



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



[Atribución 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0)

Esta licencia permite que otros distribuyan, mezclen, adapten y construyan sobre su trabajo, incluso comercialmente, siempre que le reconozcan la creación original. Esta es la licencia más complaciente que se ofrece. Recomendado para la máxima difusión y uso de materiales con licencia.

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>



FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y PETROQUÍMICA
UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD

CONSTANCIA

El que subscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título es:

“Comparación de los métodos Kjeldahl y Biuret para determinar proteínas solubles en harina de pallar”

Presentado por:

GONZALES CORTEZ JOSÉ MOISÉS

Autor del Proyecto de Tesis del nivel de **PREGRADO** de la Facultad de **INGENIERÍA QUÍMICA Y PETROQUÍMICA**. El Resultado obtenido es 12% (PORCENTAJE DE SIMILITUD) por lo cual, se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Observaciones:

El porcentaje de similitud es menor del 20%, establecido como máximo por Reglamento de Evaluación de originalidad.

Ica, 30 de abril de 2024

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y PETROQUÍMICA
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN

Dra. ROSALUZ GALINDO PASACHE
DIRECTORA (s)

UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Ingeniería Química y Petroquímica



**“Comparación de los métodos Kjeldahl y Biuret para
determinar proteínas solubles en harina de pallar”**

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Ciencias naturales, ingeniería y tecnologías sostenibles.

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO QUÍMICO**

Autor:

GONZALES CORTEZ JOSÉ MOISÉS

Asesor:

ING. ARMANDO TATAJE MONTALVAN

Ica – Perú

2023

Dedicatoria

A mis padres que han sabido formarme con buenos sentimientos y valores lo cual me ha ayudado a seguir adelante en los momentos difíciles.

Agradecimientos

En primer lugar, a Dios quien me ha dado la fortaleza para seguir adelante.

A mis padres por su comprensión y ser los pilares fundamentales en mi formación profesional.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE CONTENIDOS	4
ÍNDICE DE TABLAS	5
ÍNDICE DE FIGURAS.....	7
Resumen.....	8
Abstract	10
I. INTRODUCCIÓN	11
1.1. Antecedentes.....	11
1.2. Marco Teórico	13
1.2.1 Proteínas: Generalidades	13
1.2.2 Proteína Vegetal: El Pallar	18
1.2.3 Métodos para análisis de proteínas.....	19
1.2.4 Método Kjendahl.....	20
1.2.5 Método Biuret	23
II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA	27
III. RESULTADOS	47
3.1 Resultados descriptivos.....	47
3.2 Resultados inferenciales	51
IV. DISCUSIÓN.....	54
V. CONCLUSIONES	58
VI. RECOMENDACIONES	59
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
VII. ANEXOS.....	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Calidad proteica de algunos alimentos.....	16
Tabla 1.2 Composición química del pallar (por 100 gramos de alimento).....	19
Tabla 1.3 Factores de conversión de nitrógeno a Proteína para alimentos.....	21
Tabla 2.1 Tabla de medición de la Albumina para la experiencia.....	29
Tabla 2.2 Resultados de la Albumina en el Espectrofotómetro.....	30
Tabla 2.3 Datos obtenidos de la muestra de pallar	32
Tabla 2.4 Datos corregidos de la muestra de pallar en función a la ABS. Vs Concentración	33
Tabla 2.5 Resumen de los datos ajustados “Absorbancia Vs Concentración”	34
Tabla 2.6 Comparación de Datos Concentración Vs LIC y LSC en función a la Absorbancia	35
Tabla 2.7 Datos corregidos de la muestra de pallar en función a la “%Transmitancia Vs Concentración	36
Tabla 2.8 Resumen de los datos ajustados “%Transmitancia Vs Concentración”	37
Tabla 2.9 Comparación a de Datos “Concentración Vs LIC y LSC” en función a la %Transmitancia	37
Tabla 2.10 Datos de Titulación para la determinación de Proteínas por método Kjeldahl.....	41
Tabla 2.11 Resultados generales de la determinación de Proteínas por método Kjeldahl.....	42
Tabla 2.12 Resultados ajustados de Proteínas por método Kjeldahl (eliminando M1 y M4).....	43
Tabla 2.13 Resumen de datos obtenidos por el método Kjeldahl.....	44
Tabla 2.14 Resultados de Proteínas por el método Kjeldahl dentro de los límites permitidos	44
Tabla 3.1 Descriptivos del método de Biuret para determinar la concentración de proteínas solubles en harina de pallar (<i>Phaseolus lunatus</i>).....	47
Tabla 3.2 Distribución, medidas de tendencia central y dispersión.....	48
Tabla 3.3 Resultados descriptivos de concentración de proteínas solubles por el método de Kjeldahl en harina de pallar (<i>Phaseolus lunatus</i>).....	49
Tabla 3.4 Medidas estadísticas de los resultados del método de Kjeldahl	49
Tabla 3.5 Comparación de los resultados obtenidos por cada método.....	50
Tabla 3.6 Tabla comparativa de las concentraciones de proteínas obtenidas por el método de Biuret y el método de Kjeldahl.....	50

Tabla 3.7 Análisis de varianza (ANOVA)	51
Tabla 3.8 Media y desviación estándar de cada grupo.....	51
Tabla 3.9 Prueba de Tukey para identificar las diferencias entre los grupos	52
Tabla 3.10 coeficientes de correlación de Pearson.....	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Complementación Proteica	17
Figura 1.2 Proteína vegetal “el Pallar”	18
Figura 1.3 Sistema Kjeldahl convencional	22
Figura 1.4 Sistema Kjeldahl semiautomático	22
Figura 1.5 Principio de acción del método Biuret	23
Figura 1.6 Espectrofotómetro UV -visible	24
Figura 1.7 Espectrofotómetro UV-Visible con PC incorporado	24
Figura 2.1 Diseño de la Investigación	27
Figura 2.2 Medición de la Albúmina para la experiencia	29
Figura 2.3 Solución patrón en 3 concentraciones distintas	30
Figura 2.4 Resultados de la Concentración de las muestras Patrón (a 540 nm)	30
Figura 2.5 Filtración lenta	31
<i>Fuente:</i> Elaboración propia	31
Figura 2.6 Filtración rápida	31
Figura 2.7 Centrifugación múltiple hasta la tonalidad ideal	32
Figura 2.8 Gráfica de la muestra Patrón - “Concentración Vs Absorbancia”	33
Figura 2.9 Gráfica de la muestra Patrón - “Concentración Vs %Transmitancia”	36
Figura 2.10 Gráfica comparativa “Concentración Vs LIC y LSC en función a la Absorbancia”	38
Figura 2.11 Gráfica comparativa “Concentración Vs LIC y LSC” en función a la %Transmitancia	38
Figura 2.13 Tratamiento de la muestra – secado	39
Figura 2.14 Proceso de digestión en el equipo Kjeldahl semiautomático	40
Figura 2.15 Proceso de destilación en el equipo Kjeldahl semiautomático	40
Figura 2.16 Titulación de la muestra procesada (Viraje)	41
Figura 2.17 Comparación Gráfica de resultados por el método Kjeldahl Vs LIC y LSC	45
Figura 2.18 Gráfica de Probabilidad de %Proteínas - Minitab	45
Figura 3.1 Gráfica de Probabilidad de %Proteínas - Minitab	52

Figura 7.1 Preparación de reactivo Biuret.....	63
Figura 7.2 Preparación de la mezcla catalizadora	64
Figura 7.3 Preparación del Indicador Tashiro	66
Figura 7.4 Agitación de la solución de soda caustica al 30%	67
Figura 7.5 Coloración lechosa de la solución de NaOH al 30%	67

Resumen.

El presente trabajo de investigación titulado “Comparación de los métodos Kjeldahl y Biuret para determinar proteínas solubles en harina de pallar”, buscó encontrar el método más exacto y fiable para la determinación precisa del contenido de proteínas en alimentos como el caso de las leguminosas, actualmente alimentos muy consumidos en harinas, lo cual hace necesario la evaluación correcta de su valor proteico. Este estudio pretendió comparar un método analítico conocido en relación a otro método atípico, con la adición de un equipo instrumental.

La hipótesis planteada indicó la existencia de diferencias significativas entre ambos métodos al determinar la concentración de proteínas solubles en harina de pallar; la investigación se aplicó en muestras de harina de pallar, asignadas aleatoriamente a dos grupos, analizados mediante el método Kjeldahl y método Biuret (acompañado por el uso del equipo de espectrofotómetro UV-Visible); obteniendo como resultados 20,97 g/100g por el método Kjeldahl y 19,60 g/100g por el método Biuret compuesto, con una desviación estándar de 0.0516 y 0.4442 respectivamente; se concluye que ambos métodos son válidos y que no hay altas diferencias significativas entre ellos, ya que lo recomendable es que sea de menor o igual a 0.5 como máximo que es permitido en pruebas repetitivas; y en comparación con los datos teóricos generales del contenido de proteína en la harina de pallar los cuales varían entre 20 a 25%, ello de acuerdo al procesamiento del producto terminado. Se puede decir, que el método Kjeldahl está dentro del rango de los datos históricos, así mismo en relación a los datos de la materia prima antes de ser convertida en harina que es de 19.4 % en el pallar según MINSa (2017), a diferencia del Método Biuret, que tiene una ligera diferencia hacia abajo, pero no despreciable, así mismo, es importante tener en cuenta que el método de Biuret es más rápido y menos costoso que el método Kjeldahl, lo que lo hace más práctico para su uso en la industria alimentaria

Palabras claves: Harina de pallar, proteínas solubles, Método Kjeldahl, Método Biuret.

Abstract.

The present research work titled "Comparison of Kjeldahl and Biuret methods for determining soluble proteins in pallar flour" aimed to find the most accurate and reliable method for the precise determination of protein content in foods such as legumes, which are currently widely consumed in the form of flours. This makes it necessary to accurately assess their protein value. This study sought to compare a well-known analytical method with an atypical one, with the addition of instrumental equipment.

The hypothesis posed indicated the existence of significant differences between both methods in determining the concentration of soluble proteins in pallar flour. The research was conducted on randomly assigned samples of pallar flour, analyzed using the Kjeldahl method and the Biuret method (accompanied by the use of UV-Visible spectrophotometer equipment). The results obtained were 20.97 g/100g by the Kjeldahl method and 19.60 g/100g by the Biuret method, with standard deviations of 0.0516 and 0.4442 respectively. It is concluded that both methods are valid, and there are no significant differences between them, as the desirable standard deviation is less than or equal to 0.5, which is allowed in repetitive tests.

Comparing these results with general theoretical data on the protein content in pallar flour, which varies between 20 to 25%, according to the processing of the finished product, it can be said that the Kjeldahl method falls within the range of historical data. Similarly, concerning the raw material data before being converted into flour (19.4% in pallar according to MINSa, 2017), the Kjeldahl method aligns well, whereas the Biuret method shows a slight but not negligible difference downwards.

It is important to note that the Biuret method is faster and less expensive than the Kjeldahl method, making it more practical for use in the food industry.

Keywords: Pallar flour, soluble proteins, Kjeldahl method, Biuret method.

I. INTRODUCCIÓN

La proteína es un macronutriente esencial para la salud humana, ya que desempeña un papel crucial en muchos procesos biológicos. La determinación de la proteína soluble es una de las etapas esenciales en los análisis de alimentos debido a su importancia fisiológica y composición; determinar la concentración de proteínas cada día es más necesario debido a la consulta frecuente de cada consumidor en materia de información nutricional de los productos. Es por este motivo que nos llevó a plantear esta investigación, el poder determinar la cantidad proteica de los alimentos, por ser un nutriente predominante y esencial en la alimentación saludable, contribuyendo directamente en la disminución de los problemas asociados al desorden alimenticio (tales como la diabetes, problemas de presión arterial, entre otros) e indirectamente contribuyendo en la disminución de la obesidad [1].

Los alimentos vegetales con mayor contenido proteico están en las legumbres, cereales integrales, nueces, semillas y productos de soja. En la ciudad de Ica, el pallar una leguminosa de grano, producto primario bandera muy cultivado por los agricultores de la región, lo que lo hace un producto de fácil acceso al consumidor; sin embargo, es poco lo que se ha estudiado sobre su composición proteica y las ventajas que este aportaría a un producto procesado.

1.1. Antecedentes

Antecedentes Internacionales

Lei *et al.* (2018), el estudio experimental se desarrolló en la Universidad de Filipinas Manila, con el fin de determinar el contenido proteico presente en el gandul (*Cajanus cajan*) y el haba pallar (*Phaseolus lunatus*) mediante el método de Kjeldahl el cual alcanzó $0,53 \pm 0,93$ de proteína soluble en 100 gr de muestra [2].

Marrugo, *et al* (2018), según su estudio experimental llevado a cabo en Colombia para determinar características fisicoquímicas en pallar (*Phaseolus lunatus*), lo realizó mediante 10 muestras; para identificar la cantidad de proteína utilizó el método de Kjeldahl, lo realizó mediante la relación harina-agua, con diversas relaciones desde 1:5 hasta 1:10 y a diferentes tiempos que variaban desde 30 a 60 minutos. En donde determinó que el pH óptimo para solubilidad de proteínas es de 8, obtuvo un porcentaje de proteínas de 61,8% y rendimiento de 22,6% por cada 100 gramos de harina integral de pallar (*Phaseolus lunatus*) y la relación óptima fue de 1:7 con agitación constante durante 60 minutos a 40°C [3].

Caiza (2019), en su trabajo de investigación que llevo a cabo en Ecuador, realizó pruebas experimentales para determinar la cantidad de N presente en las muestras de leguminosas (chocho, haba pallar, firiguero, frejol frutilla, habichuela, zarandaja, siete harinas), tubérculos,

raíces y pseudo cereales ; la cual empleó de muestra 0.1 gramos para la digestión del estándar de sulfato de amonio en donde utilizó aproximadamente 47.2 mg con aproximación de 0.1 g para que posteriormente lo dejé secar durante 180 minutos a 103°C y el contenido de proteína se calculó al multiplicar el porcentaje de N*6.25, el estudio realizado fue con enfoque cuantitativo y de tipo aplicada, manipuló dos variables es por ello que fue de tipo experimental. Las evaluaciones se realizaron en dos etapas, la primera utilizó harinas desengrasadas el cual determinó la proteína utilizando el método de microkjeldal seguida de una cuantificación del contenido de nitrógeno, en la segunda etapa se solubilizó la proteína a ph 8 con NaOH, también se realizó mediante el método de microkjeldal obteniendo proteína bruta en leguminosas desde $17,80 \pm 0,71\%$ hasta $46,22 \pm 0,50\%$, en tubérculos $3,93 \pm 0,09\%$ hasta $13,35 \pm 0,43\%$ y en pseudo cereales varia de $10,53 \pm 0,14\%$ hasta $15,25 \pm 0,32\%$; y el índice de solubilidad de la proteína (PSI) en leguminosas el contenido variaba de 22.09% hasta 8.54%, en los tubérculos fue de $1,25 \pm 0,03\%$ hasta $4,27 \pm 0,34\%$ y para pseudo cereales variaba de 3.58% hasta 4.21%; en el pallar se obtuvo $76,44 \pm 3,60\%$ PSI y $13,58 \pm 0,28\%$ de proteína soluble [4] .

Según lo mencionado por Silva (2020), los análisis fueron experimentales, se realizaron de manera aleatoria dividida en bloques homogéneos, posteriormente se le agregó un tratamiento distinto a cada bloque, empleando lo que es un ANOVA (análisis de varianza) con la prueba LSD de Fisher y con nivel de significancia del 95% ($p < 0,05$), la cantidad de proteína lo obtuvo mediante el procedimiento de Kjeldahl; en los resultados obtuvo que proteína presente en la harina de chachafruto fue de $11,90 \pm 0,17e\%$, harina de amaranto $8,28 \pm 3,33f\%$ y harina de arroz $7,46 \pm 2,85f\%$ en muestras de 3 gr [5].

