



# Universidad Norbert Wiener

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA ESCUELA  
ACADEMICO PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUIMICA**

**Identificación y Cuantificación de aminoácidos esenciales en *Vigna unguiculata* (frejol castilla) y *Phaseolus vulgaris* (frejol guinda) por Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC)**

**Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico**

**Presentado por:**

Br. Flores Hilario Elsa

Br. Montoya Navarro, Kelly Janys

**Asesor:**

Dr. Félix Veliz Luis Miguel

**Lima – Perú**

**2018**

## **DEDICATORIA**

Dedicamos este trabajo a Dios en primer lugar por darnos la fortaleza, sabiduría, esperanza y vida, haciendo posible la culminación de nuestra tesis.

A nuestros padres por darnos la vida, por su apoyo incondicional por impulsarnos en seguir adelante día a día, motivándonos a superar nuestros propios obstáculos y grandes temores.

A nuestros familiares y a todos aquellos que nos apoyaron e hicieron posible para que continuáramos con nuestra carrera.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. Félix Veliz Luis Miguel por la asesoría consecutiva en el desarrollo de la tesis, sobre todo por la paciencia.

A nuestra Alma Mater la Universidad Privada Norbert Wiener y a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica.

A los docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, por impartir sus conocimientos y aportes en nuestra formación profesional, a todos ellos les dedicamos este trabajo hecho con mucho esfuerzo y dedicación cada una de estas páginas de esta tesis.

# INDICE

## RESUMEN

## SUMARY

|   |          |
|---|----------|
| <b>I. INTRODUCCION .....</b>                                  | <b>1</b> |
| 1.1 Planteamiento Del Problema .....                          | 1        |
| 1.2 Formulación del Problema .....                            | 2        |
| 1.3 Justificación.....  | 2        |
| 1.4. OBJETIVOS.....   | 3        |
| 1.4.1Objetivos Generales .....                                | 3        |
| 1.4.2Objetivos Especificos .....                              | 3        |
| 1.5. HIPOTESIS .....  | 3        |
| 1.5.1 Hipótesis General .....                                 | 3        |
| 1.6. VARIABLES .....  | 3        |
| 1.6.1 Variable Independiente .....                            | 3        |
| 1.6.2 Variable Dependiente .....                              | 3        |
| <b>II. MARCO TEORICO .....</b>                                | <b>4</b> |
| 2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN .....                    | 4        |
| 2.2 BASES TEÓRICAS .....                                      | 9        |
| 2.2.1 Origen.....   | 9        |
| 2.2.2 <i>Vigna unguiculata</i> .....                          | 10       |
| 2.2.3 <i>Phaseolus vulgaris</i> .....                         | 12       |
| 2.2.4 Importancia del frejol a nivel nacional y mundial ..... | 15       |
| 2.2.5 Valor nutritivo de las leguminosas .....                | 16       |
| 2.2.6 Proteínas.....  | 16       |

|   |           |
|---|-----------|
| 2.2.7 Aminoácidos.....  | 17        |
| 2.2.8 Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC).....               | 24        |
| 2.2.8.1 Instrumentación en HPLC .....                                     | 24        |
| <b>III. PARTE EXPERIMENTAL.....</b>                                       | <b>27</b> |
| 3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN: Analítico, descriptivo y prospectivo.....      | 27        |
| 3.2 METODOLOGIA .....   | 27        |
| 3.2.1 Lugar y Muestra.....  | 27        |
| 3.2.2 Materiales, reactivos y equipos .....                               | 27        |
| 3.2.3 Procedimiento .....   | 29        |
| 3.2.4 Técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de datos: .. | 34        |
| 3.2.5 Procesamientos de datos:.....                                       | 34        |
| 3.2.6 Análisis de datos: .....  | 34        |
| <b>IV. RESULTADOS .....</b>   | <b>35</b> |
| <b>V. DISCUSION.....</b>  | <b>41</b> |
| <b>VI. CONCLUSIONES .....</b>   | <b>46</b> |
| <b>VII. RECOMENDACIONES .....</b>   | <b>47</b> |
| <b>VIII. REFERENCIA BIBLIOGRAFICA .....</b>                               | <b>48</b> |
| <b>IX. ANEXOS .....</b>   | <b>53</b> |

## INDICE DE FIGURAS

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Figura 1: Semilla <i>Vigna unguiculata</i></b> .....  | <b>11</b> |
| <b>figura 2: Semilla <i>Phaseolus vulgaris</i></b> .....   | <b>13</b> |
| <b>Figura 3: Estructura de aminoacidos</b> .....   | <b>18</b> |
| <b>Figura 4: HPLC</b> .....  | <b>25</b> |
| <b>Figura 5: Tiempo de retención</b> .....   | <b>26</b> |
| <b>Figura 6: Secado en estufa de <i>Vigna unguiculata</i> (frejol castilla) y <i>Phaseolus vulgaris</i> (frejol guinda)</b> .....                                | <b>29</b> |
| <b>Figura 7: Proceso de desengrasado</b> .....   | <b>30</b> |
| <b>Figura 8: Hidrolisis por reflujo por 24 horas en semillas de <i>Vigna unguiculata</i> (frejol castilla) y <i>Phaseolus vulgaris</i> (frejol guinda)</b> ..... | <b>30</b> |
| <b>Figura 9: Proceso de neutralización</b> .....   | <b>31</b> |
| <b>Figura 10: Lectura de recorrido de Standar</b> .....  | <b>36</b> |
| <b>Figura 11: Lectura de recorrido de <i>Vigna unguiculata</i></b> .....   | <b>37</b> |
| <b>Figura 12: Lectura de recorrido de <i>Phaseolus vulgaris</i></b> .....  | <b>39</b> |
| <b>Figura 13: Estándar 1 y 2 de aminoácidos</b> .....  | <b>55</b> |
| <b>Figura 14: Viales para HPLC</b> .....   | <b>55</b> |

## INDICE DE TABLAS

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Tabla 1: Nombres comunes de <i>Vigna unguiculata</i> L. ....</b>                                     | <b>10</b> |
| <b>Tabla 2: Nombres comunes de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. ....</b>                                    | <b>12</b> |
| <b>Tabla 3: Clasificación de aminoácidos esenciales y no esenciales. ....</b>                           | <b>19</b> |
| <b>Tabla 4: Patrón e ingesta diaria de aminoácidos sugeridos por la FAO/OMS/ONU<br/>(2007).....</b>     | <b>23</b> |
| <b>Tabla 5: Fase móvil.....</b>   | <b>32</b> |
| <b>Tabla 6: Diferencia entre la especie <i>Vigna unguiculata</i> y <i>Phaseolus vulgaris</i>. .....</b> | <b>35</b> |
| <b>Tabla 7: Lectura de <i>Vigna unguiculata</i>.....</b>  | <b>38</b> |
| <b>Tabla 8: Lectura de <i>Phaseolus vulgaris</i>. ....</b>  | <b>40</b> |

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo identificar los aminoácidos esenciales en *Vigna unguiculata* y *Phaseolus vulgaris*. Para lo cual las muestras se secaron y se procedieron a pulverizar; seguido se desengrasó con éter de petróleo 500 mL; por el método de Soxhlet y el proceso de hidrólisis se realizó con HCl 6N. La identificación de aminoácidos esenciales de las especies *Vigna unguiculata* y *Phaseolus vulgaris* se realizó por Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC). Concluyendo que en la especie *Vigna unguiculata* se identificó los siguientes aminoácidos: valina (1,02 mg/100mg), glicina (8,75mg/100mg), leucina (1,01mg/100mg), lisina (0,64 mg/100mg) y metionina (1,05mg/100mg) mientras que en *Phaseolus vulgaris* se identificó valina (1,79 mg/100mg), glicina (5,49mg/100mg), triptófano (1,33mg/100mg), leucina (1,08mg/100 mg) y lisina (1,31mg/100mg). Con los resultados obtenidos en esta investigación se recomienda incluir las leguminosas como parte de la dieta diaria.

Palabras claves: *Vigna unguiculata*, aminoácidos esenciales, *Phaseolus vulgaris*, aminoácidos.

## SUMMARY

The objective of this research was to identify the essential amino acids in *Vigna unguiculata* and *Phaseolus vulgaris*. For which the samples were dried and sprayed; followed by degreasing with petroleum ether 500 mL; by the Soxhlet method and the hydrolysis process was carried out with 6N HCl. The identification of essential amino acids of the species *Vigna unguiculata* and *Phaseolus vulgaris* was carried out by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Concluding that in the *Vigna unguiculata* species the following amino acids were identified: valine (1.02 mg / 100mg), glycine (8.75mg / 100mg), leucine (1.01mg / 100mg), lysine (0.64mg / 100mg) and methionine (1.05mg / 100mg) while in *Phaseolus vulgaris* was identified valine (1.79 mg / 100mg), glycine (5.49mg / 100mg), tryptophan (1.33mg / 100mg), leucine (1.08mg / 100mg) and lysine (1.31mg / 100mg) . With the results obtained in this research it is recommended to include legumes as part of the daily diet.

Keywords: *Vigna unguiculata*, essential amino acids, *Phaseolus vulgaris*, amino acids.

# I. INTRODUCCION

## 1.1 Planteamiento Del Problema

La familia vegetal *fabaceae* o *leguminosae*, es el tercer grupo de plantas más numeroso del planeta, de distribución global. Representan la principal fuente rica de proteínas y aminoácidos esenciales en muchos países. Sus cualidades nutricionales y la singular capacidad de aportar nitrógeno a su tierra de cultivo convierten a las leguminosas en un enemigo implacable contra el hambre y la desnutrición a nivel planetario. *Phaseolus vulgaris*, una de las especies más extendidas del planeta. <sup>(1)</sup>

Desde el punto de vista nutricional, las leguminosas poseen un alto contenido de proteína magra y en fibra. Ricas en nutrientes, vitaminas y minerales son también un excelente antioxidante que contrarresta el envejecimiento natural. Contienen el doble de cantidad de proteína que los cereales de grano entero, el triple que el arroz y abundan en minerales como el hierro, el potasio, el magnesio y el zinc. También posee alto contenido en vitaminas del grupo B y contribuye a estabilizar los niveles de glucemia. Según la FAO 800 millones de personas sufren de hambre crónica y unos 2,000 millones viven en carencias de uno o más micronutrientes. Superar el hambre y la desnutrición en el siglo XXI significa aumentar tanto la cantidad como la calidad de los alimentos y simultáneamente asegurarnos de producir alimentos de manera sostenible, con eficacia y seguridad. <sup>(1)</sup>

La OMS y la FAO recomienda consumir al menos 400 g de frutas y verduras al día, incluyendo legumbres y otras verduras. Aumentar su consumo puede mejorar la calidad de la dieta de las personas y su salud en general <sup>(2)</sup>

Otro aspecto es que el frijol es un cultivo mejorador del suelo, ya que por ser una leguminosa tiene la propiedad de fijar nitrógeno mediante la simbiosis con la bacteria *Rhizobium*, esto permite el ahorro de fertilizantes. <sup>(3)</sup>

El propósito de la investigación fue identificar los posibles aminoácidos esenciales presentes y para ello se estudió la muestra de harina de *Vigna unguiculata* (frijol castilla) y *Phaseolus vulgaris* (frijol guinda) por Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC)

## 1.2 Formulación del Problema

¿Qué aminoácidos esenciales tendrán las especies de *Vigna unguiculata* (frejol castilla) y *Phaseolus vulgaris* (frejol guinda) identificado por Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC)?

## 1.3 Justificación

Según el Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI) y la Encuesta Demográfica y de Salud Familiar (ENDES) 2017 el nivel de desnutrición crónica en el Perú es de 12,9%, en niñas y niños menores de 5 años de edad lo cual esto conlleva retardo en el crecimiento y desarrollo psicomotor.

Con este trabajo de investigación se busca contribuir con una base científica sobre el valor nutricional desde el punto proteico a la especie del frejol y ser una alternativa en poblaciones susceptibles a la desnutrición ya que es un indicador de desarrollo del país y su disminución contribuirá a garantizar el desarrollo de la capacidad física, intelectual, emocional y social de los niños y niñas del país. Debido al 12,9% de desnutrición, nos vemos en la necesidad de estudiar productos naturales que sean proteicos. Identificar y cuantificar sobre todo aminoácidos esenciales ya que el organismo no lo puede sintetizar. Esto conlleva a la búsqueda de alternativas altamente nutricionales y económicas que aporten a la población una mejor nutrición.

Según FAO, entre otras fuentes las leguminosas son nutricionalmente ricos, también son una buena fuente de proteínas, ácido fólico, contiene fibra e hidratos de carbono complejos. Por ello se ha de investigar especies vegetales como (*Vigna unguiculata* y *Phaseolus vulgaris*) como insumo alimenticio, asimismo se podrá reducir el índice de desnutrición que existe en nuestro país, uno de los problemas de salud pública. El aporte del presente proyecto tiene como objetivo promover el consumo de leguminosas ya que son fuentes adecuadas de aminoácidos esenciales como; isoleucina, leucina, fenilalanina, treonina y valina sobre todo lisina; lo cual contribuirá a mejorar la nutrición de la población, por ende, dichos conocimientos son de vital importancia.

## **1.4. OBJETIVOS**

### **1.4.1 Objetivos Generales**

- ✓ Identificar y cuantificar los aminoácidos esenciales en *Vigna unguiculata* y *Phaseolus vulgaris* por Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC).

### **1.4.2 Objetivos Específicos**

- ✓ Identificar los aminoácidos esenciales en *Vigna unguiculata* y *Phaseolus vulgaris* por Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC).
- ✓ Cuantificar los aminoácidos esenciales en *Vigna unguiculata* y *Phaseolus vulgaris* por Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC).
- ✓ Establecer la diferencia de porcentaje de aminoácidos esenciales entre *Vigna unguiculata* y *Phaseolus vulgaris*.

## **1.5. HIPOTESIS**

### **1.5.1 Hipótesis General**

- ✓ Los aminoácidos esenciales están presentes en el extracto proteico de *Vigna unguiculata* y *Phaseolus vulgaris* identificados por HPLC.

## **1.6. VARIABLES**

### **1.6.1 Variable Independiente**

- ✓ Las especies vegetales: *Vigna unguiculata* (frejol castilla) y *Phaseolus vulgaris* (frejol guinda).

### **1.6.2 Variable Dependiente**

- ✓ Presencia de aminoácidos esenciales.

## II. MARCO TEORICO

### 2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

En la investigación realizada sobre Actividad inhibidora de ACE-I de las fracciones de péptidos de *Phaseolus lunatus* y *Phaseolus vulgaris* obtenidas por ultrafiltración, tuvo como objetivo el estudio de la inversión de la angiotensina en-I-convertingenzima (ACE-I) como parte de los mecanismos que controlan la presión arterial a métodos alternativos de control de la hipertensión en seres humanos. Las semillas de frijol Lima (*P. lunatus*) y Jamapa Bean (*P. vulgaris*) se limpiaron manualmente para eliminar las impurezas. Después de la limpieza, las semillas se molieron en un molino. La derivatización de aminoácidos se realizó a 50°C usando etoximetilmalonato de dietilo. Los aminoácidos se separaron usando HPLC con una columna de fase inversa, las fracciones mostraron alta contenido de aminoácidos esenciales, como Trp, Thr, Val, Phe, Tyr, Ile, Leu, Lys, Met, Cys e His, tienen un buen equilibrio en la composición de aminoácidos como fuente de proteína en la nutrición humana. Los resultados sugieren la posibilidad de obtener y utilizar las fracciones peptídicas en el desarrollo e innovación de un producto funcional que ayuda con el tratamiento y/o prevención de la hipertensión.<sup>(4)</sup>

En la investigación realizada sobre Evaluación del impacto de congelación en la composición aproximada de vainas de caupí inmaduro (*Vigna unguiculata L.*): enfoques clásicos versus enfoques espectroscópicos, tuvo como objetivo el estudio mediante Congelación el cual representa una práctica de conservación común en relación con los alimentos vegetales. Como las características de la composición deben ser supervisadas durante el almacenamiento, el desarrollo de herramientas de monitoreo rápido es adecuado para evaluar las características nutricionales que surgen de un tejido inherente sobre el caupí (*Vigna unguiculata L.*). La determinación de aminoácidos mediante cromatografía líquida de alto rendimiento con detección fluorescente (HPLC-FLD). Las muestras secas y en polvo (25 mg) se procesaron mediante la adición de 5 ml de HCl. Los tubos se sellaron ligeramente con una capacidad e hidrólisis se llevó a cabo a 110°C durante 24 h. Las muestras se dejaron enfriar a la temperatura y se ajustaron con NaOH. En general. contenido de aminoácidos esenciales y no esenciales en vainas de caupí después de 6 y 9 meses de congelación con respecto a las concentraciones encontradas en las vainas crudas, no

se observaron diferencias significativas en los niveles de la mayoría de aminoácidos esenciales y no esenciales. Como resultado se obtuvo aminoácidos esenciales como: treonina, histidina, valina, lisina isoleucina, leucina y fenilalanina y aminoácidos no esenciales como: glicina, arginina, alanina, prolina, tirosina, glutamina y serina. En conclusión, el enfoque espectroscópico constituye una metodología adecuada para monitorear el impacto de la congelación en las propiedades nutricionales de las vainas de caupí, lo que permite una cuantificación precisa de los contenidos de proteínas y aminoácidos. <sup>(5)</sup>

En la investigación realizada de Evaluación Nutricional de Concentrados Proteicos de *Phaseolus lunatus* y *Vigna unguiculata*. Tuvo como objetivo evaluar el potencial nutricional de concentrados proteicos de *Phaseolus lunatus* y *Vigna unguiculata*. Utilizando el método de Soxhlet bajo condiciones térmicas moderadas no superiores a 40 °C, tratando de conservar las propiedades funcionales de las proteínas. Una vez conseguido el extracto se acidificó con HCl hasta llegar al punto de precipitación de la mayoría de las proteínas. La determinación de aminoácidos esenciales se realizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Los resultados demostraron que no existe diferencias significativas entre las propiedades funcionales de ambos concentrados, excepto en la capacidad espumante donde el concentrado proteico de *Vigna unguiculata* no manifestó esta propiedad. Llegando a la conclusión de que el concentrado proteico de *Vigna unguiculata* satisface las necesidades de aminoácidos esenciales de pre-escolares, escolares y adultos excepto en los aminoácidos azufrados y triptófano. <sup>(6)</sup>

