



**Universidad
Norbert Wiener**

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

“Identificación y cuantificación de aminoácidos esenciales en *Cicer arietinum* L. “garbanzo” y *Phaseolus lunatus* L. “pallar” por Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC)”

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

Presentado por:

Br. Ccala Sucasaca, Jackelin

Br. Ramírez Carrasco, Shaila

Asesor:

Dr. Felix Veliz Luis Miguel

LIMA – PERÚ

2020

DEDICATORIA:

Este trabajo está dedicado a Dios y a mis Padres por darme la vida, también se lo dedico a mis queridos hermanos, por su apoyo incondicional a impulsarme en seguir adelante día a día, motivándome a superar los obstáculos y mis grandes temores.

Br. Ccala Sucasaca, Jackelin

DEDICATORIA:

Este trabajo está dedicado a mí querida madre, gracias a ella he podido salir adelante y poder afrontar cada obstáculo que se me ha presentado, también se lo dedico a mi padre y a mis tres hermanos; y a mi hija porque ella es mi motivo de superación.

Br. Ramírez Carrasco, Shaila

AGRADECIMIENTO

Nuestro agradecimiento es al Dr. Félix Veliz Luis Miguel por la asesoría consecutiva en el desarrollo de la tesis y a la Dr. Juana Elvira Chavez Flores, también a nuestra alma Mater la Universidad Privada Norbert Wiener y a la Facultad de Farmacia y Bioquímica y a los docentes, por compartir sus conocimientos y aportes en nuestra formación profesional, a todos ellos les dedicamos este trabajo.

Br. Ccala Sucasaca, Jackelin

Br. Ramírez Carrasco, Shaila

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE GENERAL	IV
ÍNDICE DE TABLAS	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
RESUMEN	VIII
ABSTRACT	IX
I. INTRODUCCIÓN	1
- Situación problemática	2
- Marco teórico	2
- Estudios antecedentes	26
- Importancia y justificación de la investigación	30
- Objetivo del estudio	31
- Hipótesis de investigación	31
II. MATERIALES Y MÉTODOS	32
2.1. Enfoque y diseño	32
2.2. Población, muestra y muestreo	32
2.3. Variable de estudio	32
2.4. Técnica e instrumentos de recolección de datos	33
2.5. Proceso de recolección de datos	35
2.5.1. Autorización y coordinaciones previas para la recolección de datos	35
2.5.2. Aplicación de instrumento de recolección de datos	35
2.6. Métodos de análisis estadístico	41
III. RESULTADOS	42
IV. DISCUSIÓN	48
4.1. Discusiones	48
4.2. Conclusiones	53
4.3. Recomendaciones	54
CITAS Y REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
ANEXOS	63
ANEXO A. Matriz de Consistencia	63

ANEXO B.	Operacionalización de variables	66
ANEXO C.	Clasificación taxonómica de <i>Cicer arietinum</i> L. “Garbanzo”	67
ANEXO D.	Clasificación taxonómica de <i>Phaseolus lunatus</i> L. Pallar”	68
ANEXO E.	Protocolo de análisis por HPLC de <i>Cicer arietinum</i> L. “Garbanzo”	69
ANEXO F.	Análisis por HPLC – Alanina de <i>Cicer arietinum</i> L. “Garbanzo”	70
ANEXO G.	Análisis por HPLC – Glicina de <i>Cicer arietinum</i> L. “Garbanzo”	71
ANEXO H.	Análisis por HPLC – Metionina de <i>Cicer arietinum</i> L. “Garbanzo”	72
ANEXO I.	Análisis por HPLC – Valina de <i>Cicer arietinum</i> L. “Garbanzo”	73
ANEXO J.	Análisis por HPLC – Fenilalanina de <i>Cicer arietinum</i> L. “Garbanzo”	74
ANEXO K.	Análisis por HPLC – Lisina de <i>Cicer arietinum</i> L. “Garbanzo”	75
ANEXO L.	Protocolo de análisis por HPLC de <i>Phaseolus lunatus</i> L. “pallar”	76
ANEXO LL.	Análisis por HPLC – Alanina de <i>Phaseolus lunatus</i> L. “pallar”	77
ANEXO M.	Análisis por HPLC – Glicina de <i>Phaseolus lunatus</i> L. “pallar”	78
ANEXO N.	Análisis por HPLC – Metionina de <i>Phaseolus lunatus</i> L. “pallar”	79
ANEXO O.	Análisis por HPLC – Valina de <i>Phaseolus lunatus</i> L. “pallar”	80
ANEXO P.	Análisis por HPLC – Fenilalanina de <i>Phaseolus lunatus</i> L. “pallar”	81
ANEXO Q.	Análisis por HPLC – Lisina de <i>Phaseolus lunatus</i> L. “pallar”	82

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Composición proximal de los principales tipos de legumbres consumidas.	5
Tabla 2. Composición Química de <i>Cicer arietinum</i> L. “garbanzo”.	8
Tabla 3. Contenido de minerales de <i>Cicer arietinum</i> L. “garbanzo”.	9
Tabla 4. Requerimiento de proteínas por edades.	12
Tabla 5. Patrón e ingesta diaria de aminoácidos.	13
Tabla 6. Clasificación de Aminoácidos esenciales y no esenciales.	15
Tabla 7. Fase móvil general	38
Tabla 8. Diferencia entre las especies de <i>Cicer arietinum</i> L. “garbanzo” y <i>Phaseolus lunatus</i> L. “pallar.	42
Tabla 9. Concentraciones de los aminoácidos presentes en el <i>Cicer arietinum</i> L. “garbanzo”	45
Tabla 10. Concentraciones de los aminoácidos presentes en el <i>Phaseolus lunatus</i> L. “pallar”	47

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Semilla de <i>Cicer arietinum</i> L. “garbanzo”	6
Figura 2. Semilla <i>Phaseolus lunatus</i> L. “pallar”	10
Figura 3. Estructura de los Aminoácidos	14
Figura 4. Estructura de la Leucina	16
Figura 5. Estructura de la Isoleucina	17
Figura 6. Estructura de la Valina	17
Figura 7. Estructura de la Metionina	18
Figura 8. Estructura de la Lisina	18
Figura 9. Estructura de la Fenilalanina.	19
Figura 10. Estructura de la Triptófano	19
Figura 11. Estructura de la Treonina	20
Figura 12. Estructura de la Histidina	20
Figura 13. Estructura de la Arginina	21
Figura 14. Modelo de equipo para HPLC	22
Figura 15. Esquema general básico de un equipo para HPLC	24
Figura 16. Tiempo de Retención.	25
Figura 17. Equipo de HPLC.	34
Figura 18. Secuencia de comando.	41
Figura 19. Lectura de recorrido del standar	43
Figura 20. Lectura de recorrido del <i>Cicer arietinum</i> L.	44
Figura 21. Lectura de recorrido del <i>Phaseolus lunatus</i> L.	46

RESUMEN

El garbanzo y el pallar se encuentran dentro de la familia botánica de las leguminosas. Estas desde el punto de vista nutricional son importantes. En el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo identificar y cuantificar los aminoácidos esenciales en *Cicer arietinum* L. “garbanzo” y *Phaseolus lunatus* L. “pallar”, utilizando como **metodología** el secado, pulverizado y desengrasado con éter de petróleo, hidrolizándolo con ácido clorhídrico HCl 6 N. obteniendo el extracto proteico de *Cicer arietinum* L. “garbanzo” y *Phaseolus lunatus* L. “pallar”. Los **resultados** se identificaron y se cuantificó con la cromatografía de alta performance, en *Cicer arietinum* L. “garbanzo” los siguientes aminoácidos encontradas fueron: Alanina (0,007 mg / 100 mg), Glicina (0,929 mg / 100 mg), Metionina (0,001 mg / 100 mg), Valina (0,001 mg / 100 mg), Fenilalanina (0,033 mg / 100 mg) y Lisina (1,027 mg / 100 mg); y en *Phaseolus lunatus* L. “pallar” se encontraron: Alanina (0,008 mg / 100 mg), Glicina (0,330 mg / 100 mg), Metionina (0,001 mg / 100 mg), Valina (0,003 mg / 100 mg), Fenilalanina (0,033 mg / 100 mg) y Lisina (0,934 mg / 100 mg). Con los datos obtenidos en esta investigación se da la **conclusión** que las leguminosas estudiadas si contienen aminoácidos esenciales como son: Metionina, Valina, Fenilalanina y Lisina; lo cual pueden formar parte de la dieta diaria por su alto contenido en lisina.

Palabras clave: Garbanzo, Pallar, Aminoácidos esenciales, Cromatografía de alta performance.

ABSTRACT

The chickpea and the pallar are within the botanical family of legumes. These from a nutritional point of view are important. The objective of this research work was to identify and quantify the essential amino acids in *Cicer arietinum* L. "garbanzo" and *Phaseolus lunatus* L. "pallar", using drying, pulverizing and degreasing with petroleum ether as a methodology, hydrolyzing it with hydrochloric acid. 6N HCl obtaining the protein extract of *Cicer arietinum* L. "garbanzo" and *Phaseolus lunatus* L. "pallar". The results were identified and quantified with high performance chromatography, in *Cicer arietinum* L. "chickpea" the following amino acids found were: Alanine (0.007 mg / 100 mg), Glycine (0.929 mg / 100 mg), Methionine (0.001 mg / 100 mg), Valine (0.001 mg / 100 mg), Phenylalanine (0.033 mg / 100 mg) and Lysine (1.027 mg / 100 mg); and in *Phaseolus lunatus* L. "pallar" were found: Alanine (0.008 mg / 100 mg), Glycine (0.330 mg / 100 mg), Methionine (0.001 mg / 100 mg), Valine (0.003 mg / 100 mg), Phenylalanine (0.033 mg / 100 mg) and Lysine (0.934 mg / 100 mg). With the data obtained in this research, the conclusion is given that the legumes studied do contain essential amino acids such as: Methionine, Valine, Phenylalanine and Lysine; which can be part of the daily diet due to its high lysine content.

Keywords: Chickpea, pallar, essential amino acids, performance liquid chromatography.

I. INTRODUCCIÓN

La presente investigación se refiere al tema de identificar y cuantificar aminoácidos esenciales de las especies de *Cicer arietinum* L. “garbanzo” y *Phaseolus lunatus* L. “pallar”, como estas leguminosas no presentan investigaciones por cromatografía líquida de alta performance HPLC. Principalmente la característica de esta investigación es dar a conocer que aminoácidos esenciales contiene y la cantidad que tienen dichas especies estudiadas. Para analizar esta problemática es necesario mencionar el porqué del estudio y la importancia que se le brinda.

Una de ellas es la desnutrición infantil que ha sido catalogada por el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF) como una emergencia silenciosa, que afecta en los países de Latinoamérica y en el caribe ¹. Lo cual es un grave problema, y que es responsable de la muerte de cerca de un millón de niños cada año ².

El desarrollo humano su etapa más sensible comienza al principio de la gestación y hasta cumplir los cinco años de edad; porque en esta etapa el sistema inmunológico depende mucho de terceros que están al cuidado en la alimentación de los niños (padres o cuidadores), quienes pueden no tener los recursos o los conocimientos suficientes para llevar a cabo esta tarea de forma adecuada ³. Las manifestaciones más superficiales del problema son el bajo peso corporal, seguido por la baja altura ⁴; también influyen los factores que son la pobreza, la no lactancia materna, presencias de enfermedades y otras ⁵.

En el Perú la preocupación por la desnutrición infantil es una prioridad; lo cual nos obliga a buscar y analizar científicamente otras alternativas, para dar solución a este problema que es la mala nutrición infantil. Las legumbres proceden de la familia Leguminosae ⁶; esta familia contiene importantes beneficios para la salud y deben formar parte habitual de nuestra dieta que brindan aminoácidos esenciales importantes para el desarrollo infantil ⁷. Son alimentos muy completos, en su composición se incluyen prácticamente todos los nutrientes y destaca por su aporte en proteínas (19 % - 36 %) ⁸. Su elevado contenido proteico en comparación a la mayoría de especies, convierte a esta familia como una de las principales fuentes de proteína vegetal para el hombre ⁹. Además, las leguminosas tienen un bajo costo y es de fácil almacenamiento ¹⁰.

La investigación se realizó por el interés, de dar a conocer los aminoácidos esenciales que contienen las especies, para poder mostrar que hay alternativas de combatir a la desnutrición infantil. Primero es identificar y cuantificar los aminoácidos lo cual es un interés académico, en el ámbito profesional es dar a conocer sus propiedades y poder buscar un interés científico para posteriores investigadores; lo cual conllevará a dar una solución al pueblo peruano y sobre todo aquellas familias de bajo recurso económicos.

- **Situación problemática**

¿Qué aminoácidos esenciales tendrán las especies *Cicer arietinum* L. “garbanzo” y *Phaseolus lunatus* L. “pallar” identificado por cromatografía líquida de alta performance (HPLC)?

- **Marco teórico**

1. Legumbres

Las legumbres existen desde hace millones de años y su domesticación podría ser más antigua que la del maíz. A la vez están extendidas por todo el planeta, incluyendo regiones con climatologías extremas de calor y frío^{1,8}. Se puede decir que hay legumbres como el frijol, pallar y el tarwi que son originarios del Perú, contando con una amplia biodiversidad en la Costa 31 %, Sierra 59% y Selva 10%, involucrando a más de 140 mil pequeños productores en el país¹¹.

Las legumbres son leguminosas, de la familia Leguminosae, llamadas vainas, contienen semillas y flores que están encerradas en un fruto. Estas plantas angiospermas contienen valvas que se abren longitudinalmente encontrando dos suturas^{6,12}.

Las legumbres están llenas de nutrientes y tienen un contenido de proteínas que es el 20%, la mayor parte de su composición de las legumbres es de 60 a 65 % de almidón, también contiene fibras y vitaminas como la B1, B2 y B3 y a la vez mencionar que contiene calcio y hierro. Como contenido graso solo contiene de 2 a 5 %; debido a estas cualidades, son recomendadas por las organizaciones sanitarias para hacer frente a

las enfermedades no transmisibles ¹². Las legumbres se complementan con los productos de origen animal, porque no brindan grasa saturada y ni colesterol, estas tienen una importancia de proteínas vegetal, aunque no contengan todos los aminoácidos esenciales para el hombre ^{6,13}. Las legumbres es importante para los agricultores, porque pueden venderlas y poder consumir ya que hay más de 13,000 especies diferentes. Las cuales son siete de estas especies más representativas y que son producidas comercialmente para su consumo en todo el mundo; como son ⁶:

- a. los pallares,
- b. las lentejas,
- c. las habas,
- d. el garbanzo,
- e. la soya y
- f. el frijol.