Antecedentes Nacionales

Laureano & Avellaneda (2018), en su trabajo realizado en Santa, en donde produjo snack a base de harina de pallar y harina de arroz, empleo diseño factorial 32 con diversos niveles de temperatura que oscilan de 90 hasta 105°C, en el cual evaluó la cantidad de proteína soluble presente en cada muestra (1000gr / min), la obtención de harina lo realizó a nivel de laboratorio en cual se realizaron diversos análisis físicos, sensoriales, grasa, fibra, humedad, carbohidratos, evaluación biológica y análisis químico proximal en cual se determinó la cantidad de proteína soluble mediante el método de Kjeldahl. Los resultados mostraron que la harina de arroz presentaba $8,8500 \pm 0,020\%$ de proteína soluble y la harina de pallar fue de $20,3000 \pm 0,0611\%$ [6] .

Ccala y Ramírez, (2020), utilizó el método de Kjeldahl basado en la metodología A-O-A-C, y empleó el factor de conversión de nitrógeno a proteína con la intención de saber el contenido de proteína soluble presente en pallar (*Phaseolus lunatus*), el cual utilizó cromatografía líquida de

alta performance HPLC. Dentro de la información que nos brindó a nivel internacional, que la proteína de pallar ó también llamado frijol en otros países, detalló de acuerdo a las tablas nutricionales, el contenido de proteína es de 21,60%. Se debe considerar que el proceso operacional es variable, y de ello depende el contenido de proteína, así como la morfología y climax de la materia prima y por lo tanto los datos reales del producto de harina de pallar varían entre los 20 y 25% [7] .

1.2. Marco Teórico

1.2.1 Proteínas: Generalidades

“Las proteínas son un componente complejo constituido principalmente de carbono, nitrógeno y oxígeno, formado por cadenas de aminoácidos. El componente más distintivo de las proteínas es el nitrógeno, el cual se estima entre un 13-19%, importantes para las funciones biológicas o estructura celular”. [8]

“Todos los tejidos vivos contienen proteínas. Se distinguen químicamente de los lípidos y de los hidratos de carbono por contener nitrógeno. Son polímeros de aminoácidos (hay 20 distintos) unidos por enlaces peptídicos. Una proteína puede contener varios cientos o miles de aminoácidos y la disposición o secuencia de estos aminoácidos determina la estructura y la función de las diferentes proteínas. Algunas son estructurales (como el colágeno del tejido conectivo o la queratina que se encuentra en pelo y uñas), otras son enzimas, hormonas, etc” [9].

“Las proteínas son macronutrientes esenciales que adquirimos a través de los alimentos y que cumplen funciones importantes para el buen funcionamiento del organismo. Aportan 4 calorías por gramo, al igual que los hidratos de carbono, pero su función principal no es energética. En general se recomienda aportar al organismo entre 40 y 60 gramos de proteínas diarias, pero las necesidades pueden variar según la edad o el estado de salud del riñón, por ejemplo. Durante el embarazo se requiere un consumo mayor de proteínas” [10] .

Las proteínas son el constituyente principal de las células y son necesarias para el crecimiento, la reparación y la continua renovación de los tejidos corporales y esto determina su continua necesidad. Por ejemplo, el tejido epitelial del intestino es reemplazado cada 3 o 4 días. También proporcionan energía (4 kcal/gramo) pero, por razones fisiológicas y económicas, es poco recomendable utilizarlas para este fin. Sin embargo, si en la dieta no hay suficiente cantidad de grasas o hidratos de carbono, la proteína se usará para proporcionar energía. Esto es lo que ocurre, por ejemplo, en la inanición [11] .

Los **aminoácidos** son las unidades básicas de las proteínas. Existen 20 aminoácidos. De estos, nuestro organismo puede fabricar doce (son los aminoácidos no esenciales). Los ocho restantes (aminoácidos esenciales o indispensables) los debemos adquirir a través de la alimentación [12]. De los 20 aminoácidos que se combinan para formar las proteínas, algunos pueden ser sintetizados por el organismo, por lo que se denominan no esenciales (alanina, arginina, ácido aspártico, asparagina, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, prolina, serina y tirosina). Hay otros, los denominados aminoácidos esenciales o indispensables que, sin embargo, no pueden ser sintetizados por el hombre por lo que tienen que ser aportados por los alimentos, por la dieta, condicionando su esencialidad. Estos son: histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina. La arginina puede ser esencial para los niños muy pequeños ya que sus requerimientos son mayores que su capacidad para sintetizar este aminoácido. Hay también dos aminoácidos no esenciales que se forman a partir de otros esenciales: cisteína (y cistina) a partir de metionina y tirosina a partir de fenilalanina. Si la dieta no aporta suficiente cantidad de fenilalanina o si el organismo no puede transformar la fenilalanina en tirosina por algún motivo -como sucede en la enfermedad hereditaria denominada fenilcetonuria-, entonces la tirosina se convierte en esencial.

- **Aminoácidos no esenciales:** alanina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, glicina, ácido glutámico, hidroxilisina, hidroxiprolina, glutamina, prolina, serina, tirosina.
- **Aminoácidos esenciales:** lisina, metionina, treonina, triptófano, valina, leucina, isoleucina y fenilalanina. Existe un noveno aminoácido, la histidina, indispensable en la etapa infantil ya que se ha visto que el organismo del niño no es capaz de sintetizar la cantidad que necesita.

Cuando las recomendaciones dietéticas hablan de aportar al organismo las proteínas necesarias, en realidad se está hablando de los aminoácidos esenciales. No se da importancia a los doce restantes porque el organismo es capaz de sintetizarlos a partir de los ocho citados.

Los aminoácidos esenciales se encuentran en diferentes proporciones en distintos alimentos, tanto de origen animal como vegetal. Para asegurar un aporte correcto de los ocho aminoácidos esenciales es necesario llevar una dieta equilibrada en la que se incluya carne, pescados y huevos, alimentos de alto valor biológico puesto que cuentan con todos los aminoácidos; los alimentos de origen vegetal, sin embargo, no contienen todos los aminoácidos y son deficitarios en algunos de ellos (aminoácido limitante). Pero se puede llevar una dieta equilibrada si se realizan combinaciones de alimentos. Para conseguir una proteína completa será necesario combinar los distintos grupos de alimentos, por ejemplo, legumbres con cereales o con frutos secos. La combinación más conocida es la de un plato de lentejas con arroz, pero hay otras: judías

con pan integral, garbanzos con semillas o frutos secos. Esta clasificación es importante nutricionalmente, pero no supone ninguna jerarquía en su funcionalidad.

Según Carbajal A. (2013), la clasificación de los Aminoácidos y la calidad proteica es la siguiente:

a) Esenciales o indispensables (8 – 9): No pueden ser sintetizados en el organismo, deben ser aportados por la dieta para mantener el balance de nitrógeno. Como: Fenilalanina, Isoleucina, Lisina, Metionina, Triptófano, Treonina, Valina, Histidina [13].

b) No esenciales: Pueden ser sintetizados en el organismo (principalmente en hígado) a partir de intermediarios por transaminación. Como: Alanina, Arginina, Aspartato, Asparragina, Glutamato, Glutamina, Glicina, Prolina, Serina.

c) Condicionalmente esenciales: normalmente no esenciales. En algunas circunstancias tienen que ser aportados por la dieta: Las necesidades exceden la capacidad de síntesis, alteraciones del metabolismo, el aa esencial precursor está en pequeñas cantidades: Metionina (esencial) ---- Cisteína (no esencial); Fenilalanina (esencial) ----Tirosina (no esencial), si disminuye (Met) o (phe), Cys y Tyr esenciales [13].

Calidad de la proteína

Se utiliza el término de "calidad de la proteína", calidad que se estima utilizando diversas medidas experimentales, por ejemplo el "valor biológico de la proteína" (VB) se define como la proporción de la proteína absorbida que es retenida y, por tanto, utilizada por el organismo. Otro parámetro habitualmente utilizado es el denominado "coeficiente de utilización neta de la proteína" (NPU) que, a diferencia del anterior, sí tiene en cuenta la digestibilidad de la proteína, es decir, mide la proporción de la proteína consumida que es utilizada [14] .

Durante la síntesis proteica deben estar presentes en las células todos los aminoácidos necesarios, si falta alguno, la síntesis puede fallar. Por ello, si la proteína ingerida contiene todos los aminoácidos esenciales en las proporciones necesarias para el hombre, se dice que es de alto valor biológico, que es completamente utilizable. Por el contrario, si sólo tiene pequeñas cantidades de uno de ellos (el denominado aminoácido limitante), será de menor calidad. En general, las proteínas de los alimentos de origen animal tienen mayor valor biológico que las de procedencia vegetal porque su composición en aminoácidos es más parecida a las proteínas corporales. Las proteínas de los huevos y de la leche humana tienen un valor biológico entre 0.9 y 1 (eficacia del 90-100%, por lo que se usan como proteínas de referencia, un concepto teórico para designar a la "proteína perfecta"); el VB de la proteína de carnes y pescados es de 0.75 y 0.8; en la proteína del trigo de 0.5 y en la de la gelatina de 0. En la Tabla 1.1, se muestran los datos de la Calidad proteica de algunos alimentos.

Tabla 1.1 Calidad proteica de algunos alimentos

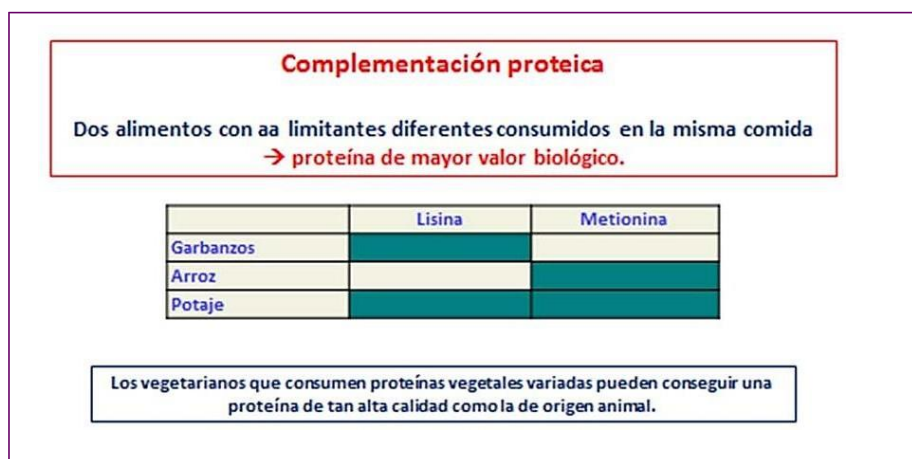
Alimentos	VB	NPU
Huevo de gallina	100	94
Leche humana	100	96
Leche de vaca	75-93	82
Pescado	76	-
Carne	74	67
Arroz integral	86	59
Cacahuete	55	55
Avena	65	-
Arroz pulido	64	57
Trigo entero	65	49
Maíz	72	36
Soja	73	61
Guisantes	64	55
Patatas	60	-
Pan blanco	50	-

Nota: VB: Valor Biológico; NPU: utilización neta de la proteína [8]

De cualquier manera, la calidad individual de las proteínas es relativamente poco importante en dietas mixtas debido al fenómeno de complementación/suplementación entre proteínas distintas. Cuando dos alimentos que contienen proteínas con aminoácidos limitantes diferentes (lisina en la proteína del trigo y del arroz -pero muy ricas en metionina- y metionina en la de leguminosas -ricas en lisina-) se consumen en la misma comida (por ejemplo en un potaje de garbanzos y arroz), el aminoácido de una proteína puede compensar la deficiencia de la otra, dando lugar a una proteína de alto valor biológico.

Mediante la figura 1.1, denotaremos la Complementación proteica en 3 productos alimenticios.

Figura 1.1 Complementación Proteica



Por ello, los vegetarianos que consumen proteínas vegetales variadas pueden conseguir una proteína de tan alta calidad como la de origen animal. Igualmente, si la cantidad consumida de proteína es suficiente para cubrir las necesidades, como ocurre en todos los países desarrollados, la calidad tiene menor importancia. La calidad media de la proteína ingerida en España, juzgada por el valor del NPU, se ha estimado en un 70% (0.70) y considerando este valor se han calculado las ingestas recomendadas [15].

Las necesidades de proteína varían a lo largo de la vida: los bebés, los niños y los adolescentes las necesitan para crecer, las gestantes para el desarrollo del feto y las lactantes para la producción de leche.

Las ingestas recomendadas; deben darse unos 0.8 g/kg de peso y día, mayores en crecimiento rápido, gestación, lactancia, infancia, adolescencia, post-trauma; los objetivos nutricionales (rango aceptable de distribución de macronutrientes “10 – 15 %” kcal de proteínas.

En una dieta de 2000 kcal equivale al 10% así mismo es equivalente a 50 g y en una dieta de 2300 kcal equivale al 15% así mismo es equivalente a 86 g/d; no superar 1,5 g/kg peso y día [15].

Las **propiedades y funciones de las proteínas** en el cuerpo:

- *Función enzimática:* actúan como biocatalizadores de las reacciones químicas del metabolismo celular. Una de sus tantas funciones es convertir los alimentos en energía.
- *Propiedades estructurales:* Constituyen estructuras como las membranas de las células, otras como el colágeno, la elastina a permiten la elasticidad y la resistencia en órganos y tejidos.
- *Función Hormonal:* Hormonas son de naturaleza proteica como la insulina y el glucagón que regula los niveles de la glucosa en la sangre o las hormonas segregadas por la hipófisis como la del crecimiento.

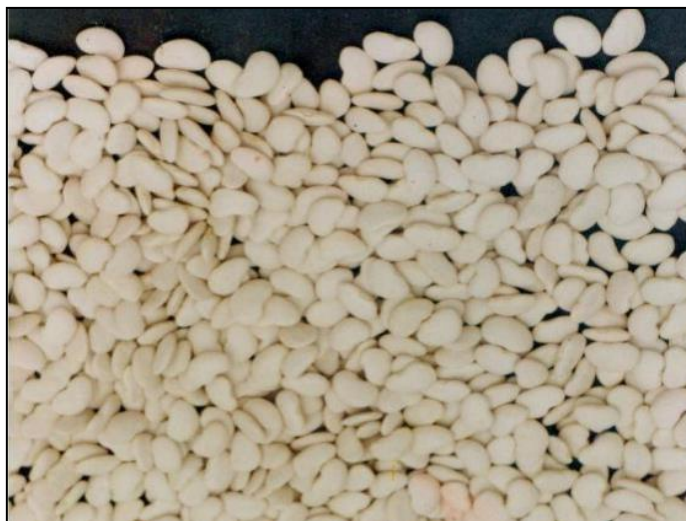
- *Función reguladora:* Son materia prima para la formación de los jugos digestivos, hormonas, proteínas plasmáticas, hemoglobina, vitaminas y enzimas que llevan a cabo las reacciones químicas que se realizan en el organismo.
- *Propiedades de reserva:* La ovoalbúmina de la clara de huevo, la lacto albúmina de la leche, la gliadina del grano de trigo y la hordeína de la cebada, constituyen una reserva de aminoácidos para el futuro desarrollo del embrión.
- *Función Movimiento:* Todas las funciones de motilidad de los seres vivos están relacionadas con las proteínas. Así, la contracción del músculo resulta de la interacción entre dos proteínas, lactina y la miosina.

Las principales fuentes de proteína son: lácteos, carnes, pescados, huevos, cereales, leguminosas y frutos secos. En el Perú, las carnes, los cereales y los lácteos son los alimentos que aportan mayor cantidad.

1.2.2 Proteína Vegetal: El Pallar

De acuerdo a lo mencionado por Vásquez J. (1997) en su publicación en el Instituto Nacional de investigación agraria. El pallar (*Phaseolus lunatus L.*) es una leguminosa de grano de importancia en la alimentación humana debido a su apreciable valor nutritivo, por su alto contenido en proteínas, y a su sabor muy agradable [16] . Se denota en la figura 1.2, el producto primario de semillas de pallar de Ica.

Figura 1.2 Proteína vegetal “el Pallar”



MINSA en el 2017, Caracteriza la composición del Pallar, evaluado en muestra de 100 gramos, como lo muestra la siguiente Tabla 1.2:

Tabla 1.2 Composición química del pallar (por 100 gramos de alimento)

Componente	Pallar seco
Energía (Kcal)	331
Agua (g)	g
Proteínas (g)	19.4
Grasas (g)	1.2
Carbohidratos totales (g)	59.4
Fibra cruda (g)	3.8
Cenizas (g)	5.4
Calcio (mg)	70
Fósforo (mg)	318
Tiamina (mg)	0.28
Riboflavina (mg)	0.28
Niacina (mg)	3.20

Nota. MINSA (2017) [17]

1.2.3 Métodos para análisis de proteínas

Dentro de los métodos que se utilizan para la determinación de las proteínas, tenemos métodos no extractivos, métodos extractivos químicos y métodos extractivos físicos.