En la investigación realizada sobre Elaboración y Evaluación Nutricional de cupcake funcional a base de harina de arveja (*Pisum sativum*) y harina de trigo (*Triticum aestivum*), para fortalecer la dieta diaria, tuvo como objetivo la elaboración y evaluación nutricional. Empleando el método de derivatización de los aminoácidos con O-ftalaldehído y la identificación de aminoácidos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Usando como fase estacionaria una columna de C-18 y como fase móvil un gradiente de acetonitrilo, buffer fosfato de pH 7,2 (a temperatura ambiente), con detector fluorométrico”. Como resultado, se evidencia la presencia de lisina, aminoácido característico en las leguminosas, pero estas a su vez son deficitarias en metionina. Estos resultados demuestran que el producto obtenido mejora sustancialmente en el aporte de aminoácidos y minerales esenciales para la

nutrición. Como conclusión se obtuvo hierro 8,70 mg/100g y lisina con 0,38 g/100g.  
(7)

En la investigación realizada sobre Determinación del contenido de aminoácidos en harinas de quinoa de origen argentino, el objetivo de este trabajo fue evaluar la cantidad y calidad proteica de la harina obtenida de dos lotes de granos provenientes del noroeste argentino. Las proteínas se midieron por Kjeldhal y el perfil de aminoácidos fue determinado por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) previa hidrólisis ácida de las harinas con HCl 6 M por 24 horas; según el método oficial de análisis de AOAC Internacional. La concentración de aminoácidos por 100 g de proteínas fue similar, excepto lisina e histidina que fueron mayores en el lote 2010. Los aminoácidos limitantes en la proteína de quinoa fueron cisteína y metionina, pero existen otros que se encuentran en bajas concentraciones en relación a los requerimientos de los niños en edad preescolar. Este hecho pone de manifiesto la necesidad de contar con más datos sobre el contenido de proteínas y composición aminoacídica de cultivos nacionales, de manera que sea posible establecer valores promedios. A pesar de las deficiencias aminoacídicas detectadas, es de gran valor destacar que la calidad de una proteína no puede ser juzgada únicamente en relación con el patrón de referencia, ya que cuando es comparada con los patrones de requerimientos de aminoácidos esenciales para cada edad. (8)

En la investigación realizada sobre Obtención del Concentrado Protéico y Determinación del perfil de aminoácidos de dos variedades de Tarwi (*Lupinus mutabilis Sweet*), tuvo como objetivo la extracción del concentrado proteico y su posterior determinación del perfil de aminoácidos de dos variedades de Tarwi (*Lupinus mutabilis Sweet*): Yunguyo I y Negra de Sacacatani. La extracción del concentrado protéico se realizó por el método de punto isoelectrico a pH de 4,5 y temperaturas de 30 °C y 40 °C con 3 repeticiones por tratamiento, dando mejores resultados de extracción los tratamientos realizados a la temperatura de 40 °C en ambas variedades. La metodología empleada para la determinación del perfil de aminoácidos del concentrado protéico de Tarwi se realizó mediante Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC). Las muestras se sometieron a previa hidrólisis ácida para eliminar los compuestos orgánicos no nitrogenados. Dentro de este resultado se identificó a la metionina como el aminoácido limitante representativo del perfil de ambas variedades de estudio. Luego de ser analizados se demostró que no presentan diferencia estadística significativa entre el perfil de aminoácidos de ambas

variedades. Como resultado se identificó a 17 aminoácidos, de los cuales 9 aminoácidos son esenciales (histidina, treonina, arginina, valina, metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina y lisina).<sup>(9)</sup>

En la investigación realizada de Efecto de la temperatura de expandido sobre la concentración de aminoácidos esenciales en granos de *Amaranthus caudatus* (kiwicha), variedad Oscar blanco, se determinó el efecto de las temperaturas de expandido (180 °C, 200 °C y 215 °C) sobre la concentración de aminoácidos esenciales en granos de *Amaranthus caudatus* (kiwicha), variedad Oscar Blanco. Las muestras obtenidas fueron previamente tratadas a diferentes temperaturas, obteniéndose el expandido de kiwicha. Posteriormente a este, los granos expandidos se pulverizaron para realizar la hidrólisis (a una temperatura de 110 °C por 24 horas) de las muestras, permitiendo la lectura de aminoácidos a través de la metodología de Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC). A través de esta, se determinó las concentraciones de aminoácidos esenciales (AAE) en microgramos (µg), encontrándose una disminución significativa a temperaturas de 180 °C, 200 °C y 215 °C respecto al grupo control (sin tratamiento). Consecuentemente los aminoácidos esenciales, sufren una disminución al ser sometidos a elevadas temperaturas, excepto la metionina manteniendo una disminución en la concentración no significativa. Como resultado se determinó la presencia de los aminoácidos esenciales como: treonina, valina, metionina, fenilalanina, isoleucina, leucina y lisina, los mismos que presentan una ligera disminución a diferentes tratamientos de temperatura. Como conclusión se determinó la concentración los aminoácidos esenciales de *Amaranthus caudatus* (kiwicha) de la variedad Oscar Blanco a través de un método cromatográfico – HPLC, sometidos a un proceso de expansión a 180 °C, 200 °C y 215 °C, siendo estos Treonina, Valina, Metionina, Fenilalanina, Isoleucina, Leucina y Lisina los mismos que sufren una disminución en la concentración de sus aminoácidos.<sup>(10)</sup>

En la investigación realizada de Influencia del pH en la extracción de aislado proteico de quinua (*Chenopodium quínoa Willd*) de las variedades blanca Junín y rosada Junín. Tuvo como objetivo evaluar la influencia del pH alcalino y pH ácido en la extracción del aislado proteico de quinua (*Chenopodium quínoa Willd*) como también realizar el análisis del perfil de aminoácidos de la proteica aislada de las variedades blanca Junín y rosada Junín. Los granos de quinua se sometieron a la molienda y tamizado, el desengrasado se llevó a cabo con equipo Soxhlet con solvente éter de petróleo a 60-90 °C. La muestra se solubilizo con NaOH a 1N y precipito con HCl 1N. La

determinación de proteínas totales se obtuvo por el método Kjeldahl y la cuantificación de aminoácidos por HPLC. Llegando a la conclusión que la proteína extraída de *Chenopodium quínoa Willd* (variedad blanca Junín) y de la proteína extraída de *Chenopodium quínoa Willd* (variedad rosada Junín), se identificó aminoácidos como: fenilalanina, lisina, ácido glutámico, arginina, leucina, histidina, ácido aspártico, serina, alanina, metionina, treonina, valina, isoleucina y prolina. <sup>(11)</sup>

En la investigación realizada sobre Comprobación de métodos para la caracterización de ácidos grasos y aminoácidos de la semilla Chía (*Salvia hispánica-L*). tuvo como objetivo comprobar que métodos son útiles para la caracterización de aminoácidos y ácidos grasos provenientes de semilla Chía (*Salvia hispánica-L*). Utilizando el método de Soxhlet se fundamenta en la separación de una fracción específica de la muestra con el uso de un solvente. El uso del equipo Soxhlet con solvente éter es el mejor método para la extracción de proteína, ya que se obtiene harina completamente desengrasada, la cual fue utilizada para conseguir un aislado proteico más puro. La obtención de concentrados proteicos que parten de la obtención de harina desengrasada de oleaginosas y cereales tiene como objetivo principal la eliminación completa de los componentes solubles no proteicos que se encuentran en la harina desengrasada. La determinación de nitrógeno total se realiza según el método de Kjeldahl (AOAC, 2012). Para la caracterización de aminoácidos se ha desarrollado por el método de cromatografía líquida de alta presión (HPLC). Para el análisis de aminoácidos se hidroliza 10mg de muestra con 4 mL de HCl 6N. Los aminoácidos se determinan mediante hidrólisis ácida, tras derivatización con dietil etoximetilenemalonato, mediante HPLC. Los resultados obtenidos de aminoácidos de la proteína de Chía presentaron un adecuado perfil de aminoácidos esenciales, destacándose el contenido de lisina, metionina y cistina, los cuales fueron mayores que los presentes en las proteínas de otros cereales. Al comparar el aislado proteico de la semilla Chía con el aislado proteico de la semilla de quinua, se afirmó que la composición nutricional de la Chía en cuanto a aminoácidos fue superior a las semillas como la quinua, amaranto y soya. Obteniendo como conclusión sobre el proceso de liofilizado y el uso del solvente éter en el equipo Soxhlet fue el mejor método para la extracción de grasa total de la semilla Chía. Se demostró que la semilla contiene 8 aminoácidos esenciales. <sup>(12)</sup>

## 2.2 BASES TEÓRICAS

### 2.2.1 Origen

El origen americano del frijol común (*Phaseolus vulgaris*) se acepta sin el menor asomo de controversia desde finales del siglo XIX. Investigaciones arqueológicas han permitido ubicar restos en diversos sitios de Estados Unidos, México y Perú. En Perú se han encontrado restos de antigüedad de 2000 años A.P. en Huaca Piedra, de 2500 años A.P. en el valle de Nazca y ejemplos de frijoles completamente domesticados en la cueva de Guitarrero, en el callejón de Huaylas, Ancash a los cuales, según la prueba de Carbono 14, se les atribuye un rango de antigüedad que va de  $7680 \pm 280$  a  $10,000 \pm 300$  años. Los frejoles encontrados en el callejón Huaylas, aproximadamente 30 especímenes, corresponden a frijoles de grano rojo-marrón oscuro y rojo oscuro. En el Perú, el frijol se siembra en las tres regiones naturales del país, costa, sierra y selva. En general, las preferencias de los consumidores peruanos se orientan hacia tres colores de grano: amarillo, crema o bayo y blanco; en cuanto a tamaño, los granos grandes y medianos tiene preferencia sobre los de tamaño pequeño.<sup>(13)</sup>

Referencias más específicas sobre las preferencias en cada región son las siguientes:

**Región costa:** Se consume principalmente tres tipos de frijol: los de grano amarillo intenso (tipo canario), grandes o medianos; los de grano crema o café claro (tipo bayo), también grandes o medianos y los blancos, pequeños (tipo panamito) y grandes (tipo caballero).<sup>(13)</sup>

**Región sierra:** Se consumen frijoles de diferentes tipos, pero preferentemente de color claro y tamaño grande; por ejemplo. En la sierra norte se prefieren los frijoles de grano blanco o bayo, mientras que en la sierra sur la preferencia es por los frijoles de color amarillo dorado.<sup>(13)</sup>

**Región Selva:** se prefieren el grano pequeño, de color amarillo, en dos tonalidades, dorado y rojizo. En la década de los 90, particularmente en la selva sur, ha empezado a surgir una preferencia por el frijol de color rojo pinto (calima). El frijol de grano blanco, pequeño (tipo panamito), aunque en forma limitada, es aceptado prácticamente en todo el país.<sup>(13)</sup>

## 2.2.2 Vigna unguiculata

El caupi (*vigna unguiculata*), es conocido como cowpea o chicharo de vaca en lengua inglesa, frijol de costa, frijol carita y caupi. Es una especie de la familia fabaceae con amplia diversidad de tipos y cultivares y de muy diversa utilización. En muchas regiones del mundo se utiliza el grano seco para la alimentación humana.<sup>(14)</sup>

En zonas tropicales son subdesarrolladas, la búsqueda de alternativas sustentables para disminuir la dependencia alimentaria señala un grupo de leguminosas entre estas se destacan el caupi (*V. unguiculata*), por ser una planta de fácil cultivo, adaptada al ecosistema tropical, de alto valor nutricional. El análisis bromatológico de las semillas demuestra que es buena fuente de proteína vegetal con 19 a 26% de proteína cruda. Esta proteína exhibe adecuado perfil de aminoácidos esenciales como lisina, valina, isoleucina, leucina, fenilalanina, arginina, histidina y treonina.<sup>(14)</sup>

### 2.2.2.1 Sinonimia

**Tabla 1: Nombres comunes de *Vigna unguiculata*** <sup>(13)</sup>

| Terminó         | País              |
|-----------------|-------------------|
| Caupí           | América Latina    |
| Cumandá         | Bolivia, Paraguay |
| Chiclayo        | Perú (selva)      |
| Frijol          | Venezuela         |
| Frijol de costa | América Central   |
| Frijol camba    | Bolivia           |
| Frijol castilla | Perú (costa)      |
| Tumbe           | Ecuador           |
| Cowpea          | Nombre en inglés  |

### 2.2.2.2 Clasificación Taxonómica

DIVISION: Magnoliophyta

CLASE: Magnoliopsida

SUBCLASE: Rosidae

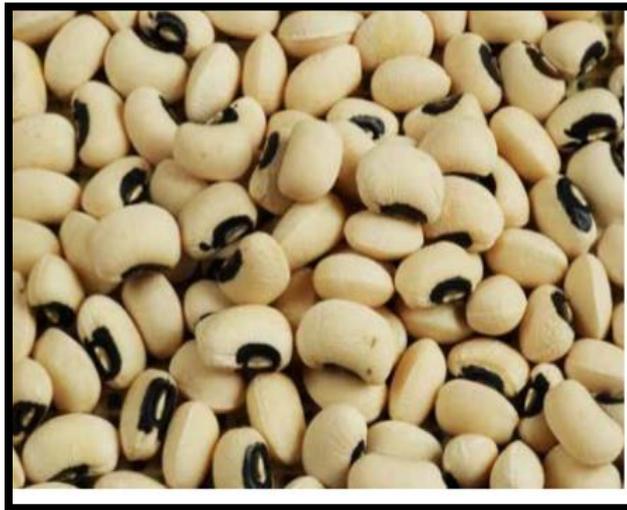
ORDEN: Fabales

FAMILIA: Fabaceae

GENERO: *Vigna*

ESPECIE: *Vigna unguiculata* (L.)  
Walp.

Nombre vulgar: "Frejol castilla" Ver anexo 1



**Figura 1 Semilla *Vigna unguiculata***

*Fuente: Valladolid C. (15)*

### **2.2.2.3 Morfología**

Fréjol caupí es una planta que tiene un sistema radicular muy desarrollado, el cual está compuesto por una raíz principal que puede alcanzar 1,20 m de profundidad y varias raíces secundarias.

- a) Los tallos son finos y débiles, y la altura es variable. El porte de la planta lo determina la forma del tallo, si el tallo posee una inflorescencia terminal, la planta tendrá crecimiento determinado, y si las inflorescencias aparecen en las axilas, la planta tendrá crecimiento indeterminado (guiadoras o trepadoras).

- b) En cuanto a sus hojas, las primeras son unifoliadas y crecen de manera opuestas, mientras que las hojas verdaderas son trifoliadas, la forma de los folíolos puede ser lanceoladas u ovaladas.
- c) Las flores del caupí son hermafroditas, se dan en pequeños racimos, tienen cinco pétalos que poseen nombres específicos, un estandarte, dos alas y dos pétalos soldados.
- d) fruto es una vaina lineal, que alcanza entre 10 a 25 cm, y contiene aproximadamente entre 16 a 21 granos por vaina. Por lo general cada tallo floral posee 2 o 3 flores, las mismas que se convierten en vainas, en un lapso entre 20 a 25 días para que se desarrollen las semillas en las vainas.
- e) La semilla puede ser de diferente color: crema, rojizo, marrón, negro y en algunas variedades se presentan pequeñas manchas de diferente tamaño. Posee una textura de tipo lisa, áspera o rugosa. <sup>(13)</sup>

### 2.2.3 Phaseolus vulgaris

El frijol (*Phaseolus vulgaris*), es entre las leguminosas una de las especies más importantes del Perú y América Latina, destacando como la de mayor consumo, además su importancia se debe a su alto contenido de proteínas entre 20 y 30%, lípidos, carbohidratos y niveles significativos de hierro y fósforo. <sup>(3)</sup>

#### 2.2.3.1 Sinonimia

**Tabla 2: Nombres comunes de *Phaseolus vulgaris* <sup>(13)</sup>**

| Terminó    | País  |
|------------|---|
| Caraota    | Venezuela   |
| Frejol     | Bolivia, Chile, Perú  |
| Fréjol     | Ecuador   |
| Frijol     | México, Guatemala, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Cuba, Perú |
| Fríjol     | Colombia  |
| Frísol     | Colombia (Antioquia)  |
| Habichuela | Puerto Rico, República Dominicana   |
| Habilla    | Paraguay  |

|          |   |
|----------|---|
| Judía    | España  |
| Poroto   | Argentina, Bolivia, Chile, Panamá, Perú,<br>Uruguay |
| Dry vean | Nombre en inglés                                    |

### 2.2.3.2 Clasificación Taxonómica

DIVISION: Magnoliophyta

CLASE: Magnoliopsida

SUBCLASE: Rosidae

ORDEN: Fabales

FAMILIA: Fabaceae

GENERO: *Phaseolus*

ESPECIE: *Phaseolus  
vulgaris* L.