2. Clasificación de las especies de legumbres:

Se clasifica estas especies por ser más representativos y son ¹:

- a. Alubias o frijoles secos
- b. Lupinos
- c. Habas secas
- d. Altramuces
- e. Frijoles bambara
- f. Lentejas
- g. Guisantes secos
- h. Vezas o alverjas secas
- i. Garbanzos secos
- j. Guandúes o grandules secos
- k. Carillas o frijoles caupíes secos.

3. Importancia de las legumbres en la alimentación y crecimiento

Las leguminosas contienen fitonutrientes; que son los taninos, los flavonoides y a los compuestos fenólicos; teniendo la actividad de eliminar

los radicales libres, activar las enzimas, formar complejos con los metales e inhibir oxidasas ⁷, están consideradas como un alimento de índice glucémico (IG) bajo ¹³. Sus propiedades beneficiosas de las legumbres en la salud humana dependen mucho de su composición química las cuales representan evidencias científicas; sus beneficios son ¹⁰:

- a. En la salud, cardiovascular y tiene actividad antioxidante.
- b. En la obesidad y sobrepeso.
- c. En la salud gastrointestinal.
- d. Índice glicémico y resistencia a insulina.

Tabla 1. Composición proximal de los principales tipos de legumbres consumidas ⁶.

Nutriente	Soya	Garbanzo	Cacahuete	Chicharo	Haba	Lenteja	frijol
Agua (%)	8,54	11,53	6,5	11,27	10,98	10,4	11,02
Proteína (%)	36,49	10,30	25,80	24,55	26,12	25,8	21,60
Grasa (%)	19,94	6,04	49,54	1,16	1,53	1,06	1,42
Ceniza (%)	4,87	2,48	2,33	2,65	3,08	2,67	3,60
Carbohidratos (%)	30,16	60,65	16,13	60,37	58,29	60,08	62,36
Fibra total (%)	9,30	17,4	8,50	25,5	25	30,50	15,2
Calcio (mg/100g)	277	105	92	55	103	56	123
Hierro (mg/100g)	15,70	6,24	4,58	4,43	6,70	7,54	5,02
Magnesio (mg/100g)	280	115	168	115	192	122	171
Potasio (mg/100g)	1797	875	705	981	1062	955	1483
Zinc (mg/100g)	4,89	3,43	3,27	3,01	3,14	4,78	3,65
Selenio (mg/100g)	17,8	8,2	7,2	1,60	8,2	8,3	3,2

4. *Cicer arietinum* L. “garbanzo”

El “garbanzo” es una leguminosa de la familia Fabáceas ¹⁴. Esta planta es anual, con raíces grandes, sus tallos son ramificados y pelosos, llegan a una altura de 0,60 m. Tiene glándulas excretoras; sus hojas son imparipinadas; con folíolos dentado; flores auxiliares; frutos en bivalva con una o dos semillas en su interior, son ligeramente arrugadas, con dos cotiledones ¹⁵. El garbanzo es ampliamente consumido en todo el mundo; se cultiva extensamente en Asia, llegando hasta Burneo en el oriente. También se cultiva en el sur de Europa, en África y en América Latina ¹⁴. La FAO, señala que otros países asiáticos son productores del garbanzo como es Irán y Nepal; por América Latina están México, Perú (zonas productoras están en los departamentos de Ica, Lambayeque y La libertad), Chile y Argentina; por Europa están España, Italia y Portugal; y por África están Etiopía y Egipto ¹⁴.

4.1. Clasificación Taxonómica

DIVISIÓN: Magnoliophyta

CLASE: Magnoliopsida

SUBCLASE: Rosidae

ORDEN: Fabaceae

FAMILIA: Fabaceae

GENERO: *Cicer*

ESPECIE: *Cicer arietinum* L.

Nombre vulgar: “garbanzo” Ver anexo C



Figura 1. Semilla de *Cicer arietinum* L. “garbanzo”

4.2. Morfología del “garbanzo”

El garbanzo depende del genotipo y de las condiciones ambientales donde se desarrolla. Es una planta principalmente autógama; su autopolinización, ocurre antes que la flor se abra, se conoce como cleistogamia ¹⁵.

El garbanzo es una planta herbácea, es anual y que llega a alcanzar de 60 cm de altura ¹⁶. Sus raíces son de un sistema radicular pivotante con glándulas excretoras; tiene una longitud de 40 a 50 cm de profundidad, lo cual se adapta a suelos pobres y con poca disponibilidad de agua ¹⁶. En los tallos son rectos y vellosos, es redondeado, aparecen ramas primarias y a su vez, de éstas, secundarias. Del tallo principal desarrollan nudos vegetativos ¹⁶. Sus hojas de garbanzo son paripinnadas o imparipinnadas; sus folíolos son glandulosos, con el borde aserrado y sin zarcillos ¹⁶.

En la base presenta dos estípulas dentadas, se caracterizan por ser pubescentes ¹⁶.

Las flores son axilares, solitarias, de colores blancos o violetas que dan una vaina. Sus flores presentan 10 estambres, ellos se unen antes de la apertura de las flores dejando libre el polen sobre el pistilo, con 9 filamentos fusionados y uno libre ¹⁶.

En los frutos se encuentran en vainas con 2 a 3 semillas como máximo, suelen ser arrugadas ¹⁶, es también pubescente y puntiagudo ¹⁵.

Hay 3 tipos de variedad de garbanzo, que se diferencia por el tamaño, coloración y forma de la semilla ellos son ¹⁷:

1. Tipo kabuli: tamaño medio a grande, arrugados y redondeados, claro, flores no pigmentadas. Se encuentra en la región mediterránea, América Central y del sur ¹⁴.
2. Tipo desi: grano pequeño, son de forma angular y amarillo o negro. Las flores, los tallos y en algunas ocasiones también las hojas son pigmentados; habitan en la India ^{14,17}.
3. Tipo gulabi: es un grano pequeño, es de color claro, liso y redondeado ¹⁷.

4.3. Contenido nutricional

El garbanzo contiene alrededor de 22 % de proteínas y un alto contenido de grasa y fibra en su composición química ¹⁸.

**Tabla 2. Composición Química de *Cicer arietinum* L.
“garbanzo”¹³.**

COMPONENTE QUIMICO	harina de garbanzo crudo (g / 100g)
Agua	7,68
Proteínas	20,47
Grasas	6,04
Carbohidratos	62,95
Fibra	12,2

Sus Carbohidratos representan alrededor del 80% del total del grano del garbanzo en peso; presenta concentraciones de monosacárido de galactosa (0,05 %), de ribosa (0,01 %), de fructuosa (0,25 %) y de glucosa (0,7 %) ¹⁸.

Las proteínas varían dependiendo de la masa total del grano de 17 % a 22 % y descascarado incrementa a 25,3 % hasta 28,9 % ¹⁹.

La concentración principalmente de los lípidos de tipos desi es de 2,9 % a 7,4 % y kabuli de 3,4 % a 8,8 %. Sus ácidos poliinsaturados son de 62 % a 67 %, los ácidos grasos mono-insaturados de 19 % a 26 % y las grasas saturadas de 12 % a 14 % ¹⁹.

El garbanzo contiene vitaminas hidrosolubles y liposolubles, con el que destaca el grupo de las vitaminas B como son la riboflabina (B2) que se encuentra en pequeñas cantidades; ésta se activa después de ser absorbida por el intestino delgado, la niacina (B3), y se asocia con el contenido de proteínas por lo mismo que los alimentos ricos en proteínas ¹⁹.

Los minerales llegan a aporta el 15 % para el hierro y zinc, el 40 % de manganeso y cobre^{14, 17, 19}.

Tabla 3. Contenido de minerales de *Cicer arietinum* L. “garbanzo”¹⁸.

Mineral	Cantidad (mg)	
	Mínima	Máxima
Calcio	40,0	267,0
Magnesio	10,0	239,0
Fósforo	159,0	930,0
Potasio	220,0	1330,0
Sodio	2,1	64,0
Azufre	160,0	200,0
Hierro	3,2	14,3
Magnesio	0,1	9,4
Cobalto	6,0	41,0
Zinc	2,0	5,4
Selenio	0,5	10,0

5. *Phaseolus lunatus* L. “pallar”

El pallar es una leguminosa de grano que tiene fuerte incidencia en la cultura popular alimentaria de sus pobladores; se han convertido en un valioso objeto de estudio debido a su contenido proteico ²⁰.

El género *Phaseolus* habita en México, Guatemala y Perú. Llamado también frijol lima en la costa del Caribe ²¹. Las evidencias genéticas se dice que es de la época prehispánica, su cultivo es en México y Perú, en el norte del Perú se ha encontrado su forma silvestre del pallar, también se cultiva en Ancash y en la costa ^{20,21}.

El cultivo del pallar se desarrolló muy bien en el valle de Ica, porque presenta condiciones agroclimáticas favorables para su producción ²².

Los pallares pueden agruparse en tres variedades conocidas, que el agricultor podría elegir ^{20,22}:

1. Pallar criollo; variedades tardías
2. Señor de Luren y Generoso de Ica; variedades semiprecoces
3. Sol de Ica e Iqueño precoz; variedades precoces.

5.1. Clasificación Taxonómica

DIVISIÓN: Magnoliophyta

CLASE: Magnoliopsida

SUBCLASE: Rosidae

ORDEN: Fabales

FAMILIA: Fabaceae

GENERO: *Phaseolus*

ESPECIE: *Phaseolus lunatus* L.

Nombre vulgar: “pallar” Ver anexo D



Figura 2. Semilla *Phaseolus lunatus* L. “pallar”²¹.

5.2. Morfología del “pallar”

El *Phaseolus lunatus* L. posee una raíz con un sistema radicular, no es engrosada ²³, sus tallos son glabros, estriados y contienen algunos pelos ^{20,24}.

Sus hojas son de forma rómbicos ovados, que miden de 3 a 13 cm de largo 1,5 a 6 cm de ancho, su base presenta una forma redondeada y

su ápice es agudo; sus peciolos miden de 1,8 a 12 cm de largo y son de color azul verdoso ^{20,25}.

La inflorescencia mide de 8 a 36 cm de largo, nos refiere que son más largos que las hojas ²⁵. Su pedúnculo llega a medir a 13 mm de largo y lo cual presenta brácteas primarias que contienen 3 nervios ²⁵.

En las flores sus colores son lila, rosada y violeta, que llegan a presentar una longitud de 1 a 1,5 cm, su cáliz contiene un campanulado de 2,5 a 3,5 cm de largo y es glabro. Su estambre es libre con apéndice globoso y estigma introrso. Su estandarte es oblongo que mide de 6,5 a 7 mm de largo, alas obovadas de 10 a 15 mm de largo y la quilla con 1,5 a 2 mm ²⁰.

Los frutos y las semillas son oblongos, recurvada en forma de media luna que miden de 3,5 a 8,3 cm de largo por 1,4 cm de ancho ²⁰.

Los frutos contienen de 3 a 6 semillas que tienen forma cuadrada, reniformes midiendo de 6 a 10 mm de largo por 5 a 9 mm de ancho.

Las semillas son de formas aplanadas, arriñonadas y tienen estrías muy pronunciadas ²⁶.

6. Proteínas

Las proteínas son el principal componente estructural y funcional de las células ²⁷. Son de gran importancia para los seres vivos y cumplen numerosas e importantes funciones dentro del organismo ²⁸.

Las proteínas constituyen el 50% del peso seco de la célula por lo que representan la categoría de biomoléculas más versátiles y más diversas. Realizan una enorme cantidad de funciones más diversas como enzimas, hormonas, catalizadoras y transportadoras ²⁹. Las proteínas básicamente son formadas por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Pueden además contener azufre y en algunos tipos de proteínas, fósforo, hierro, magnesio y cobre entre otros elementos ³⁰. Las proteínas son poliamidas, las cuales por hidrólisis dan aminoácidos ³¹. Las proteínas de origen vegetal presentan ciertas ventajas en comparación con las proteínas de origen animal, por ejemplo ²⁸:

- a. El bajo costo de producción,
- b. El almacenamiento durante periodos largos y
- c. Son fáciles de manejar y transportar.

La FAO/OMS/ONU, define como una necesidad las proteínas; porque tiene como el nivel más bajo de ingesta ¹:

- a. Mujeres embarazadas
- b. Niños (menores de 5 años), y
- c. Adultos mayores.

Incluye además que el requerimiento de proteínas cumpla las necesidades de crecimiento y las asocie al depósito de tejidos, y producción de leche para poder permitir el desarrollo y crecimiento normal del lactante, para así poder general y tener una mejor calidad de vida saludable ^{30,32}.

Los alimentos se definen por su calidad y cantidad de aminoácidos esenciales, por lo cual FAO pone como referencia a los huevos leche y carne, los cuales contienen una proporción de aminoácidos esenciales utilizables al 100% ^{1,6}.

Tabla 4. Requerimiento de proteínas por edades ¹.

EDAD (años)	REQUERIMIENTO DE PROTEINAS (g proteínas / Kg de peso corporal / día)
0 - 5	1,31
1-2	1,14
3-10	0,91
11-14	0,90
15-18	0,85
>18	0,83

Tabla 5. Patrón e ingesta diaria de aminoácidos ¹.

AMINOÁCIDO ESENCIAL	Leche Materna (g / 100 g proteína)	Patrón de aminoácidos sugeridos por FAO / OMS (g / 100 g proteína)*						Ingesta diaria de aminoácidos recomendado por FAO / OMS (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 + CISTEINA	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 + 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
TRIPTOFANO	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

7. Aminoácidos

Los aminoácidos son las unidades químicas o elementos fundamentales, las proteínas poseen una molécula orgánica con un grupo amino ($-NH_2$) y un grupo carboxílico ($-COOH$; ácido) ³³.