Métodos no extractivos:

- Método Kjeldahl
- Método Dumas
- Método NIR-IR
- Método Sorensen
- Adsorción de colorantes

Métodos extractivo químico:

- Método de Biuret
- Método de Lowry
- Método de Bradford

Métodos extractivo físicos

- Absorbancia a 280 nm (UV)
- Turbidimetría
- Fluorometría

De todos estos métodos son objeto de nuestro estudio el método kjeldalh y el método biuret de los cuales se hará a continuación una pequeña descripción de cada uno de ellos.

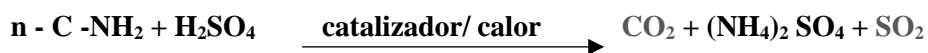
1.2.4 Método Kjeldahl

En 1883 el investigador danés Johann Kjeldahl desarrolló el método más usado en la actualidad para el análisis de proteínas (método Kjeldahl) mediante la determinación del nitrógeno orgánico [18].

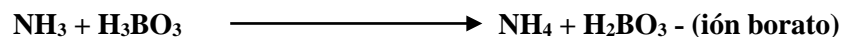
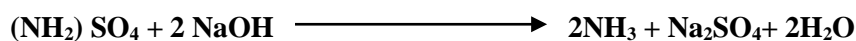
Principio del método Kjeldahl.- En esta técnica se digieren las proteínas y otros componentes orgánicos de los alimentos en una mezcla con ácido sulfúrico en presencia de catalizadores. El nitrógeno orgánico total se convierte mediante esta digestión en sulfato de amonio. La mezcla digerida se neutraliza con una base y se destila posteriormente. El amoniaco liberado es arrastrado por destilación y recogido en una solución de ácido bórico. Los aniones del borato así formado se titulan con HCl estandarizado para determinar el nitrógeno contenido en la muestra.

Las etapas generales del método son:

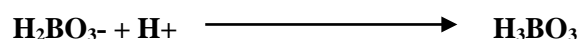
A. Digestión: se lleva a cabo con H₂SO₄ en presencia de un catalizador y calor:



B. Neutralización y destilación: neutralización del (NH₄)₂SO₄ digerido con una base fuerte (disolución de NaOH, 35%) seguida de una destilación sobre un volumen conocido de un ácido fuerte (disolución de ácido bórico al 4%):



C. Valoración: El anión borato (proporcional a la cantidad de nitr3geno) es titulado con HCl estandarizado:



Calcular el % de prote3na aplicando las siguientes ecuaciones:

$\%P = \%N \times F_{alim}$

$$\%N = (N_{HCl} \times (V_{g_{HCl}} - V_{g_{blanco}}) \times P_{eq.}) * 100 / P_{muestra}$$

Donde:

P= peso de la muestra (g)

V_{HCl}= volumen de HCl consumido en la valoración (ml)

N = normalidad del HCl

V_{blanco}= volumen de HCl consumido en la valoración de un blanco (ml)

P_{eq.}= 0.014 g/eq

F_{alim}= Factor de conversión para pasar de contenido en nitrógeno a contenido en proteínas. (De acuerdo a tablas).

La mayoría de las proteínas contienen un 16% de N₂, de modo que el factor de conversión es 6,25 (100/16 = 6,25), pero se han obtenido empíricamente otros factores de conversión en función de la materia prima utilizada.

Para los **cálculos**: De la valoración se puede calcular el número de equivalentes de nitrógeno recogidos, y con este dato se obtiene el porcentaje de nitrógeno en la muestra. Para calcular el porcentaje de proteína basta con multiplicar por un factor de conversión el % de nitrógeno calculado. Este factor de conversión está tabulado para cada grupo de alimentos.

De acuerdo a estudios realizados por García M. y Fernández I. en la Universidad Politécnica de Valencia han considerado la siguiente tabla N°1.3, donde describe información experimental de los factores de conversión, para obtener la tasa de proteína bruta a partir del nitrógeno total de algunos alimentos.

Tabla 1.3 Factores de conversión de nitrógeno a Proteína para alimentos

Alimentos	Factor
Huevos o carnes	6.25
Productos lácteos	6.38
Trigo	5.70
Otros cereales y semillas oleaginosas	6.25
Almendras	5.18
Cacahuates y nueces	5.46
Otros frutos secos de árbol y nuez de coco	5.30

Sistemas usados por el Método Kjeldahl. - Mediante las figuras 1.3 y 1.4, se ilustran equipos convencionales (que se arman con instrumentos de laboratorio) y equipos semiautomáticos (operados con panel de control); ambos realizan el procedimiento de digestión y destilación obedeciendo el principio Kjeldahl.

Figura 1.3 Sistema Kjeldahl convencional

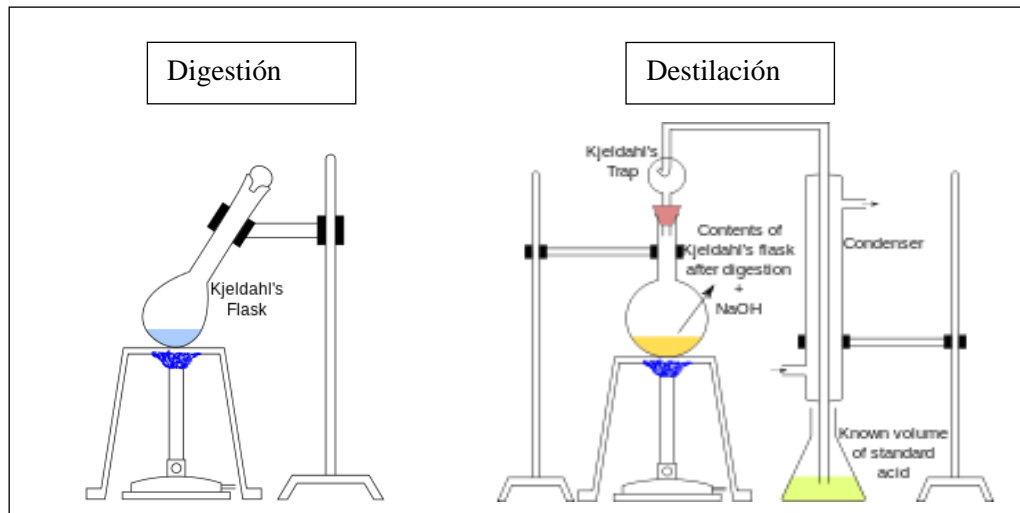


Figura 1.4 Sistema Kjeldahl semiautomático



Ventajas del método de Kjeldhal.

- Apropriado para varios tipos de productos
- Alta fiabilidad.
- Usado como método de referencia.
- Es de fácil aplicación.

Desventajas del método de Kjeldhal.

- Interfieren compuestos nitrogenados no proteicos
- Uso de catalizadores tóxicos o caros.
- Elección del factor de conversión.
- Perdidas de nitrógeno durante digestión

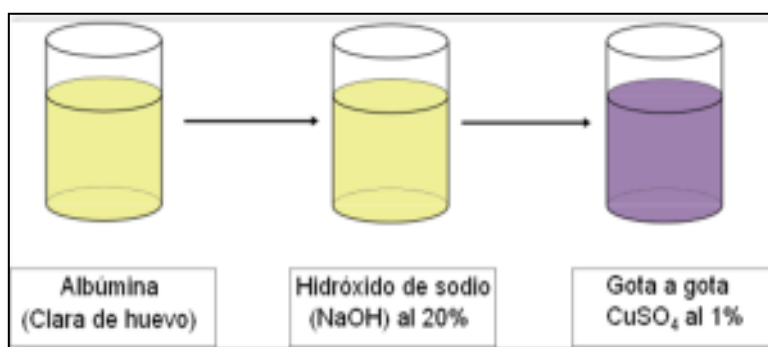
1.2.5 Método Biuret

Según Saptarini (2019) “La prueba de Biuret, también conocida como prueba de Piotrowski, es una prueba química que se utiliza para detectar la presencia de enlaces peptídicos.” [19]

El estudio de Biuret fue preparado por primera vez por Gustav Heinrich Wiedemann en 1826 al 1899.

Principio del método Biuret: Es un método colorimétrico, cuando los iones cúpricos se acomplejan, bajo condiciones alcalinas, con los enlaces peptídicos (de sustancias que contengan, al menos, dos enlaces peptídicos, como las proteínas) se produce un color violeta-purpúreo, cuya absorbancia puede ser determinada a 540 nm. La intensidad del color (o absorbancia) es proporcional al contenido en proteínas de la muestra, como se ilustra en la figura 1.5.”

Figura 1.5 Principio de acción del método Biuret



“Este método es utilizado para determinar las proteínas contenidas en los cereales, carne, proteínas de las semillas de soja y como ensayo cualitativo para el pienso. Se puede utilizar así mismo, para medir el contenido en proteína de los extractos de proteínas mediante el uso de equipos espectrofotométricos”

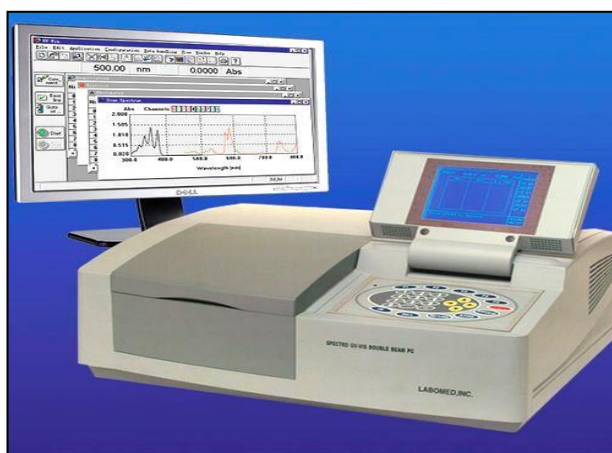
Equipos Cuantitativos usados por el Método Biuret. – Existen diferentes modelos, con algunas funciones más sofisticadas que otras, por ejemplo, hay algunos que arrojan la lectura sólo numéricamente (% Transmitancia, % Absorbancia y Concentración), más otros equipos que se han implementado con el uso de una PC donde registran las gráficas automáticas en varias muestras en el mismo tiempo. Algunos de estos ejemplos, se visualizan en las siguientes figuras (figura 1.6) y (figura 1.7).

Figura 1.6 Espectrofotómetro UV -visible



Nota. Modelo Genesys™ 20

Figura 1.7 Espectrofotómetro UV-Visible con PC incorporado



Nota. UV-Vis - UVD-2950

Ventajas del método Biuret

- Costos más bajos a comparación de otros métodos.
- Alta fiabilidad.
- No detecta Nitrógeno de fuentes no protéicas

Desventajas del método Biuret

- Interfieren las concentraciones altas de sales de amonio.
- Se debe de estandarizar con cantidades altas de líquidos o CHO ocasionado turbidez
- Mayor cuidado en tratar la muestra de alimento.
- Representatividad de la muestra con múltiples ingredientes

La presente investigación no cuenta con antecedentes locales, tras la falta de estudios realizados en la ciudad de Ica. Es de suma importancia poder proponer métodos analíticos que sean prácticos, rápidos, económicos, sensitivos y no específicos, que permitan determinar la concentración proteica en los alimentos; aún no hay consenso sobre el método más exacto y fiable para la cuantificación de proteínas, ya que los distintos métodos presentan diferentes niveles de exactitud y precisión. Este estudio pretende comparar los métodos Kjeldahl y Biuret para la determinación de proteínas en harina de pallar, por lo tanto, la determinación precisa de proteínas es necesaria para evaluar su valor nutricional y cumplir con las regulaciones de etiquetado.

1.3. Problema de la Investigación

La presente investigación busca responder al **problema de la investigación**, dada mediante la siguiente pregunta:

¿Cuál es el método analítico con mayor nivel de precisión entre los métodos analíticos Biuret y Kjeldahl para la determinación de proteínas solubles en muestras de harina de pallar (*Phaseolus lunatus*)?

1.4. Objetivos de la Investigación

❖ **Objetivo general.** -

Determinar el método analítico con mayor nivel de precisión y exactitud entre los métodos analíticos Biuret y Kjeldahl para la determinación de proteínas solubles en muestras de harina de pallar (*Phaseolus lunatus*)

❖ **Objetivos específicos.** -

OE1: Determinar la concentración de las proteínas solubles a través del método de Biuret en una muestra de harina de pallar (*Phaseolus lunatus*)

OE2: Determinar la concentración de proteínas solubles a través del método de kjeldahl presentes en una muestra de harina de pallar (*Phaseolus lunatus*)

OE3: Comparar el nivel de precisión y exactitud de los métodos analíticos Biuret y Kjendahl para la determinación de proteínas solubles en muestras de harina de pallar (*Phaseolus lunatus*)

1.5. Hipótesis y variables de la Investigación

❖ **Hipótesis general.-**

Existe diferencias significativas entre los métodos de Biuret, espectrometría ultravioleta y el método Kjeldahl al momento de determinar la concentración de proteínas solubles en harina de pallar (*Phaseolus lunatus*).

❖ **Hipótesis específicas**

HE1: El método analítico más preciso y exacto para determinar proteínas solubles en una muestra de harina de pallar (*Phaseolus lunatus*) es el Método Biuret

HE2: El método analítico más preciso y exacto para determinar proteínas solubles en una muestra de harina de pallar (*Phaseolus lunatus*) es el Método Kjeldahl.

HE3: El nivel de precisión y exactitud entre ambos métodos analíticos Biuret y Kjeldahl son altamente significativos en relación al valor teórico de la muestra de harina de pallar.

❖ **Variables de la investigación**

Variable dependiente:

Concentración de proteínas solubles en la harina de pallar (*Phaseolus lunatus*).

Variable independiente:

Métodos de análisis para determinar proteínas solubles en harina de pallar (*Phaseolus lunatus*).

Este informe está organizado en seis capítulos. **El primer capítulo** contiene la información requerida como los antecedentes y una visión general de los métodos de análisis de proteínas y sus aplicaciones, así como la descripción problemática y los objetivos de la investigación. **El segundo capítulo** presenta los materiales y métodos utilizados en este estudio, incluida la preparación de muestras, la determinación de proteínas y el análisis estadístico. **El tercer capítulo** presenta los resultados y el **cuarto** la discusión del estudio. **El quinto capítulo** resume las principales conclusiones del estudio ofrece un análisis comparativo de los métodos Kjeldahl y Biuret para la determinación de proteínas. Por último, el **sexto capítulo** ofrece recomendaciones para futuras investigaciones.

II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

2.1 Tipo de la investigación. -

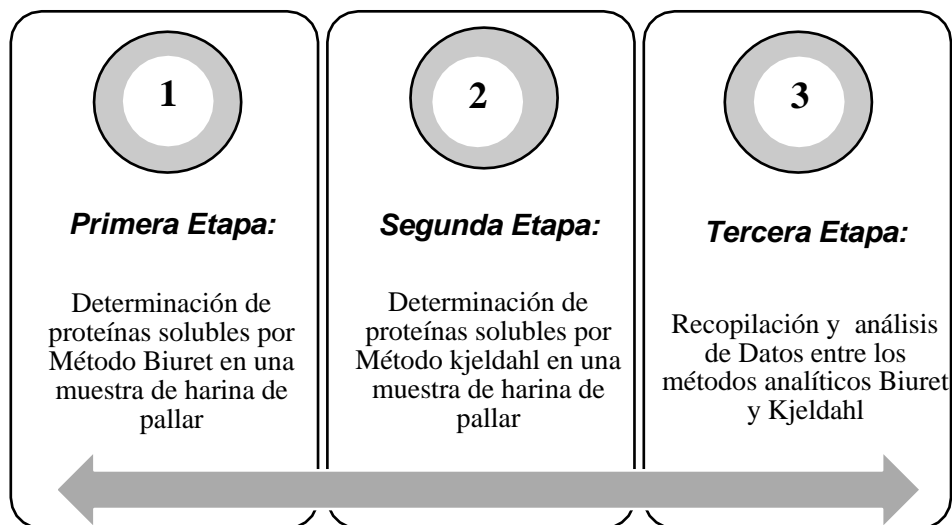
De acuerdo al propósito, la investigación fue de naturaleza **aplicada**, ya que empleó métodos y conocimientos aprendidos de las ciencias básicas para dar solución a un problema, es decir, usó las teorías generales de los métodos analíticos Biuret y Kjeldahl, su comparación en términos de analizar su precisión y los efectos que generan en resolver el problema [20] .

