (2011). Resolución numero 333 de 2011 Retrieved 11 de octubre, 2013, from [http://www.invima.gov.co/images/stories/resoluciones/Res\\_333\\_de\\_feb\\_2011\\_Rotulado\\_nutricional.pdf](http://www.invima.gov.co/images/stories/resoluciones/Res_333_de_feb_2011_Rotulado_nutricional.pdf)
- Nollet, L. M. L., & Toldra, F. (2012). Food Analysis by HPLC, Third Edition: Taylor & Francis.