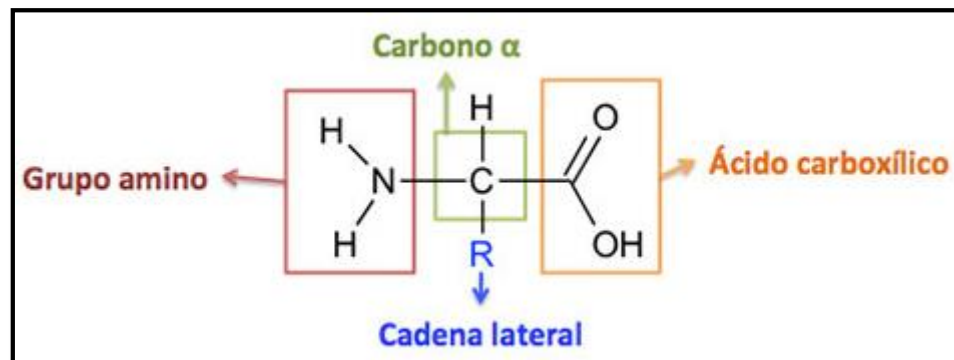


Figura 3. Estructura de los Aminoácidos ³³.

Los aminoácidos están formados por un carbono α unido a un grupo carboxilo, a un grupo amino, a un hidrógeno y a una cadena (habitualmente denominada R) de estructura variable, que determina la identidad y las propiedades de los diferentes aminoácidos; existen cientos de cadena R por lo que se conocen cientos de aminoácidos diferentes, pero solo 20 forman parte de las proteínas y tienen codones específicos en el código genético. El 80% de estos nutrientes se producen en el hígado, son los llamados aminoácidos no esenciales, y el 20% restante debe proveerse a través de la dieta y reciben el nombre de aminoácidos esenciales ³⁴. Los aminoácidos se combinan en una reacción de condensación que libera agua formando un enlace peptídico. Estos dos aminoácidos forman un dipéptido. Si se une un tercer aminoácido se forma un tripéptido y así, sucesivamente, para formar un polipéptido. Esta reacción ocurre de manera natural en los ribosomas ³⁵. Los aminoácidos cumplen funciones en el organismo cuando las proteínas se digieren o se descomponen ³⁶. El cuerpo humano utiliza a los aminoácidos para ³⁵:

- Descomponer los alimentos
- Reparar tejidos corporales
- fuerza de energía por parte del cuerpo ³⁷.

Tabla 6. Clasificación de Aminoácidos esenciales y no esenciales ³⁸.

AUTOR	NUMERO DE AMINOÁCIDOS	AMINOÁCIDOS ESENCIALES	AMINOÁCIDOS NO ESENCIALES
Ralph J. Fesseden	20	Arginina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Fenilalanina, Treonina, Triptófano, Valina	Alanina, Asparagina, Ácido aspártico, Cisteína, Ácido glutámico, Glutamina, Glicina, Prolina, Serina, Tirosina.
T.W. Graham Solomons	22	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.
Charles W. Van Way III	21	Leucina, Isoleucina, Valina, Lisina, Fenilalanina, Metionina, Treonina, Triptófano, Histidina y Arginina.	Taurina, Tirosina, Cisteína, Glicina, Serina, Prolina, Glutamina, Alanina, Glutamato, Asparagina y Aspartato.
Robert K.	22	Arginina, Fenilalanina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Treonina, Triptófano y Valina.	Alanina, Asparagina, Aspartato, Cisteína, Glicina, Glutamato, Glutamina, Hidroxilisina, Prolina, Serina y Tirosina.

7.1. La clasificación de aminoácidos esenciales:

Los aminoácidos del grupo de esenciales, se denominan así porque el organismo no los puede sintetizar y deben ser consumidos a través de la dieta ³⁷.

Los aminoácidos esenciales son:

a. Leucina

Es un aminoácido que facilita la cicatrización del tejido muscular, la piel y también tiene la propiedad de reducir el azúcar en la sangre y llega a aumentar la producción de las hormonas de crecimiento ³⁵. El metabolismo de la leucina da lugar a aceto acetil coenzima A ³⁶.

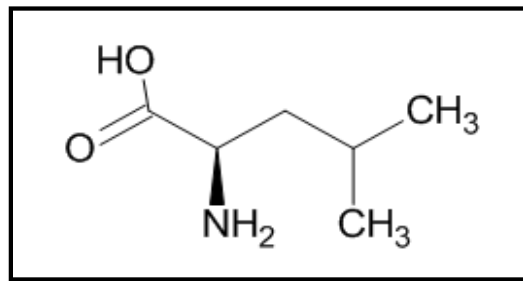


Figura 4. Estructura de la Leucina ³⁹.

b. Isoleucina

Actúa en la formación de la síntesis de la hemoglobina, formando una parte importante de nuestro código genético; es un aminoácido que ayuda a regenerar y a reparar los tejidos de la piel, los tejidos musculares y regula el azúcar en la sangre ³⁵.

El metabolismo de la Isoleucina da lugar a oxalacetato ³⁶.

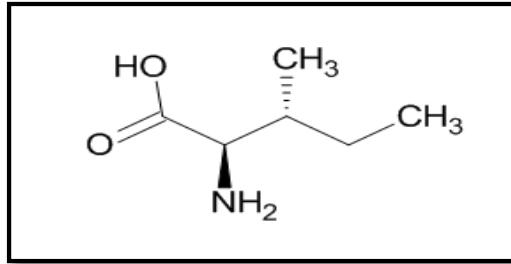


Figura 5. Estructura de la Isoleucina ³⁹.

c. Valina

Es un aminoácido que participa en forma integral de la reparación de los tejidos y el metabolismo muscular ³⁵.

El metabolismo de la valina da lugar a propionil coenzima A ³⁶.

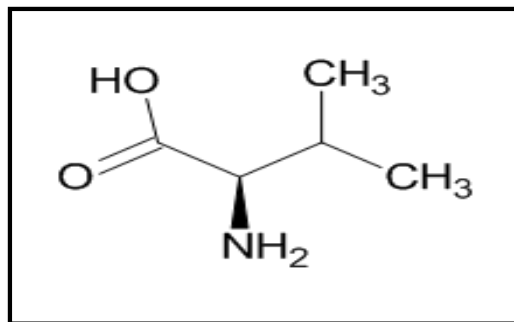


Figura 6. Estructura de la Valina ³⁹.

d. Metionina

Funciona como antioxidante; pertenece al grupo llamado lipotrópicos lo cual le hace participación en la descomposición de las grasas ³⁵.

La metionina aporta azufre y otros compuestos que ayuda a protegernos de los efectos que causan radiaciones y a la vez nos ayuda a enfrentarnos a las alergias ⁴⁰.

El metabolismo de la metionina da lugar a la homocisteína ³⁶.

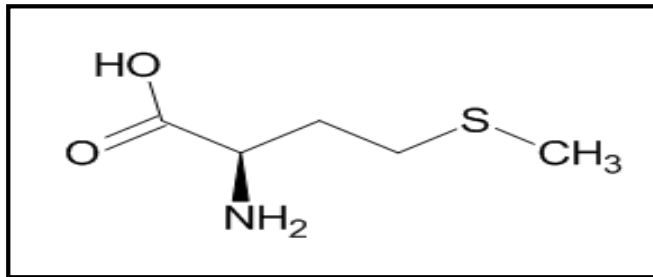


Figura 7. Estructura de la Metionina ³⁹.

e. Lisina

Este aminoácido es de gran importancia, el organismo no puede sintetizarlo, lo cual debe ser aportado en nuestra alimentación ⁴⁰.

Ese aminoácido esencial interviene en la absorción de calcio, en la formación de colágeno en cartílagos y tejidos conectivos; además interviene en la producción de anticuerpos; la lisina también mantiene equilibrados los niveles de nitrógeno en personas adultas ⁴¹.

El metabolismo de la lisina da lugar a la cadaverina por un proceso de descarboxilación ³⁶.

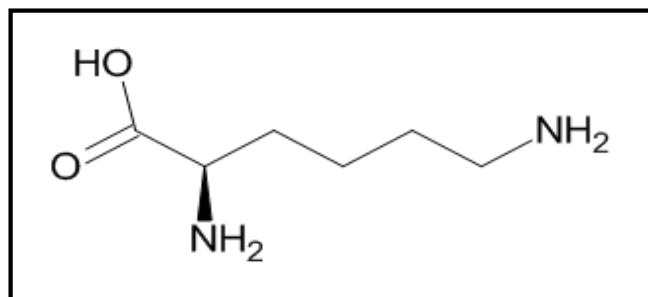


Figura 8. Estructura de la Lisina ³⁹.

f. Fenilalanina

Es un aminoácido esencial; que ayuda a mejorar la memoria y el aprendizaje ²⁴. Es productora de la noradrenalina, la cual es una

sustancia responsable de la transmisión de señales entre las células nerviosas en el cerebro ⁴¹.

El metabolismo de la fenilalanina da lugar a la tirosina ³⁶.

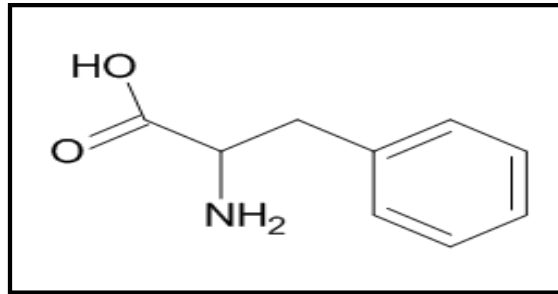


Figura 9. Estructura de la Fenilalanina ³⁹.

g. Triptófano

Es uno de los aminoácidos que interviene en el sistema inmunológico; actúa como relajante natural, alivia el insomnio, la ansiedad y la depresión ³⁵.

Es productor de la vitamina B3 ⁴¹.

El metabolismo del triptofano da lugar a la triptamina ³⁶.

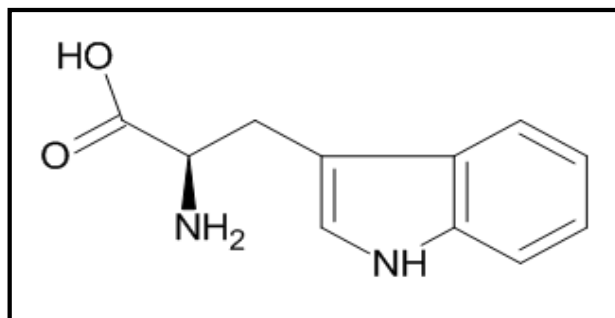


Figura 10. Estructura de la Triptófano ³⁹.

h. Treonina

La treonina ayuda a regular las cantidades adecuadas de proteínas en el cuerpo ³⁵. Además, previene la acumulación de grasa en algunos órganos ⁴¹.

El metabolismo de la treonina da lugar a la glicina ³⁶.

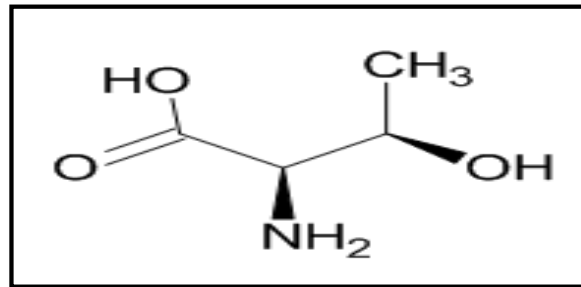


Figura 11. Estructura de la Treonina ³⁹.

i. Histidina

Es un aminoácido que interviene en el crecimiento y en la reparación de los tejidos; es necesaria para la producción de glóbulos rojos y blancos en la sangre ³⁵. El metabolismo de la histidina da lugar a la histamina ³⁶.

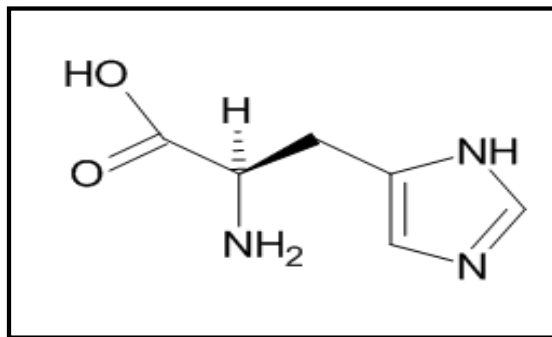


Figura 12. Estructura de la Histidina ³⁹.

j. Arginina

La arginina es un aminoácido semi-esencial, este aminoácido se utiliza en el tratamiento de ciertas enfermedades cardíacas, porque destaca como precursor del óxido nítrico (NO_2), este compuesto tiene la capacidad de dilatar los vasos sanguíneos.

Además, la arginina también fortalece el sistema inmunitario, este aminoácido tiene mayor efecto insulinógeno (que interviene en la liberación y en la acción de algunas hormonas), como la hormona de crecimiento ³⁵.

Este aminoácido es muy necesario en el alimento diario de los niños, porque fortalece y protege el desarrollo correcto del sistema inmunitario ⁴¹.

El metabolismo de la arginina da lugar a la ornitina ³⁶.

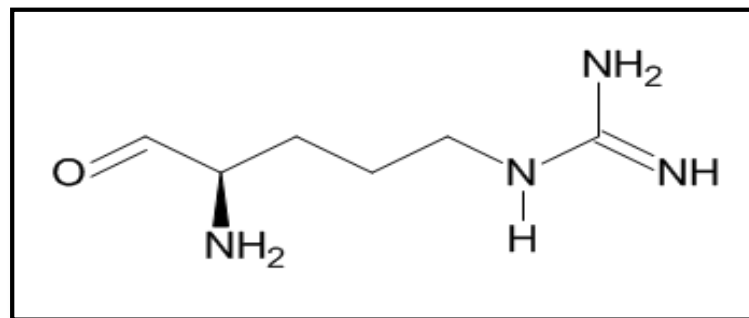


Figura 13. Estructura de la Arginina ³⁹.

8. Cromatografía Líquida de Alta performance (HPLC)

La bioquímica y la química analítica se utiliza la cromatografía líquida de alta performance (HPLC) ⁴²; que tiene una gran sensibilidad y que sus determinaciones son cuantitativas y exactas ⁴².