Por la naturaleza de los datos y la información, la investigación tuvo un enfoque **cuantitativo**, desde el punto que aplica métodos analíticos con resultados numéricos mediante el seguimiento de un procedimiento sistemático y ordenado en cada método a comparar, con una estructura lógica de decisiones sobre el problema analizado [21] .

2.2 El diseño de la Investigación. -

El procedimiento experimental de la investigación, consta de 3 etapas, como se observa en la figura 2.1.

Figura 2.1 Diseño de la Investigación



Fuente: Elaboración propia.

2.3 Método de la investigación. -

El **método utilizado en la investigación fue experimental**, el cual consiste en alterar una variable no probada en parámetros y situaciones controladas para determinar la causa o modo de ocurrencia de un evento o situación específica.

La primera y segunda etapa en la investigación, son la determinación de las proteínas solubles por **Método Biuret** y **Kjeldahl** correspondiente a cada etapa, es decir, se usó el **método experimental** de análisis químico usando equipos de laboratorio, y la **tercera etapa** la recopilación y análisis de datos mediante el **método estadístico** para comparar resultados.

Muestra de estudio. -

Las **muestras de harina de pallar** se asignaron aleatoriamente a dos grupos, **uno de los cuales se analizó mediante el método Biuret y el otro mediante el método Kjeldahl.**

Lugar de estudio. -

La **investigación se llevó a cabo en el laboratorio de la Facultad de ingeniería química de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga**, tomando las debidas precauciones para garantizar la seguridad y la precisión de los procedimientos.

Instrumentos de medición y Procedimiento .-

Los instrumentos utilizados en el análisis se calibrarán antes del experimento para garantizar lecturas precisas.

- Para el **Método Biuret:**

Materiales

- ✓ Vaso precipitado
- ✓ Bagueta
- ✓ Matraz
- ✓ Paleta
- ✓ Embudo
- ✓ Tubo de ensayo
- ✓ Pipetas volumétricas
- ✓ Probeta
- ✓ Fiola
- ✓ Papel filtro

Equipos

- ✓ Bomba de vacío
- ✓ Centrifuga
- ✓ Balanza analítica
- ✓ Espectrofotómetro
- ✓ Buchner c/.Kitasato

Insumos

- ✓ Albumina
- ✓ Agua destilada
- ✓ Hidróxido de sodio
- ✓ Ioduro de Potasio
- ✓ Sulfato de cobre pentahidratado
- ✓ Tartrato de sodio y potasio
- ✓ Muestra de pallar

- Para el **Método Kjeldahl**

Materiales

- ✓ Vaso precipitado
- ✓ Bagueta
- ✓ Matraz
- ✓ Vidrio de reloj
- ✓ Paleta
- ✓ Fiola
- ✓ Embudo

Equipos

- ✓ Balanza analítica
- ✓ Digestor automático Kjeldahl
- ✓ Destilador Kjeldahl
- ✓ Esterilizador
- ✓ Agitador magnético
- ✓ Estufa de convección forzada
- ✓ Estufa
- ✓ Neutralizador

Reactivos y disoluciones

- ✓ Muestra de harina
- ✓ 100 gr Patrón (Proteína Aislada de soya)
- ✓ Hidróxido de sodio (NaOH) al 30%
- ✓ Etanol absoluto
- ✓ Agua destilada
- ✓ Sulfato de potasio
- ✓ Sulfato cúprico
- ✓ Peróxido de Hidrogeno
- ✓ Indicador Mixto - Tashiro
- ✓ Azul de metileno 0.2 % (indicador)
- ✓ Rojo de metilo 1.2% (indicador ácido- base)
- ✓ Ácido clorhídrico (HCl) 0.1N
- ✓ Ácido bórico al 4%
- ✓ Ácido sulfúrico (H₂SO₄)

En la Primera Etapa: Se utilizó el **Método Biuret** para determinar la concentración de proteínas solubles en las muestras de harina de pallar.

El procedimiento comprendió los siguientes pasos:

- I. *Preparación de la solución patrón:* Se preparó una solución madre de albúmina sérica bovina (BSA). En la tabla 2.1 se detalla las alícuotas de albumina agregadas en probetas:

Tabla 2.1 Tabla de medición de la Albumina para la experiencia.

Probeta	Cantidad Albumina	Porcentaje Proteína (conocida)
N°1	2 ml	22%
N°2	1ml	11%
N°3	0.5 ml	5.5%

Fuente: Elaboración propia.

En la siguiente figura 2.2, muestra la medición de diferentes cantidades de Albúmina en la preparación de la solución patrón, debiendo ser muy exacta, se le añade agua destilada a cada probeta hasta llegar a los 20 ml.

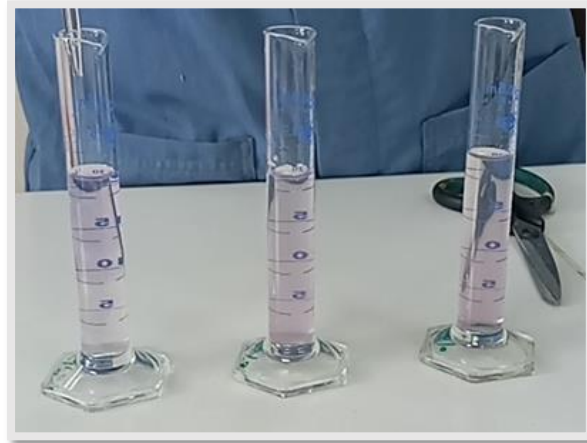
Figura 2.2 Medición de la Albúmina para la experiencia.



Fuente: Elaboración propia.

Posterior a ello, se agregó 1 ml de hidróxido de sodio al 10% y 1 ml del reactivo Biuret (coloración azul), luego de la agitación se observó el cambio de coloración a violeta, ver Figura 2.3.

Figura 2.3 Solución patrón en 3 concentraciones distintas



Fuente: Elaboración propia.

Finalmente se lleva al espectrofotómetro para tener los resultados de las 3 probetas con diferentes % de proteína, como se detalla en la Tabla 2.2 y se visualiza en la figura 2.4.

Tabla 2.2 Resultados de la Albúmina en el Espectrofotómetro

%T	ABS	Concentración
82	0.112	22.5
86	0.077	16
89.8	0.061	11

Nota. Considerar que los datos pasaron por gráfica lineal, R= 0.98114

Figura 2.4 Resultados de la Concentración de las muestras Patrón (a 540 nm)



Fuente: Elaboración propia

II. Preparación de la muestra:

Pesar 5g de la muestra en un vaso precipitado, agregar 50 ml de agua destilada, luego homogenizar.

Posterior a ello, se realizó una filtración convencional con papel filtro y embudo para eliminar los sólidos más gruesos (repitiéndola varias veces), como se observa en la figura 2.5; y una filtración rápida, usando una bomba de vacío conectado por una manguera al Kitasato y el Buhner para la obtención de una muestra más ideal, ver figura 2.6.

Figura 2.5 Filtración lenta.



Fuente: Elaboración propia

Figura 2.6 Filtración rápida.



Fuente: Elaboración propia

Luego se colocó lo filtrado en tubos con tapa rosca y se llevó a la centrifuga durante 20 min a 3500 rpm y repitiendo la operación hasta obtener una tonalidad transparente, como se observa en la figura 2.7.

Figura 2.7 Centrifugación múltiple hasta la tonalidad ideal.



Fuente: Elaboración propia

III. Medición de la concentración de proteínas:

De la muestra tratada con tonalidad ideal, se siguió el mismo procedimiento que la muestra patrón, se agregó 1 ml de NaOH al 10% y 1ml del reactivo de Biuret, se observó la tonalidad violeta y se llevó al espectrofotómetro para realizar las respectivas lecturas a 540 nm. En la tabla 2.3 se presentan los resultados arrojados por el equipo de 26 muestras.

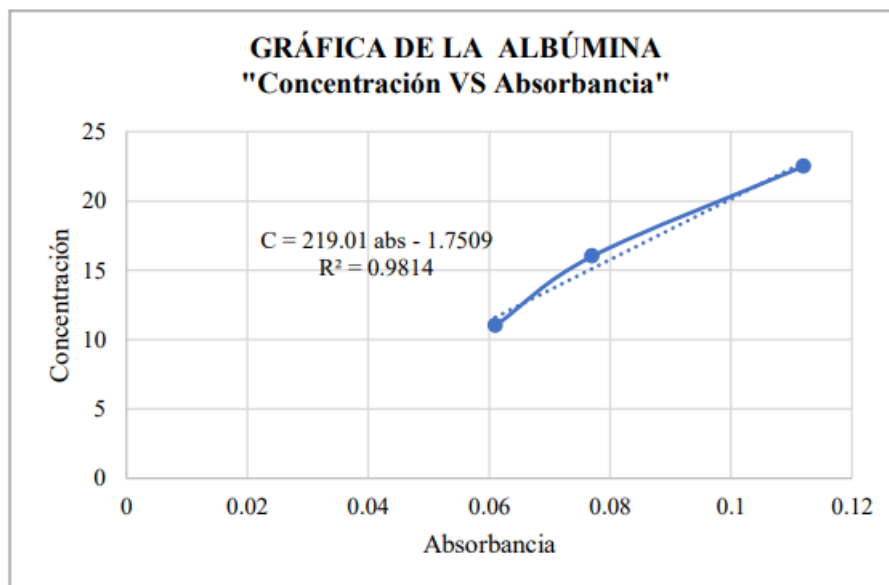
Tabla 2.3 Datos obtenidos de la muestra de pallar

#	% Transmitancia	Abs	Concentración
1	79.4	0.099	19.7
2	79.5	0.099	19.6
3	79.5	0.099	19.6
4	79.7	0.098	19.5
5	79.6	0.099	19.7
6	79.5	0.100	19.6
7	79.6	0.099	19.6
8	79.5	0.099	19.6
9	79.5	0.100	19.7
10	79.8	0.098	19.4
11	79.7	0.098	19.5
12	79.8	0.098	19.3
13	79.7	0.099	19.5
14	79.7	0.099	19.5
15	79.8	0.098	19.4
16	79.6	0.099	19.5
17	79.4	0.099	19.6
18	79.5	0.099	19.6
19	79.5	0.099	19.7
20	79.6	0.099	19.5
21	79.6	0.099	19.5
22	79.6	0.099	19.6
23	79.7	0.098	19.4
24	79.8	0.098	19.4
25	79.7	0.098	19.5
26	79.7	0.098	19.5

Fuente: Elaboración propia.

IV. *Cálculo de la concentración de proteínas:* Se trazó una curva estándar (ver Figura 2.8) utilizando los valores de absorbancia de las soluciones estándar. La concentración de proteínas solubles en la muestra se determinó comparando el valor de **absorbancia** de la muestra con la **curva estándar**. A continuación:

Figura 2.8 Gráfica de la muestra Patrón - "Concentración Vs Absorbancia".



Fuente: Elaboración propia.

Se halla la nueva concentración mediante la ecuación de la gráfica anterior:

$$CONC = 219.01 \times abs - 1.7509$$

Al obtener la gráfica se reemplaza en los datos del pallar, obteniendo así una nueva concentración como se muestra en la tabla 2.4.

Tabla 2.4 Datos corregidos de la muestra de pallar en función a la ABS. Vs Concentración.

# Muestras	ABS	Concentración
1	0.099	19.93109
2	0.099	19.93109
3	0.099	19.93109
4	0.098	19.71208
5	0.099	19.93109
6	0.100	20.15010
7	0.099	19.93109
8	0.099	19.93109
9	0.100	20.15010
10	0.098	19.71208
11	0.098	19.71208
12	0.098	19.71208

13	0.099	19.93109
14	0.099	19.93109
15	0.098	19.71208
16	0.099	19.93109
17	0.099	19.93109
18	0.099	19.93109
19	0.099	19.93109
20	0.099	19.93109
21	0.099	19.93109
22	0.099	19.93109
23	0.098	19.71208
24	0.098	19.71208
25	0.098	19.71208
26	0.098	19.71208

Nota. Resultados ajustados a partir de la Ecuación de la gráfica anterior.

Los datos de la tabla anterior se encuentran dentro de los límites; se detalla a continuación un breve resumen, ver tabla 2.5.

Tabla 2.5 Resumen de los datos ajustados “Absorbancia Vs Concentración”

Tabla de Datos	Resultado
Promedio	19.87
Desv. Estándar	0.13
LIC	19.71208
LSC	20.1501

Fuente: Elaboración propia.

En la siguiente tabla 2.6 se visualiza en mayor detalle la comparación de datos de la “Concentración Vs Límite inferior y superior” en función a la Absorbancia.

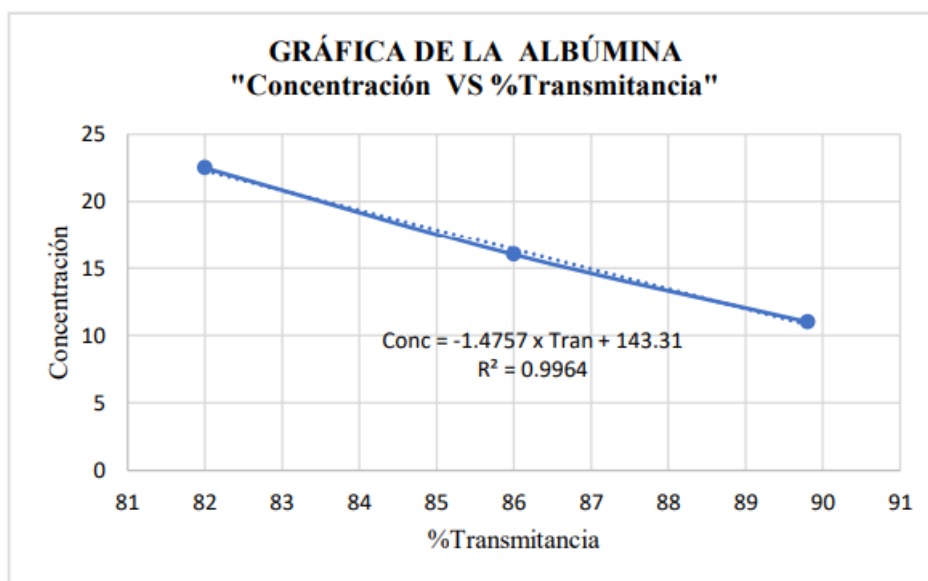
Tabla 2.6 Comparación de Datos Concentración Vs LIC y LSC en función a la Absorbancia.

Absorbancia	Concentración	LIC	LSC
0.099	19.93109	19.71208	20.1501
0.099	19.93109	19.71208	20.1501
0.099	19.93109	19.71208	20.1501
0.098	19.71208	19.71208	20.1501
0.099	19.93109	19.71208	20.1501
0.100	20.15010	19.71208	20.1501
0.099	19.93109	19.71208	20.1501
0.099	19.93109	19.71208	20.1501
0.100	20.15010	19.71208	20.1501
0.098	19.71208	19.71208	20.1501
0.098	19.71208	19.71208	20.1501
0.098	19.71208	19.71208	20.1501
0.099	19.93109	19.71208	20.1501
0.099	19.93109	19.71208	20.1501
0.098	19.71208	19.71208	20.1501
0.099	19.93109	19.71208	20.1501
0.099	19.93109	19.71208	20.1501
0.099	19.93109	19.71208	20.1501
0.099	19.93109	19.71208	20.1501
0.099	19.93109	19.71208	20.1501
0.099	19.93109	19.71208	20.1501
0.099	19.93109	19.71208	20.1501
0.099	19.93109	19.71208	20.1501
0.099	19.93109	19.71208	20.1501
0.099	19.93109	19.71208	20.1501
0.098	19.71208	19.71208	20.1501
0.098	19.71208	19.71208	20.1501
0.098	19.71208	19.71208	20.1501
0.098	19.71208	19.71208	20.1501
0.098	19.71208	19.71208	20.1501

Fuente: Propia del autor.