Nombre vulgar: “Frejol guinda” Ver anexo 2



**Figura 2** Semilla *Phaseolus vulgaris*

Fuente: Valladolid C. <sup>(15)</sup>

### 2.2.3.3 Morfología

**a) Raíz:** Está formado por la radícula del embrión la cual se convierte posteriormente en la raíz principal o primaria. A pocos días es posible ver las raíces secundarias que se desarrollan en la parte superior o cuello de la raíz principal y se encuentran de 3 a 7 en posición de corona. Sobre las raíces secundarias se desarrollan las raíces terciarias y otras subdivisiones como los pelos absorbentes. El sistema radical tiende a ser fasciculado, fibroso en algunos casos. Presenta nódulos en forma poliédrica distribuidos en las raíces.<sup>(16)</sup>

**b) Tallo:** Eje central de la planta el cual está formado por una sucesión de nudos y entrenudos. Es herbáceo y con sección cilíndrica o levemente angular. El tallo puede ser erecto, semipostrado o postrado según el hábito de crecimiento; pero en general el tallo tiende a ser vertical. En cuanto a la pilosidad puede ser subglabro y pubescente. Se puede encontrar pelos cortos o pelos largos, o de ambos tamaños; pero siempre se encuentran pelos pequeños en forma de gancho, llamados pelos uncinulados fácilmente observables en las partes jóvenes. La altura puede variar entre 30 y 50 cm. Sin embargo, hay casos de plantas enanas (15 a 25 cm).<sup>(16)</sup>

**c) Hoja:** Son de tipos: simple y compuestas están insertadas en los nudos del tallo y las ramas. Las hojas primarias son simples; aparecen en el segundo nudo del tallo y se forman en la semilla durante la embriogénesis. Son opuestas, cordiformes, unifoliadas, auriculadas, simples y acuminadas. Las estipulas son bífidas al nivel de las hojas primarias. Las hojas compuestas, trifoliadas, son las hojas típicas del frijol. Tienen tres folios, un peciolo y un raquis. El folio central o terminal es simétrico y acuminado; los dos laterales son asimétricos y también acuminados. Los folios son enteros; la forma tiende a ser ovalada a triangular, principalmente cordiformes, pero sin aurículas; son glabros o subglabros. Los folios tienen peciolos que pueden ser considerados como pulvinulos y poseen estipelas.<sup>(16)</sup>

**d) Inflorescencia:** Puede ser axilares o terminales. Desde el punto de vista botánico se consideran racimos de racimos. El racimo se distingue en su estado inicial porque el conjunto tiende a ser cilíndrica o esférica

y está cubierto principalmente por dos estructuras foliáceas de forma triangular, es decir las brácteas primarias. En la inflorescencia se puede distinguir tres componentes principales: el eje de la inflorescencia que se descompone de pedúnculo y de raquis, las brácteas primarias y los botones florales. <sup>(16)</sup>

**e) Flor:** Es una típica flor papilionácea. En el proceso de desarrollo se pueden distinguir dos estados; el botón floral y la flor completamente abierta. La flor tiene simetría bilateral con las siguientes características: un pedicelo glabro y subglabro con pelos uncinulados, el cáliz es gamosépalo y la corola es pentámera y papilionácea. La morfología floral favorece el mecanismo de autopolinización. <sup>(16)</sup>

**f) Fruto:** El fruto es una vaina con dos valvas, la cuales proviene del ovario comprimido. Las vainas son generalmente glabras o subglabras con pelos muy pequeños; a veces la epidermis es cerosa. Pueden ser de diversos colores, uniformes o con rayas, existiendo diferencias entre las vainas jóvenes o estado inmaduro, las vainas maduras y las vainas completamente secas. El color depende de la variedad. <sup>(16)</sup>

**g) Semilla:** es exalbuminosa es decir que no posee albumen, por lo tanto, las reservas nutritivas se concentran en los cotiledones. Se origina de un óvulo campilótropo. Pueden tener varias formas: cilíndrica, de riñón, esférica u otras.

Las partes externas más importantes de las semillas son: la testa o cubierta, el hilum, o cicatriz, el micrópilo y el rafe. La semilla tiene una amplia variación de color (blanco, rojo, crema, negro, café, etc.), de forma y de brillo. <sup>(16)</sup>

#### **2.2.4 Importancia del frejol a nivel nacional y mundial**

- Se cultiva en la costa, sierra y selva.
- Son de mucha importancia por su alto contenido de proteínas, carbohidratos y minerales.
- Mejora los suelos incorporando el nitrógeno atmosférico fijado por simbiosis con bacterias del género *Rhizobium*.

- Sus granos contienen proteínas (22%-28%), vitaminas, minerales y fibras solubles (pectinas); los cuales poseen efectos en la prevención de enfermedades del corazón, obesidad y tubo digestivo.
- Prevención de Anemia.
- El Perú exporta principalmente frijol castilla o capí, frijol de palo y pallar a más de 35 países. <sup>(17)</sup>

### **2.2.5 Valor nutritivo de las leguminosas**

Las leguminosas de grano son utilizadas como fuente más barata de proteínas y por este motivo son llamadas “CARNE DEL POBRE”, contienen de 8 a 30% de proteína, constituyendo la base energética en la alimentación, siendo capaces de producir proteína por unidad de área que la de los animales. <sup>(17)</sup>

### **2.2.6 Proteínas**

Las proteínas desempeñan una amplia gama de funciones, como la catálisis de reacciones metabólicas y el transporte de vitaminas, minerales, oxígeno y combustibles. Algunas proteínas constituyen la estructura de los tejidos, mientras que otras actúan en el transporte nerviosa, la contracción muscular y la motilidad celular, otras lo hacen en la coagulación de la sangre y las defensas inmunitarias y otras como hormonas y moléculas reguladoras. Las proteínas son sintetizadas como una secuencia de aminoácidos unidos formando una estructura poliamida (polipéptido) lineal. Pero adoptan estructuras tridimensionales complejas al realizar sus funciones. Hay alrededor de 300 aminoácidos en los sistemas animales, vegetales y microbianos, pero solo 20 aminoácidos están codificados por el ADN para aparecer en las proteínas. <sup>(18)</sup>

Las proteínas participan prácticamente en todos los aspectos del metabolismo, ya que la mayoría de las enzimas, moléculas que aceleran los miles de reacciones químicas que tienen lugar en un organismo, son proteínas. Las proteínas son los componentes estructurales principales de células y tejidos. Por lo cual, el crecimiento, la reparación y el mantenimiento del organismo, dependen de estas. Existen otras funciones de las proteínas, algunas de ellas son el de transportar sustancias; por ejemplo, la proteína hemoglobina que se encuentra en los glóbulos rojos de la sangre, se encarga de transportar el oxígeno desde los pulmones hacia todos los tejidos del cuerpo. El ser humano es capaz de sintetizar

alrededor de 100 mil proteínas diferentes, y la información necesaria para construir cada una de ellas se encuentra en el material genético de nuestras células, el ADN. <sup>(19)</sup>

Las proteínas tienen las funciones más diversas. Como enzimas y hormonas, las proteínas catalizan y regulan las reacciones que ocurren en el organismo; como músculos y tendones proporcionan al cuerpo los medios para moverse; como piel y pelo proporcionan una cubierta externa; como hemoglobinas, transfieren el oxígeno, de importancia primordial, a los rincones más remotos del cuerpo; como anticuerpos, proporcionan un medio de protección contra la enfermedad; y en combinación con otras sustancias de los huesos, dan al cuerpo una estructura de apoyo. Dada la gran diversidad de sus funciones no es sorprendente que las proteínas se encuentren en todas las formas y tamaños. <sup>(20)</sup>

Las proteínas están entre los compuestos más importantes del organismo animal. Propiamente, la palabra proteína deriva del griego proteicos, que significa “primero”. Las proteínas son poliamidas, las cuales por hidrólisis dan aminoácidos. <sup>(21)</sup>

#### **2.2.6.1 Composición de las proteínas**

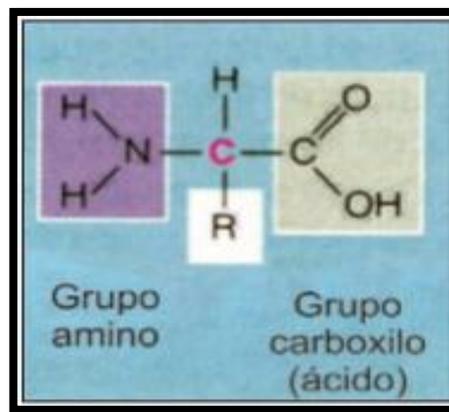
Las proteínas son moléculas muy grandes o macromoléculas, compuestas de aminoácidos unidos entre sí, mediante enlaces peptídicos. Las proteínas se forman a partir de la combinación de 20 aminoácidos distintos, que están en ellas con un orden y proporción definidos genéticamente para cada proteína; es decir, la estructura proteica la establece la información genética. Esta información proviene del ADN, pasa al ARN mensajero y se utiliza para elaborar una proteína específica. Como recordarás la síntesis o elaboración de las proteínas se lleva a cabo en los ribosomas. El número de proteínas diferentes que se pueden construir a partir de la combinación de 20 aminoácidos es prácticamente infinito. Por ejemplo, una cadena de 200 aminoácidos puede tener 20200 secuencias diferentes. <sup>(16)</sup>

#### **2.2.7 Aminoácidos**

Los aminoácidos son bloques de construcción de las proteínas, cada aminoácido tiene un carbono central, denominado carbono alfa, al cual se unen cuatro grupos diferentes: <sup>(18)</sup>

- ✓ Un grupo amino básico (-NH<sub>2</sub>)
- ✓ Un grupo carboxilo ácido (-COOH)
- ✓ Un grupo de hidrogeno (-H)
- ✓ Una cadena lateral característica (-R) Ver anexo.

Las propiedades de cada aminoácido dependen de su cadena lateral (-R); las cadenas laterales son los grupos funcionales que determinan la estructura y la función de las proteínas, así como la carga eléctrica de la molécula. Los aminoácidos con cadenas laterales cargadas, polares o hidrofílicas se encuentran en la superficie de las proteínas. <sup>(18)</sup>



**Figura 3: Estructura de los aminoácidos** <sup>(19)</sup>

Algunos aminoácidos se forman a partir del carbono y el nitrógeno precursores que hay en el cuerpo. En cambio, los que deben ser administrados en la dieta son conocidos como *aminoácidos esenciales*, o también, aminoácidos indispensables. A los que puede elaborar el cuerpo y no es necesario incluir en la dieta se les llama *no esenciales*. Sin embargo, no resulta fácil definir una línea de distinción entre aminoácidos esenciales y no esenciales. Hay varios que son condicionalmente esenciales, lo cual significa que el cuerpo puede elaborarlos, aunque es necesario administrar complementos exógenos de ellos, ya sea en algunas circunstancias o siempre. <sup>(22)</sup>

Todos los organismos vivos, plantas y animales, pueden sintetizar aminoácidos. Sin embargo, muchos animales superiores presentan deficiencias en cuanto a su capacidad para sintetizar todos los aminoácidos que necesitan para sus proteínas. En conclusión, estos animales superiores necesitan ingerir determinados aminoácidos en su alimentación. Para los humanos adultos existen 8 aminoácidos

esenciales los cuales son: valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, triptófano, treonina, metionina y lisina. <sup>(20)</sup>

La mayor parte de los aminoácidos se pueden sintetizar en los organismos vivos a partir de su conjunto de compuestos orgánicos. Una forma de llevar a cabo esta síntesis es la conversión de un aminoácido que está presente en exceso a otro aminoácido deseado por una **reacción de transaminación**. No todos los aminoácidos se pueden obtener por interconversión de otros aminoácidos o por síntesis a partir de otros compuestos en el sistema animal. Los aminoácidos necesarios para la síntesis de proteínas, que el organismo animal no puede sintetizar, deben ser proporcionados por la dieta alimentaria. Estos compuestos se llaman **aminoácidos esenciales**. De estos, el triptófano, la fenilalanina, metionina e histidina se pueden convertir enzimáticamente de la forma (R) a la (S). Los otros aminoácidos esenciales deben ser proporcionados por la dieta alimentaria en su configuración (S), para utilizarlos en la biosíntesis de proteínas. <sup>(21)</sup>

**Tabla 3: Clasificación de aminoácidos esenciales y no esenciales.**

| <b>Autor</b>                  | <b>Numero de aminoácidos</b> | <b>Aminoácidos Esenciales</b>   | <b>Aminoácidos no Esenciales</b>  |
|-------------------------------|------------------------------|---|---|
| <b>Ralph J. Fesseden</b>      | 20 aa                        | Arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina | Alanina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, prolina, serina, tirosina  |
| <b>T.W.Graham Solomons</b>    | 22 aa                        | Valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, triptófano, treonina, metionina, lisina                      | Glicina, alanina, asparagina, glutamina, prolina, serina, tirosina, hidroxiprolina, cisteína, cistina, ácido aspártico, ácido glutámico, histidina y arginina |
| <b>Charles W. Van Way III</b> | 21 aa                        | Leucina, isoleucina, valina, lisina, fenilalanina, metionina,   | Taurina, tirosina, cisteína, glicina, serina, prolina, glutamina,   |

|                  |       |   |   |
|------------------|-------|---|---|
|                  |       | treonina, triptófano, histidina y arginina  | alanina, glutamato, asparagina y aspartato  |
| <b>Robert K.</b> | 22 aa | Arginina, fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptófano y valina. | Alanina, asparagina, aspartato, cisteína, glicina, glutamato, glutamina, hidroxilisina, hidroxiprolina, prolina, serina y tirosina. |

Según el autor T. Graham clasifica a los aminoácidos esenciales en 8 y los siguientes autores: Charles W, Robert K, Ralph J. lo clasifican en 10 aminoácidos esenciales lo cual incluyen a la histidina y arginina que son necesario para el crecimiento normal de los lactantes.

#### 2.2.7.1 Clasificación de aminoácidos esenciales

Los aminoácidos isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, triptófano, treonina, valina e histidina se obtienen únicamente a través de la dieta y es por eso se denominan aminoácidos esenciales, o indispensables. Teniendo en cuenta que la metionina es el precursor directo de la cisteína y la fenilalanina de la tirosina, muchos autores consideran que estos últimos aminoácidos también pueden incluirse dentro del grupo de esenciales, ya que la falta de alguno de ellos implica la imposibilidad de síntesis del resto.<sup>(9)</sup>

##### a) Lisina

La lisina es un aminoácido esencial que el organismo no puede sintetizarlo, y por lo tanto debe ser aportado a la dieta, este aminoácido es de gran importancia para el crecimiento adecuado, y desempeña un papel esencial en la producción de carnitina, un nutriente responsable para la conversión de ácidos grasos en energía y ayudar a reducir el colesterol. La lisina es útil para absorber el calcio, y desempeña un papel importante en la formación de colágeno, sustancia importante para los huesos y tejidos conectivos, incluyendo la piel, tendones y cartílago.<sup>(10)</sup>

### **b) Metionina**

La metionina es un aminoácido esencial que puede originar cisteína en su metabolización. A su vez, la cisteína es el precursor de la taurina. <sup>(24)</sup> Pertenece también a un grupo de compuestos llamados lipotrópicos, o sustancias químicas que ayudan al hígado a procesar las grasas; además aporta azufre y otros compuestos que necesita el organismo para un metabolismo y crecimiento normal. <sup>(9)</sup>

### **c) Valina**

Es un aminoácido no cargado a pH neutro, apolar y ramificado. Forma parte integral del tejido muscular, pudiendo ser usado para poder conseguir energía por los músculos ya que posibilita un balance de nitrógeno positivo e interviene en el metabolismo muscular y en la reparación de los tejidos. La enfermedad de la orina de jarabe de arce es un déficit de este complejo, que conduce a la acumulación de estos derivados cetoácidos en la orina, suero y líquido cefalorraquídeo. Por otra parte, niveles muy bajos de estos aminoácidos también se relacionan con patologías neurológicas, como epilepsia, y con pérdida de peso ocurrida en la enfermedad de Huntington o en caquexia inducida por cáncer. <sup>(9)</sup>

### **d) Triptófano**

Aunque el triptófano es uno de los aminoácidos que puede potenciar la liberación de HGH, sus posibles efectos ergogénicos. Dos neurotransmisores del cerebro, la serotonina y la 5-hidroxitriptamina, son derivados del triptófano. Estos neurotransmisores inducen el sueño y mejoran el estado de ánimo. <sup>(25)</sup>

### **e) Leucina**

Se utiliza para la formación de esteroides que cumplen funciones reguladoras, estructurales y hormonales. Tiene la capacidad de imitar a la insulina y ayudar al azúcar a entrar en las células. También puede sustituir a la glucosa durante períodos de ayuno, una propiedad que no es compartida por sus demás compañeros de aminoácidos. Se altera durante

el envejecimiento, lo que provoca un desequilibrio en la descomposición y producción de las proteínas musculares; razón por la cual se origina una pérdida de masa muscular en los ancianos. <sup>(9)</sup>

**f) Treonina**

Ayuda en los procesos de desintoxicación junto a los aminoácidos Met y Ác. Asp. Participa en la síntesis del colágeno y de la elastina. <sup>(7)</sup> Su metabolización puede producir glicina y acetil-CoA o, alternativamente, succinil-CoA. Por ello puede considerarse tanto gluconeogénico como cetogénico. <sup>(24)</sup>

**g) Isoleucina**

Es un aminoácido esencial ramificado, junto con la leucina y la valina. Es esencial e imprescindible para la síntesis de hemoglobina y para la regulación de los niveles sanguíneos de glucosa (energía). Tras su metabolismo, la L-isoleucina puede ser convertida tanto en hidratos de carbono como en lípidos. <sup>(9)</sup>

**h) Fenilalanina**

La fenilalanina es un aminoácido esencial. Su principal vía metabólica es la transformación en tirosina. La tirosina es precursora, a su vez, de hormonas tiroideas, catecolaminas y melanina. <sup>(24)</sup> Aminoácido esencial con acción antidepresiva y analgésica. Además de su eficacia frente a la depresión, la fenilalanina mejora la memoria y posee efecto antimigrañoso. <sup>(9)</sup>

**i) Histidina**

Es un aminoácido muy abundante en determinadas proteínas, como la hemoglobina o las proteínas musculares. La degradación de la histidina se produce fundamentalmente en el hígado y en las células de la piel. El proceso comienza con la desaminación del aminoácido gracias a la actividad enzimática de la histidina, con formación del ácido urocánico; el cual se comporta como protector cutáneo por su capacidad para absorber las radiaciones ultravioletas. La descarboxilación de la histidina en los

mastocitos produce unas de las aminas biogenas mejor conocidas, la histamina, implicada básicamente en procesos anafilácticos. <sup>(24)</sup>