La cromatografía líquida de alta performance está dentro de las técnicas cromatográficas, es un método físico que consiste en la separación de los

componentes de una mezcla, basándose en diferentes tipos de interacciones químicas ⁴³, los componentes se distribuyen en dos fases, una estacionaria y otro móvil. La mezcla es un líquido que va a fluir a través de una columna hacia la fase estacionaria ⁴⁴, lo cual pasara por la bomba de alta presión que a la ves es forzada e impulsada por la fase móvil ⁴³.

La cromatografía es utilizada para identificar y cuantificar como: aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, hidrocarburos, carbohidratos, fármacos, terpenoides, plaguicidas, antibióticos, esteroides y sustancias de caracteres inorgánicas ⁴².

Su determinación es de compuestos no volátiles (alto peso molecular, iones metálicos) o termolábiles ³⁷. Su aplicabilidad a sustancias de interés general es a industrias, salud y al medio ambiente ⁴¹.

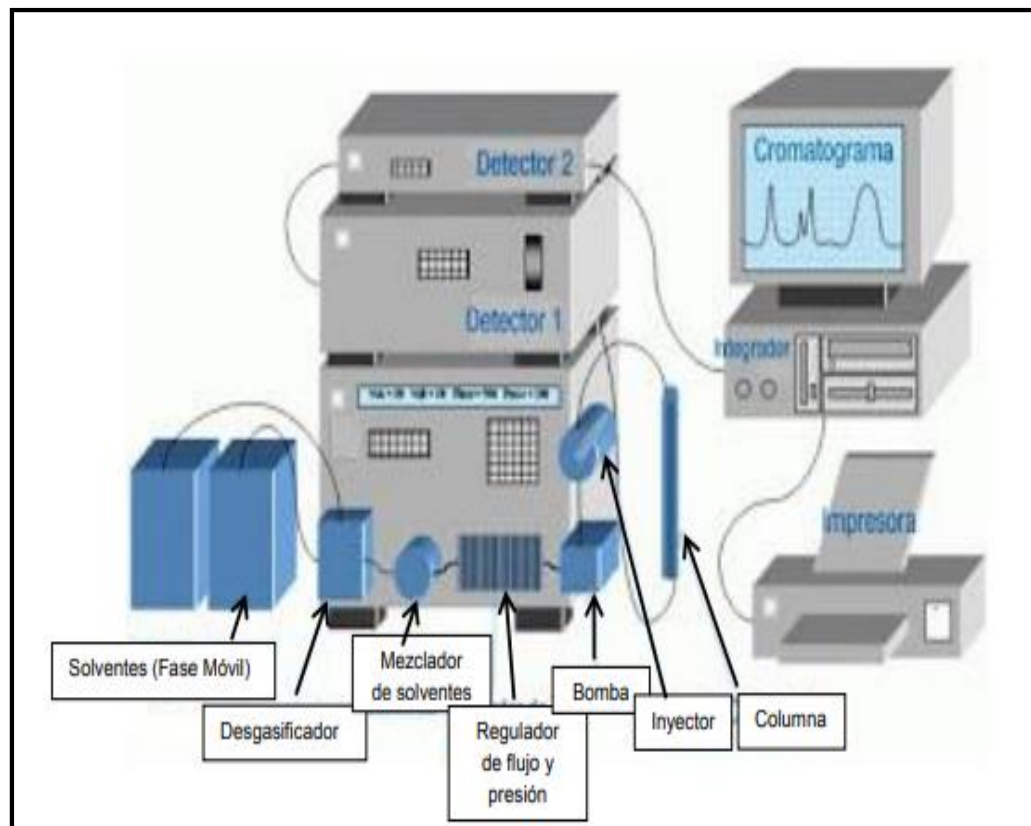


Figura 14. Modelo de equipo para HPLC ⁴⁵.

8.1. Componentes de cromatografía líquida de alta performance (HPLC)

Sus componentes del HPLC son:

- a. La bomba: Se trabaja por su rendimiento, se mide en su habilidad para generar un flujo, también se utiliza por el método, la técnica y el modelo del fabricante ⁴⁶.
- b. En la fase móvil: principalmente los solventes que se utilizan son: el metanol, propanol, acetonitrilo y el agua; también se utilizan solventes de baja viscosidad principalmente no acuosos y soluciones amortiguadoras ⁴⁶.
- c. Gradientes de elusión: Tiene dos procesos uno es cuando el solvente se mantiene constante en toda la separación, lo cual se llama elusión isocrática; y el otro proceso se conoce como gradientes de elusión, que, si la relación de los solventes cambia a un determinado tiempo, se utiliza cuando se separan mezclas que tienen varias características ⁴⁶.
- d. La columna: Estas soportan presiones altas, por eso su diseño están hechas por acero inoxidable ⁴⁶.
- e. El detector: Se encuentra al final de la columna y la señal se transforma en una gráfica en función del tiempo, llamado cromatograma, consta de una serie de picos simétricos. Los picos sobre el eje de los tiempos se emplean para identificar tanto cualitativa (posición en el eje) como cuantitativamente (área bajo los picos) que son los componentes de la muestra ⁴⁷.

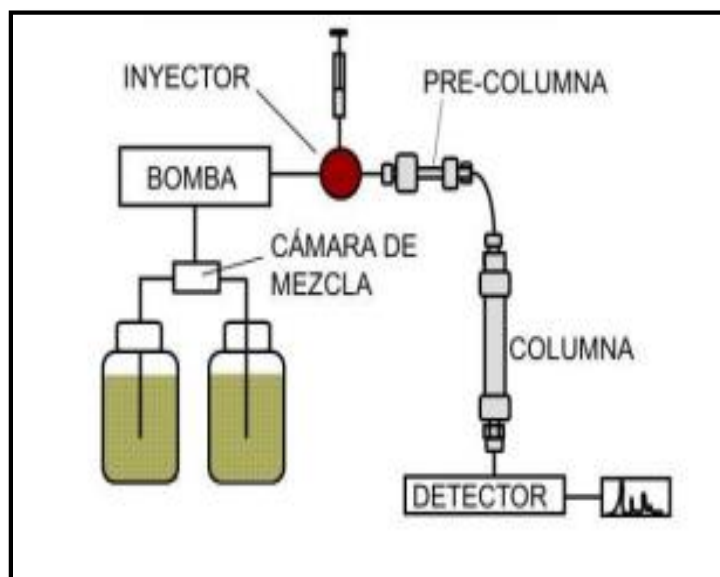


Figura 15. Esquema general básico de un equipo para HPLC ⁴⁵.

8.2. Términos comúnmente usados en cromatografía

Los términos son:

1. Cromatograma: Es una representación gráfica, de la concentración del analito, es una medida de concentración entre el efluente y el volumen del tiempo ⁴⁸.
2. Pico: Es la respuesta registrada del detector cuando un componente es individual que eluye de la columna. Se define por su área, altura y ancho en la línea de base. Si la separación es incompleta, se puede registrar la elución de dos o más componentes como un pico no resuelto ⁴⁹.
3. Tiempo de retención (t_R): Se define como el tiempo transcurrido entre la inyección de la muestra y la aparición de la respuesta máxima ⁵⁰. Se puede usar el tiempo de retención como un parámetro para identificación ⁴⁹. Los tiempos de retención cromatografía son

característicos de los compuestos que representan, pero no son únicos ⁵⁰. La coincidencia de los tiempos de retención de una muestra y de una sustancia de referencia puede usarse como un criterio parcial en la construcción de un perfil de identidad, pero es insuficiente por sí misma para establecer la identidad ⁵¹. Los tiempos de retención absolutos de un compuesto dado varían de un cromatograma al siguiente ⁴⁹.

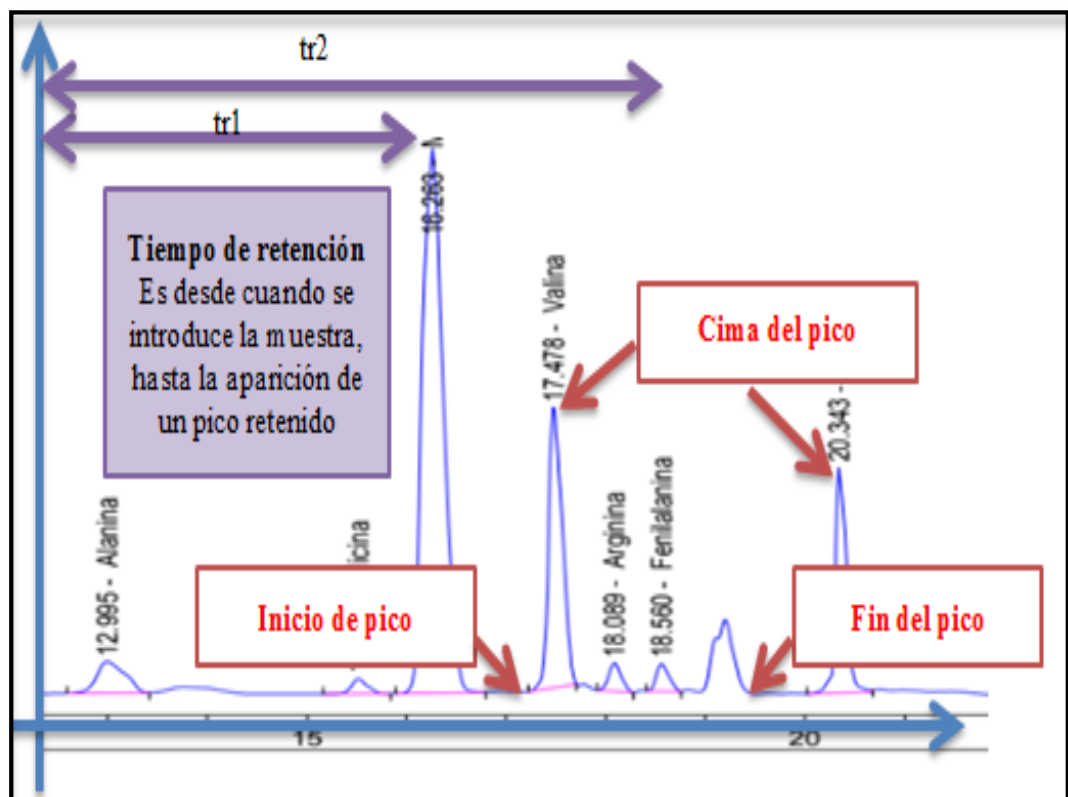


Figura 16. Tiempo de Retención ⁵¹.

- Estudios antecedentes

Antecedentes Internacionales

Perugachi M. (2017), en Ecuador, en su investigación de “Análisis de la sustitución de proteína animal por concentrado proteínico de Haba (*Vicia faba*) en salchichas tipo vienesa”. Cual **objetivo** fue analizar la sustitución de proteína animal por concentrado proteínico de haba (*Vicia faba*) en salchichas tipo vienesa. La **metodología** fue en realizar un análisis proximal (proteína, extracto etéreo, humedad y cenizas) a la materia prima, para la elaboración de salchicha tipo vienesa, se utilizó un diseño completamente al azar, con tres repeticiones, donde la variable de diseño fue el porcentaje de concentrado proteínico de haba en 5 niveles, para dar una respuesta de aceptabilidad se utilizaron las variables de respuesta que fueron color, textura, análisis sensorial y microbiológico (recuento total Aerobios, mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmolnella* spp). Los **resultados** obtenidos del análisis estuvieron dentro de los niveles de aceptación, Lo cual se eligió la muestra de salchicha con 4 % de concentrado de proteína de haba, según las Normas Ecuatorianas el porcentaje de proteína vegetal es de 4 %. Con la formulación elegida se realizó un análisis proximal, luego un análisis microbiológico. Como **conclusión** se puede considerar la utilización de concentrado proteínico de haba (*Vicia faba*) para aplicar como ingrediente en un embutido cocido, pudiendo sustituir parcial o totalmente para la elaboración de embutidos, de esta manera se estaría dando un valor agregado a un producto cultivado en el Ecuador ⁵².

Yesid A, et al. (2016), en Colombia, en su investigación realizada sobre la “Evaluación Nutricional de Concentrados Proteicos de *Phaseolus lunatus* y *Vigna unguiculata*”. El **objetivo** fue evaluar el potencial nutricional de concentrados proteicos de *Phaseolus lunatus* (frijol lima) y *Vigna unguiculata* (caupí), para desarrollar nuevos productos alimenticios. La **metodología** fue considerada por la OMS y la FDA de Estados Unidos, utilizando la propuesta por Jaimes et al., (2014),

con el método de soxhlet en la obtención y concentrado proteico, en la determinación fisicoquímicas se utilizaron AOAC (2003); para la determinación de aminoácidos esenciales se realizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y en la determinación del índice de calidad proteínica se aplicó el método por Cervilla et al., (2012) y Mujica et al., (2001). Los **resultados** mostraron que a pesar de que la composición de aminoácidos determinada por HPLC fue mayor en el concentrado proteico de *vigna unguiculata*; el concentrado de *Phaseolus lunatus* presentó características nutricionales levemente superiores, con un valor de proteínas según método AOAC de 66,8%; y un coeficiente de digestividad de 83,93 %; mientras que los valores de concentrado proteico de *Vigna unguiculata*, fueron de 65,29 %. Se **concluye** que, a pesar de no encontrarse diferencias significativas en las características evaluadas, tienen gran similitud en lo referente al potencial nutricional, dando una posibilidad de ser incorporados a ciertos alimentos ²⁵.

Aguilar V. (2013), en México, en la investigación realizada sobre “Propiedades nutricionales y funcionales del garbanzo (*Cicer arietinum* L.). El **Objetivo** fue revisar las propiedades nutricionales y funcionales del garbanzo y de su harina, como ingrediente potencial para el desarrollo de nuevos productos. La **metodología** fue realizar revisiones bibliográficas a nivel mundial de cómo se consume, las diferentes formas de preparación que se ofrecen a las personas una valiosa nutrición y beneficios para la salud. Como **resultado** se mostraron que es una fuente de carbohidratos y proteínas que representa alrededor del 80 % del peso seco del grano, también presenta almidón de 37,5 % a 50,8 %, de lípidos de 2,9 % a 8,8 %, vitaminas del complejo B, rica en piridoxina, en minerales el manganeso y cobre con 40 %, hierro y zinc con el 15 %, en calcio contiene 40,267 mg / 100 g y compuestos bioactivos que no son nutricionales. Como **conclusión**, es un alimento rico en proteínas cuya propiedad está condicionada por la forma de cultivo; en la forma de harina sus propiedades se pueden ver afectadas por los tratamientos a que son sometidas. Este potencial se debe aprovechar para formular y desarrollar alimentos funcionales ⁵³.