De la misma manera se realiza la gráfica de **Transmitancia Vs la concentración**, como se visualiza en la figura 2.9.

Figura 2.9 Gráfica de la muestra Patrón - “Concentración Vs %Transmitancia”.



Fuente: Elaboración propia

Se halla la nueva concentración mediante la ecuación de la gráfica anterior:

$$CONC = -1.4757 \times Tran + 143.31$$

Así mismo en cada dato del %Transmitancia fue reemplazado en la ecuación, obteniendo así una nueva concentración como se muestra en la tabla 2.7.

Tabla 2.7 Datos corregidos de la muestra de pallar en función a la “%Transmitancia Vs Concentración”

# Muestras	%Transmitancia	Concentración
1	79.4	26.13942
2	79.5	25.99185
3	79.5	25.99185
4	79.7	25.69671
5	79.6	25.84428
6	79.5	25.99185
7	79.6	25.84428
8	79.5	25.99185
9	79.5	25.99185
10	79.8	25.54914
11	79.7	25.69671
12	79.8	25.54914
13	79.7	25.69671
14	79.7	25.69671
15	79.8	25.54914
16	79.6	25.84428
17	79.4	26.13942
18	79.5	25.99185
19	79.5	25.99185
20	79.6	25.84428

21	79.6	25.84428
22	79.6	25.84428
23	79.7	25.69671
24	79.8	25.54914
25	79.7	25.69671
26	79.7	25.69671

Fuente: Elaboración propia

Los datos de la tabla anterior se encuentran dentro de los límites; se detalla en la tabla 2.8.

Tabla 2.8 Resumen de los datos ajustados “%Transmitancia Vs Concentración”

Tabla de Datos	Resultado
Promedio	25.820
Desv. Estándar	0.180
LIC	25.641
LSC	26.002

Fuente: Elaboración propia

De la tabla anterior, se descartaron 6 datos por encontrarse fuera de los límites. En la siguiente tabla 2.9 se visualiza en mayor detalle la comparación de datos de la “Concentración Vs Límite inferior y superior de confianza” en función al %Transmitancia.

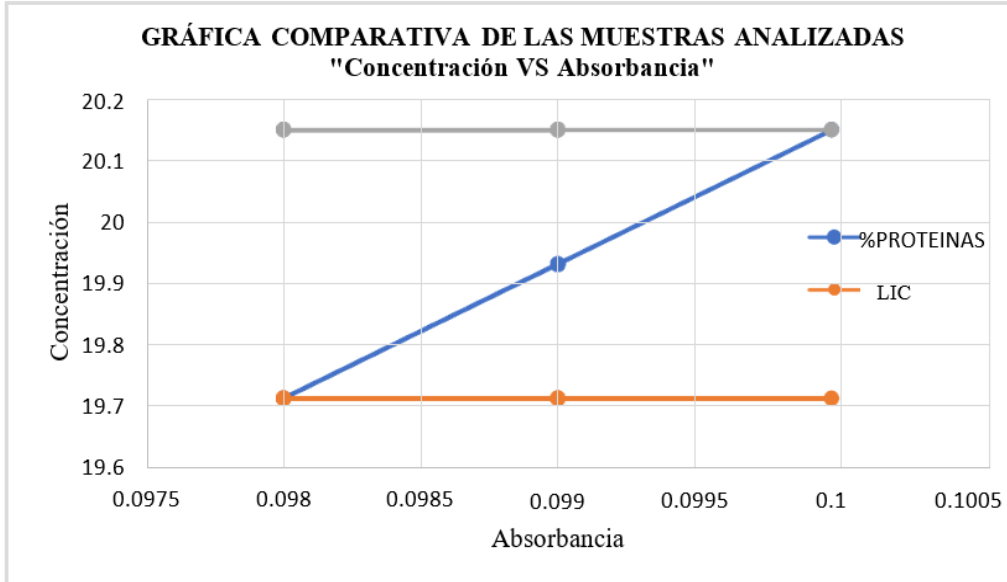
Tabla 2.9 Comparación de Datos “Concentración Vs LIC y LSC” en función a la %Transmitancia

# Muestras	%Transmitancia	Concentración	LIC	LSC
1	79.5	25.99185	25.64112	26.002034
2	79.5	25.99185	25.64112	26.002034
3	79.7	25.69671	25.64112	26.002034
4	79.6	25.84428	25.64112	26.002034
5	79.5	25.99185	25.64112	26.002034
6	79.6	25.84428	25.64112	26.002034
7	79.5	25.99185	25.64112	26.002034
8	79.5	25.99185	25.64112	26.002034
9	79.7	25.69671	25.64112	26.002034
10	79.7	25.69671	25.64112	26.002034
11	79.7	25.69671	25.64112	26.002034
12	79.6	25.84428	25.64112	26.002034
13	79.5	25.99185	25.64112	26.002034
14	79.5	25.99185	25.64112	26.002034
15	79.6	25.84428	25.64112	26.002034
16	79.6	25.84428	25.64112	26.002034
17	79.6	25.84428	25.64112	26.002034
18	79.7	25.69671	25.64112	26.002034
19	79.7	25.69671	25.64112	26.002034
20	79.7	25.69671	25.64112	26.002034

Fuente: Elaboración propia

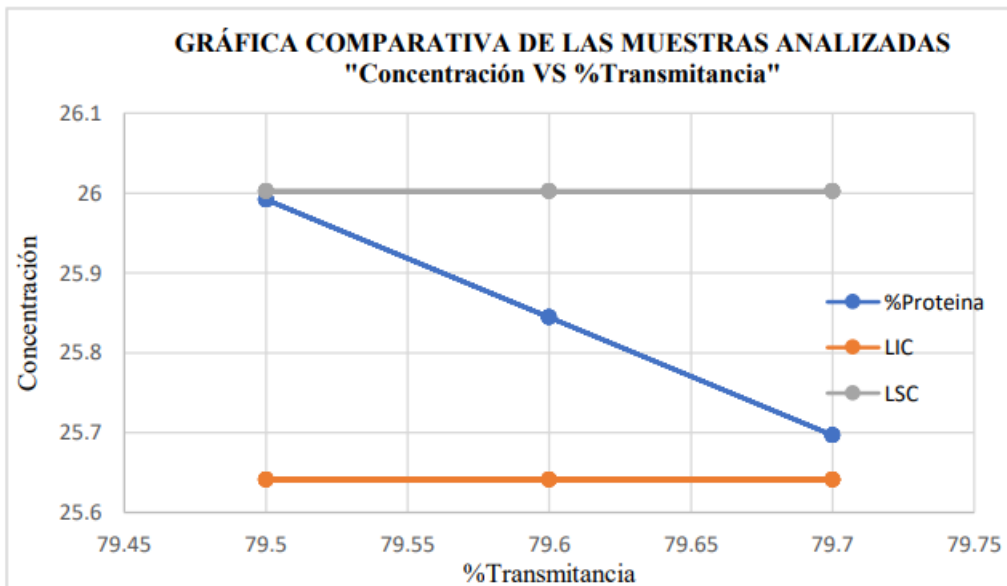
En las siguientes figuras (figura 2.10) y (figura 2.11) se explica de manera gráfica la comparación de los datos obtenidos experimentalmente en relación sus LIC y LSC.

Figura 2.10 Gráfica comparativa “Concentración Vs LIC y LSC en función a la Absorbancia”.



Nota. Se observa que el %proteína varía de 19 - 20%

Figura 2.11 Gráfica comparativa “Concentración Vs LIC y LSC” en función a la %Transmitancia



Nota. Se observa que sus valores son lejanos a la teoría.

En la Segunda Etapa: Se utilizó el **Método Kjeldahl** para determinar la concentración de proteínas solubles en las muestras de harina de pallar, comprendió del siguiente procedimiento:

i) Tratamiento de la muestra:

Secar la proteína en una estufa u horno a una temperatura de 105°C durante 1h, se debió considerar que el tiempo se empezó a contabilizar a penas llegue a la temperatura indicada, como se visualiza en la figura 2.13.

Figura 2.13 Tratamiento de la muestra – secado



Fuente. Elaboración propia.

ii) Proceso de digestión:

Posterior al tratamiento de la muestra, se pesó 0.5 gr de muestra seca y se colocó dentro de los tubos Kjeldahl (Conforme al pesaje realizado, se realizó una tabla de las muestras). En el mismo tubo se añadió 7.5 g de la mezcla catalizadora (K_2SO_4 , $CuSO_4$ (9:1 en peso)), se adicionó 12 ml de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) y 5 ml de Peróxido de hidrogeno (H_2O_2) en cada tubo.

Por último, se colocaron los tubos de digestión con las muestras en el digestor Kjeldahl semiautomático con una programación de temperatura a 420°C durante 80 minutos, así mismo se conectó el Scrubber y el colector de humos para evitar y/o reducir la emisión de los gases tóxicos. Al término de la digestión se observó una ligera coloración azul por la presencia del cobre del catalizador, ver figura 2.14. Finalmente se dejó enfriar a 60°C durante 40 minutos.

Figura 2.14 Proceso de digestión en el equipo Kjeldahl semiautomático



Fuente. Elaboración propia.

iii) *Proceso de destilación*

Después del tiempo de enfriado de la muestra, se lleva al equipo de destilación Kjeldahl durante un tiempo de 5 min que dura el proceso. Considerar que antes de dar inicio al proceso se debe preparar la parte del receptor con un matraz Erlenmeyer con 30 ml de ácido bórico (H_3BO_3) con 4 gotas aprox. de indicador Tashiro (coloración: violeta), con la precaución que la alargadera del refrigerante quede sumergida dentro de la disolución de ácido bórico; así también se colocó cada tubo con la muestra digestada, en la parte izquierda del equipo, el cual dosifica automáticamente la soda caustica al 30% y agua destilada e inicia la destilación durante el tiempo programado; se evidenció la presencia de bases de nitrógeno mediante el cambio de color violeta a verde claro como se muestra en la figura 2.15. Al término del proceso, se deja enfriar.

Figura 2.15 Proceso de destilación en el equipo Kjeldahl semiautomático



Fuente. Elaboración propia.

iv) *Titulación*

A partir del destilado (coloración: verde claro), se llevó el matraz Erlenmeyer a titulación mediante la saturación con ácido clorhídrico al 0.1 N. hasta recuperar la coloración inicial (coloración: violeta) de la solución, como se observa en la figura 2.16. Se debe considerar la constante agitación durante este procedimiento.

Figura 2.16 Titulación de la muestra procesada (Viraje).



Fuente. Elaboración propia.

En la tabla 2.10, se detallan los datos y resultados de las 22 corridas, tras la titulación para la determinación de proteínas por método Kjeldahl.

Tabla 2.10 Datos de Titulación para la determinación de Proteínas por método Kjeldahl

Número de muestra	Peso (g)	Volumen Gastado (V _G) ml
1	2.0000	38.7
2	2.0009	41.3
3	2.0002	42.4
4	2.0006	40.7
5	2.0001	41.3
6	2.0004	42.8
7	2.0005	42.2
8	2.0000	41.9
9	2.0004	42.6
10	2.0004	42.5
11	2.0006	42.7
12	2.0002	42.1
13	2.0218	44
14	2.0182	43.8
15	2.0188	43.7
16	2.0123	43.6
17	2.0154	43.6

18	2.0082	43.4
19	2.0038	43
20	2.0042	43.1
21	2.0048	43.1
22	2.0052	43.2

Fuente: Elaboración propia

Fórmula para hallar el porcentaje de proteínas en la harina del pallar

$$\%Proteinas = \%Nitrogeno \times Fa$$

$$\%Nitrogeno = \frac{N \times V_G \times 0.014}{m} \times 100$$

Donde:

- V_G = Volumen de ácido clorhídrico empleado en la titulación, en unidades de ml.
- N = Normalidad de ácido clorhídrico HCl
- m = Masa de la muestra en gramos.
- F = 6.25 valor del factor de alimentos (Tomado de la Tabla 1.3)
- 0.014 = Miliequivalente del Nitrógeno

– **Muestra N°1:**

$$\% Nitrogeno = \frac{38.7 \times 0.1 \times 0.014}{2.0000} \times 100$$

$$\% Nitrogeno = 2.709 \%$$

$$\%Proteinas = 2.709 \times 6.25$$

$$\%Proteinas = 16.93\%$$

*Considerar que se debe multiplicar con el factor en relación al Patrón (Patrón:1.12), de manera que así se realizó con cada una de las muestras. A continuación, en la tabla 2.11, se detallan todos los resultados de la determinación de proteínas por método Kjeldahl:

Tabla 2.11 Resultados generales de la determinación de Proteínas por método Kjeldahl

# Muestras	Peso	Volumen gastado	Nitrógeno x 6.25	%Proteínas	Patrón
0	2.0004	183.8	12.863	80.40	1.12
1	2.0000	38.7	2.709	18.95	
2	2.0009	41.3	2.890	20.22	
3	2.0002	42.4	2.968	20.76	
4	2.0006	40.7	2.848	19.93	
5	2.0001	41.3	2.891	20.23	
6	2.0004	42.8	2.995	20.96	

7	2.0005	42.2	2.953	20.66
8	2.0000	41.9	2.933	20.52
9	2.0004	42.6	2.981	20.86
10	2.0004	42.5	2.974	20.81
11	2.0006	42.7	2.988	20.91
12	2.0002	42.1	2.947	20.62
13	2.0218	44.0	3.047	21.32
14	2.0182	43.8	3.038	21.26
15	2.0188	43.7	3.031	21.20
16	2.0123	43.6	3.033	21.22
17	2.0154	43.6	3.029	21.19
18	2.0082	43.4	3.026	21.17
19	2.0038	43.0	3.004	21.02
20	2.0042	43.1	3.011	21.06
21	2.0048	43.1	3.010	21.06
22	2.0052	43.2	3.016	21.10

Fuente: Elaboración propia

De la tabla anterior, se eliminó los datos más bajos muestra 1=18.95 y muestra 4 = 19, para no interferir en el desarrollo del análisis de datos, quedando como en la tabla 2.12:

Tabla 2.12 Resultados ajustados de Proteínas por método Kjeldahl (eliminando M1 y M4)

# Muestras	Peso	Volumen gastado	Nitrógeno x 6.25	%proteínas
1	2.0009	41.3	2.890	20.22
2	2.0002	42.4	2.968	20.76
3	2.0001	41.3	2.891	20.23
4	2.0004	42.8	2.995	20.96
5	2.0005	42.2	2.953	20.66
6	2.0000	41.9	2.933	20.52
7	2.0004	42.6	2.981	20.86
8	2.0004	42.5	2.974	20.81
9	2.0006	42.7	2.988	20.91
10	2.0002	42.1	2.947	20.62
11	2.0218	44	3.047	21.32
12	2.0182	43.8	3.038	21.26
13	2.0188	43.7	3.031	21.20
14	2.0123	43.6	3.033	21.22
15	2.0154	43.6	3.029	21.19
16	2.0082	43.4	3.026	21.17
17	2.0038	43	3.004	21.02
18	2.0042	43.1	3.011	21.06
19	2.0048	43.1	3.010	21.06
20	2.0052	43.2	3.016	21.10

Fuente: Elaboración propia

Hallando los Limites de Control al 95% confianza

$$\bar{x} \pm Z\sigma$$

Hallando el promedio

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

$$\bar{x} = 20.91$$

Hallando la desviación estándar (σ):

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_i^N (X_i - \bar{X})^2}{N}}$$

$$\sigma = 0.32$$

Hallando los límites:

$$\text{Límites} = \bar{X} \pm \sigma$$

A continuación, la tabla 2.13, detalla el resumen de los datos de la tabla anterior donde se determinan los LIC y LSC.