### j) Arginina

Los requerimientos de este aminoácido pueden alterarse en ciertas enfermedades. Es evidente que por su posición en el ciclo de la urea que la arginina puede sintetizarse fácilmente en el organismo. La síntesis de arginina se realiza fundamentalmente en el hígado, formando parte del ciclo de la urea. La mayoría de arginina que se forma es degradada a ornitina por la arginasa. La ingesta media de arginina en adultos es de 4,4g/día, aunque puede llegar hasta 10,1g/día, considerándose una ingesta subóptima <2,6g/día. Funciones fisiológicas y bioquímicas de la arginina son: regulación de la secreción hormonal (insulina, glucagón, hormona del crecimiento, progesterona, lactógeno placentario y prolactina); síntesis de creatinina, síntesis de óxido nítrico, regulación de la reproducción e inmunidad. <sup>(24)</sup>

| Aminoácidos esencial       | Lec<br>he<br>Mat<br>erna<br>(g/100 g proteína) | Patrón de aminoácidos sugeridos por<br>FAO/OMS<br>(g/100 g de proteína) * |     |      |       |       |              | Ingesta diaria de aminoácidos recomendados<br>por FAO/OMS<br>(mg/kg/día) |      |      |       |       |              |
|----------------------------|--|---|-----|------|-------|-------|--------------|--|------|------|-------|-------|--------------|
|                            |  | Edad (años)   |     |      |       |       |              | Edad (años)  |      |      |       |       |              |
|                            |  | 0,5   | 1-2 | 3-10 | 11-14 | 15-18 | Adulto (>18) | 0,5  | 1-2  | 3-10 | 11-14 | 15-18 | Adulto (>18) |
| Histidina                  | 2,1  | 2,0   | 1,8 | 1,6  | 1,6   | 1,6   | 1,5          | 22,0   | 15,0 | 12,0 | 12,0  | 11,0  | 10,0         |
| Isoleucina                 | 5,5  | 3,2   | 3,1 | 3,1  | 3,0   | 3,0   | 3,0          | 36,0   | 27,0 | 23,0 | 22,0  | 21,0  | 20,0         |
| Leucina                    | 9,6  | 6,6   | 6,3 | 6,1  | 6,0   | 6,0   | 5,9          | 73,0   | 54,0 | 44,0 | 44,0  | 42,0  | 39,0         |
| Lisina                     | 6,9  | 5,7   | 5,2 | 4,8  | 4,8   | 4,7   | 4,5          | 64,0   | 45,0 | 35,0 | 35,0  | 33,0  | 30,0         |
| Metionina +<br>Cisteína    | 3,3  | 2,8   | 2,6 | 2,4  | 2,3   | 2,3   | 2,2          | 31,0   | 22,0 | 18,0 | 17,0  | 16,0  | 15,0         |
| Fenilalanina<br>+ Tirosina | 9,4  | 5,2   | 4,6 | 4,1  | 4,1   | 4,0   | 3,8          | 59,0   | 40,0 | 30,0 | 30,0  | 28,0  | 25,0         |
| Treonina                   | 4,4  | 3,1   | 2,7 | 2,5  | 2,5   | 2,4   | 2,3          | 34,0   | 23,0 | 18,0 | 18,0  | 17,0  | 15,0         |

|            |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      |      |      |      |
|------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|------|
| Triptófano | 1,7 | 0,9 | 0,7 | 0,7 | 0,7 | 0,6 | 0,6 | 9,5  | 6,4  | 4,8  | 4,8  | 4,5  | 4,0  |
| Valina     | 5,5 | 4,3 | 4,2 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 3,9 | 49,0 | 36,0 | 29,0 | 29,0 | 28,0 | 26,0 |

Tabla 4: **Patrón e ingesta diaria de aminoácidos sugeridos por la FAO/OMS/ONU (2007)**

\*Patrón para una proteína ideal. Fuente: FAO/WHO/UNU (2007). Adaptado de Aylas H. Desarrollo de una mezcla alimenticia en polvo de balanceado valor proteico y libre de gluten, a base de cereales y leguminosas. <sup>(26)</sup>

WHO/FAO/UNU (2007), muestra que los contenidos de lisina, leucina, fenilalanina, valina e histidina en las leguminosas los rangos recomendados de los requerimientos de aminoácidos. sugiere que estas leguminosas tienen una alta calidad proteica. La Organización Mundial de la Salud considera que los requerimientos de valina para niños en edad escolar con edades comprendidas entre 10 -12 años son de 29 mg de/valina/kg peso corporal/día (WHO/FAO/UNU, 2007). <sup>(27)</sup>

### 2.2.8 Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC)

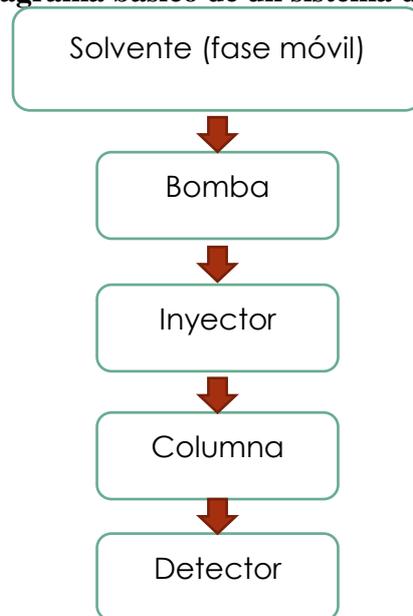
La cromatografía es la ciencia y el arte de separar entre si los componentes de una sustancia. La separación se consigue a través de una variedad de técnicas cuyas bases moleculares tienen diferencias muy diversas. Las separaciones cromatográficas pueden llevarse a cabo en fase líquida o en fase gaseosa. Tanto en la cromatografía líquida como en la cromatografía gaseosa la muestra se introduce en una fase fluida en movimiento – un líquido o un gas, respectivamente denominada **fase móvil (líquido)**. Análisis de aminoácidos se hacen en columna. Los diferentes tipos de cromatografía líquida se clasifican atendiendo a la interacción que se produce en la fase estacionaria y el soluto. Según su clasificación se denominan cromatografías de fase normal, de fase reversa, de intercambio iónico y de filtración en gel. Cromatografía líquida en fase reversa: La fase estacionaria es menos polar que la fase móvil. Se utilizan 2 tipos de fases estacionarias estando por los grupos no polares. <sup>(28)</sup>

#### 2.2.8.1 Instrumentación en HPLC

La cromatografía líquida en columna, se desarrolla en instrumentos llamados cromatógrafos, el cual proporciona información sobre la composición al tener un detector continuo integrado en el sistema

hidrodinámico cromatográfico. Se muestra un diagrama esquemático de los componentes de un cromatógrafo: El cromatógrafo consiste de un contenedor del disolvente (Fase móvil), (b) una bomba que mueve el eluyente y la muestra a través del sistema, (c) un inyector de la muestra, (d) una columna que provee el soluto de separación, (e) un detector que nos permite visualizar la separación de los componentes.<sup>(12)</sup>

### Diagrama básico de un sistema de HPLC



**Figura 4: HPLC**

*Fuente: Foto tomada en el laboratorio*

### 2.2.8.2 Tiempo de Retención (tR):

Esta separación puede ser modificada eligiendo adecuadamente tanto la fase móvil como la estacionaria, el flujo de la fase móvil o la temperatura de la separación. De esta forma la técnica de HPLC adquiere un alto grado de versatilidad difícil de encontrar en otras técnicas, siendo capaz de separar los componentes de una gran variedad de mezclas. El grado de retención de los componentes de la muestra depende de la naturaleza del compuesto, de la composición de la fase estacionaria y de la fase móvil. El tiempo que tarda un compuesto a ser eluído de la columna se denomina “tiempo de retención” y se considera una propiedad identificativa característica de un compuesto en una determinada fase móvil y estacionaria. La utilización de presión en este tipo de cromatografías incrementa la velocidad lineal de los compuestos dentro la columna y reduce así su difusión dentro de la columna mejorando la resolución de la cromatografía. <sup>(12)</sup> Ver anexo 5

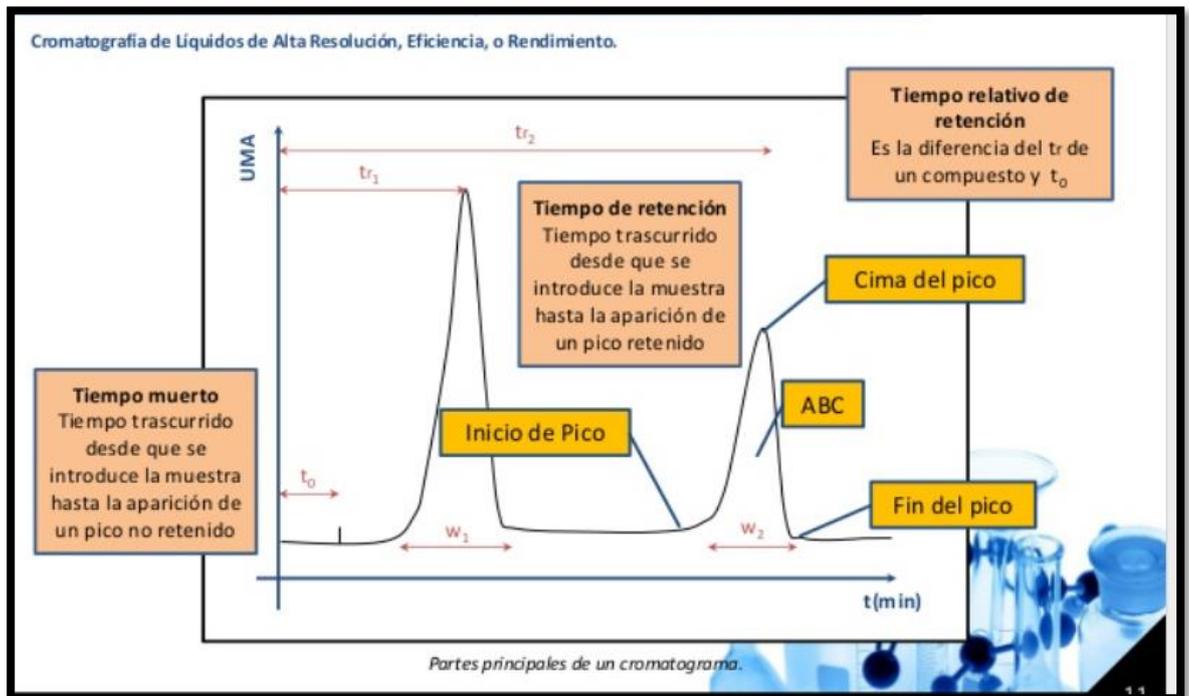


Figura 5: Tiempo de Retención

Fuente: Castillo, Castor <sup>(29)</sup>

### **III. PARTE EXPERIMENTAL**

#### **3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN: Analítico, descriptivo y prospectivo.**

#### **3.2 METODOLOGIA**

##### **3.2.1 Lugar y Muestra**

###### **3.2.1.1 Lugar**

El trabajo se llevó a cabo en dos etapas, la primera etapa de extracción de concentrado de proteína de *Vigna unguiculata* y *Phaseolus vulgaris*, se realizó en los laboratorios de Farmacia y Bioquímica de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Privada Norbert Wiener - Lima.

La segunda etapa de determinación del perfil de aminoácidos del concentrado proteico de *Vigna unguiculata* y *Phaseolus vulgaris* por HPLC, se realizó en el Laboratorio de Control de Calidad (CCA) – Área de instrumental de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos – Lima.

###### **3.2.1.2 Muestra**

El frejol castilla (*Vigna unguiculata*) y El frejol guinda (*Phaseolus vulgaris*) adquiridas en el mercado de Huamantanga distrito de Puente Piedra.

##### **3.2.2 Materiales, reactivos y equipos**

###### **3.2.2.1 Materiales:**

- ✓ Espátula
- ✓ Papel Wattman N°3
- ✓ Gasa
- ✓ Algodón
- ✓ Cocinilla
- ✓ Beacker
- ✓ Pipetas de vidrio (1, 2, 5, 10 mL)
- ✓ Embudo

- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Fiolas (100 mL)
- ✓ Varilla
- ✓ Tiras reactivas
- ✓ Mechero
- ✓ Pinzas
- ✓ Frasco ámbar
- ✓ Soporte universal
- ✓ Matraz Erlenmeyer (100, 250 mL)
- ✓ Vasos precipitados de vidrio (50, 100, 250 mL).
- ✓ Papel indicador
- ✓ Refrigerante de vidrio
- ✓ Gradilla de tubos de ensayo

#### **3.2.2.2 Reactivos:**

- ✓ Éter de petróleo
- ✓ Ácido clorhídrico 6 N
- ✓ Agua destilada
- ✓ Ninhidrina
- ✓ Bicarbonato de sodio
- ✓ Agua ultra purificada
- ✓ Metanol
- ✓ Hidróxido de sodio
- ✓ Orto-ftaldehído (OPA)
- ✓ 2-mercaptoetanol (2 ME).
- ✓ Acetato de sodio

#### **3.2.2.3 Equipos:**

- ✓ Balanza analítica
- ✓ Equipo Soxhlet
- ✓ Estufa
- ✓ Refrigerador
- ✓ Equipo: Cromatógrafo líquido de alta resolución Agilent 1200 Series
- ✓ Columna: Zorbax Eclipse AAA 4.6x150mm, 5u (N°2)
- ✓ Equipo de ultrasonido

✓ Balanza analítica

### 3.2.3 Procedimiento

#### 3.2.3.1 Obtención del extracto de *Vigna unguiculata* (frejol castilla) y *Phaseolus vulgaris* (frejol guinda).

##### a) Recolección de la muestra

El frejol castilla (*Vigna unguiculata*) y frejol guinda (*Phaseolus vulgaris*) se recolectó en el mercado de Huamantanga, distrito de Puente Piedra.

##### b) Preparación de la muestra:

Se tomó 1g de *Vigna unguiculata* (frejol castilla) y 1g de *Phaseolus vulgaris* (frejol guinda), las muestras se secaron y se procedieron a pulverizar la muestra, luego fue llevado a la estufa y secado a una temperatura de 40 °C alrededor de 24 horas. Ver anexo 6



**Figura 6:** Secado en estufa de *Vigna unguiculata* (frejol castilla) y *Phaseolus vulgaris* (frejol guinda)

*Fuente: Foto tomada en el laboratorio.*

##### c) Desengrasado

Se procedió al desengrasado con 500 mL de éter de petróleo durante 8 horas. Después de haber cumplido el tiempo de desengrasado, se colocó a la estufa a 40° C, luego se procedió a extraer el almidón, dejando reposar

hasta que el almidón sedimente. Obtenida la muestra libre de almidón se llevó a la estufa para eliminar el exceso de alcohol.



**Figura 7:** Proceso de desengrasado

*Fuente: Foto tomada en el laboratorio*

#### **d) Hidrolisis:**

Se realizó la hidrolisis con 64,5 mL de HCl 6N tomando la muestra desengrasada de frijol castilla y de frejol guinda durante 24 horas. Ver Anexo 7



**Figura 8:** Hidrolisis por reflujo por 24 horas en semillas de *Vigna unguiculata* (frijol castilla) y *Phaseolus vulgaris* (frijol guinda)

*Fuente: Foto tomada en el laboratorio*

#### e) Neutralización:

Se neutralizo con 2g de Bicarbonato de Sodio. Se procedió a filtrar la muestra neutralizada, en base a esto se realizará la identificación de los aminoácidos por HPLC. Ver Anexo 8



**Figura 9:** Proceso de neutralización

*Fuente: Foto tomada en el laboratorio*

### 3.2.3.2 Identificación de aminoácidos por HPLC <sup>(31,32,33,34)</sup>

#### 3.2.3.2.1 Preparación de fase móvil:

**A:** Se pesó 2,75g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  en 500mL de agua ultrapura, se disolvió con el equipo de ultrasonido. Ajustando el pH a 7,8 utilizando NaOH 10N.

**B:** Seguidamente se filtró 50mL de agua ultrapura y se agregó 275mL de MeOH grado HPLC y 275mL de acetonitrilo grado HPLC. Degasificar utilizando el equipo de ultrasonido.

**Tabla 5: fase móvil**

| Tiempo (min) | %A  | %B  | Flujo (mL/min) |
|--------------|-----|-----|----------------|
| 0            | 100 | 0   | 1,2            |
| 1,9          | 100 | 0   | 1,2            |
| 18,1         | 43  | 57  | 1,2            |
| 18,6         | 0   | 100 | 1,2            |
| 22,3         | 0   | 100 | 1,2            |
| 23,2         | 100 | 0   | 1,2            |
| 26           | 100 | 0   | 1,2            |

- ✓ Diluyente de muestra: Agua ultrapura
- ✓ Detector: UV 338nm
- ✓ Flujo: 1,2mL/min
- ✓ Volumen de inyección: 20uL
- ✓ Temperatura: 40°C
- ✓ Tiempo de análisis: 26 min
- ✓ RSD de inyección: <2%

#### **3.2.3.2.2 Preparación de estándares:**

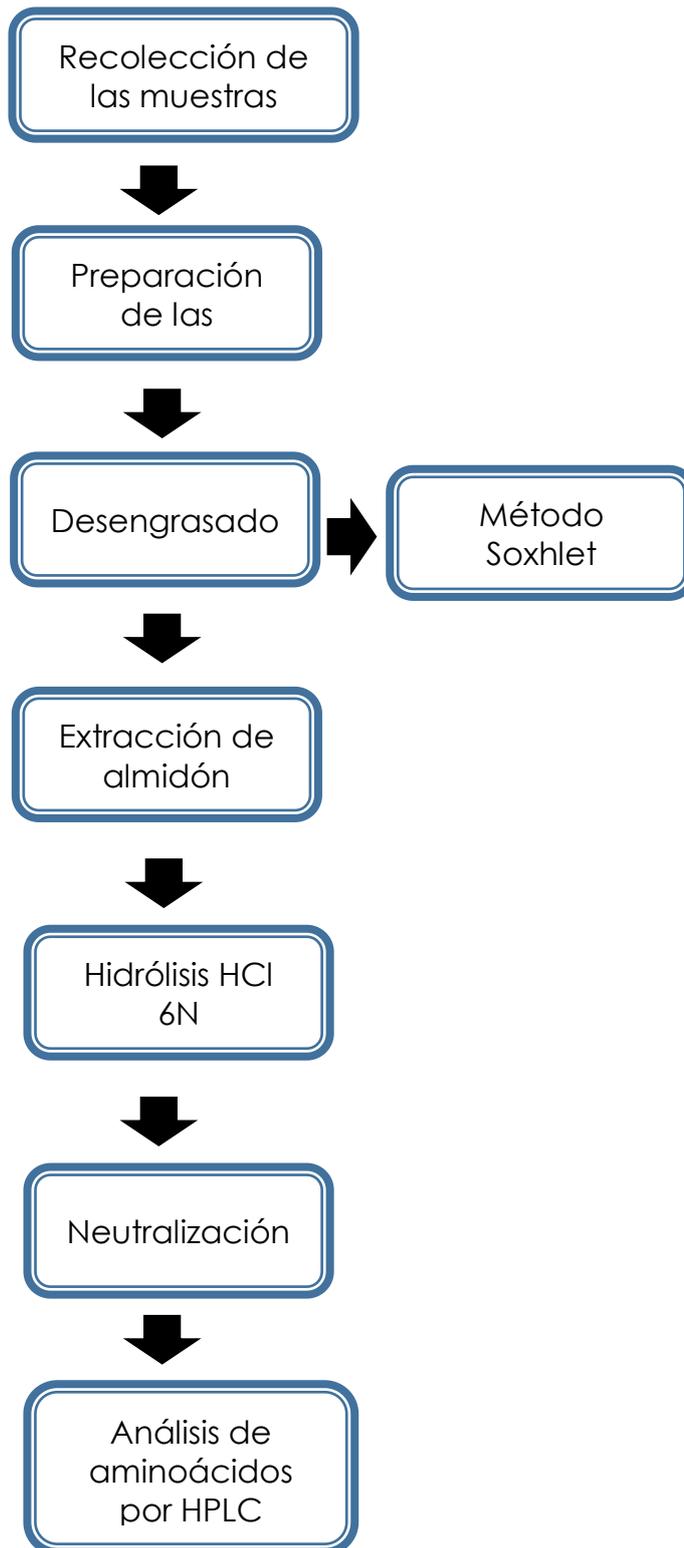
El diluyente utilizado para la elaboración de los estándares es agua ultrapura (pH neutro). Para la completa disolución de los mismos se llevó a equipo ultrasonido. La concentración de los estándares dependerá de la curva de calibración a realizar, la cual a su vez dependerá de los valores o especificaciones de la muestra.