Reyes C, et al. (2000), en México, en su investigación realizada sobre la “composición química y calidad nutritiva de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) Fresco y endurecido después de la fermentación en estado sólido”. Plantearon como **objetivo** estudiar el efecto de la fermentación en estado sólido sobre la composición química y calidad nutricional del garbanzo fresco y endurecido. El **método** que se utilizó fue el endurecimiento del garbanzo que es de la variedad blanco (*Cicer arietinum* L.) para consumo humano, se produjo mediante almacenamiento acelerado de una temperatura de 33 a 35 ° C, y a una humedad relativa de 75%, durante 180 días, se utilizó como inóculo una suspensión de esporas (1×10^6 esporas / mL) de *Rhizopus stolonifer* como iniciador para la fermentación. Como **resultado** se obtuvo que la temperatura y el tiempo del proceso de fermentación en estado sólido fueron de una temperatura de 35,8 ° C y 42,7 humedad relativa, este proceso aumento significativo ($p \leq 0.05$) en proteína cruda, proteína verdadera de 19,6 - 19,9 a 23,2 – 23,4 %, la solubilidad proteica digestibilidad in vitro es de 68,6 – 73,1 % a 79,9 – 80,5%, encontrando como aminoácido la Lisina de 2,19 – 3,04 a 3,19 – 4,07 mg /100 mg, ácido palmítico y ácido esteárico, y una disminución significativa ($p \leq 0.05$) en lípidos, minerales, ácido linoleico, ácido fítico de 8,82 – 10,73 a 2,11 g / 100 g y taninos de 16,1-22,4 a 3 mg / 100 mg. Como **conclusión** la fermentación en estado sólido mejoró significativamente la calidad del garbanzo fresco y endurecido ⁵⁴.

Antecedentes Nacionales

Lázaro C, Sotelo M. (2017), en Perú, en la investigación de la “Optimización por diseño de mezcla de un snack de grits de maíz amarillo “*Zea mays*”, harina de quinua (*Chenopodium quinoa*) y harina de garbanzo (*Cicer arietinum* L.), obtenido mediante extrusión”. El **objetivo** fue optimizar la mezcla de grits de maíz (*Zea mays*), Harina de quinua (*Chenopodium quinoa*) y Harina de garbanzo (*Cicer arietinum*) para obtener un extruido que genere los mayores valores en la evaluación sensorial, características físicas y nutricionales. **Metodología** se trabajó con la granulometría, con un diseño de mezclas de respuestas, las

formulaciones fueron sometidos en un extrusor de doble tornillo que trabajo con 7 temperaturas diferentes, que van desde 30 °C, 40 °C, 50 °C, 60 °C, 70 °C, 90 °C y 110°C a una velocidad de tornillo de 267 rpm, y obteniéndose los siguientes **resultados** la optimización de su formulación como la óptima la cual tiene como composición proximal: Humedad de $4,945 \pm 0,183$ %, Proteína de $10,851 \pm 0,592$ %, Grasa de $6,512 \pm 0,632$ %, Fibra dietética $7,434 \pm 0,104$ % y Cenizas $2,439 \pm 0,008$ %, y características físicas como el índice de expansión (IE) de $2,753 \pm 0,117$ y en índice de absorción de agua (IAA) $7,248 \pm 0,231$ g gel / g materia seca y un índice de solubilidad en agua (ISA) de $0,025 \pm 0,066$ g solidos / g solidos totales. Como **conclusión** la formulación óptima de las mezclas para obtener evaluaciones nutricionales, nos da una determinación de vida útil de 27 días, mediante análisis sensorial y microbiológico, lo que si es que deberían realizar una factibilidad para el extruido con una formulación optima ¹⁸.

Flores E, Montoya K. (2018), en Perú, en su investigación de “Identificación y cuantificación de aminoácidos esenciales en *Vigna unguiculata* (frejol castilla) y *Phaseolus vulgaris* (frejol guinda) por cromatografía líquida de alta performance (HPLC)”. Tuvo como **objetivo** identificar los aminoácidos esenciales en *Vigna unguiculata* y *Phaseolus vulgaris*. Utilizando el **método** de secado, desengrasado e hidrólisis para la identificación de aminoácidos esenciales de las especies *Vigna unguiculata* y *Phaseolus vulgaris*. Utilizando la metodología de cromatografía líquida de alta performance (HPLC). Como **resultado** obtuvieron los siguientes aminoácidos en la especie *Vigna unguiculata* : Valina (1,02 mg / 100 mg), Glicina (8,75 mg / 100 mg), Leucina (1,01 mg / 100 mg), Lisina (0,64 mg / 100 mg) y Metionina (1,05 mg / 100 mg) mientras que en *Phaseolus vulgaris* se encontró: Valina (1,79 mg / 100 mg), Glicina (5,49 mg / 100 mg), Triptófano (1,33 mg / 100 mg), Leucina (1,08 mg / 100 mg) y Lisina (1,31 mg / 100 mg). Como **conclusión** se identificó y se cuantifico la presencia de aminoácidos los cuales se recomienda incluir estas especies estudiadas en la dieta diaria ⁵⁵.

Zevallos A, et al. (2014), en Perú, en su investigación del “Efecto del pH de extracción y caracterización funcional de proteínas de “ñuña” (*Phaseolus vulgaris* L)”. Tiene como **Objetivo** evaluar la extracción de proteínas de frijol Ñuña variedad pava y determinar el rendimiento y las propiedades. La **metodología** de los granos fue remojados y molidos en agua, regulados a pH alcalino (8, 9 y 10) agitados por 60 min, filtrados y la porción líquida regulada a pH 4,5 con reposo de 30 min y centrifugado; al final secado a 32 °C por 14 horas. Los **resultados** se les aplico las pruebas de Levenne, análisis de varianza y Duncan; el mayor rendimiento de extracción es 79,4 % a un pH10; la mayor absorción de agua y aceite 43,6 % a un pH 8 y la mayor formación de espuma se alcanzó con la extracción a pH 8. Como **conclusión** los aislados proteicos de frijol ñuña cuentan con buenas propiedades funcionales ⁵⁶.

- **Importancia y justificación de la investigación**

El documento técnico del plan nacional para la reducción y control de la desnutrición crónica infantil 2017 - 2018 junto con las instituciones del Instituto Nacional de estadística e informática (INEI) y Encuesta demográfica y salud familiar (ENDES) el nivel de desnutrición crónica en el Perú es de 26,5 % en niñas y niños menores de 5 años ⁵⁷.

Con este trabajo de investigación se busca analizar e identificar científicamente en estas legumbres las propiedades proteicas sobre todo los aminoácidos esenciales, esto implica que la única fuente de alimento tiene que ser directa es a través de la alimentación. Esta investigación pretende buscar alternativas altamente nutricionales y con bajos recursos económicos, debido al 26,5% de desnutrición crónica que existe en nuestro país, nos vemos a la necesidad de buscar otras alternativas naturales que tenga un valor proteico, lo cual podremos identificar y cuantificar principalmente a los aminoácidos esenciales.

La FAO y OMS, describen a las legumbres como fuentes nutricionales, que aportan proteínas, fibra, ácido fólico e hidratos de carbono. Por lo tanto, se ha de

investigar las especies vegetales como *Cicer arietinum* L. “garbanzo” y *Phaseolus lunatus* L. “pallar” como insumo alimenticio, lo cual se podrá reducir el índice de desnutrición que existe en nuestro país. El aporte del presente proyecto tiene como objetivo promover el consumo de legumbres ya que estos contienen grandes propiedades proteicas y sobre todo una fuente adecuada en aminoácidos esenciales como; leucina, isoleucina, valina, metionina, lisina, fenilalanina, triptófano, treonina, histidina y arginina; los cuales son llamados “carne de los pobres”; lo cual contribuirá al mejoramiento de la población infantil.

- **Objetivo del estudio**

• **Objetivo general**

Identificar y cuantificar los aminoácidos esenciales en *Cicer arietinum* L.”garbanzo” y *Phaseolus lunatus* L. “pallar” por cromatografía líquida de alta performance (HPLC).

• **Objetivos específicos:**

1. Identificar los aminoácidos esenciales en *Cicer arietinum* L.”garbanzo” y *Phaseolus lunatus* L. “pallar” por cromatografía líquida de alta performance (HPLC).
2. Cuantificar los aminoácidos esenciales en *Cicer arietinum* L.”garbanzo” y *Phaseolus lunatus* L. “pallar” por cromatografía líquida de alta performance (HPLC).
3. Establecer la diferencia de porcentaje de aminoácidos esenciales entre *Cicer arietinum* L.”garbanzo” y *Phaseolus lunatus* L. “pallar”.

- **Hipótesis de investigación**

Los aminoácidos esenciales están presentes en el extracto proteico de *Cicer arietinum* L.”garbanzo” y *Phaseolus lunatus* L. “pallar” por HPLC.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Enfoque y diseño

- Analítico: Se propuso a realizar una búsqueda bibliográfica exhaustiva con criterio crítico para el presente estudio.
- Descriptivo: Porque solo se va describir la realidad observada y encontrada en las muestras y sin manipulación de las variables.
- Prospectivo: El presente estudio se realizará en un tiempo determinado.

2.2. Población, muestra y muestreo

Para esta investigación se trabajó con las siguientes muestras:

- Muestra de *Cicer arietinum* L. “garbanzo”.
- Muestra de *Phaseolus lunatus* L. “pallar”.

Las muestras fueron adquiridas en el Distrito de Ocucaje, Departamento de Ica – Perú.

En la altitud de 334 m.s.n.m.

2.3. Variables de estudio

- **Independiente:**
 1. *Cicer arietinum* L. “garbanzo”.
 2. *Phaseolus lunatus* L. “pallar”.
- **Dependiente:**
 1. Aminoácidos esenciales presentes en *Cicer arietinum* L. “garbanzo”.
 2. Aminoácidos esenciales presentes en *Phaseolus lunatus* L. “pallar”.

2.4. Técnica e instrumentos de recolección de datos

2.4.1. Técnica

El método utilizado en esta investigación consistió en la obtención del extracto concentrado de proteínas *Cicer arietinum* L. “Garbanzo” y *Phaseolus lunatus* L. “pallar”, teniendo en cuenta que los reactivos estén en condiciones, para poder evitar su deterioro. La identificación y la cuantificación de los aminoácidos esenciales se realizaron con las siguientes técnicas:

- USP 39-NF 34 Farmacopea de Estados Unidos ⁵⁸;
- Cromatógrafo Líquido de Alta Performance HPLC-AGILENT ^{49,50}.

2.4.2. Instrumentos

2.4.2.1. Materiales

- Espátula de acero Inoxidable
- Papel filtro 20 cm x 20 cm “Wattman” N°3
- Cocinilla eléctrica. Marca “Mettler”
- Pipetas de vidrio de 5, 10 mL. “Pyrex”
- Tubos de ensayo de 20 mL. “Pyrex”
- Fiola de 50 y 100 mL. “Pirex”
- Tiras reactivas Marca “Mettler”
- Matraz de Erlenmeyer de 100, 250 mL. “Pyrex”
- Vasos precipitados de vidrio 50, 100, 250 mL. “Pyrex”
- Refrigerante de vidrio. “Pyrex”

2.4.2.2. Reactivos

- Éter de petróleo. Merck Peruana

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

2.4.2.3. Equipos

- Balanza analítica: Marca Mettler Toledo Ag. 204
- Estufa Marca Labor Memmert, Modelo 500
- Refrigerador Marca Hobart, Modelo HZ.
- Equipo: HPLC Marca Agilent 1200 Series
- Columna: Zorbax eclipse AAA 4.6 x 150 mm
- Equipo de ultrasonido, Marca Buchi.



Figura 17. Equipo de HPLC.

2.5. Proceso de recolección de datos

2.5.1. Autorización y coordinaciones previas para la recolección

El trabajo se realizó en dos etapas.

La primera etapa consiste en la obtención de un extracto concentrado de proteínas de *Cicer arietinum* L. “Garbanzo” y *Phaseolus lunatus* L. “pallar”, esta operación se realizó en el laboratorio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Privada Norbert Wiener – Lima.

La segunda etapa consta del análisis de aminoácidos utilizando la técnica de cromatografía líquida de alta performance (HPLC), esta actividad se realizó en las instalaciones del Laboratorio del centro de Control Analítico (CCA) – Área de instrumental de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos – Lima.

2.5.2. Aplicación de instrumento de recolección de datos

- **Primera etapa: Obtención del extracto de *Cicer arietinum* L. “garbanzo” y *Phaseolus lunatus* L. “pallar”.**
 - a. Recolección de la muestra**

El *Cicer arietinum* L. “garbanzo” y el *Phaseolus lunatus* L. “pallar”. Recolectados del Distrito de Ocucaje, de Ica – Perú en la altitud de 334 m.s.n.m. Departamento
 - b. Preparación de la muestra**

Se tomó 5 g de *Cicer arietinum* L. “garbanzo” y 5 g del *Phaseolus lunatus* L. “pallar”, las muestras se procedieron a pulverizar (reducción de tamaño de partícula), seguido a ello fue llevado a la estufa (Marca Labor Memmert, Modelo 500) para el proceso de secado a una temperatura de 40°C.

c. Desengrasado

Se procedió al desengrasado con éter petróleo durante 8 horas. Después de haber cumplido el tiempo de desengrasado, se colocó a la estufa (Marca Labor Memmert, Modelo 500) a 40° C, luego se procedió a extraer el almidón, dejando reposar hasta que el almidón sedimente. Obtenida la muestra libre de almidón y se llevó a la estufa (Marca Labor Memmert, Modelo 500) para poder eliminar el exceso de alcohol.

d. Hidrolisis

Se realizó el hidrolisis por reflujo con HCl 6N tomando la muestra desengrasada del *Cicer arietinum* L. “Garbanzo” y el *Phaseolus lunatus* L. “Pallar” durante 24 horas.

e. Neutralización

Luego se procedió a la neutralización de las muestras con 2 g Bicarbonato de sodio. Se procedió a filtrar la muestra neutralizada, en base a esto se realizará la identificación de los aminoácidos por HPLC Marca Agilent Technologies EQ-CCA017.