Tabla 2.13 Resumen de datos obtenidos por el método Kjeldahl

Tabla de Datos	Resultado
Promedio	20.91
Desv. Estándar	0.32
T. muestra	20
LIC	20.58
LSC	21.23

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 2.14, se presentan los 15 datos que se encuentran dentro de los límites de confianza:

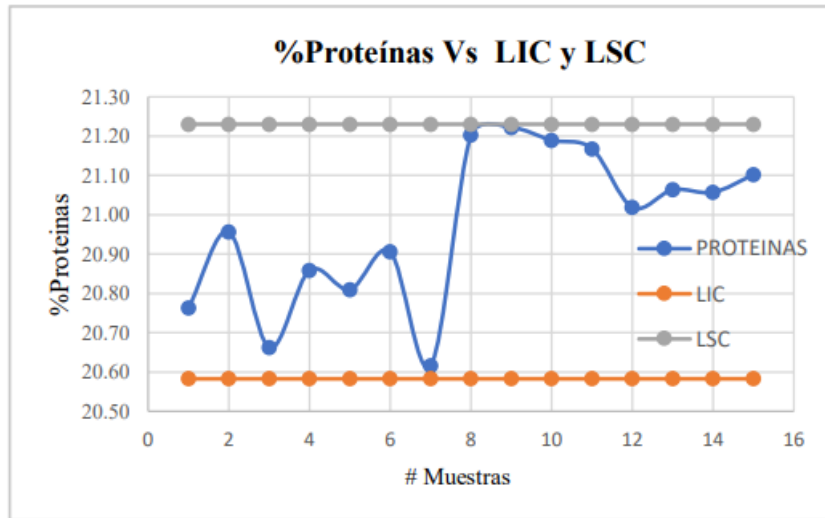
Tabla 2.14 Comparación de resultados por el método Kjeldahl Vs LIC y LSC.

# Muestras	%Proteínas	LIC	LSC
1	20.76	20.58	21.23
2	20.96	20.58	21.23
3	20.66	20.58	21.23
4	20.86	20.58	21.23
5	20.81	20.58	21.23
6	20.91	20.58	21.23
7	20.62	20.58	21.23
8	21.20	20.58	21.23
9	21.22	20.58	21.23
10	21.19	20.58	21.23
11	21.17	20.58	21.23
12	21.02	20.58	21.23
13	21.06	20.58	21.23
14	21.06	20.58	21.23
15	21.10	20.58	21.23

Fuente: Elaboración propia

En la figura 2.17, se detalla la comparación de manera gráfica los resultados obtenidos por el método Kjeldahl en relación a los Límites de confianza inferior y superior.

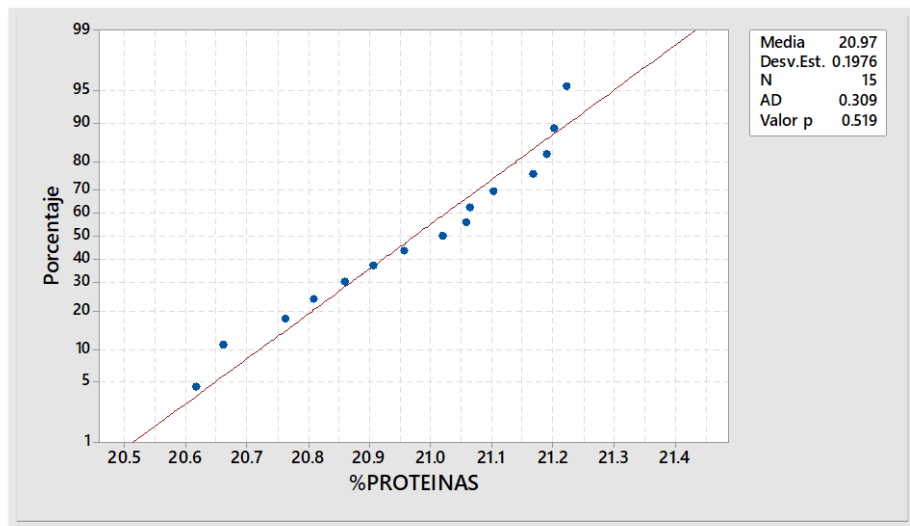
Figura 2.17 Comparación Gráfica de resultados por el método Kjeldahl Vs LIC y LSC.



Fuente: Elaboración propia

Mediante la figura 2.18 extraído del programa Minitab, se comprueba que el valor p (probabilidad) es mayor a 0.05 significa que tiene una distribución normal (95%), por ende, se aceptan dichos valores como confiables.

Figura 2.18 Gráfica de Probabilidad de %Proteínas - Minitab



Fuente: Elaboración propia

En la Tercera Etapa: Recopilación y análisis de Datos entre los métodos analíticos Biuret y Kjeldahl.

Los resultados se registraron y analizaron estadísticamente para determinar el método más preciso y exacto para medir la concentración de proteínas solubles en la harina de pallar. Se siguió los siguientes pasos:

- El análisis estadístico se realizó con el programa estadístico SPSS versión 27.0.
- Se realizó un análisis descriptivo de las variables para determinar su distribución y calcular medidas de tendencia central y dispersión.
- Se continuó con un análisis de varianza (ANOVA) para comparar las concentraciones de proteínas solubles obtenidas por los métodos de Biuret-espectrometría ultravioleta y Kjeldahl.
- La prueba de Tukey se utilizó para identificar las diferencias entre los grupos.
- Se procedió al cálculo del coeficiente de correlación de Pearson para determinar la relación entre las concentraciones obtenidas por los métodos Biuret y Kjeldahl.
- Por último, se realizó un análisis de regresión lineal simple para determinar la relación entre las concentraciones obtenidas por los métodos de Biuret y de espectrometría ultravioleta.

Todos los análisis se realizaron con un nivel de significación del 5%.

III. RESULTADOS

En esta sección se presentan los resultados obtenidos del análisis de la concentración de proteínas mediante dos métodos analíticos: Biuret y Kjeldahl. Para comparar la exactitud y precisión de estos métodos, se calcularon varias medidas estadísticas, como la varianza, el coeficiente de variación y los intervalos de confianza. Además, se realizó un análisis de regresión lineal para determinar la relación entre las concentraciones de proteínas obtenidas por los métodos de Biuret-espectrofotometría UV. Los resultados de este estudio proporcionan información valiosa para los investigadores y profesionales en el campo del análisis de proteínas, permitiéndoles tomar decisiones informadas a la hora de seleccionar un método analítico adecuado.

3.1 Resultados descriptivos

En esta sección se presentan los resultados estadísticos obtenidos de la comparación de los métodos Biuret y Kjeldahl para la determinación de proteínas. La precisión y exactitud de cada método se evaluaron calculando la varianza, el coeficiente de variación y el análisis de varianza (ANOVA); además se realizó un análisis de regresión lineal para determinar la relación entre las concentraciones obtenidas. El análisis estadístico proporciona información valiosa sobre el rendimiento de cada método y facilita la comparación entre ellos, lo cual es esencial para seleccionar el método más adecuado para la determinación de proteínas en diferentes aplicaciones.

Tabla 3.1 Descriptivos del método de Biuret para determinar la concentración de proteínas solubles en harina de pallar (*Phaseolus lunatus*).

Muestra	% Transmitancia	ABS	Proteínas
1	79.4	0.099	19.7
2	79.5	0.099	19.6
3	79.5	0.099	19.6
4	79.7	0.098	19.5
5	79.6	0.099	19.7
6	79.5	0.100	19.6
7	79.6	0.099	19.6
8	79.5	0.099	19.6
9	79.5	0.100	19.7
10	79.8	0.098	19.4
11	79.7	0.098	19.5
12	79.8	0.098	19.3
13	79.7	0.099	19.5
14	79.7	0.099	19.5
15	79.8	0.098	19.4

Fuente: Elaboración propia

La tabla 3.1 presenta los resultados obtenidos en la determinación de proteínas utilizando un método compuesto Biuret-espectrofotométrico. Se muestran los valores de transmitancia y

absorbancia obtenidos para cada muestra, así como la concentración de proteínas calculada a partir de una curva estándar. La transmitancia se refiere a la cantidad de luz que atraviesa la muestra, y se expresa como un porcentaje del valor de transmitancia de la muestra de referencia (generalmente agua destilada). La absorbancia es una medida de la cantidad de luz que es absorbida por la muestra y se calcula a partir de la ley de Beer-Lambert, que relaciona la absorbancia con la concentración de la muestra. La tabla también incluye los valores de concentración de proteínas obtenidos para cada muestra. Estos valores se calculan a partir de una curva estándar que relaciona la absorbancia con la concentración conocida de proteínas.

Tabla 3.2 Distribución, medidas de tendencia central y dispersión

Variable	Media	Mediana	Desviación estándar	Rango
%Transmitancia	79,61	79,6	0,14	0,40
Abs	0,099	0,099	0,0008	0,002
Concentración	19,56	19,6	0,13	0,40

Fuente: Elaboración propia

De acuerdo a la tabla 3.2, es importante mencionar que los valores presentados están redondeados a dos decimales. La media es el valor promedio de los datos en cada variable. En este caso, la media de %Transmitancia es de 79,61, lo que sugiere que en promedio, el 79,61% de la luz incidente en la muestra es transmitida. La media de Absorbancia (Abs) es de 0,099, lo que indica que, en promedio, la muestra absorbe una pequeña cantidad de luz. La media de Concentración 1W12es de 19,56, lo que sugiere que en promedio, la concentración de la muestra es de 19,56 unidades. La mediana es el valor central de los datos en cada variable. En este caso, la mediana de %Transmitancia es de 79,6, lo que indica que el 50% de los datos están por encima de 79,6 y el otro 50% están por debajo. La mediana de Absorbancia (Abs) es de 0,099, lo que indica que la mitad de los datos están por encima de 0,099 y la otra mitad están por debajo. La mediana de Concentración es de 19,6, lo que sugiere que el 50% de las concentraciones están por encima de 19,6 y el otro 50% están por debajo.

La desviación estándar es una medida de la variabilidad de los datos en cada variable. En este caso, la desviación estándar de %Transmitancia es de 0,14, lo que indica que los valores en esta variable están muy cercanos a la media. La desviación estándar de Absorbancia (Abs) es de 0,0008, lo que sugiere que los valores en esta variable están muy cercanos a la media. La desviación estándar de Concentración es de 0,13, lo que indica que los valores en esta variable están relativamente cercanos a la media. El rango es la diferencia entre el valor máximo y mínimo de los datos en cada variable. En este caso, el rango de %Transmitancia es de 0,40, lo que sugiere que hay poca variación en los datos de esta variable. El rango de Absorbancia (Abs) es de 0,002, lo que indica que los valores en esta variable están muy cercanos entre sí. El rango de Concentración es de 0,40, lo que indica que hay poca variación en los datos de esta variable.

Tabla 3.3 Resultados descriptivos de concentración de proteínas solubles por el método de Kjeldahl en harina de pallar (*Phaseolus lunatus*)

Muestra	% Proteínas	Límite inferior de confianza (LIC)	Límite superior de confianza (LSC)
1	20,76	20,58	21,23
2	20,96	20,58	21,23
3	20,66	20,58	21,23
4	20,86	20,58	21,23
5	20,81	20,58	21,23
6	20,91	20,58	21,23
7	20,62	20,58	21,23
8	21,20	20,58	21,23
9	21,22	20,58	21,23
10	21,19	20,58	21,23
11	21,17	20,58	21,23
12	21,02	20,58	21,23
13	21,06	20,58	21,23
14	21,06	20,58	21,23
15	21,10	20,58	21,23

Fuente: Elaboración propia

La tabla 3.3 muestra los límites de confianza para el porcentaje de proteínas en cada una de las 15 muestras analizadas. El límite inferior de confianza (LIC) indica el valor mínimo esperado del porcentaje de proteínas en la población a partir de la muestra analizada, mientras que el límite superior de confianza (LSC) indica el valor máximo esperado del porcentaje de proteínas en la población a partir de la muestra analizada. En este caso, los límites de confianza se establecen con un nivel de confianza del 95%, lo que significa que se espera que el porcentaje real de proteínas en la población se encuentre dentro del intervalo de confianza establecido (entre LIC y LSC) en el 95% de los casos.

Tabla 3.4 Medidas estadísticas de los resultados del método de Kjeldahl

Medidas estadísticas	Valores
Mínimo	20.66
Cuartil 1 (Q1)	20.81
Mediana (Q2)	20.96
Cuartil 3 (Q3)	21.10
Máximo	21.22
Rango	0.560
Media	20.94
Desviación estándar	0.202
Coficiente de variación	0.0096
Mínimo absoluto	0.120
Máximo absoluto	0.260

Fuente: Elaboración propia

La tabla 3.4 presenta las medidas estadísticas de los resultados obtenidos por el método de Kjeldahl, que consiste en la determinación de proteínas mediante la medición del nitrógeno total.

Los valores mínimos y máximos de las concentraciones de proteínas fueron de 20.66 y 21.22, respectivamente, y el rango de valores obtenidos fue de 0.56. La mediana de las concentraciones fue de 20.96, lo que indica que la mitad de las muestras tuvieron concentraciones por encima de este valor y la otra mitad por debajo. La desviación estándar fue de 0.202, lo que indica que los resultados estuvieron bastante cercanos a la media de 20.94. El coeficiente de variación fue de 0.0096, lo que sugiere que la variabilidad entre los resultados fue baja. En general, los resultados obtenidos por el método de Kjeldahl presentaron una buena precisión y reproducibilidad.

Tabla 3.5 Comparación de los resultados obtenidos por cada método

Método	Media (mg/mL)	Desviación estándar	Varianza	Coficiente de variación (%)
Biuret	0.253	0.007	0.000049	2.77
Kjeldahl	0.254	0.003	0.000008	1.22

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 3.5 se muestran los resultados obtenidos por los métodos de Biuret y Kjeldahl, con la media, desviación estándar, varianza y coeficiente de variación para cada método. De acuerdo con los resultados, se puede observar que el método de Kjeldahl presenta una mayor precisión y exactitud, ya que presenta una menor desviación estándar y coeficiente de variación, lo que indica una menor variabilidad en los resultados obtenidos. Además, la varianza obtenida por el método de Kjeldahl es menor que la obtenida por el método de Biuret, lo que indica que los resultados obtenidos por el método de Kjeldahl están más cerca de la media que los obtenidos por el método de Biuret.

Tabla 3.6 Tabla comparativa de las concentraciones de proteínas obtenidas por el método de Biuret y el método de Kjeldahl.

Muestra	Proteínas Biuret	% Proteínas Kjeldahl
1	19.7	20.76
2	19.6	20.96
3	19.6	20.66
4	19.5	20.86
5	19.7	20.81
6	19.6	20.91
7	19.6	20.62
8	19.6	21.20
9	19.7	21.22
10	19.4	21.19
11	19.5	21.17
12	19.3	21.02
13	19.5	21.06
14	19.5	21.06
15	19.4	21.10

Fuente: Elaboración propia

Observando la tabla 3.6, se puede denotar que el método de Kjeldahl arroja concentraciones de proteínas ligeramente superiores a las obtenidas por el método de Biuret. Sin embargo, para determinar cuál de los dos métodos es más preciso y exacto, se requiere de un análisis estadístico como el ANOVA.

3.2 Resultados inferenciales

La sección de resultados inferenciales proporciona información sobre la significación estadística de los datos obtenidos y sirve para hacer inferencias sobre la población más amplia de la que se extrajo la muestra. En esta sección se presentan los resultados de la prueba de hipótesis mediante el método ANOVA y se ofrece una interpretación de los resultados. El objetivo principal de esta sección es sacar conclusiones sobre la precisión y exactitud de los métodos Biuret y Kjeldahl en el análisis de proteínas. También incluimos un análisis de regresión para determinar la relación entre los resultados obtenidos por los métodos de Biuret y de espectrofotometría ultravioleta. Al examinar los resultados inferenciales, podemos tomar decisiones informadas sobre la aplicabilidad y fiabilidad de los métodos de análisis de proteínas, lo que puede tener implicaciones significativas para diversos campos como la ciencia de los alimentos y la medicina.

Tabla 3.7 Análisis de varianza (ANOVA)

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Valor F	Valor p
Entre grupos (métodos)	0.053	1	0.053	0.116	0.741
Dentro de los grupos	3.882	28	0.138		
Total	3.935	29			

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 3.7 se pueden ver los valores de la suma de cuadrados, los grados de libertad, la media de cuadrados, el valor F y el valor p para cada fuente de variación. El valor F se utiliza para determinar si hay una diferencia significativa entre las medias de los dos grupos. En este caso, el valor F es menor que 1, lo que indica que no hay una diferencia significativa entre los dos métodos. El valor p es mayor que 0.05, lo que indica que no hay una diferencia significativa entre los métodos. En resumen, no hay una diferencia significativa entre los métodos Biuret y Kjeldahl para la determinación de proteínas.