#### **3.2.3.2.3 Tratamiento de la muestra:**

Los aminoácidos se encuentran formando parte de proteínas, por lo que es necesario hidrolizarlas completamente antes de analizarlas. Se pesó aproximadamente 1g de muestra problema finamente pulverizado y se agregó 6mL de solución que contiene HCl 6N y Fenol 1%. La muestra se llevó al equipo autoclave a 120°C por 1 hora. Luego de la hidrólisis, se evaporo el solvente. El residuo es

re-suspendido usando solución de HCl 0,1N y llevado a una fiola de 50 mL. Finalmente se filtró y se procedió a realizar la identificación de los aminoácidos.

**Diagrama: Flujo de operaciones para el análisis por HPLC de *Vigna unguiculata* y *Phaseolus vulgaris***



### **3.2.4 Técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de datos:**

Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC)

### **3.2.5 Procesamientos de datos:**

Análisis de Cromatograma de HPLC

### **3.2.6 Análisis de datos:**

Cromatograma de HPLC

#### IV. RESULTADOS

Se recolecto las muestras de *Vigna unguiculata* y *Phaseolus vulgaris*. Se procedió a preparar y desengrasar la muestra, se hidrolizo con HCl 6N, seguidamente se neutralizaron. Luego se realizó la identificación de aminoácidos esenciales en *Vigna unguiculata* y *Phaseolus vulgaris* por Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC).

Se identificó los aminoácidos esenciales en *Vigna unguiculata*: valina (1,02 mg/100mg), glicina (8,75mg/100mg), leucina (1,01mg/100mg), lisina (0,64 mg/100mg) y metionina (1,05mg/100mg); mientras que en *Phaseolus vulgaris*: valina (1,79 mg/100mg), glicina (5,49mg/100mg), triptófano (1,33mg/100mg), leucina (1,08mg/100 mg) y lisina (1,31mg/100mg) .

Tabla 6: Diferencia entre la especie *Vigna unguiculata* y *Phaseolus vulgaris*.

| Aminoácidos | <i>Vigna unguiculata</i><br>(mg%) | <i>Phaseolus vulgaris</i><br>(mg%) | Resultados<br>mg/100mg |
|-------------|-----------------------------------|------------------------------------|------------------------|
| Glutamina   | ---                               | 1,39                               | 1,39                   |
| Valina      | 1,02                              | 1,79                               | 0,77                   |
| Glicina     | 8,75                              | 5,49                               | 3,26                   |
| Triptófano  | ---                               | 1,33                               | 1,33                   |
| Leucina     | 1,01                              | 1,08                               | 0,07                   |
| Lisina      | 0,64                              | 1,31                               | 0,67                   |
| Metionina   | 1,05                              | ---                                | 1,05                   |

- ✓ Como resultado, en ambas especies se evidencia la presencia de valina, leucina y lisina aminoácido característico en las leguminosas.

## Lectura de recorrido del Standar

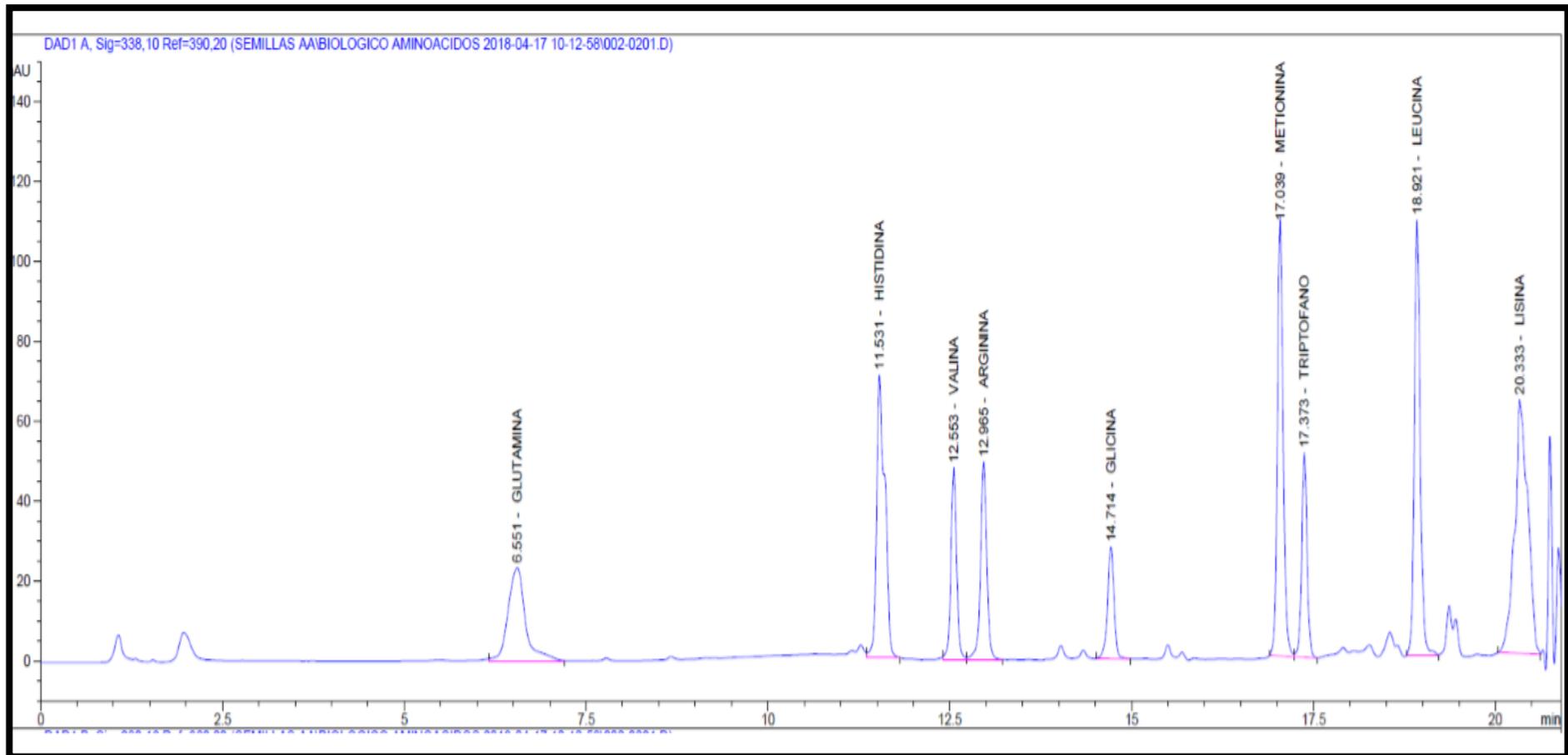


Figura 10: Lectura de recorrido del standar.

# *Vigna unguiculata*

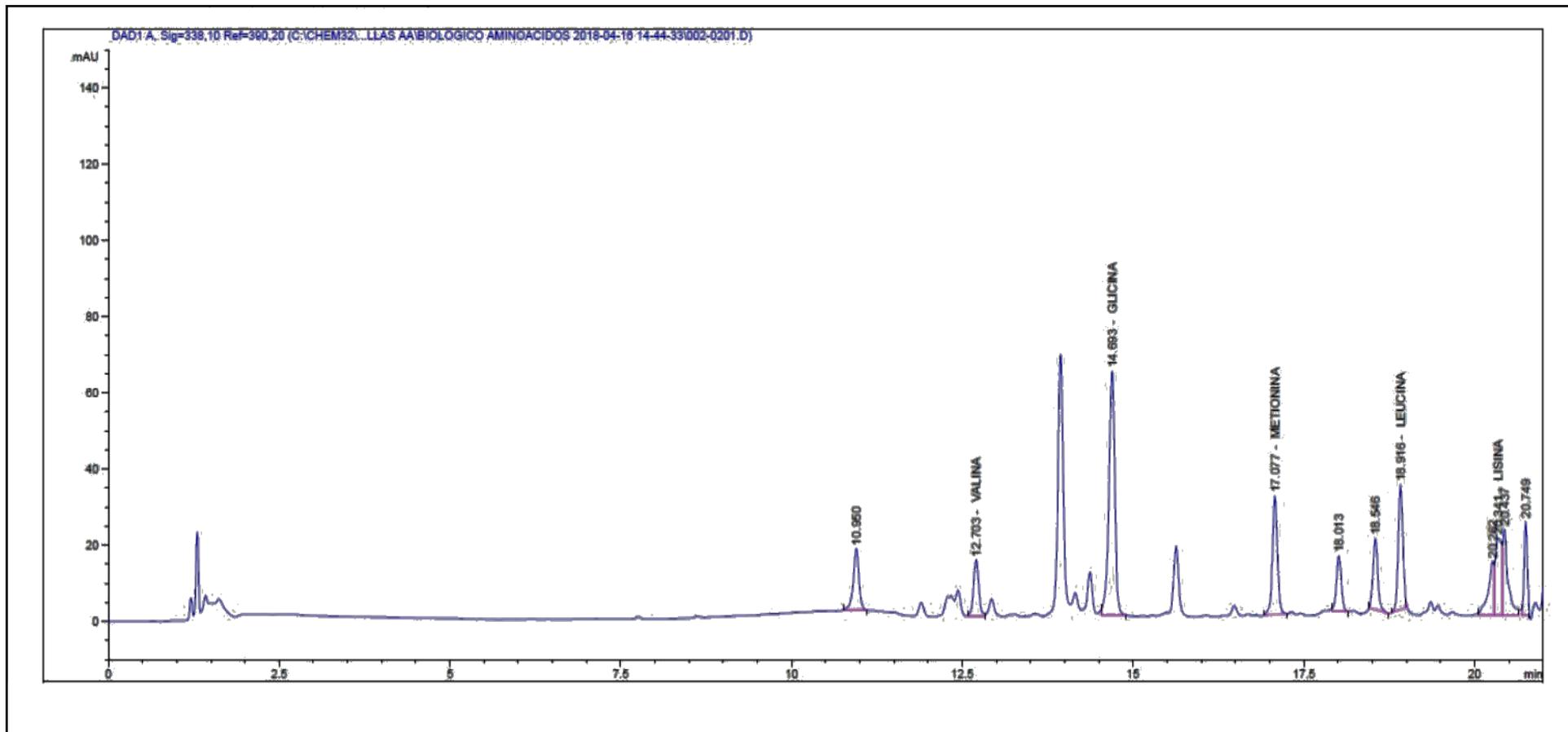


Figura 11: Lectura de recorrido de *Vigna unguiculata*.

Tabla 7: Lectura de *Vigna unguiculata*.

| N° | Aminoácidos | Muestra tiempo de retención (tR)min | Standar tiempo de retención (tR)min | Resultados mg/100 mg |
|----|-------------|-------------------------------------|-------------------------------------|----------------------|
| 1  | Valina      | 12,703                              | 12,553                              | 1,02                 |
| 2  | Glicina     | 14,693                              | 14,714                              | 8,75                 |
| 3  | Metionina   | 17,077                              | 17,039                              | 1,05                 |
| 4  | Leucina     | 18,916                              | 18,921                              | 1,01                 |
| 5  | Lisina      | 20,341                              | 20,333                              | 0,64                 |

- ✓ Dentro de este resultado se determinó el tiempo de retención de la variedad de *Vigna unguiculata*, identificando aminoácidos esenciales como: valina, metionina, leucina y lisina.
- ✓ En la especie *Vigna unguiculata* el aminoácido esencial con mayor cantidad es metionina con 1,05mg/100mg y en menor cantidad es lisina con 0,64mg/100mg.

*Phaseolus vulgaris*

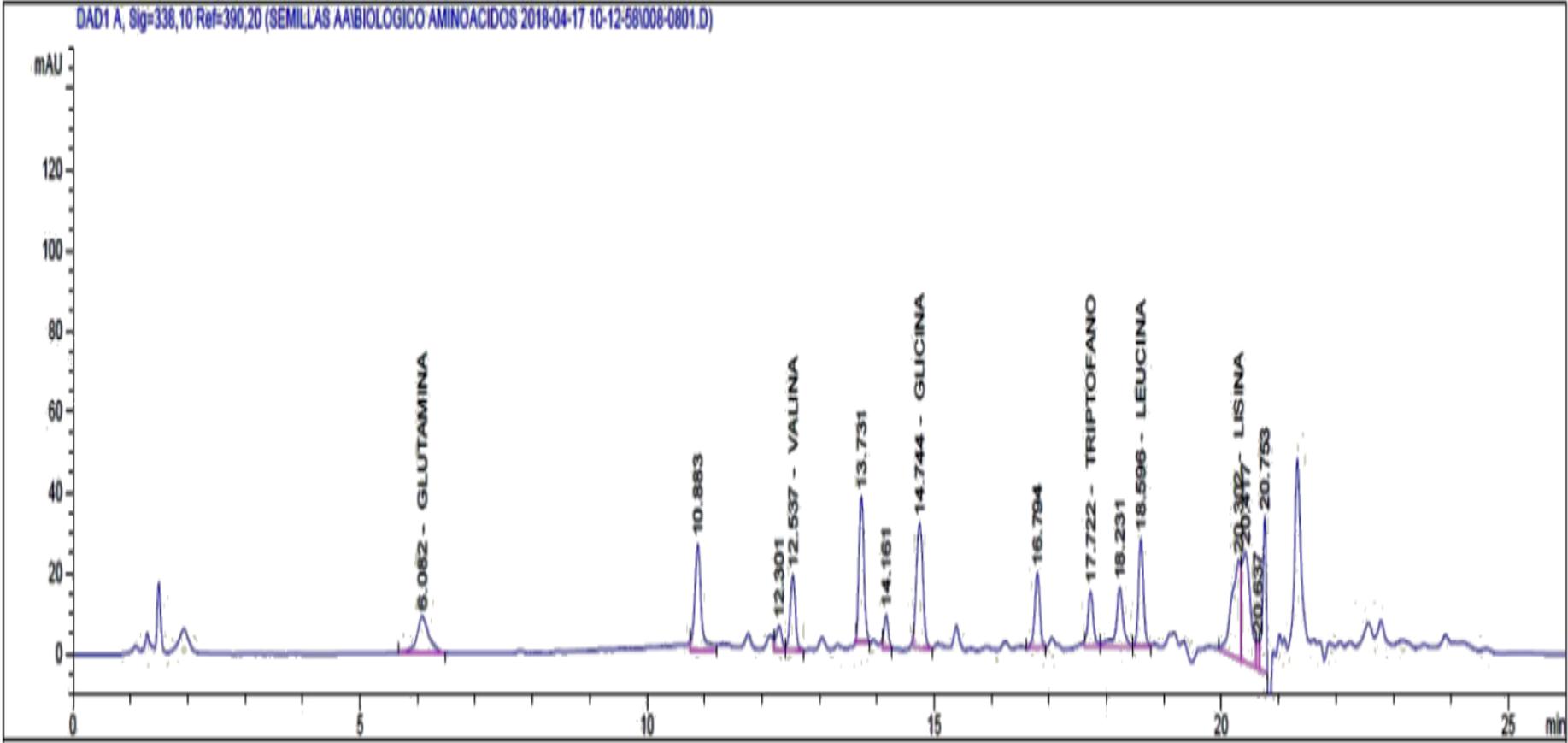


Figura 12: Lectura de recorrido *Phaseolus vulgaris*.

**Tabla 8: Lectura de *Phaseolus vulgaris*.**

| <b>N°</b> | <b>Aminoácidos</b> | <b>Muestra tiempo de retención (tR)min</b> | <b>Standar tiempo de retención (tR)min</b> | <b>Resultados mg/100 mg</b> |
|-----------|--------------------|--|--|-----------------------------|
| <b>1</b>  | Glutamina          | 6,082                                      | 6,551                                      | 1,39                        |
| <b>2</b>  | Valina             | 12,537                                     | 12,553                                     | 1,79                        |
| <b>3</b>  | Glicina            | 14,744                                     | 14,714                                     | 5,49                        |
| <b>4</b>  | Triptófano         | 17,722                                     | 17,373                                     | 1,33                        |
| <b>5</b>  | Leucina            | 18,596                                     | 18,921                                     | 1,08                        |
| <b>6</b>  | Lisina             | 20,302                                     | 20,333                                     | 1,31                        |

- ✓ Dentro de este resultado se determinó el tiempo de retención de la variedad de *Phaseolus vulgaris*, identificando aminoácidos esenciales como: valina, triptófano, leucina y lisina.
- ✓ En la especie *Phaseolus vulgaris* el aminoácido con mayor cantidad es valina con 1,79 mg/100mg y en menor cantidad es leucina 1,08mg/100mg.