En base a esto y como lo solicito, se envió al laboratorio de la UNMSM donde se realizará la identificación de los aminoácidos por HPLC Marca Agilent 1200 Series.

- **Segunda etapa: Identificación de aminoácidos por HPL** ^{49,50,58}.

Consta de la identificación y cuantificación de aminoácidos mediante derivatización por OPA-2 ME, utilizando la técnica de cromatografía líquida de alta performance (HPLC) ^{49,50}, presentes en el concentrado proteico de *Cicer arietinum* L. “Garbanzo” y *Phaseolus lunatus* L. “pallar”, esta actividad se realizó en las instalaciones del Laboratorio del centro de Control Analítico (CCA) – Área de instrumental de la Facultad de Farmacia

y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima - Perú.

1. Condiciones cromatográficas

- Equipo: Cromatógrafo líquido de alta resolución Agilent 1200 Series
- Columna: Zorbax Eclipse AAA 4.6x150 mm, 5 μ
- Fase móvil:
 - A: NaH_2PO_4 mM pH 7,8 (ajustado con NaOH 10 N)
 - B: ACN (Acetonitrilo 99,9 %): H_2O (45:45:10)
- Diluyente de muestra: Agua ultrapura
- Detector: UV 338 nm
- Flujo: 1.2 mL/min
- Volumen de inyección: 20 μL
- Temperatura: 40 °C
- Tiempo de análisis: 26 min
- RSD de inyección: <2%

2. Procedimiento

Preparación de fase móvil:

A: pesar 2,75 g de NaH_2PO_4 en 500 mL de agua ultrapura, disolver con ayuda del equipo de ultrasonido. Ajustar el pH a 7,8 utilizando NaOH 10 N o equivalente. Finalmente filtrar el solvente y degasificar en el ultrasonido.

B: Filtrar 50 mL de agua ultrapura y agregar 275 mL de MeOH grado HPLC y 275 mL de ACN (Acetonitrilo 99,9 %) grado HPLC. Degasificar utilizando el equipo de ultrasonido.

Tabla 7. Fase móvil general

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

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 lleva a equipo ultrasonido marca buchi. 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.

Tratamiento de la muestra:

Los aminoácidos presentes en matrices biológicas se encuentran formando parte de proteínas, por lo que es necesario hidrolizarlas completamente antes de analizarlas.

Se pesa aproximadamente 1 g de muestra problema finamente pulverizado y se agrega 6 mL de solución que contiene HCl 6 M y

0,1% de fenol. La muestra se lleva al equipo autoclave a 120 °C por 1 horas. Luego del hidrolisis, se evapora el solvente en una cocinilla, evitando que se caliente demasiado rápido para que la muestra no se proyecte fuera del recipiente. El residuo es re-suspendido usando solución de HCl 0,1 M y es llevado a una fiola de 50 mL. Finalmente se filtra y se procede a realizar la derivatización, que consiste en identificar los aminoácidos.

Procedimiento de derivatización:

a. Preparación de buffer borato 0,5 M:

Pesar 1,55 g de ácido bórico y llevar a 50 mL de agua ultrapura ajustando el pH a 10,2 con NaOH 0,5 M.

b. Preparación de reactivo OPA-2ME:

Pesar 100 mg de o-ftalaldehido (OPA) y disolverlo en 9 mL de metanol grado HPLC. Agregar 1 mL de buffer borato 0,5 M y finalmente 100 µL de 2 mercaptoetanol (2 ME). Proteger de la luz y refrigerar. El reactivo puede almacenarse por máximo una semana adecuadamente protegido.

c. Preparación de Buffer de neutralización:

Se mezcla 100 mL de solución de sodio 0,05 M con 25 mL de metanol. Posteriormente se ajusta a pH 6,1 con HCl 0,75 M o equivalente.

d. Derivatización de aminoácidos con OPA-2ME:

Se programa la siguiente secuencia en el comando inyector del cromatógrafo líquido, teniendo en cuenta la posición de los viales.

1. DRAW 100,0 μ L from vial 21
2. EJECT 100,0 μ L into simple +10
3. DRAW 50,0 μ L from vial 22
4. EJECT 50 μ L into simple +10
5. DRAW 100,0 μ L from sample +10
6. MIX 100,0 μ L in air, max. Speed, 3 times
7. EJECT 100,0 μ L into sample +10
8. WAIT 2,00 min
9. DRAW 100,0 μ L from sample+10
10. EJECT 100,0 μ L into sample
11. DRAW 100,0 μ L from sample
12. MIX 100,0 μ L in air, 3 times
13. EJECT 100,0 μ L into sample
14. DRAW 20,0 μ L from sample
15. INJECT

Denomina SAMPLE al vial buffer neutralizador debido a que este será el último vial donde se depositará la muestra, previa a su inyección. Cada vial de muestra o de calibración (SAMPLE+10) deberá estar acompañado de un vial con buffer neutralizador (SAMPLE). Por ejemplo, si se desea leer otra muestra, se coloca 250 μ L de muestra en el vial 12 (SAMPLE+10) y 400 μ L de buffer neutralizador en el vial 2 (SAMPLE), así sucesivamente.

2.6. Métodos de análisis estadístico

El procesamiento de datos se utilizará el análisis de Cromatograma de HPLC Ver Anexo E

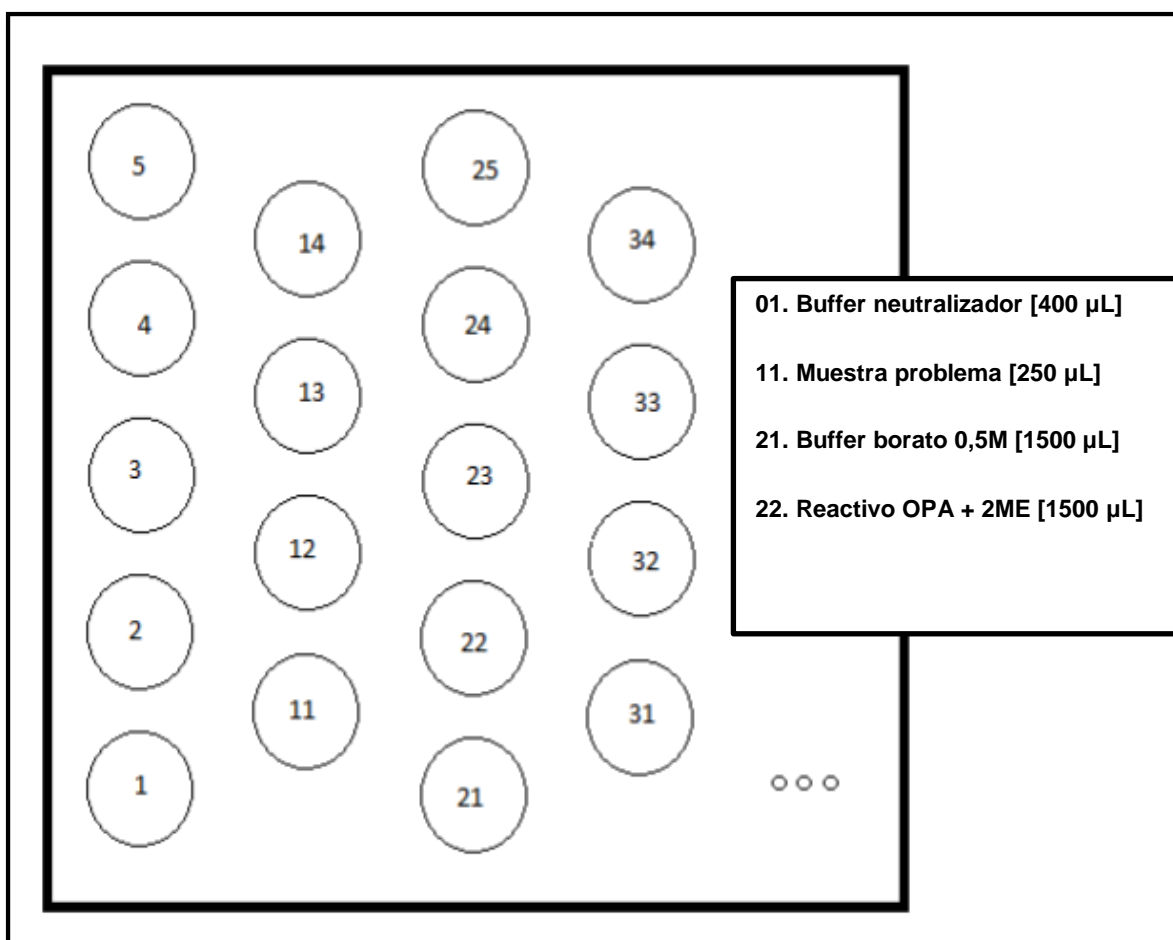


Figura 18. Secuencia de comando.

III. RESULTADOS

Se realizó el análisis del extracto de proteína de *Cicer arietinum* L. “garbanzo” y *Phaseolus lunatus* L. “pallar”. A continuación, se muestran los resultados obtenidos por cromatografía líquida de alta performance (HPLC).

Se identificó los aminoácidos esenciales en *Cicer arietinum* L. “garbanzo”: metionina 0,001 mg / 100 mg, valina 0,001 mg / 100 mg, fenilalanina 0,033 mg / 100 mg, lisina 1,027 mg / 100 mg y en *Phaseolus lunatus* L. “pallar”: metionina 0,001 mg / 100 mg, valina 0,003 mg / 100 mg, fenilalanina 0,033 mg / 100 mg, lisina 0,934 mg / 100 mg.

Tabla 8. Diferencia entre las especies de *Cicer arietinum* L. “garbanzo” y *Phaseolus lunatus* L. “pallar.

Aminoácidos esenciales	<i>Cicer arietinum</i> L. (mg / 100 mg)	<i>Phaseolus lunatus</i> L. (mg / 100 mg)	Resultados (mg / 100 mg)
Alanina	0,007	0,008	0,001
Glicina	0,929	0,330	0,599
Metionina	0,001	0,001	0,00
Valina	0,001	0,003	0,002
Fenilalanina	0,033	0,033	0,00
Lisina	1,027	0,934	0,093

En la tabla 8 se observa que ambas especies se evidencia la presencia de aminoácidos esenciales como la Metionina, Valina, Fenilalanina y Lisina, característicos de las legumbres; ambas especies tienen una cantidad de Lisina, con una diferencia de 0,093 mg / 100 mg. También se observa la presencia de aminoácidos no esenciales como son la Alanina y la Glicina, con una diferencia de 0,5 0,599 mg / 100 mg o ácido no esencial de Glicina.

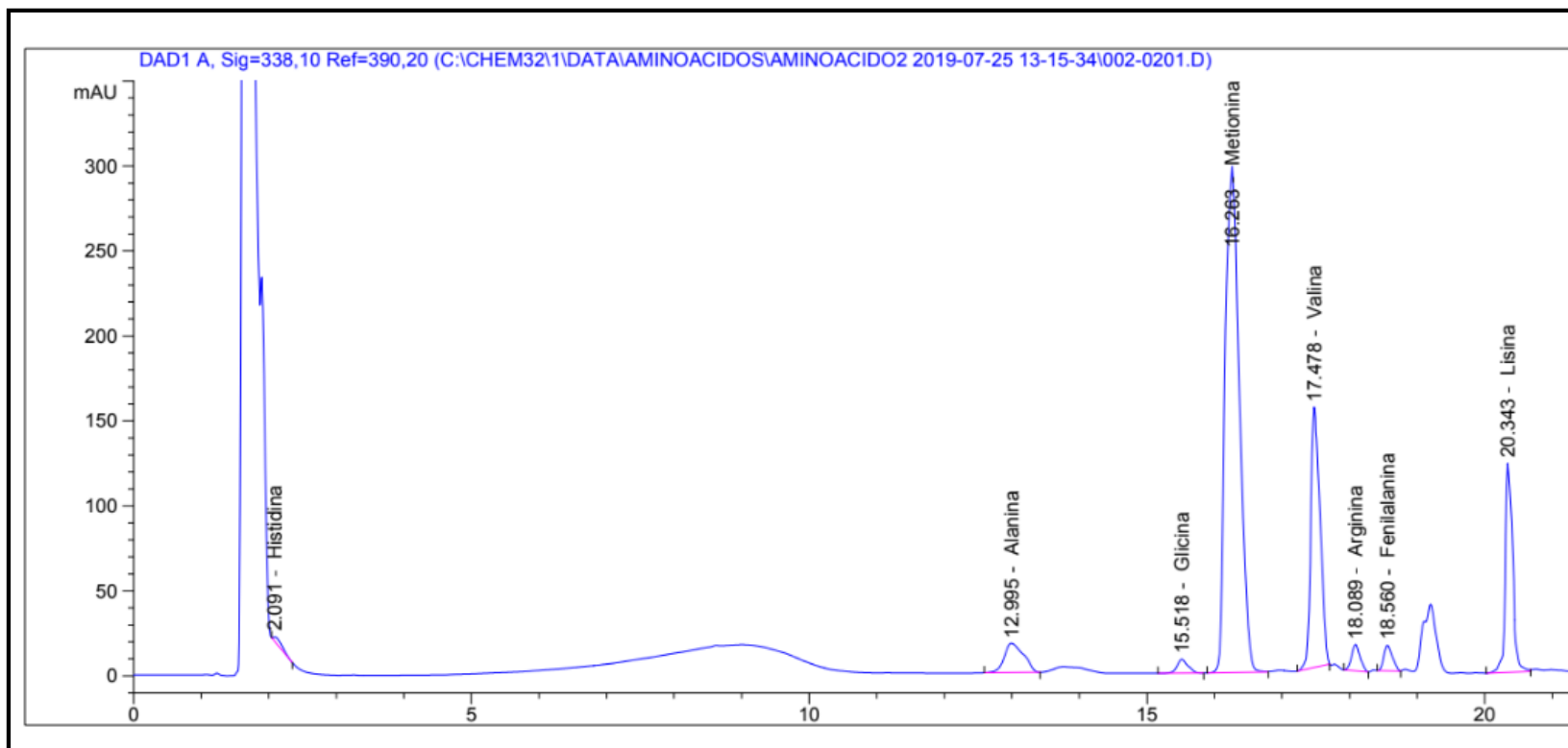


Figura 19. Lectura de recorrido del standar

En la figura 19 se observa en el cromatograma el tiempo de retención de los aminoácidos de Histidina, Alanina, Glicina, Metionina, Valina, Arginina, Fenilalanina y Lisina.