Tabla 3.8 Media y desviación estándar de cada grupo

Grupo	Media	Desviación estándar
A	19.6	0.05163978
B	20.97333	0.44421478

Fuente: Elaboración propia

El grupo A corresponde a las proteínas obtenidas por el método de Biuret y el grupo B corresponde a las proteínas obtenidas por el método de Kjeldahl. Luego, calculamos la diferencia entre las medias de los grupos y la dividimos por el error estándar para obtener el valor de la prueba de Tukey.

Tabla 3.9 Prueba de Tukey para identificar las diferencias entre los grupos

Comparación	Diferencia de medias	Error estándar	Valor de prueba
A - B	-1.37333	0.18705311	-7.34

Fuente: Elaboración propia

La tabla 3.9, detalla el valor de la prueba de Tukey es -7.34, lo que indica que la diferencia entre las medias de los grupos A y B es estadísticamente significativa. Por lo tanto, podemos concluir que hay una diferencia significativa en las proteínas obtenidas por los dos métodos.

Tabla 3.10 coeficientes de correlación de Pearson:

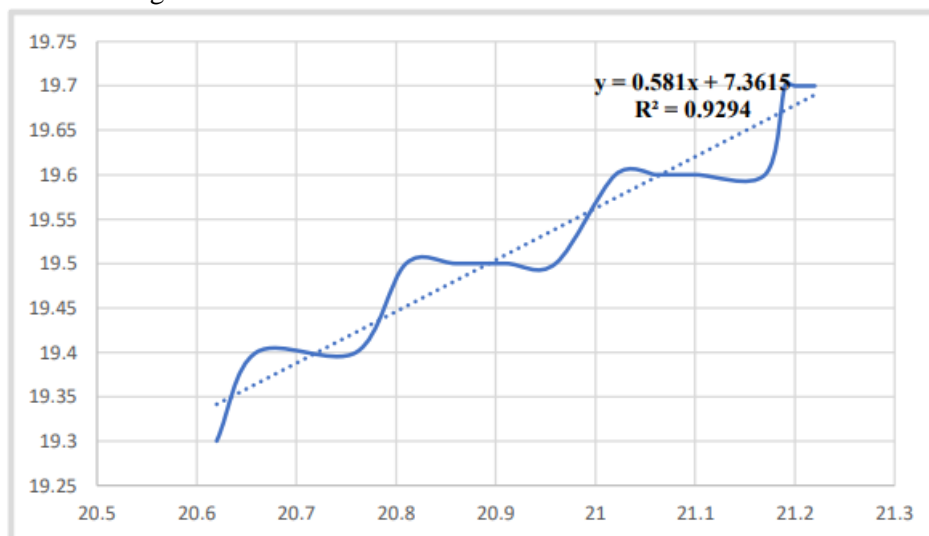
Métodos	Coefficiente de correlación
Biuret	1.000
Kjeldahl	0.952

Fuente: Elaboración propia

El coeficiente de correlación de Pearson entre los métodos Biuret y Kjeldahl es de 0.952, lo que indica una alta correlación positiva entre los resultados obtenidos por ambos métodos en la determinación de las concentraciones de proteínas.

Finalizando el análisis de datos, mediante la figura 3.1, se comparan los resultados finales de los métodos “Biuret- Espectrofométrico vs Kjeldahl” (ver tabla 3.6):

Figura 3.1 Gráfica de Probabilidad de %Proteínas - Minitab



Fuente: Elaboración propia

De la gráfica anterior, se obtuvo una ecuación de regresión lineal simple: $y = 0,581x + 7,3615$.

Esto significa que hay una relación lineal positiva entre los resultados de los métodos de Biuret y de espectrometría ultravioleta, lo que sugiere que las concentraciones obtenidas por ambos métodos están estrechamente relacionadas. Además, el valor del coeficiente de regresión (0,581) indica que, en promedio, una unidad de aumento en los resultados de Biuret se relaciona con un aumento de 0,581 en los resultados de espectrometría ultravioleta.

El coeficiente de determinación R^2 , que es 0,9294 en este caso, indica la proporción de la varianza total en los resultados de la espectrometría ultravioleta que puede explicarse por los resultados de Biuret. Un valor alto de R^2 indica una buena ajuste de la línea de regresión a los datos y sugiere que la ecuación de regresión es un buen predictor de los valores de espectrometría ultravioleta a partir de los valores de Biuret.

En general, estos resultados sugieren que hay una fuerte relación entre los resultados de los métodos de Biuret y espectrometría ultravioleta, lo que sugiere que ambos métodos son igualmente útiles para medir las concentraciones de proteínas y pueden utilizarse indistintamente.

IV. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en la determinación de la concentración de proteína soluble en harina de pallar utilizando el método de Biuret se presentan en la Tabla 3.1. Se muestran los valores de % Transmitancia, ABS y concentración de proteína para cada muestra. Se observa que los valores de % de Transmitancia oscilan entre 79,4% y 79,8%, mientras que los valores de ABS oscilan entre 0,098 y 0,1. Estos valores indican que hay poca variación en la absorbancia y transmitancia de las muestras analizadas. Los valores de concentración de proteínas obtenidos para cada muestra oscilaron entre 19,3 y 19,7%, lo que indica que la concentración de proteínas solubles en las muestras de harina de pallar era relativamente constante.

Los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con los reportados por otros autores [6], quienes también utilizaron métodos instrumentales para determinar el contenido proteico de la harina de pallar (*Phaseolus lunatus*). De manera similar, reportaron valores similares de concentración de proteína para muestras de harina de pallar (*Phaseolus lunatus*) analizadas con el método Kjeldahl. Estos hallazgos [22] apoyan la fiabilidad y validez del método Biuret para la determinación de la concentración de proteínas en muestras de harina de pallar y proporcionan una prueba más del valor nutricional de este alimento tradicional.

Los resultados presentados en la Tabla 3.2, que muestran la distribución, medidas de tendencia central y dispersión para las variables %Transmitancia, Abs y Concentración, son importantes para comprender las características de los datos. Como indican los valores mostrados en la tabla están redondeados a dos decimales. La media es el valor promedio de los datos en cada variable. En este caso, la media del %Transmitancia es 79,61, lo que sugiere que, en promedio, se transmite el 79,61% de la luz incidente sobre la muestra. La Absorbancia media (Abs) es 0,099, lo que indica que la muestra absorbe una pequeña cantidad de luz por término medio. La Concentración media de las muestras es de 19,56 unidades.

La mediana es el valor central de los datos en cada variable; en este caso, la mediana de %Transmitancia es 79,6, lo que indica que el 50% de los datos está por encima de 79,6, y el otro 50% está por debajo. La mediana de Absorbancia (Abs) es 0,099, lo que indica que la mitad de los datos está por encima de 0,099 y la otra mitad por debajo. La mediana de la Concentración es 19,6, lo que indica que el 50% de las concentraciones están por encima de 19,6 y el otro 50% por debajo.

La desviación típica es una medida de la variabilidad de los datos en cada variable. En este caso, la desviación típica de %Transmitancia es 0,14, lo que indica que los valores de esta variable están muy próximos a la media. La desviación estándar de Absorbancia (Abs) es de 0,0008, lo que sugiere que los valores de esta variable están muy próximos a la media. La desviación típica de la Concentración es de 0,13, lo que indica que los valores de esta variable están relativamente

próximos a la media. Por último, el rango es la diferencia entre los valores máximo y mínimo de los datos de cada variable.

En este caso, el rango de %Transmitancia es 0,40, lo que indica que hay poca variación en los datos de esta variable. El rango de Absorbancia (Abs) es 0,002, lo que sugiere que los valores de esta variable están muy próximos entre sí. El rango de Concentración es 0,40, lo que indica que hay poca variación en los datos de esta variable.

De acuerdo con los resultados presentados en la Tabla 3.3, se analizó la concentración de proteínas solubles en harina de pallar (*Phaseolus lunatus*) mediante el método Kjeldahl. La tabla muestra los resultados descriptivos de la concentración de proteínas para cada una de las 15 muestras, incluidos los límites de confianza inferior y superior (LIC y LSC). Los límites de confianza se establecieron con un nivel de confianza del 95%, lo que indica que se espera que el verdadero porcentaje de proteínas de la población se sitúe dentro del intervalo de confianza (entre LIC y LSC) en el 95% de los casos. Los resultados indican que la concentración de proteínas en las 15 muestras analizadas oscilaba entre el 20,62% y el 21,22%. La tabla 3.4 describe que la concentración media de proteínas fue del 20,94%, con una desviación estándar del 0,202%, un estrecho rango de valores sugiere un contenido proteico relativamente uniforme en las muestras de harina de pallar analizadas. El contenido proteínico de la harina de pallar analizada en este estudio se encuentra dentro del intervalo señalado en estudios anteriores, lo que indica coherencia entre distintos estudios y regiones.

En base a los resultados presentados en la Tabla 3,5 se puede concluir que el método Kjeldahl es un método fiable y preciso para la determinación de proteínas en muestras de harina de pallar. Este hallazgo es consistente con estudios previos [18], que también utilizaron el método Kjeldahl para determinar la concentración de proteína en harina de pallar. El estrecho rango de valores y la consistencia entre los estudios sugieren que el contenido de proteína de la harina de pallar es relativamente consistente y puede considerarse una buena fuente de proteína dietética. La determinación precisa de la concentración de proteína es esencial para la evaluación de la calidad y el valor nutricional de los alimentos [20].

Por lo tanto, el método Kjeldahl sigue siendo una herramienta valiosa para la determinación de proteínas en el análisis de alimentos. Las medidas estadísticas de los resultados del método Kjeldahl se presentan en la Tabla 3.4. Este método determina las concentraciones de proteína midiendo el nitrógeno total. Los valores mínimo y máximo de las concentraciones de proteínas fueron 20,66 y 21,22, respectivamente, y el rango de los valores obtenidos fue de 0,56. La mediana de la concentración fue de 20,96, lo que indica que la mitad de las muestras tenían concentraciones superiores a este valor y la otra mitad inferiores.

La desviación típica fue de 0,202, lo que indica que los resultados se aproximaron bastante a la media de 20,94. El coeficiente de variación fue de 0,0096, lo que sugiere que la variabilidad entre

los resultados fue baja. El método Kjeldahl es un método ampliamente utilizado para la determinación de proteínas, y la precisión de los resultados obtenidos en este estudio confirman su fiabilidad. El bajo coeficiente de variación sugiere que el método es adecuado para el análisis rutinario de concentraciones de proteínas en muestras con características similares.

Los resultados obtenidos en este estudio pueden servir de referencia para futuros estudios que utilicen el método Kjeldahl para determinar concentraciones de proteínas en muestras similares. Según los resultados presentados en la Tabla 3,5, se compararon los métodos Biuret y Kjeldahl en base a su media, desviación estándar, varianza y coeficiente de variación. El método Kjeldahl demostró una mayor exactitud, con una desviación estándar y un coeficiente de variación más bajos en comparación con el método Biuret. Esto sugiere que el método Kjeldahl produce menos variabilidad en los resultados obtenidos.

Además, la varianza obtenida por el método Kjeldahl fue inferior a la obtenida por el método Biuret, lo que indica que los resultados obtenidos por el método Kjeldahl están más cerca de la media que los obtenidos por el método Biuret. Según los resultados presentados en la Tabla 3,6, existe una ligera diferencia en las concentraciones de proteínas obtenidas por los métodos Biuret y Kjeldahl. El método Kjeldahl arrojó concentraciones de proteínas ligeramente superiores en comparación con el método Biuret. Sin embargo, para determinar qué método es más preciso y exacto, se requiere un análisis estadístico como el ANOVA.

Según los hallazgos [22] el método Kjeldahl tiende a sobrestimar las concentraciones de proteínas en comparación con el método Biuret. Sin embargo, es importante señalar que ambos métodos tienen sus propias ventajas y limitaciones, y la elección del método depende de los requisitos específicos del experimento. El análisis ANOVA de la Tabla 3,7 muestra la suma de cuadrados, los grados de libertad, los cuadrados medios, el valor "F" y el valor "p" para cada fuente de variación. El valor F se utiliza para determinar si existe una diferencia significativa entre las medias de los dos grupos.

En este caso, el valor F es inferior a 1, lo que indica que no hay diferencia significativa entre los métodos Biuret y Kjeldahl. El valor p es superior a 0,05, lo que indica que no hay diferencias significativas entre los métodos. Por lo tanto, no existe una diferencia significativa entre los dos métodos para la determinación de proteínas. En el estudio [22] se compararon y analizaron las concentraciones de proteínas obtenidas por los métodos de Biuret y Kjeldahl. Los resultados presentados en la Tabla 3.8 muestran que la concentración media de proteínas para el grupo A (método Biuret) fue de 19,6, con una desviación estándar de 0,05163978, mientras que para el grupo B (método Kjeldahl) la concentración media de proteínas fue de 20,97333, con una desviación estándar de 0,44421478.

Para determinar si había una diferencia significativa entre las concentraciones medias de proteína obtenidas por los dos métodos, se realizó una prueba de Tukey y los resultados se muestran en la Tabla 3,9. La prueba de Tukey reveló una diferencia estadísticamente significativa entre las

concentraciones medias de proteína obtenidas por los dos métodos. La prueba de Tukey reveló una diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones medias de proteínas de los grupos A y B, con un valor de prueba de -7,34. Por lo tanto, puede concluirse que existe una diferencia significativa entre las proteínas obtenidas por los dos métodos.

Además, se analizó la correlación entre los dos métodos utilizando el coeficiente de correlación de Pearson, como se muestra en la Tabla 3,10. El coeficiente de correlación fue de 0,952, lo que indica una alta correlación positiva entre los resultados obtenidos por ambos métodos en la determinación de las concentraciones de proteínas. Según los resultados obtenidos en el estudio, existe una relación lineal positiva entre los métodos de Biuret y de espectrometría ultravioleta, lo que sugiere que las concentraciones obtenidas por ambos métodos están estrechamente relacionadas.

Esta conclusión concuerda con los hallazgos reportados por [22] quienes también observaron una fuerte correlación entre estos dos métodos en sus ensayos de cuantificación de proteínas. La ecuación de regresión para el s datos, $y = 0,581x + 7,3615$, indica que, en promedio, un aumento de una unidad en los resultados de Biuret se asocia con un aumento de 0,581 en los resultados de espectrometría ultravioleta. Este valor es coherente con los coeficientes de pendiente comunicados por estudios anteriores que oscilan entre 0,5 y 0,7.

El coeficiente de determinación R^2 , que es de 0,9294 en el caso, indica que el 92,94 % de la varianza total de los resultados de la espectrometría ultravioleta puede explicarse por los resultados de Biuret. Esto sugiere que la ecuación de regresión es un buen predictor de los valores de espectrometría ultravioleta basados en los valores de Biuret. El s hallazgos son coherentes con los de otros estudios, que han informado de altos valores de R^2 que oscilan entre 0,86 y 0,96.

En conclusión, el estudio confirma que existe una fuerte relación entre los métodos de Biuret y de espectrometría ultravioleta para la cuantificación de proteínas, lo que indica que ambos métodos son igualmente útiles y pueden utilizarse indistintamente. Estos hallazgos concuerdan con investigaciones anteriores y tienen importantes implicaciones para la medición precisa y fiable de las concentraciones de proteínas en diversas muestras biológicas [22].