## V. DISCUSION

Los frejoles comunes como (*Phaseolus vulgaris*) se consumen ampliamente como fuente dietética de proteínas, minerales, carbohidratos, vitaminas, fibras, antioxidantes. Sin embargo, para extraer proteínas necesito separar lípidos de la fracción proteica en la actualidad existen varios métodos. Según Laurente, Barrial, Vintimilla, sugieren utilizar el método soxhlet con el solvente éter de petróleo debido a su bajo punto de ebullición, indicándonos que es el mejor método para la extracción de proteína, ya que obtiene harina completamente desengrasado. Las leguminosas además de proveer una importante fuente de carbohidratos complejos como el almidón (50 a 65%) y de fibra dietética (10-20%), tienen bajo contenido de lípidos (0,8 a 2%) y una cantidad y calidad de proteína que complementa la de los cereales. De igual manera, aportan vitaminas hidrosolubles, especialmente tiamina, riboflavina, niacina y folacina, minerales como potasio, fósforo, magnesio, zinc y en especial, hierro y calcio.

Según Vintimilla el uso del solvente éter en el equipo Soxhlet fue más preciso para la extracción total de grasa ya que al utilizar este equipo la extracción fue más eficiente con el disolvente en su punto de ebullición 35°C y más volátil, lo cual permite un rendimiento óptimo de grasa. También refiere que el tiempo de extracción no debe ser mayor de 8 h debido a que pasado este tiempo se extraen componentes no lipídicos, cabe recalcar que el solvente éter ofrece el mejor balance de características específicas como mayor límite de saturación y mayor selectividad con respecto al soluto por extraer.

Según Betancur, en la determinación de Actividad inhibidora de ACE-I de las fracciones de péptidos de *Phaseolus lunatus* y *Phaseolus vulgaris* obtenidas por ultrafiltración, se evaluó el fraccionamiento mediante la filtración del frijol Lima (*Phaseolus lunatus*) y el frijol Jamapa (*Phaseolus vulgaris*), la composición de aminoácidos de estas fracciones mostró residuos en aminoácidos esenciales. Los aminoácidos se separaron usando HPLC con una columna de fase inversa, las fracciones mostraron alta contenido de aminoácidos esenciales, como Trp, Thr, Val, Phe, Tyr, Ile, Leu, Lys, Met, Cys e His. Comparando con nuestra investigación coincide con los aminoácidos encontrados en las especies *Phaseolus vulgaris*: (Tabla 8) Valina 1,79mg/100mg, Triptófano 1,33 mg/100mg, Leucina 1,08mg/100mg y Lisina 1,31 mg/100mg. En *Vigna unguiculata*: (Tabla 7) Valina 1,02mg/100mg, Metionina 1,05mg/100mg, Leucina 1,01 mg/100mg y Lisina 0,64 mg/100mg.

Según Machado, en su investigación sobre Evaluación del impacto de congelación en la composición aproximada de vainas de caupí inmaduro (*Vigna unguiculata L.*). El contenido de aminoácidos esenciales y no esenciales en vainas de caupí después de 6 y 9 meses de congelación con respecto a las concentraciones encontradas en las vainas crudas, no se observaron diferencias significativas en los niveles de la mayoría de aminoácidos esenciales y no esenciales. Como resultado se obtuvo aminoácidos esenciales como: treonina, histidina, valina, lisina isoleucina, leucina y fenilalanina y aminoácidos no esenciales como: glicina, arginina, alanina, prolina, tirosina, glutamina y serina. A diferencia de nuestra investigación se encontró en la variedad *Phaseolus vulgaris* (Tabla 8) Valina 1,79mg/100mg, Triptófano 1,33 mg/100mg, Leucina 1,08mg/100mg y Lisina 1,31 mg/100mg. En *Vigna unguiculata* (Tabla 7) Valina 1,02mg/100mg, Metionina 1,05mg/100mg, Leucina 1,01 mg/100mg y Lisina 0,64 mg/100mg. En la harina de arroz cabe destacar su aporte de metionina de 0,84 g/100 g proteína, mayor entre todas las harinas.

Según Laurente <sup>(7)</sup>, en la determinación del perfil de aminoácidos del concentrado protéico de tarwi de la variedad Yunguyo I y Negra de Sacactani se identificó 17 aminoácidos, de los cuales 9 aminoácidos son esenciales (histidina, treonina, arginina, valina, metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina y lisina) mientras que en nuestra identificación de *Phaseolus vulgaris* y *Vigna unguiculata* se encontró 11 aminoácidos, de los cuales 5 aminoácidos son esenciales (valina, triptófano, leucina, lisina y metionina). Laurente indica que los aminoácidos esenciales no pueden ser sintetizados por el organismo y deben ser aportados por la dieta o caso contrario pueden producir trastornos en la salud. La lisina, uno de los aminoácidos más escasos en los alimentos de origen vegetal, se muestra en el concentrado de tarwi de variedades (Yunguyo I y Negra de Sacacatani) en una proporción que al menos duplica el contenida en otras leguminosas. La importancia de la lisina se debe a que tiene funciones claves en el desarrollo de las células del cerebro humano y en el crecimiento. De hecho, se la asocia con el desarrollo de la inteligencia, la memoria y el aprendizaje. En nuestra investigación se observa en la variedad *Vigna unguiculata* (Tabla 7) la lisina representa en menor cantidad (0,64mg/100mg); en cuanto a la variedad *Phaseolus vulgaris* (Tabla 8) la leucina se presenta en menor cantidad (1,31 mg/100mg). En la variedad *Phaseolus vulgaris*, el aminoácido esencial que se presenta como limitante es la metionina (1,05mg/100mg).

Según Zúñiga <sup>(8)</sup>, determino en granos de *amaranthus caudatus* (kiwicha) a través de la técnica cromatográfica – HPLC, se determinó la presencia de los aminoácidos esenciales tales como: treonina, valina, metionina, fenilalanina, isoleucina, leucina y lisina, los mismos que presentan una ligera disminución a diferentes tratamientos de temperatura además que se encontró aminoácidos no esenciales como: ácido aspártico, ácido glutámico serina, histidina, glicina, arginina, alanina, tirosina y cistina. Mientras que en nuestra investigación se encontró aminoácidos esenciales en la variedad *Vigna unguiculata* (Tabla 7) como (valina, metionina, leucina y lisina) y en la variedad *Phaseolus vulgaris* (Tabla 8) como (valina, triptófano, leucina y lisina) y aminoácidos no esenciales. El Amaranto tiene un alto nivel de lisina, el cual se encuentra limitados en muchos cereales, como el maíz, sorgo y trigo. Y en menores niveles de metionina, valina, isoleucina y leucina. Es conocido que la lisina es un aminoácido muy reactivo y el proceso que sea menos agresivo será el mejor desde el punto de vista nutritivo. El valor obtenido de lisina del cupcake a base de harina de arveja (*Pisum sativum*) y harina de trigo (*Triticum aestivum*), fue de 0,38 g/100g de muestra en base húmeda. En el cual se evidencia la presencia de lisina, aminoácido característico en las leguminosas, pero estas a su vez son deficitarias en metionina. Pero al momento de combinar los porcentajes de (50% HA y 50% AT) se consigue establecer una proteína de alto valor biológico. *Amaranthus caudatus* representa un aumento en el contenido de los aminoácidos esenciales: lisina, fenilalanina, leucina y una disminución en el aminoácido azufrado metionina. En nuestra investigación se encontró lisina con 1,31mg/100mg y metionina con 1,05mg/100mg en la variedad *Phaseolus vulgaris* (Tabla 8) mientras que en la variedad *Vigna unguiculata* (Tabla 7) se encontró lisina con 0,64mg/100mg.

Según Barrial <sup>(9)</sup>, en la investigación realizada en la extracción de quinua (*Chenopodium quínoa Willd*) de las variedades blanca Junín y rosada Junín. Determinó el perfil de aminoácidos con el equipo Cromatógrafo Líquida de Alta Performance (HPLC) de la proteína extraída de *Chenopodium quínoa Willd* (variedad blanca Junín) y de la proteína extraída de *Chenopodium quínoa Willd* (variedad rosada Junín), encontrándose en la muestra de estudio los siguientes aminoácidos: fenilalanina, lisina, glicina, ácido glutámico, arginina, leucina, histidina, ácido aspártico, serina, alanina, metionina, treonina, valina, isoleucina y prolina coincidiendo con los aminoácidos encontrados en las especies *Phaseolus vulgaris*: (Tabla 8) Valina 1,79mg/100mg, Triptófano 1,33 mg/100mg, Leucina 1,08mg/100mg y Lisina 1,31 mg/100mg. En *Vigna unguiculata*:

(Tabla 7) Valina 1,02mg/100mg, Metionina 1,05mg/100mg, Leucina 1,01 mg/100mg y Lisina 0,64 mg/100mg.

Según Vintimilla <sup>(10)</sup>, en la investigación sobre la semilla de chía (*Salvia hispánica L.*) se determinó la caracterización de aminoácidos, desarrollado por el método de cromatografía líquida de alta presión (HPLC). Los aminoácidos de la proteína de Chía presentaron un adecuado perfil de aminoácidos esenciales, destacándose el contenido de lisina, metionina, los cuales fueron mayores que los presentes en las proteínas de otros cereales. De igual modo en nuestro estudio identificamos aminoácidos esenciales como valina, triptófano, leucina, lisina y metionina. Al comparar el aislado proteico de la semilla Chía con el aislado proteico de la semilla de quinua, se afirmó que la composición nutricional de la Chía en cuanto a aminoácidos fue superior a las semillas como la quinua, amaranto y soya. El uso del solvente éter en el equipo Soxhlet fue el mejor método para la extracción de grasa total de la semilla Chía. Del mismo modo en nuestra investigación usamos éter como solvente y el equipo Soxhlet. Se determinaron 16 aminoácidos presentes en el aislado; de los cuales 8 de estos son aminoácidos esenciales, comparando con nuestra investigación encontramos que coinciden con aminoácidos esenciales como: valina, triptófano, leucina, lisina y metionina. Se demostró que la semilla contiene 8 aminoácidos esenciales destacándose el contenido de lisina, metionina y cistina mientras que en nuestra investigación los aminoácidos esenciales que destacan en *Phaseolus vulgaris* (Tabla 8) encontramos: Valina 1,79mg/100mg, Triptófano 1,33 mg/100mg, Leucina 1,08mg/100mg y Lisina 1,31 mg/100mg y en *Vigna unguiculata* (Tabla 7) encontramos: Valina 1,02mg/100mg, Metionina 1,05mg/100mg, Leucina 1,01 mg/100mg y Lisina 0,64 mg/100mg.

Según Aylas <sup>(19)</sup>, en la investigación realizada a base de cereales y leguminosas identificaron los siguientes aminoácidos: ácido aspártico, ácido glutámico, serina, histidina, glicina, treonina, arginina, alanina, prolina, tirosina, valina, metionina, cistina, isoleucina, leucina, fenilalanina y lisina. La composición de aminoácidos obtenidos de la harina de quinoa presentó los niveles de aminoácidos más altos, siendo altamente superior en lisina (aminoácido esencial en el crecimiento y desarrollo de tejidos, la memoria y aprendizaje). A diferencia de nuestra investigación se encontró en la variedad *Phaseolus vulgaris* (Tabla 8) Valina 1,79mg/100mg, Triptófano 1,33 mg/100mg, Leucina 1,08mg/100mg y Lisina 1,31 mg/100mg. En *Vigna unguiculata* (Tabla 7) Valina 1,02mg/100mg, Metionina 1,05mg/100mg, Leucina 1,01 mg/100mg y Lisina 0,64 mg/100mg. En la harina de arroz cabe destacar su aporte de metionina de 0,84 g/100 g

proteína, mayor entre todas las harinas. También se observa un aporte favorable de leucina en la harina de maíz (11,97 g/100 g proteína) del mismo modo en las variedades estudiadas resalta la leucina; y en las harinas de lenteja y lupino dulce buenos niveles de lisina (4,67 y 4,82 g/100 g proteína respectivamente). Según Aylas los aminoácidos esenciales cuantificados por HPLC superaron los valores del patrón de la FAO 2007 en los siguientes aminoácidos: histidina, isoleucina, leucina, fenilalanina + tirosina, treonina y valina, alcanzando a cubrir el 91% en lisina, 80% en triptófano y el 16% de los aminoácidos azufrados (metionina + cisteína), siendo estos últimos los aminoácidos limitantes de la mezcla llegamos a la conclusión que las variedades estudiadas también cuentan con aminoácidos esenciales requeridas en nuestra ingesta diaria. En nuestro trabajo de investigación encontramos diferencia entre las especies de *Vigna unguiculata* y *Phaseolus vulgaris*, en la presencia de aminoácidos esenciales como triptófano y metionina (Tabla 7 y 8). La variedad de *Vigna unguiculata* no presenta triptófano y la especie *Phaseolus vulgaris* no presenta metionina.

## VI. CONCLUSIONES

- ✓ Se identificó los siguientes aminoácidos esenciales en la especie *Vigna unguiculata*: Valina 1,02mg/100mg, Metionina 1,05mg/100mg, Leucina 1,01 mg/100mg y Lisina 0,64 mg/100mg y en *Phaseolus vulgaris*: Valina 1,79mg/100mg, Triptófano 1,33 mg/100mg, Leucina 1,08mg/100mg y Lisina 1,31 mg/100mg por Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC).
- ✓ Se cuantificó los aminoácidos esenciales por HPLC encontrándose en *Vigna unguiculata* Valina 1,02mg/100mg, Metionina 1,05mg/100mg, Leucina 1,01 mg/100mg y Lisina 0,64 mg/100mg y en *Phaseolus vulgaris* Valina 1,79mg/100mg, Triptófano 1,33 mg/100mg, Leucina 1,08mg/100mg y Lisina 1,31 mg/100mg.
- ✓ Existe diferencia de porcentaje de aminoácidos esenciales entre *Vigna unguiculata* y *Phaseolus vulgaris* en la presencia de valina, leucina, lisina, triptófano y metionina identificados por Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC).
- ✓ El aporte de la investigación tiene como finalidad promover el consumo potencial de leguminosas ya que son fuentes adecuadas de aminoácidos esenciales como; isoleucina, leucina, fenilalanina, treonina y valina sobre todo lisina.

## VII. RECOMENDACIONES

- ✓ Tener mucha precisión al realizar los ensayos en cuanto al método empleado (Cromatografía Líquida de Alta Performance – HPLC), para así no afectar a los componentes que se desean analizar.
- ✓ Realizar el análisis de identificación aminoácidos esenciales por HPLC nos permite realizar más estudios ya sea por otras técnicas.
- ✓ Aplicar los beneficios nutricionales en la elaboración de múltiples productos comestibles.
- ✓ Realizar más estudios en otras variedades de frejol comparando cuantitativamente los diferentes aminoácidos esenciales.
- ✓ Se sugiere realizar otros estudios incluyendo alimentos nativos para de esta manera contribuir con el redescubrimiento de aminoácidos esenciales.
- ✓ Para la extracción de lípidos se puede utilizar diferentes solventes en el equipo Soxhlet, pero se recomienda la utilización del solvente éter, debido a su bajo punto de ebullición.

## VIII. REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

1. Legumbres. Semillas nutritivas para un futuro sostenible 2016. Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Disponible en <http://www.fao.org/3/a-i5528s.pdf>
2. Legumbres y la relación entre la nutrición y la salud 2016. Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Disponible en <http://www.fao.org/pulses-2016/news/news-detail/es/c/386997/>
3. Camarena, Innovación Tecnológica para el incremento de la producción de Frijol Común (*Phaseolus vulgaris L.*), 1era Ed. Junio, Lima- Perú, [citado 02 de abril del 2017] 2009.
4. JOURNAL OF MEDICINAL FOOD J Med Food. 2015, 1–8 # Mary Ann Liebert, Inc., and Korean Society of Food Science and Nutrition. Disponible en: <https://scihub.tw/https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26061663>
5. wileyonlinelibrary.com. :8 de marzo del 2017. [citado 8 de septiembre del 2018]. Disponible en: <https://sci-hub.tw/https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28276078>
6. Yesid. A. Piedad M. Evaluación Nutricional de Concentrados Proteicos de *Phaseolus lunatus* y *Vigna unguiculata*. Inf. Tecnol. [internet]. 2016 [citado 15 de junio del 2017]; 27(6). Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-07642016000600011&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642016000600011&lng=en&nrm=iso&tlng=en)
7. Guevara P. Escuela superior politécnica de Chimborazo facultad de ciencias escuela de bioquímica y farmacia “elaboración y evaluación nutricional de cupcake funcional a base de harina de arveja (*Pisum sativum*) y harina de trigo (*Triticum aestivum*), para fortalecer la dieta diaria” trabajo de titulación presentado para optar al Grado Académico de: Bioquímica Farmacéutica: Ecuador [citado 02 de abril del 2017]. 2016. Disponible en [Internet]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4947/1/56T00624%20UDCTFC.pdf>
8. Cervilla, Mufari, Calandri. Determinación del contenido de aminoácidos en harinas de quinoa de origen argentino. VOL 13 N°2 COPY: Layout 1 12/07/2012 03:10 p.m. Página 31 Actualización en nutrición VOL 13 - N.º 2 - JUNIO 2012. [citado 25 de mayo del 2017]. Disponible en: [http://www.revistasan.org.ar/pdf\\_files/trabajos/vol\\_13/num\\_2/RSAN\\_13\\_2\\_107.pdf](http://www.revistasan.org.ar/pdf_files/trabajos/vol_13/num_2/RSAN_13_2_107.pdf)

9. Laurente Flores. Obtención del concentrado Proteico y determinación del perfil de aminoácidos de dos variedades de Tarwi (*Lupinus mutabilis sweet*)". Tesis para optar el Título profesional de: Ingeniero Agroindustrial Puno - Perú 2016. [citado 25 de mayo del 2017]. Disponible en: [http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3691/Laurente\\_Flores\\_Yeny\\_Roxana.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3691/Laurente_Flores_Yeny_Roxana.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
10. Zúñiga Quispe Camilo. Efecto de la temperatura de expandido sobre la concentración de aminoácidos esenciales en granos de *Amaranthus caudatus* (kiwicha), variedad Oscar blanco tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agroindustrial. Andahuaylas – Perú 2014. [citado 02 de mayo del 2017]. Disponible en: <http://repositorio.unajma.edu.pe/handle/123456789/205>.
11. Barrial Lujan Abel. Influencia del pH en la extracción de aislado proteico de quinua (*Chenopodium quínoa Willd*) de las variedades blanca Junín y rosada Junín. Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agroindustrial. Andahuaylas-Perú 2014. [citado 15 mayo del 2017]. Disponible en: [http://repositorio.unajma.edu.pe/bitstream/handle/123456789/207/13-2014-EPIA-Barrial%20Lujan Influencia%20de%20pH.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unajma.edu.pe/bitstream/handle/123456789/207/13-2014-EPIA-Barrial%20Lujan%20Influencia%20de%20pH.pdf?sequence=1&isAllowed=y).
12. Vintimilla Palacios, Reinoso García. Comprobación de métodos para la caracterización de ácidos grasos y aminoácidos de la semilla Chía (*Salvia hispánica-L*). Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos para optar por el título de Ingenieras Agroindustriales y de Alimentos. 2015. [citado 20 de junio del 2017]. Disponible en: <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/4519/1/UDLA-EC-TIAG-2015-12.pdf>
13. Oswaldo Voysest. Mejoramiento genético del frijol (*Phaseolus vulgaris*): Legado de variedades de América Latina 1930-1999. [citado 02 de junio del 2017]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=VzxXI2TL9YcC&printsec=frontcover&dq=phaseolus+vulgaris&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwia-PC5i6fbAhURz1MKHR65D0EQ6AEIJAA#v=onepage&q=phaseolus%20vulgaris&f=false>
14. Báez H. Hernández M. Estudio del rendimiento de cultivares de frijol caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) en diferentes épocas de siembra en Camajuani, Cuba. Rev. cienc. tecnol. no.26 supl.1 Posadas dic. 2016. [citado 02 de enero del 2018].

Disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1851-75872016000300002](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-75872016000300002)

15. Valladolid C. Leguminosas de Grano Cultivares y Clases Comerciales del Perú. 2016. 1era Ed. Pág. 18, 19 [citado 02 de enero del 2018]. Disponible en: <http://minagri.gob.pe/portal/download/legumbres/catalogo-leguminosas.pdf>
16. Daniel G. Morfología de la planta de frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*) Centro Internacional de Agricultura Tropical. Serie 045SB-09.01. 2ª. Edición. Cali, Colombia. Febrero 1984. [citado 02 de junio del 2017]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=AtOLF2NhJogC&printsec=frontcover&dq=morfologia+de+phaseolus+vulgaris&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj7g-6ss6fbAhUQu1MKHWDABrYQ6AEILTAB#v=onepage&q=morfologia%20de%20phaseolus%20vulgaris&f=false>
17. Córdova Darwin, Experiencias de una Agricultura Tradicional Campesina en el Cultivo del FREJOL (*Phaseolus sp.*) Y Otras Leguminosas de Grano, En el Distrito de Tres Unidos, San Martin, 1era Ed. Moyobamba, Editorial Super Grafica E.I.R.L, agosto 2012.
18. BAYNES JOHN. DOMINICZAK MAREK. BIOQUIMICA MEDICA. 4ta ed. ESPAÑA. ELSEVIER 2015. [citado 6 de septiembre del 2018].
19. Camacho, Sepúlveda. bioquímica Tercer año 1ª edición. Universidad Autónoma de Sinaloa Dirección General de Escuelas Preparatorias Academia Estatal de Biología Circuito interior oriente s.n. Ciudad Universitaria, Culiacán, Sinaloa, México 2011. Cp.80010 Tel. 667-712-16-56, fax 712-16-53; ext. 111. [citado 02 de julio del 2017]. Disponible en: <http://dgeb.uas.uasnet.mx>
20. T.W. Graham Solomons. Química Orgánica. Segunda edición. México. Editorial Limusa, s.a. 2000. [citado 20 de mayo del 2018].
21. Ralph J. Fessenden. Química Orgánica. 2nd edición. EE.UU. Grupo Editorial Iberoamérica s.a. 1982. [citado 20 de mayo del 2018].
22. Charles W. Secretos de la nutrición. 1ra edición. México. Mc Graw-Hill Interamericana. 1999 [citado 20 de mayo del 2018].
23. ROBERT K. BIOQUIMICA DE HARPER. 5ª. ed. MEXICO D.F. EL MANUEL MODERNO S.A.2001. [citado 6 de septiembre del 2018].
24. Angel G. Tratado de Nutrición. Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición. Tomo 1. 3ª edición. España. Editorial medica panamericana. 2017

25. Melvin H. Nutrición para la salud, la condición física y el deporte. Primera edición. Editorial Paidotribu. 2002.
26. Aylas H. Desarrollo de una mezcla alimenticia en polvo de balanceado valor proteico y libre de gluten, a base de cereales y leguminosas. Tesis para optar el grado de Magister en Alimentos, mención Gestión Calidad e Inocuidad de los Alimentos – Chile 2017. [citado 20 de enero del 2018]. Disponible en: [http://renati.sunedu.gob.pe/bitstream/sunedu/138454/2/AYLAS%20HUAMAN\\_Robinson%20Marlon\\_TESIS.pdf](http://renati.sunedu.gob.pe/bitstream/sunedu/138454/2/AYLAS%20HUAMAN_Robinson%20Marlon_TESIS.pdf)
27. Miquelena E. Higuera M. Evaluación del contenido de proteína, minerales y perfil de aminoácidos en harinas de *Cajanus cajan*, *Vigna unguiculata* y *Vigna radiata* para su uso en la alimentación humana. 2012. Vol. 12, Núm. 3. [citado 01 de agosto del 2018]. Disponible en: <http://ojs.udo.edu.ve/index.php/udoagricola/article/view/3041/24792604>
28. Kenneth A. Rubinson J. Analisis Instrumental. 1era Ed. Madrid. Pearson Educacion S.A. 2000.
29. Castillo, Castor. Fundamentos básicos e instrumentación de HPLC [High Performance Liquid Chromatography]. [Citado 20 de junio del 2018]. Disponible en: <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/4519/1/UDLA-EC-TIAG-2015-12.pdf>
30. Universidad de Costa Rica - Sede de Occidente Revista Pensamiento Actual - Vol. 15 - No. 25, 2015 ISSN impreso: 1409-0112 / ISSN electrónico: 2215-3586 99 Ciencias Naturales99
31. United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 39-NF 34). Vol1. Rockville, MD: United States Pharmacopeia Convention; 2015: 1096-1105.
32. JW. Henderson, RD. Ricker, BA. Bidlingmeyer, C Woodward. Rapid, Accurate, Sensitive, and Reproducible HPLC Analysis of Amino Acids. Agilent Technologies.
33. Knauer. Determination of Amino acids by UHPLC with automated OPA Derivatization by the Autosampler. August 2012.
34. Bradford, J. Programa de métodos oficiales. Journal of AOAC International.91(5), 50-83 doi: ISSN1944-7922. 20 12[citado 20 de junio del 2017].
35. Nazate. K. Obtención de proteína hidrolizada de quinua (*Chenopodium quinua Willd*) a partir de un aislado proteico. Tesis Maestría para obtener el grado Ingeniería Agroindustrial. Ibarra EC Julio 2016. [citado 20 de junio del 2017]. Disponible en: <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/5314/2/ARTICULO%20CIENTIFICO.pdf>

36. Núñez, E. Extracciones con equipo Soxhlet. Udo Agrícola. 15(3). 2-5. Quintana, J. y Valencia, J. (2014). [citado 20 de junio del 2017]. Disponible en: <http://cenunez.com.ar/archivos/39-ExtraccinconequipoSoxhlet.pdf>

## IX. ANEXOS

### Anexo 1: Constancia de *Vigna unguiculata* (L.) Walp.



VICERRECTORADO INVESTIGACI

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN  
MARCOS

Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO



POSGRADODE MUSEO DE HISTORIA NATURAL

### "Año del Buen Servicio al Ciudadano" CONSTANCIA N° 308-USM-2017

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (semillas) recibida de Kelly Janys Montoya Navarro, de la Universidad Norbert Wiener, ha sido estudiada y clasificada como: *Vigna unguiculata* (L.) Walp. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ROSIDAE

ORDEN: FBALES

FAMILIA: Fabaceae

GENERO: *Vigna*

ESPECIE: *Vigna unguiculata* (L.) Walp.

Nombre vulgar: "Frejol castilla"

Determinado por Blgo. Severo Baldeón Malpartida

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 29 de diciembre de 2017

NELSON A. CANO ECHEVARRÍA  
JEFE  
HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Mag. JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS

## Anexo 2: Constancia de *Phaseolus vulgaris* L.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

### CONSTANCIA N° 307-USM-2017

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (semillas) recibida de Kelly Janys Montoya Navarro, de la Universidad Norbert Wiener, ha sido estudiada y clasificada como: *Phaseolus vulgaris* L. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ROSIDAE

ORDEN: FBALES

FAMILIA: Fabaceae

GENERO: *Phaseolus*

ESPECIE: *Phaseolus vulgaris* L.

Nombre vulgar: "Frejol guinda"

Determinado por Blgo. Severo Baldeón Malpartida

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 29 de diciembre de  
2017ACE/

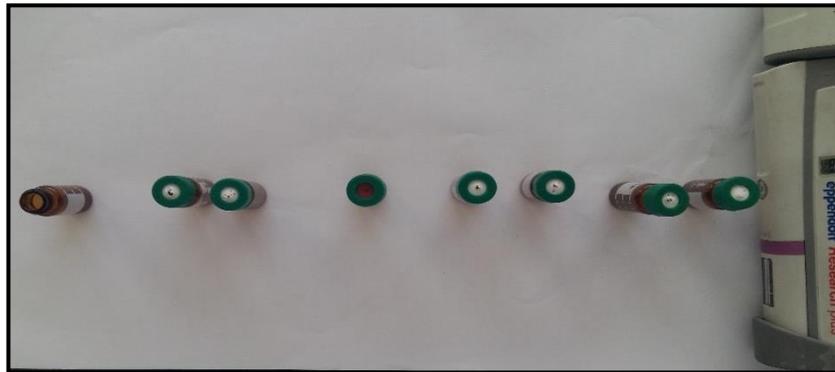
Mag. JEFE DEL HERBARIO SAN  
MARCOS

  
NACIÓN A. CANO ECHEVARRIA  
JEFE  
HERBARIO SAN MARCOS (USM)



**Figura 13:** Estándar 1 y 2 de aminoácidos.

*Fuente: Foto tomada en el laboratorio*



**Figura 14:** Viales para HPLC

*Fuente: Foto tomada en el laboratorio*



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



CENPROFARMA  
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO

ANÁLISIS POR HPLC-UV

ORDEN DE ANÁLISIS

04824-2018

PRODUCTO : *Phaseolus vulgaris*  
PRESENTACIÓN : Extracto  
ANALITO : GLUTAMINA  
MÉTODO : DERIVATIZACIÓN OPA-2ME

FECHA DE ANÁLISIS : 17/04/2018  
LOTE : ---

| ESTÁNDAR                 |             |                              |            |
|--------------------------|-------------|------------------------------|------------|
| Nombre                   | : GLUTAMINA | Peso 1                       | : 10.0 mg  |
| N° Lote                  | : ---       | Peso 2                       | : 10.0 mg  |
| Potencia Base seca (Pot) | : 1.0000    | Peso promedio (Wst)          | : 10.0 mg  |
|                          |             | Factor de dilución (Fdst)    | : 0.004    |
|                          |             | Concentración corregida (Cs) | : 0.04 mg/ |

| MUESTRA         |             |                           |       |
|-----------------|-------------|---------------------------|-------|
| Cantidad (Wmp1) | : 10.000 mg | Factor de dilución (Fdmp) | : 0.1 |
| Cantidad (Wmp2) | : 10.000 mg |                           |       |

| LECTURA DE ÁREAS |   |            |            |                  |
|------------------|---|------------|------------|------------------|
| Estándares       |   | <u>St1</u> | <u>St2</u> | <u>Promedio</u>  |
|                  | : | 372.08444  | 382.69321  | rS : 377.39      |
| Muestras         |   |            |            |                  |
| Am 1             | : | 130.69086  |            | rU 1 : 130.69086 |
| Am 2             | : | 131.61060  |            | rU 2 : 131.61060 |

| CÁLCULOS             |   |
|----------------------|---|
| Resultado (mg/100mg) | : $\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$ |

| RESULTADOS |   |               |                      |
|------------|---|---------------|----------------------|
| M1         | : | 1.39 mg/100mg | Contenido : 1.39 mg/ |
| M2         | : | 1.39 mg/100mg | %RSD : 0.5 %         |

| ANALIZADO POR: | REVISADO POR: | FECHA:     | OBSERVACIONES: |
|----------------|---------------|------------|----------------|
| N. Neira       | K. Franco     | 17/04/2018 | ---            |



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



CENPROFARMA  
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO

ANÁLISIS POR HPLC-UV

|              |                          |                   |              |
|--------------|--------------------------|-------------------|--------------|
|              |                          | ORDEN DE ANÁLISIS | 04824-2018   |
| PRODUCTO     | : Phaseolus vulgaris     | FECHA DE ANÁLISIS | : 17/04/2018 |
| PRESENTACIÓN | : Extracto               | LOTE              | : ---        |
| ANALITO      | : VALINA                 |                   |              |
| MÉTODO       | : DERIVATIZACIÓN OPA-2ME |                   |              |

| ESTÁNDAR                 |          |                              |              |
|--------------------------|----------|------------------------------|--------------|
| Nombre                   | : VALINA | Peso 1                       | : 10.0 mg    |
| N° Lote                  | : ---    | Peso 2                       | : 10.0 mg    |
| Potencia Base seca (Pot) | : 1.0000 | Peso promedio (Wst)          | : 10.0 mg    |
|                          |          | Factor de dilución (Fdst)    | : 0.004      |
|                          |          | Concentración corregida (Cs) | : 0.04 mg/mL |

| MUESTRA         |             |                           |       |
|-----------------|-------------|---------------------------|-------|
| Cantidad (Wmp1) | : 10.000 mg | Factor de dilución (Fdmp) | : 0.1 |
| Cantidad (Wmp2) | : 10.000 mg |                           |       |

| LECTURA DE ÁREAS |                          |                 |           |
|------------------|--------------------------|-----------------|-----------|
| Estándares       | : <u>St1</u> <u>St2</u>  | <u>Promedio</u> |           |
|                  | : 263.78928    262.14597 | rS :            | 262.97    |
| Muestras         |                          |                 |           |
| Am 1             | : 117.82360              | rU 1 :          | 117.82360 |
| Am 2             | : 117.66051              | rU 2 :          | 117.66051 |

| CÁLCULOS             |   |
|----------------------|---|
| Resultado (mg/100mg) | : $\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$ |

| RESULTADOS |                 |           |               |
|------------|-----------------|-----------|---------------|
| M1         | : 1.79 mg/100mg | Contenido | : 1.79 mg/100 |
| M2         | : 1.79 mg/100mg | %RSD      | : 0.1 %       |

|                            |                            |                      |                       |
|----------------------------|----------------------------|----------------------|-----------------------|
| ANALIZADO POR:<br>N. Neira | REVISADO POR:<br>K. Franca | FECHA:<br>17/04/2018 | OBSERVACIONES:<br>--- |
|----------------------------|----------------------------|----------------------|-----------------------|



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



CENPROFARMA  
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO

ANÁLISIS POR HPLC-UV

ORDEN DE ANÁLISIS

04824-2018

PRODUCTO : *Phaseolus vulgaris*  
PRESENTACIÓN : Extracto  
ANALITO : GLICINA  
MÉTODO : DERIVATIZACIÓN OPA-2ME

FECHA DE ANÁLISIS : 17/04/2018  
LOTE : ---

**ESTÁNDAR**

|                          |           |                              |              |
|--------------------------|-----------|------------------------------|--------------|
| Nombre                   | : GLICINA | Peso 1                       | : 10.0 mg    |
| N° Lote                  | : ---     | Peso 2                       | : 10.0 mg    |
| Potencia Base seca (Pot) | : 1.0000  | Peso promedio (Wst)          | : 10.0 mg    |
|                          |           | Factor de dilución (Fdst)    | : 0.004      |
|                          |           | Concentración corregida (Cs) | : 0.04 mg/mL |

**MUESTRA**

|                 |             |                           |       |
|-----------------|-------------|---------------------------|-------|
| Cantidad (Wmp1) | : 10.000 mg | Factor de dilución (Fdmp) | : 0.1 |
| Cantidad (Wmp2) | : 10.000 mg |                           |       |

**LECTURA DE ÁREAS**

| Estándares | St1         | St2       | Promedio         |
|------------|-------------|-----------|------------------|
|            | : 175.43486 | 175.61137 | rS : 175.52      |
| Muestras   |             |           |                  |
| Am 1       | : 237.98320 |           | rU 1 : 237.98320 |
| Am 2       | : 243.39046 |           | rU 2 : 243.39046 |

**CÁLCULOS**

Resultado (mg/100mg) : 
$$\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$$

**RESULTADOS**

|    |                 |           |               |
|----|-----------------|-----------|---------------|
| M1 | : 5.42 mg/100mg | Contenido | : 5.49 mg/100 |
| M2 | : 5.55 mg/100mg | %RSD      | : 1.6 %       |

ANALIZADO POR:

N. Neira

REVISADO POR:

K. Franco

FECHA:

17/04/2018

OBSERVACIONES:

---



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



CENPROFARMA  
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO

ANÁLISIS POR HPLC-UV

ORDEN DE ANÁLISIS

04824-2018

PRODUCTO : *Phaseolus vulgaris*  
PRESENTACIÓN : Extracto  
ANALITO : TRIPTOFANO  
MÉTODO : DERIVATIZACIÓN OPA-2ME

FECHA DE ANÁLISIS : 17/04/2018  
LOTE : ---

**ESTÁNDAR**

|                          |              |                              |              |
|--------------------------|--------------|------------------------------|--------------|
| Nombre                   | : TRIPTOFANO | Peso 1                       | : 10.0 mg    |
| N° Lote                  | : ---        | Peso 2                       | : 10.0 mg    |
| Potencia Base seca (Pot) | : 1.0000     | Peso promedio (Wst)          | : 10.0 mg    |
|                          |              | Factor de dilución (Fdst)    | : 0.004      |
|                          |              | Concentración corregida (Cs) | : 0.04 mg/mL |