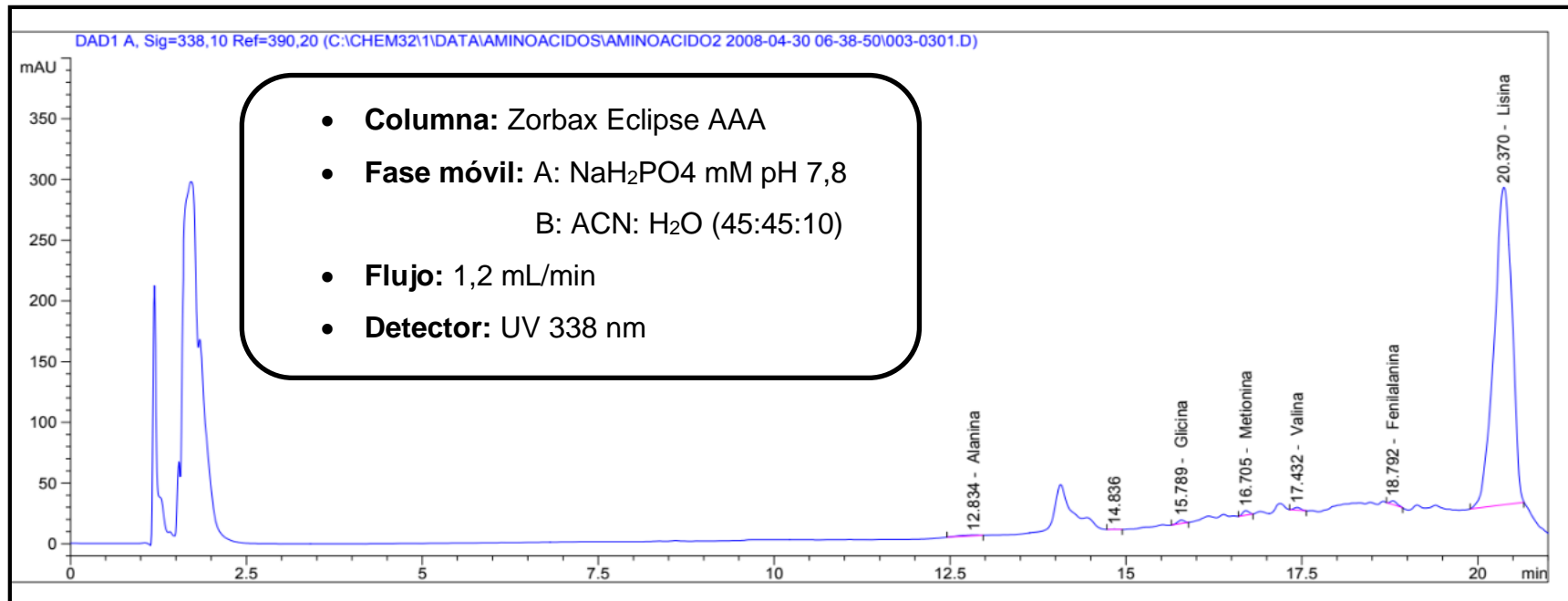


Figura 20. Lectura de recorrido del *Cicer arietinum* L.

En la figura 20 se observa en el cromatograma el tiempo de retención de los aminoácidos no esenciales como es: Alanina y Glicina. También observamos a los aminoácidos esenciales como es la Metionina, Valina, Fenilalanina y Lisina. Observamos que el tiempo de retención de la muestra de *Cicer arietinum* L. el más alto es la Lisina con 20,370.

Cálculos:

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

- rU: Área de la muestra problema
- rS: Área del estándar
- Fdst: Factor de dilución del estándar
- %Pot: Potencia del estándar
- Wmp: Peso de la muestra problema
- Fdmp: Factor de dilución de la muestra problema

Tabla 9. Concentraciones de los aminoácidos presentes en el *Cicer arietinum* L. “garbanzo”

Aminoácidos	Lectura 1 (mg /100 mg)	Lectura 2 (mg / 100 mg)	Promedio (mg / 100 mg)
Alanina	0,007	0,008	0,007
Glicina	0,894	0,965	0,929
Metionina	0,001	0,001	0,001
Valina	0,001	0,001	0,001
Fenilalanina	0,034	0,032	0,033
Lisina	1,027	1,028	1,027

En la tabla 9 se observa los resultados que se determinó con el promedio de las lecturas obtenidas por la cromatografía de *Cicer arietinum* L. “garbanzo”, identificando aminoácidos esenciales como: Metionina, Valina, Fenilalanina y Lisina.

En la muestra de *Cicer arietinum* L. “garbanzo”, el aminoácido esencial con mayor cantidad es la Lisina con 1,027 mg / 100 mg; y con menor cantidad se encuentran los aminoácidos esenciales la Metionina 0,001 mg / 100 mg y la Valina 0,001 mg / 100 mg.

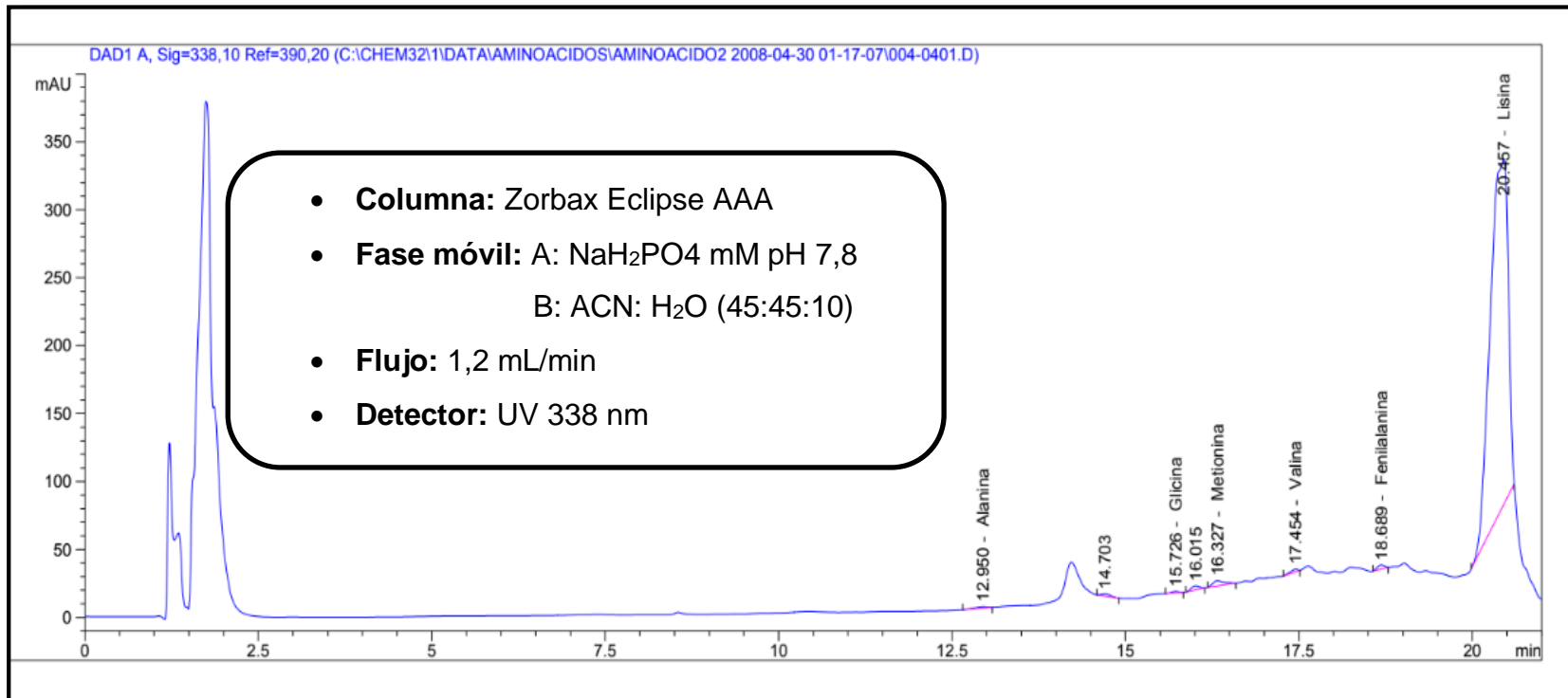


Figura 21. Lectura de recorrido del *Phaseolus lunatus* L.

En la figura 21 se observa en el cromatograma el tiempo de retención de los aminoácidos no esenciales como es: Alanina y Glicina. También observamos a los aminoácidos esenciales como es la Metionina, Valina, Fenilalanina y Lisina. Observamos que el tiempo de retención de la muestra de *Phaseolus lunatus* L. el más alto es Lisina con 20,457.

Cálculos:

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

- rU: Área de la muestra problema
- rS: Área del estándar
- Fdst: Factor de dilución del estándar
- %Pot: Potencia del estándar
- Wmp: Peso de la muestra problema
- Fdmp: Factor de dilución de la muestra problema

Tabla 10. Concentraciones de los aminoácidos presentes en el *Phaseolus lunatus* L. “pallar”

Aminoácidos	Lectura 1 (mg / 100 mg)	Lectura 2 (mg / 100 mg)	Promedio (mg / 100 mg)
Alanina	0,008	0,007	0,008
Glicina	0,325	0,342	0,330
Metionina	0,001	0,002	0,001
Valina	0,003	0,003	0,003
Fenilalanina	0,033	0,033	0,033
Lisina	0,927	0,941	0,934

En la tabla 10 se determinó el promedio de las lecturas obtenidas por la cromatografía de *Phaseolus lunatus* L. “pallar”, identificando aminoácidos esenciales como: Metionina, Valina, Fenilalanina y Lisina.

En la legumbre *Phaseolus lunatus* L. “pallar”, el aminoácido esencial con mayor cantidad es la Lisina con 0,934 mg / 100 mg; y con menor cantidad se encuentran el aminoácido esencial que es la Metionina con 0,001 mg / 100 mg.

IV. DISCUSIÓN

4.1. Discusiones

Las legumbres como el *Cicer arietinum* L. y *Phaseolus lunatus* L. se consumen como fuente de alimento y a la vez están presentes en nuestra dieta diaria; estas especies proveen una importante fuente de carbohidratos complejos como el almidón (50% a 65 %) y de fibra dietética (10 % a 20 %), también tiene un bajo contenido de lípidos (0,8 % a 2 %) y una cantidad de proteínas. También contiene Aminoácidos esenciales como son la metionina, la valina, fenilalanina y la lisina. De igual manera, aportan vitaminas hidrosolubles y minerales ^{1,10}.

El método de extracción que estamos utilizando en esta investigación es lo correcto; porque rescata las obtenciones con el mismo objetivo que en otros estudios realizados, los picos obtenidos en la cromatográfica no presentan ninguna interferencia y son fácilmente cuantificables. Aunque en la actualidad hay varios métodos de extracción, según Laurente, flores, Vintimilla sugieren utilizar el método soxhlet con el solvente éter de petróleo debido a su bajo punto de ebullición, indicándonos que es el adecuado método para la extracción de proteína.

Según Flores ⁵⁵, 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. Según Vintimilla ⁵⁹, refiere que el tiempo de extracción no debe ser mayor de 8 h debido a que pasado este tiempo se extraen componentes no lípidos, 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 Yesid ²⁵, en su investigación sobre Evaluación nutricional de concentrados proteicos de *Phaseolus lunatus* L. y *Vigna unguiculata*. La composición de aminoácidos determinada por HPLC presentó los siguientes aminoácidos isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina. A diferencia de nuestra investigación se encontró en *Cicer*

arietinum L. “garbanzo” (tabla 9), metionina, valina, fenilalanina, lisina y en *Phaseolus lunatus* L. “pallar”(tabla 10), metionina, valina, fenilalanina, lisina. Al ver estos resultados nos muestra que *Vigna unguiculata* y *Phaseolus lunatus* tienen proteínas de mejor calidad, de igual forma nos muestra que reservan la mayoría de las leguminosas que están en tendencia. Pero destacamos en nuestra investigación que el aminoácido metionina, contiene una mayor proporción.

Según Aylas ³², en la investigación realizada sobre el desarrollo de una mezcla alimenticia en polvo balanceado de valor proteico y libre de gluten, a base de cereales y leguminosas llegaron a identificar los siguientes aminoácidos: ácido aspártico, ácido glutámico, serina, histidina, glicina, treonina, arginina, alanina, prolina, tirosina, valina, metionina, cisteína, isoleucina, leucina, fenilalanina y lisina. La composición de aminoácidos obtenidos de la harina de quinoa presento los niveles de aminoácidos más altos, siendo altamente superior en lisina. A diferencia de nuestra investigación se encontró en la variedad *Cicer arietinum* L. “garbanzo” (tabla 9), y en *Phaseolus lunatus* L. “pallar”(tabla 10); también se observa un aporte favorable de leucina en la harina de maíz (0,120 mg / 100 mg proteína) del mismo modo en las variedades estudiadas resalta la leucina; y en las harinas de lenteja y lupino sus niveles de lisina (0,047 y 0,049 mg / 100 mg proteína respectivamente). Según Aylas ³² los aminoácidos esenciales cuantificados por HPLC superaron los valores del patrón de la FAO 2007, 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 cuantitativa entre las especies *Cicer arietinum* L. “garbanzo” y *Phaseolus lunatus* L. “pallar”, (Tabla 8), observando que *Cicer arietinum* L. “garbanzo” contiene más cantidad de lisina.