V. CONCLUSIONES

- En conclusión, el primer objetivo de determinar la concentración de proteínas solubles en la harina de pallar mediante el método Kjeldahl se cumplió, obteniendo un valor de 20,97 g/100g (ver Tabla 3.8).
- En segundo lugar, también se logró al determinar la concentración de proteínas solubles en la harina de pallar mediante el método Biuret (con el uso del equipo de espectrofotómetro UV-Visible), obteniendo un valor de 19,60 g/100g (ver Tabla 3.8).
- En cuanto al tercer objetivo, al establecer el nivel de precisión de los métodos de Biuret y Kjeldahl con una desviación estándar de 0.0516 y 0.4442 (ver Tabla 3.8) respectivamente; se concluye que ambos métodos son válidos y que no hay altas diferencias significativas entre ellos, ya que lo recomendable es que sea de menor o igual a 0.5 como máximo que es permitido en pruebas repetitivas; y en comparación con los datos teóricos generales del contenido de proteína en la harina de pallar los cuales varían entre 20 a 25%, ello de acuerdo al procesamiento del producto terminado. Se puede decir, que el método Kjeldahl está dentro del rango de los datos históricos, así mismo en relación a los datos de la materia prima antes de ser convertida en harina que es de 19.4 % en el pallar según MINSA (2017), a diferencia del Método Biuret, que tiene una ligera diferencia hacia abajo, pero no despreciable, así mismo, es importante tener en cuenta que el método de Biuret es más rápido y menos costoso que el método Kjeldahl, lo que lo hace más práctico para su uso en la industria alimentaria.
- El método Kjeldahl, es el método más acertado por la parte teoría de proteínas; por lo tanto, es más aceptable y confiable, pero es más costoso, requiere de mayor tiempo en el proceso de análisis, en cambio el método Biuret es más práctico, menos costoso y al ser más rápido tiene un margen de error mayor que el Kjeldahl, pero no significativo a lo apropiado en análisis de laboratorio. Así que, cada método debe estar de acuerdo a la necesidad de los resultados en tiempo, exactitud y costos.
- En resumen, los resultados de este estudio indican que tanto el método de Biuret como el método Kjeldahl son precisos para determinar la concentración de proteínas solubles en la harina de pallar, lo que proporciona información valiosa a los investigadores y profesionales de la industria alimentaria que trabajan con este producto.

VI. RECOMENDACIONES.

- Se recomienda a los investigadores y profesionales de la industria alimentaria que trabajan con harina de pallar que consideren el método Biuret para determinar la concentración de proteínas solubles en la muestra, ya que es un método rápido y preciso.
- Se recomienda que se utilice tanto el método Biuret como el método Kjeldahl para medir las concentraciones de proteínas solubles en la harina de pallar, ya que ambos métodos son igualmente útiles y proporcionan resultados similares.
- Se recomienda que se utilice el método de Biuret en la industria alimentaria debido a su mejor precisión en la repetitividad, rapidez y bajo costo, lo que lo hace más práctico para su uso en la medición de la concentración de proteínas solubles en la harina de pallar en caso se realice como monitoreo durante un proceso, ya que por el costo y rapidez se podría hallar un factor de exactitud del equipo el cual calibraría el método con los resultados deseados.
- El uso del método Kjeldahl, se recomienda en proximales para tener resultados más exactos de los cuales dependen el rendimiento del proceso de un producto, por mayor exactitud y asertividad con la realidad.
- En general, se recomienda a los investigadores y profesionales de la industria alimentaria que consideren los resultados de este estudio al seleccionar el método más apropiado para medir la concentración de proteínas solubles en la harina de pallar, y que utilicen la información obtenida para mejorar la calidad nutricional de los productos alimentarios que contienen harina de pallar.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- [1] J. Calderón-Vélez, “Proteínas: redefiniendo algunos conceptos comunicaciones breves,” *Rev Fac Med Univ Nac Colomb*, vol. 54, no. 2, pp. 143–147, 2006, Accessed: Oct. 12, 2023. [Online]. Available: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-00112006000200010
- [2] R. M. Lei Concess Rama *et al.*, “Protein Efficiency Ratio of Pigeon Pea (*Cajanus cajan*) and Lima Bean (*Phaseolus lunatus*): A Sprague-Dawley Rat Growth Assay.” Accessed: Oct. 12, 2023. [Online]. Available: <https://actamedicaphilippina.upm.edu.ph/index.php/acta/article/view/391/352>
- [3] Y. Marrugo, C. Espitia, E. Torregroza, J. Lafont, and J. Jaimes, “Physicochemical characterization of protein concentrates obtained from *Phaseolus lunatus*,” *Contemporary Engineering Sciences*, vol. 11, no. 43, pp. 2107–2112, 2018, doi: 10.12988/ces.2018.84176.
- [4] J. Caiza-Constante, “Evaluación de la solubilidad de la proteína presente en matrices vegetales: leguminosas, tubérculos y raíces.” Tesis de grado, Universidad Técnica de Ambato, Ecuador, 2019. Accessed: Oct. 12, 2023. [Online]. Available: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/30181/1/AL%20713.pdf>
- [5] G. Silva-Gama, “Evaluación de la harina de chachafruto como ingrediente para la elaboración de un producto de panadería libre de gluten,” Tesis de grado, Universidad Nacional de Colombia, Colombia, 2020. Accessed: Oct. 12, 2023. [Online]. Available: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/77707>
- [6] L. Laureano-Carbajal and M. Avellaneda-Tejada, “Influencia de la temperatura de extrusión en la calidad de un snack elaborado a base de pallar (*phaseolus lunatus*) y arroz (*oryza sativa*),” Tesis de grado, Universidad Nacional del Santa, Chimbote, 2018. Accessed: Oct. 12, 2023. [Online]. Available: <https://repositorio.uns.edu.pe/handle/20.500.14278/3233>
- [7] J. Ccala-Sucasaca and S. Ramirez-Carrasco, “Identificación y Cuantificación de aminoácidos esenciales en *Cicer arietinum* L. garbanzo y *Phaseolus lunatus* L. pallar por Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC),” Tesis de grado, Universidad Nibert Wiener, Lima. Accessed: Oct. 12, 2023. [Online]. Available: <https://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/20.500.13053/4412>
- [8] O. Martinez-Agustin and E. Martinez-Muñoz, “Proteínas y péptidos en nutrición enteral,” *Nutr Hosp*, vol. 21, no. 2, pp. 1–14, 2006, Accessed: Oct. 12, 2023. [Online]. Available: <https://scielo.isciii.es/pdf/nh/v21s2/original1.pdf>

- [9] J. Catarino-Granados, “Análisis de la distribución de grupos de alimentos y macronutrientes en los menús del comedor comunitario de temamatla en el edo. Méx. Y estado de nutrición de los usuarios,” Tesis de grado, Universidad Autónoma del Estado de México, México, 2018. Accessed: Oct. 12, 2023. [Online]. Available: <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/94716>
- [10] L. Mamani-Lima and A. Cercado-Ruesta, “Alimentación en la Escuela Militar de Chorrillos ‘Coronel Francisco Bolognesi’- 2018,” Tesis de grado, Escuela Militar de Chorrillos, Lima, 2020. Accessed: Oct. 12, 2023. [Online]. Available: <https://repositorio.escolamilitar.edu.pe/items/3b00d488-569f-4ad6-a2a8-317d7a830c7a>
- [11] J. Folleco-Guerrero, “Inseguridad alimentaria y consumo de nutrientes en la comunidad Igüeza del cantón Espejo, Carchi, 2019,” Tesis de grado, Universidad Técnica del Norte, Ecuador, 2019. Accessed: Oct. 12, 2023. [Online]. Available: <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/9468>
- [12] M. Á. Anchundia, E. Pérez, and F. Torres, “Chemical composition, amino acid profile and vitamin content of thermally treated sweet potato flours,” *Revista Chilena de Nutricion*, vol. 46, no. 2, pp. 137–143, Apr. 2019, doi: 10.4067/s0717-75182019000200137.
- [13] Á. Carbajal Azcona, “Manual de Nutrición y Dietética,” Madrid, 2013. Accessed: Oct. 12, 2023. [Online]. Available: <https://docta.ucm.es/entities/publication/59da19f8-69fb-49e3-b337-3ea3dd8f9487>
- [14] J. R. Hoffman and M. J. Falvo, “Protein – which is best?,” *J Sports Sci Med*, vol. 3, no. 1, pp. 118–130, 2004, Accessed: Oct. 12, 2023. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3905294/pdf/jssm-03-118.pdf>
- [15] M. Richter *et al.*, “Revised Reference Values for the Intake of Protein,” *Ann Nutr Metab*, vol. 74, no. 3, pp. 242–250, Apr. 2019, doi: 10.1159/000499374.
- [16] J. Váasquez-Cuentas, “El cultivo del pallar,” 1997. Accessed: Oct. 12, 2023. [Online]. Available: https://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/984/1/V%C3%A1squez-Cultivo_del_pallar.pdf
- [17] MINSA, “Tablas peruanas de composición de alimentos,” Lima, 2017. Accessed: Oct. 12, 2023. [Online]. Available: <https://repositorio.ins.gob.pe/bitstream/handle/20.500.14196/1034/tablas-peruanas-QR.pdf>
- [18] E. García-Martínez and I. Fernández-Segovia, “Determinación de proteínas de un alimento por el método Kjeldahl. Valoración con un ácido fuerte,” 2014. Accessed: Oct. 12, 2023. [Online]. Available: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/16338/Determinaci%C3%B3n%20de%20proteinas.pdf>

- [19] N. M. Saptarini, D. Rahayu, and S. A. F. Kusuma, "Protease activity and characterization of bromelain extract of pineapple (*Ananas comusus* (l.) merr) crown from Subang, Indonesia," *Rasayan Journal of Chemistry*, vol. 12, no. 4, pp. 2074–2081, Oct. 2019, doi: 10.31788/RJC.2019.1245319.
- [20] H. K. Mæhre, L. Dalheim, G. K. Edvinsen, E. O. Elvevoll, and I. J. Jensen, "Protein determination—method matters," *Foods*, vol. 7, no. 1, Jan. 2018, doi: 10.3390/foods7010005.
- [21] R. Hernandez Sampieri, C. Fernandez Collado, and P. Baptista Lucio, *Metodologia de la investigacion 6a Edicion*. Mexico, 2014. [Online]. Available: <http://observatorio.epacartagena.gov.co/wp-content/uploads/2017/08/metodologia-de-la-investigacion-sexta-edicion.compressed.pdf>
- [22] C. Therapy *et al.*, "Estudio de la actividad antioxidante de aislados proteicos de harina de haba pallar (*Phaseolus lunatus* L.) y su digestibilidad gástrica y duodenal (in vitro)" [En línea]. Disponible en:
<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=sph&AN=119374333&site=ehost.live&scope=site%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.07.032%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.tics.2017.03.010%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.08.006>.

VII. ANEXOS.

7.1 Preparación del Reactivo de Biuret

Insumos

- Tartrato de sodio y potasio 9g
- Sulfato cúprico 3g
- Ioduro de potasio 5g
- Hidróxido de sodio 8.2441 g

Materiales y equipos:

- Fiola de 1000 ml.
- Vaso de pp.
- Espátula

Procedimiento:

- Preparamos el hidróxido de sodio a una concentración 0.2M en 1L de agua destilada, aforamos, agitar hasta que se encuentre homogéneamente.
- Agregamos agua destilada hasta que se encuentre en la marca del aforo.
- Vertimos 500 ml de NaOH en un matraz aforado, y añadimos con la ayuda de un embudo 9gr del Tartrato de Sodio y Potasio.
- Luego con la ayuda de una espátula agregar el Sulfato cúprico pentahidratado con mucho cuidado, Mezclamos homogéneamente Y (observaremos una coloración azul intensa (color característico)
- Por último, añadimos el Ioduro de Potasio y agitamos.

Figura 7.1 Preparación de reactivo Biuret



Fuente: Elaboración propia.

De la figura 7.1 considerar que el sulfato cúprico pentahidratado debe tener cristales grandes, debido a que es una sal relativamente poco soluble por lo que tardará en solubilizar en la solución, se puede acelerar añadiendo más NaOH (sin pasarse de la línea de aforo) y se debe tener la solución homogenizada (tardará varios minutos) antes de colocar el reactivo de Ioduro de Potasio

7.2 Preparación de la mezcla catalizadora para el método Kjeldahl

Insumos:

- Sulfato de potasio K_2SO_4 , 90g.
- Sulfato cúprico $CuSO_4$, 10g.

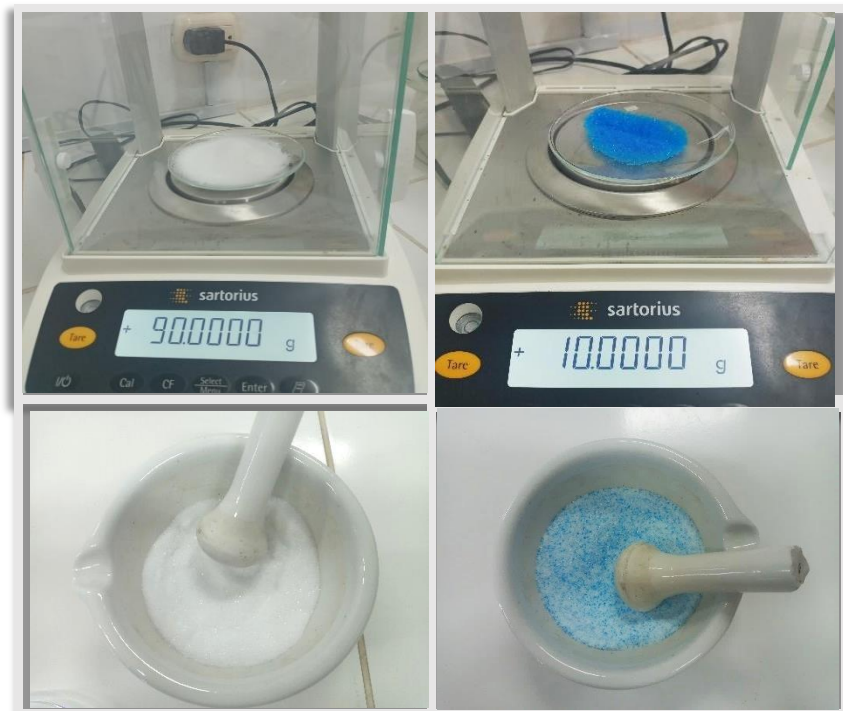
Materiales y equipos:

- Mortero y pilón
- Balanza analítica

Procedimiento:

Se pesaron las cantidades mencionadas de cada insumo químico, y se mezclaron ambas sales en un mortero hasta que quedar uniformemente, como se observa el procedimiento de la figura 7.2.

Figura 7.2 Preparación de la mezcla catalizadora



Fuente: Elaboración propia.

7.3 Preparación de ácido bórico al 4%

Insumo:

- Ácido Bórico (99.5%), 40 g.

Materiales y equipos:

- Fiola 1L
- Vaso pp. 500 ml
- Varilla de agitador
- Agitador magnético
- Balanza analítica

Procedimiento:

Se dosificó una porción de agua destilada inicial en la fiola, se pesó el ácido bórico concentrado y se disolvió en agua destilada, añadiéndose de poco en poco el ácido y se enrasó con el agua destilada, sin dejar de agitar continuamente.

$$\text{Solucion ac} = \frac{40 \text{ g}}{0.995} \rightarrow 40.2 \text{ g}$$

$$\text{Solucion ac} = \frac{40.2 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} \times 100\%$$

$$\text{solucion ac} = 4 \%$$

7.3 Preparación del indicador Tashiro

Insumo:

- Azul de metileno, 0.2 g.
- Rojo de metilo, 1.2 g.
- Alcohol etílico, 100 ml.

Materiales y equipos:

- Fiola 100 ml.
- Vaso pp. 100 ml
- Varilla de agitador
- Agitador magnético
- Balanza analítica

Procedimiento:

Se disolvió rojo de metilo en el solvente de alcohol etílico en una fiola de 100 ml, de la misma manera se disolvió el azul de metileno en otra fiola de 100 ml, se llevó a fuerte

agitación hasta que quede uniforme; una vez disuelto el soluto, enrasar con el mismo solvente.

Se finalizó, con la mezcla de las 2 partes de rojo de metilo y una de azul de metileno en otra fiola del mismo volumen. Se observa una coloración violeta. El procedimiento se ilustra en la figura 7.3.

Figura 7.3 Preparación del Indicador Tashiro



Fuente: Elaboración propia.

7.4 Preparación del Hidróxido de Sodio al 30%

Insumo:

- Hidróxido de sodio, NaOH (300 g).

Materiales y equipos:

- Fiola 1 L.
- Espátula
- Vaso pp. 500 m l
- Agitador magnético con pila magneto
- Balanza analítica

Procedimiento:

Se pesó la soda caustica y se disolvió en 1L de agua, colocar en el agitador magnético para disolverlo rápidamente, ver la figura 7.4. Se observó una coloración lechosa producto de la saturación de la solución, como se muestra en la figura 7.5.

Figura 7.4 Agitación de la solución de soda caustica al 30%



Fuente: Elaboración propia.

Figura 7.5 Coloración lechosa de la solución de NaOH al 30%



Fuente: Elaboración propia.