**MUESTRA**

|                 |             |                           |       |
|-----------------|-------------|---------------------------|-------|
| Cantidad (Wmp1) | : 10.000 mg | Factor de dilución (Fdmp) | : 0.1 |
| Cantidad (Wmp2) | : 10.000 mg |                           |       |

**LECTURA DE ÁREAS**

| Estándares | St1         | St2         | Promedio        |
|------------|-------------|-------------|-----------------|
|            | : 268.90189 | : 263.85040 | rS : 266.38     |
| Muestras   |             |             |                 |
| Am 1       | : 91.20090  |             | rU 1 : 91.20090 |
| Am 2       | : 85.81400  |             | rU 2 : 85.81400 |

**CÁLCULOS**

Resultado (mg/100mg) : 
$$\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$$

**RESULTADOS**

|    |                 |           |               |
|----|-----------------|-----------|---------------|
| M1 | : 1.37 mg/100mg | Contenido | : 1.33 mg/100 |
| M2 | : 1.29 mg/100mg | %RSD      | : 4.3 %       |

ANALIZADO POR:

N. Neira

REVISADO POR:

K. Franco

FECHA:

17/04/2018

OBSERVACIONES:

---



**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)  
**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA**



**CENPROFARMA**  
**CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO**

ANÁLISIS POR HPLC-UV

|                     |                             |                          |              |
|---------------------|-----------------------------|--------------------------|--------------|
|                     |                             | <b>ORDEN DE ANÁLISIS</b> | 04824-2018   |
| <b>PRODUCTO</b>     | : <i>Phaseolus vulgaris</i> | <b>FECHA DE ANÁLISIS</b> | : 17/04/2018 |
| <b>PRESENTACIÓN</b> | : Extracto                  | <b>LOTE</b>              | : ---        |
| <b>ANALITO</b>      | : LEUCINA                   |                          |              |
| <b>MÉTODO</b>       | : DERIVATIZACIÓN OPA-2ME    |                          |              |

| <b>ESTÁNDAR</b>          |           |                              |              |
|--------------------------|-----------|------------------------------|--------------|
| Nombre                   | : LEUCINA | Peso 1                       | : 10.0 mg    |
| N° Lote                  | : ---     | Peso 2                       | : 10.0 mg    |
| Potencia Base seca (Pot) | : 1.0000  | Peso promedio (Wst)          | : 10.0 mg    |
|                          |           | Factor de dilución (Fdst)    | : 0.004      |
|                          |           | Concentración corregida (Cs) | : 0.04 mg/mL |

| <b>MUESTRA</b>  |             |                           |       |
|-----------------|-------------|---------------------------|-------|
| Cantidad (Wmp1) | : 10.000 mg | Factor de dilución (Fdmp) | : 0.1 |
| Cantidad (Wmp2) | : 10.000 mg |                           |       |

| <b>LECTURA DE ÁREAS</b> |                          |        |                 |
|-------------------------|--------------------------|--------|-----------------|
| Estándares              | : <u>St1</u> <u>St2</u>  | rS :   | <u>Promedio</u> |
|                         | : 615.35321    611.74164 |        | 613.55          |
| Muestras                |                          |        |                 |
| Am 1                    | : 165.67860              | rU 1 : | 165.67860       |
| Am 2                    | : 164.49048              | rU 2 : | 164.49048       |

| <b>CÁLCULOS</b>      |   |
|----------------------|---|
| Resultado (mg/100mg) | : $\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$ |

| <b>RESULTADOS</b> |                 |           |               |
|-------------------|-----------------|-----------|---------------|
| M1                | : 1.08 mg/100mg | Contenido | : 1.08 mg/100 |
| M2                | : 1.07 mg/100mg | %RSD      | : 0.5 %       |

|                                   |                                   |                             |                              |
|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| <b>ANALIZADO POR:</b><br>N. Neira | <b>REVISADO POR:</b><br>K. Franco | <b>FECHA:</b><br>17/04/2018 | <b>OBSERVACIONES:</b><br>--- |
|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|------------------------------|



**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)  
**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**CENPROFARMA**  
**CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO**

ANÁLISIS POR HPLC-UV

|                     |                          |                          |              |
|---------------------|--------------------------|--------------------------|--------------|
|                     |                          | <b>ORDEN DE ANÁLISIS</b> | 04824-2018   |
| <b>PRODUCTO</b>     | : Phaseolus vulgaris     | <b>FECHA DE ANÁLISIS</b> | : 17/04/2018 |
| <b>PRESENTACIÓN</b> | : Extracto               | <b>LOTE</b>              | : ---        |
| <b>ANALITO</b>      | : LISINA                 |                          |              |
| <b>MÉTODO</b>       | : DERIVATIZACIÓN OPA-2ME |                          |              |

| ESTÁNDAR                 |          |                              |              |
|--------------------------|----------|------------------------------|--------------|
| Nombre                   | : LISINA | Peso 1                       | : 10.0 mg    |
| N° Lote                  | : ---    | Peso 2                       | : 10.0 mg    |
| Potencia Base seca (Pot) | : 1.0000 | Peso promedio (Wst)          | : 10.0 mg    |
|                          |          | Factor de dilución (Fdst)    | : 0.004      |
|                          |          | Concentración corregida (Cs) | : 0.04 mg/mL |

| MUESTRA         |             |                           |       |
|-----------------|-------------|---------------------------|-------|
| Cantidad (Wmp1) | : 10.000 mg | Factor de dilución (Fdmp) | : 0.1 |
| Cantidad (Wmp2) | : 10.000 mg |                           |       |

| LECTURA DE ÁREAS |                          |      |                   |
|------------------|--------------------------|------|-------------------|
| Estándares       | : <u>St1</u> <u>St2</u>  | rS   | : <u>Promedio</u> |
|                  | : 803.30621    799.61823 |      | : 801.46          |
| Muestras         |                          | rU 1 | : 261.30392       |
| Am 1             | : 261.30392              | rU 2 | : 262.41953       |
| Am 2             | : 262.41953              |      |                   |

| CÁLCULOS             |   |
|----------------------|---|
| Resultado (mg/100mg) | : $\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$ |

| RESULTADOS |                 |           |               |
|------------|-----------------|-----------|---------------|
| M1         | : 1.30 mg/100mg | Contenido | : 1.31 mg/100 |
| M2         | : 1.31 mg/100mg | %RSD      | : 0.3 %       |

|                                   |                                   |                             |                               |
|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| <b>ANALIZADO POR:</b><br>N. Neira | <b>REVISADO POR:</b><br>K. Franco | <b>FECHA:</b><br>17/04/2018 | <b>OBSERVACIONES:</b><br>---- |
|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



CENPROFARMA  
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO

ANÁLISIS POR HPLC-UV

ORDEN DE ANÁLISIS

04825-2018

PRODUCTO : *Vigna unguiculata*  
PRESENTACIÓN : Extracto  
ANALITO : LISINA  
MÉTODO : DERIVATIZACIÓN OPA-2ME

FECHA DE ANÁLISIS : 17/04/2018  
LOTE : ---

**ESTÁNDAR**

|                          |          |                              |              |
|--------------------------|----------|------------------------------|--------------|
| Nombre                   | : LISINA | Peso 1                       | : 10.0 mg    |
| N° Lote                  | : ---    | Peso 2                       | : 10.0 mg    |
| Potencia Base seca (Pot) | : 1.0000 | Peso promedio (Wst)          | : 10.0 mg    |
|                          |          | Factor de dilución (Fdst)    | : 0.004      |
|                          |          | Concentración corregida (Cs) | : 0.04 mg/mL |

**MUESTRA**

|                 |             |                           |       |
|-----------------|-------------|---------------------------|-------|
| Cantidad (Wmp1) | : 10.000 mg | Factor de dilución (Fdmp) | : 0.1 |
| Cantidad (Wmp2) | : 10.000 mg |                           |       |

**LECTURA DE ÁREAS**

|            |                          |        |                 |
|------------|--------------------------|--------|-----------------|
| Estándares | : <u>St1</u> <u>St2</u>  | rS :   | <u>Promedio</u> |
|            | : 803.30621    799.61823 |        | 801.46          |
| Muestras   |                          |        |                 |
| Am 1       | : 127.47540              | rU 1 : | 127.47540       |
| Am 2       | : 128.12241              | rU 2 : | 128.12241       |

**CÁLCULOS**

Resultado (mg/100mg) : 
$$\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$$

**RESULTADOS**

|    |                 |           |               |
|----|-----------------|-----------|---------------|
| M1 | : 0.64 mg/100mg | Contenido | : 0.64 mg/100 |
| M2 | : 0.64 mg/100mg | %RSD      | : 0.4 %       |

ANALIZADO POR:

N. Neira

REVISADO POR:

K. Franco

FECHA:

17/04/2018

OBSERVACIONES:

---



**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)  
**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA**



**CENPROFARMA**  
**CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO**

ANÁLISIS POR HPLC-UV

**ORDEN DE ANÁLISIS**

**04825-2018**

**PRODUCTO** : *Vigna unguiculata*  
**PRESENTACIÓN** : Extracto  
**ANALITO** : LEUCINA  
**MÉTODO** : DERIVATIZACIÓN OPA-2ME

**FECHA DE ANÁLISIS** : 17/04/2018  
**LOTE** : ---

**ESTÁNDAR**

|                          |           |                              |              |
|--------------------------|-----------|------------------------------|--------------|
| Nombre                   | : LEUCINA | Peso 1                       | : 10.0 mg    |
| N° Lote                  | : ---     | Peso 2                       | : 10.0 mg    |
| Potencia Base seca (Pot) | : 1.0000  | Peso promedio (Wst)          | : 10.0 mg    |
|                          |           | Factor de dilución (Fdst)    | : 0.004      |
|                          |           | Concentración corregida (Cs) | : 0.04 mg/mL |

**MUESTRA**

|                 |             |                           |       |
|-----------------|-------------|---------------------------|-------|
| Cantidad (Wmp1) | : 10.000 mg | Factor de dilución (Fdmp) | : 0.1 |
| Cantidad (Wmp2) | : 10.000 mg |                           |       |

**LECTURA DE ÁREAS**

|            |                          |        |                 |
|------------|--------------------------|--------|-----------------|
| Estándares | : <u>St1</u> <u>St2</u>  | rS :   | <u>Promedio</u> |
|            | : 615.35321    611.74164 |        | 613.55          |
| Muestras   |                          |        |                 |
| Am 1       | : 154.72269              | rU 1 : | 154.72269       |
| Am 2       | : 154.55585              | rU 2 : | 154.55585       |

**CÁLCULOS**

Resultado (mg/100mg) : 
$$\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$$

**RESULTADOS**

|    |                 |           |               |
|----|-----------------|-----------|---------------|
| M1 | : 1.01 mg/100mg | Contenido | : 1.01 mg/100 |
| M2 | : 1.01 mg/100mg | %RSD      | : 0.1 %       |

**ANALIZADO POR:**

N. Neira

**REVISADO POR:**

*K. Franco*

**FECHA:**

17/04/2018

**OBSERVACIONES:**

---



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



CENPROFARMA  
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO

ANÁLISIS POR HPLC-UV

ORDEN DE ANÁLISIS

04825-2018

PRODUCTO : *Vigna unguiculata*  
PRESENTACIÓN : Extracto  
ANALITO : METIONINA  
MÉTODO : DERIVATIZACIÓN OPA-2ME

FECHA DE ANÁLISIS : 17/04/2018  
LOTE : ---

**ESTÁNDAR**

|                          |             |                              |              |
|--------------------------|-------------|------------------------------|--------------|
| Nombre                   | : METIONINA | Peso 1                       | : 10.0 mg    |
| N° Lote                  | : ---       | Peso 2                       | : 10.0 mg    |
| Potencia Base seca (Pot) | : 1.0000    | Peso promedio (Wst)          | : 10.0 mg    |
|                          |             | Factor de dilución (Fdst)    | : 0.004      |
|                          |             | Concentración corregida (Cs) | : 0.04 mg/mL |

**MUESTRA**

|                 |             |                           |       |
|-----------------|-------------|---------------------------|-------|
| Cantidad (Wmp1) | : 10.000 mg | Factor de dilución (Fdmp) | : 0.1 |
| Cantidad (Wmp2) | : 10.000 mg |                           |       |

**LECTURA DE ÁREAS**

|            |                          |      |                   |
|------------|--------------------------|------|-------------------|
| Estándares | : <u>St1</u> <u>St2</u>  | rS   | : <u>Promedio</u> |
|            | : 617.19409    603.44965 |      | : 610.32          |
| Muestras   |                          | rU 1 | : 159.77103       |
| Am 1       | : 159.77103              | rU 2 | : 161.86234       |
| Am 2       | : 161.86234              |      |                   |

**CÁLCULOS**

Resultado (mg/100mg) : 
$$\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$$

**RESULTADOS**

|    |                 |           |               |
|----|-----------------|-----------|---------------|
| M1 | : 1.05 mg/100mg | Contenido | : 1.05 mg/100 |
| M2 | : 1.06 mg/100mg | %RSD      | : 0.9 %       |

ANALIZADO POR:  
N. Neira

REVISADO POR:

*K. Franco*

FECHA:  
17/04/2018

OBSERVACIONES:

---



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



CENPROFARMA  
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO

ANÁLISIS POR HPLC-UV

|                     |                            |                          |              |
|---------------------|----------------------------|--------------------------|--------------|
|                     |                            | <b>ORDEN DE ANÁLISIS</b> | 04825-2018   |
| <b>PRODUCTO</b>     | : <i>Vigna unguiculata</i> | <b>FECHA DE ANÁLISIS</b> | : 17/04/2018 |
| <b>PRESENTACIÓN</b> | : Extracto                 | <b>LOTE</b>              | : ---        |
| <b>ANALITO</b>      | : GLICINA                  |                          |              |
| <b>MÉTODO</b>       | : DERIVATIZACIÓN OPA-2ME   |                          |              |

| ESTÁNDAR                 |           |                              |              |
|--------------------------|-----------|------------------------------|--------------|
| Nombre                   | : GLICINA | Peso 1                       | : 10.0 mg    |
| N° Lote                  | : ---     | Peso 2                       | : 10.0 mg    |
| Potencia Base seca (Pot) | : 1.0000  | Peso promedio (Wst)          | : 10.0 mg    |
|                          |           | Factor de dilución (Fdst)    | : 0.004      |
|                          |           | Concentración corregida (Cs) | : 0.04 mg/mL |

| MUESTRA         |             |                           |       |
|-----------------|-------------|---------------------------|-------|
| Cantidad (Wmp1) | : 10.000 mg | Factor de dilución (Fdmp) | : 0.1 |
| Cantidad (Wmp2) | : 10.000 mg |                           |       |

| LECTURA DE ÁREAS |                          |        |                 |
|------------------|--------------------------|--------|-----------------|
| Estándares       | : <u>St1</u> <u>St2</u>  | rS :   | <u>Promedio</u> |
|                  | : 175.43486    175.61137 |        | 175.52          |
| Muestras         |                          | rU 1 : |                 |
| Am 1             | : 386.21121              | rU 2 : | 386.21121       |
| Am 2             | : 381.78006              |        | 381.78006       |

| CÁLCULOS             |   |
|----------------------|---|
| Resultado (mg/100mg) | : $\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$ |

| RESULTADOS |                 |           |               |
|------------|-----------------|-----------|---------------|
| M1         | : 8.80 mg/100mg | Contenido | : 8.75 mg/100 |
| M2         | : 8.70 mg/100mg | %RSD      | : 0.8 %       |

|                                   |                                   |                             |                              |
|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| <b>ANALIZADO POR:</b><br>N. Neira | <b>REVISADO POR:</b><br>K. Franco | <b>FECHA:</b><br>17/04/2018 | <b>OBSERVACIONES:</b><br>--- |
|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|------------------------------|



**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)  
**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA**



**CENPROFARMA**  
**CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO**

ANÁLISIS POR HPLC-UV

ORDEN DE ANÁLISIS

04825-2018

PRODUCTO : *Vigna unguiculata*  
PRESENTACIÓN : Extracto  
ANALITO : VALINA  
MÉTODO : DERIVATIZACIÓN OPA-2ME

FECHA DE ANÁLISIS : 17/04/2018  
LOTE : ---

| ESTÁNDAR                 |                 |   |                 |
|--------------------------|-----------------|---|-----------------|
| Nombre                   | : VALINA        | Peso 1  | : 10.0 mg       |
| N° Lote                  | : ---           | Peso 2  | : 10.0 mg       |
| Potencia Base seca (Pot) | : 1.0000        |   |                 |
|                          |                 | Peso promedio (Wst)   | : 10.0 mg       |
|                          |                 | Factor de dilución (Fdst)   | : 0.004         |
|                          |                 | Concentración corregida (Cs)  | : 0.04 mg/mL    |
| MUESTRA                  |                 |   |                 |
| Cantidad (Wmp1)          | : 10.000 mg     | Factor de dilución (Fdmp)   | : 0.1           |
| Cantidad (Wmp2)          | : 10.000 mg     |   |                 |
| LECTURA DE ÁREAS         |                 |   |                 |
| Estándares               | <u>St1</u>      | <u>St2</u>  | <u>Promedio</u> |
|                          | : 263.78928     | 262.14597   | rS : 262.97     |
| Muestras                 |                 |   |                 |
| Am 1                     | : 76.61082      | rU 1 :  | 76.61082        |
| Am 2                     | : 80.54749      | rU 2 :  | 80.54749        |
| CÁLCULOS                 |                 |   |                 |
| Resultado (mg/100mg)     | :               | $\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$ |                 |
| RESULTADOS               |                 |   |                 |
| M1                       | : 1.17 mg/100mg | Contenido   | : 1.20 mg/100mg |
| M2                       | : 1.23 mg/100mg | %RSD  | : 3.5 %         |
| ANALIZADO POR:           | REVISADO POR:   | FECHA:  | OBSERVACIONES:  |
| N. Neira                 |                 | 17/04/2018  | ----            |