Según Ruiz ³⁴, en la investigación sobre el análisis proximal, anti nutrientes, perfil de ácidos grasos y de aminoácidos de semillas y tortas de 2 especies de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* y *Plukenetia huayllabambana*). El contenido de aminoácidos esenciales de las semillas de ambas especies *Plukenetia volubilis* y *Plukenetia huayllabambana* se determinó por HPLC encontrando en ambas especies lisina, leucina, metionina, cisteína y fenilalanina. Comparando

con nuestro trabajo encontramos que hay mucha similitud encontrando en *Cicer arietinum* L. “garbanzo” (tabla 9) y *Phaseolus lunatus* L. “pallar” (tabla 10), los cuales son: la metionina, la valina, la Fenilalanina y la lisina; podemos decir que en ambos estudios realizados resalta bastante el aminoácido esencial Lisina ya que su nivel cuantitativo encontrado en ambas es recomendado por la FAO.

Según Laurente ³⁷, en la investigación sobre la Obtención del concentrado protéico y determinación del perfil de aminoácidos de dos concentrados protéico de tarwi (*Lupinus mutabilis sweet*). 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 las especies *Cicer arietinum* L. “garbanzo” (tabla 9) y *Phaseolus lunatus* L. “pallar” (tabla 10), se encontró 6 aminoácidos, de los cuales 4 aminoácidos son esenciales (metionina, valina, fenilalanina y lisina). 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 en una proporción que al menos duplica el contenido en otras leguminosas. La importancia de la lisina se debe a que interviene en la absorción de calcio, en la formación de colágeno en cartílagos y tejidos conectivos, también contiene otras funciones claves en el desarrollo de las células del cerebro humano y en el crecimiento. En nuestra investigación se observa en la variedad de *Cicer arietinum* L. “garbanzo” (tabla 9) y *Phaseolus lunatus* L. “pallar” (tabla 10), la lisina que se representa con mayor cantidad, pero la diferencia entre ambas especies (Tabla 8) se observa que el *Cicer arietinum* L. “garbanzo” tiene mayor proporción.

Según Aguilar ⁵³, en la investigación sobre las Propiedades nutricionales y funcionales del garbanzo (*Cicer arietinum* L.). Indica que las proteínas encontradas en el garbanzo son de reserva y son relativamente bajas en aminoácidos que contienen azufre, tales como metionina, cisteína y triptófano. Sin embargo, el contenido de lisina y arginina son altas. Comparando con nuestra investigación, nosotros identificamos y a la vez cuantificamos los

aminoácidos esenciales que están presentes en *Cicer arietinum* L. “garbanzo” (tabla 9) que son la metionina 0,001 mg / 100 mg; valina 0,001 mg / 100 mg; fenilalanina 0,033 mg / 100 mg; lisina 1,027 mg / 100 mg y en *Phaseolus lunatus* L. “pallar” (tabla 10), también se encontró metionina 0,001 mg / 100 mg; valina 0,003 mg / 100 mg; fenilalanina 0,033 mg / 100 mg; lisina 0,934 mg / 100 mg. Se puede concluir que sus datos de Aguilar concuerdan con nuestros resultados ya que los aminoácidos mencionados como metionina son bajas en proporciones y en altas proporciones con la lisina. Podemos concluir que estas leguminosas serian óptima al combinar con cereales para una mejor proporción de aminoácidos en una adecuada nutrición.

Según Flores ⁵⁵, en su investigación sobre la identificación y cuantificación de aminoácidos esenciales en *Vigna unguiculata* “frejol castilla” y *Phaseolus vulgaris* “frejol guinda” por cromatografía líquida de alta performance (HPLC). Se identificó y se cuantificó los aminoácidos mediante HPLC; encontrando diferencia entre las dos especies; *Vigna unguiculata* que contiene valina, glicina, leucina, lisina y metionina; mientras que en *Phaseolus vulgaris* contiene valina, glicina, triptófano, leucina y lisina. Comparando con nuestra investigación, coincide con los aminoácidos encontrados en las especies estudiadas que son *Cicer arietinum* L. “garbanzo” (tabla 9) y *Phaseolus lunatus* L. “pallar” (tabla 10) que son: metionina, valina, fenilalanina y lisina. Se puede destacar que el *Vigna unguiculata* “frejol castilla” y el *Phaseolus vulgaris* “frejol guinda” contienen más cantidad de Lisina que el *Cicer arietinum* L. “garbanzo” y el *Phaseolus lunatus* L. “pallar”; pero también se destaca nuestra investigación que *Cicer arietinum* L. “garbanzo” y el *Phaseolus lunatus* L. “pallar” que ambas contienen Metionina en mayor cantidad.

Según Vintimilla ⁵⁹, en la investigación sobre la semilla de chia (*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 Chia 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 nuestra investigación identificamos aminoácidos esenciales con cromatografía líquida

HPLC de las especies *Cicer arietinum* L. “garbanzo” (tabla 9) y *Phaseolus lunatus* L. “pallar” (tabla 10), destacando el aminoácido de la lisina. El uso del solvente éter en el equipo soxhlet fue el mejor método para la extracción de grasa total de la semilla chíá. Del mismo modo en nuestra investigación usamos éter como solvente y el equipo soxhlet. Comparando con nuestra investigación *Cicer arietinum* L. “garbanzo” (tabla 9) y *Phaseolus lunatus* L. “pallar” (tabla 10) coinciden con aminoácidos esenciales como: metionina, valina, fenilalanina y lisina.

Según Gallegos ⁶⁰, en su investigación sobre la Extracción y caracterización de las fracciones proteínas solubles del grano de *Phaseolus lunatus* L. se utilizó el método de kjeldahl según la metodología de la A-O-A-C, empleando el factor de conversión de nitrógeno a proteína; comparando con nuestra investigación nosotros utilizamos el método de extracción de proteína total con el equipo de soxhlet utilizando el solvente éter. En su investigación ellos también utilizaron la cromatografía líquida de alta performance HPLC; encontrando como aminoácidos esenciales Lys, Trp, Phe, Met, Thr, Leu, Ile, Val. Comparando con nuestra investigación nosotros utilizamos también la cromatografía líquida de alta performance HPLC encontrando en *Cicer arietinum* L. “garbanzo” (tabla 9) y *Phaseolus lunatus* L. “pallar” (tabla 10), metionina, valina, fenilalanina y lisina; podemos decir que en ambos estudios se identifica y resalta el aminoácido esencial lisina.

Según Ramiro ⁶¹, en su investigación sobre la determinación proximal de los principales componentes nutricionales de seis variedades de leguminosas: Arveja, Garbanzo, Haba, Lenteja, Maní y Soya. Para esta investigación de proteína total utilizaron el método AOAC en un equipo de extracción Kjeldahl; comparando con nuestra investigación nosotros utilizamos el método de extracción de proteínas con el equipo de soxhlet utilizando el solvente éter. Su propósito de este trabajo fue comparar estadísticamente que porcentaje hay entre arveja, garbanzo, haba, lenteja, maní y soya. Resaltando en este estudio con un porcentaje mayor de proteína fue soya y en menor proporción el garbanzo. En nuestra investigación nosotros identificamos y a la vez cuantificamos los aminoácidos esenciales que están presentes en *Cicer*

arietinum L. “garbanzo” (tabla 9): metionina 0,001 mg / 100 mg; valina 0,001 mg / 100 mg; fenilalanina 0,033 mg / 100 mg; lisina 1,027 mg / 100 mg y en *Phaseolus lunatus* L. “pallar” (tabla 10) metionina 0,001 mg / 100 mg; valina 0,003 mg / 100 mg; fenilalanina 0,033 mg / 100 mg; lisina 0,934 mg / 100 mg. Se puede resaltar que la soya tiene más cantidad de proteína que las especies estudiadas por nosotras, pero a la vez nosotros hemos podido concluir que es determinante estudiar los aminoácidos esenciales presentes en leguminosas para poder destacar y a la vez resaltar sus nutrientes.

El aporte de la investigación tiene como finalidad promover el consumo potencial de legumbres como el pallar que son fuentes adecuadas de aminoácidos esenciales como; valina, fenilalanina y sobre todo lisina. Así mismo, combinar estas legumbres con los cereales para proporcionar un mejor aporte, sobre todo para las familias que son de bajos recursos económicos.

4.2. Conclusiones

- Se identificó los aminoácidos esenciales en *Cicer arietinum* L. “garbanzo”: metionina, valina, fenilalanina, lisina y en *Phaseolus lunatus* L. “pallar”: metionina, valina, fenilalanina, lisina, por cromatografía líquida de alta performance (HPLC).
- Se cuantificó a los aminoácidos esenciales en *Cicer arietinum* L. “garbanzo” metionina 0,001 mg / 100 mg, valina 0,001 mg / 100 mg, fenilalanina 0,033 mg / 100 mg, lisina 1,027 mg / 100 mg y en *Phaseolus lunatus* L. “pallar”: metionina 0,001 mg / 100 mg, valina 0,003 mg / 100 mg, fenilalanina 0,033 mg / 100 mg, lisina 0,934 mg / 100 mg, por cromatografía líquida de alta performance (HPLC).
- Existe diferencia significativa entre *Cicer arietinum* L. “garbanzo” y en *Phaseolus lunatus* L. “pallar” (tabla 8): principalmente la lisina que es de 0,093 mg / 100 mg que se identificó por cromatografía líquida de alta performance (HPLC).

4.3. Recomendaciones

- Se recomienda que la Facultad de Farmacia de la Universidad Particular Norbert Wiener adquiera una Cromatografía Líquida de Alta performancea (HPLC) con la finalidad de realizar los trabajos en la Universidad.
- Realizar otros estudios incluyendo alimentos nativos de esta manera contribuir con el redescubrimiento de aminoácidos esenciales.
- Se necesita más estudios rigurosos en controles y pruebas de calidad para este tipo de alimentos. Por otro lado, puede ser considerado otro factor de variación el tipo de procesamiento que tenga cada leguminosa, no todos son iguales, pero sería conveniente establecer un estándar que guie hacia una buena calidad; y así obtener un buen producto de alimentos.
- Aplicar los beneficios nutricionales en la elaboración de múltiples productos comestibles.

CITAS Y REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura. Legumbres, Semillas Nutritivas Para Un Futuro Sostenible, 2016 año internacional de las legumbres [Internet]. FAO; 2016 [Citado el 14 de octubre del 2019]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i5528s.pdf>.
2. Campbell C. La complementación alimentaria es más eficaz si se dirige y se supervisa mejor, [Internet].Scioteca; 2017[Citado el 09 de setiembre del 2020]. Disponible en: <http://scioteca.caf.com/handle/123456789/1128>
3. Dañino G. Desnutrición Infantil y Desarrollo Territorial. Análisis para la aplicación de un modelo alternativo de agricultura en la Comunidad Nativa Alto Sondoveni, Satipo – Junín [Tesis de grado]. Lima: Facultad de letras y ciencias humanas, Universidad Pontificia Universidad Católica del Perú; 2017 [citado el 14 de octubre del 2019].
Disponible en:
http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/20.500.12404/9371/Da%3b1ino_Mart%3badnez_Desnutrici%3bn_infantil_desarrollo%20territorial1.pdf?sequence=1&isAllowed=y
4. Zavala W. Relación entre desnutrición crónica y anemia con el nivel de comprensión lectora y matemática en escolares de nivel primaria en Huancavelica [Tesis de grado]. Lima: Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2019. [Citado el 12 de octubre del 2019].
Disponible en:
http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/10192/Zavala_iw.pdf?sequence=1&isAllowed=y
5. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la agricultura [Internet].FAO, 2015 [Citado el 09 de setiembre del 2020]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i4997s.pdf>
6. Aparicio X, Espinosa L. El consumo de leguminosas y sus efectos sobre la salud. XII encuentro Participación de la mujer en la Ciencia [Internet]. 2016 [Citado el 5 de junio del 2019]; 1-5. Disponible en:

http://congresos.cio.mx/memorias_congreso_mujer/archivos/extensos/sesion4/S4-DIV03.pdf

7. Enjamio L, Rodríguez P, Valero T, Ruiz E, Ávila J, Varela G. Informe sobre Legumbres, Nutrición y Salud. Fund Española Nutr.[Internet] 2017:94. [Citado el 14 de setiembre del 2019]. Disponible en: http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/noticias/2017/Informe_Legumbres_Nutricion_Salud.pdf
8. Lázaro A, Tardío J. Las legumbres en la tradición de Madrid. legumbres, salud sostenible [Internet]. 2017 [citado el 15 de Julio del 2019]. 31-45. Disponible en: file:///C:/Users/User/Downloads/LzaroTardo_2017_LegumbresTradicionMadrid.pdf
9. Cerro G. Nuevos usos de las legumbres y su implicación en la salud [Tesis de Grado]. España: Facultad de Farmacia, Universidad Complutense; 2016. [Citado el 3 de abril del 2019]. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/51620/2/GERMAN%20FRANCISCO%20DE%20CERRO%20VERGARA.pdf>
10. Beltrán B, Carbajal A. Legumbres, un alimento estrella. Rev Española Nutr [Internet]. 2016; [Citado el 17 de octubre del 2019]. Disponible en: <https://www.ucm.es/data/cont/docs/458-2016-01-13-legumbres-un-alimento-estrella-OTRI-2016.pdf>
11. MINAGRI. Día mundial de las legumbres 2020 “semillas nutritivas para la seguridad alimentaria”. Gob.pe [citado el 10 setiembre del 2020]. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minagri/campa%C3%B1as/719-dia-mundial-de-las-legumbres-2020-semillas-nutritivas-para-la-seguridad-alimentaria>
12. Eskin E, Schaich K, Shahidi F, Eskin N, Eskin S, Zhong Y. Lipid Oxidation. In: Biochemistry of Foods, Third Edition, Ed. Eskin, N.A.M., Elsevier, 2015. Pp. 419- 478
13. Anchundia M, Perez E, Freddy T. Composición química, perfil de aminoácidos y contenido de vitaminas de harinas de batata tratadas térmicamente. Rev Chilena Nutr. 2019;46(2):137-143. doi.org/10.4067/s0717-75182019000200137

14. Chipana C. Ensayo de treinta y seis variedades de garbanzo (*cicer arietinum* L.) sembrado en invierno para condiciones de costa central [Tesis de Grado]. Lima: Universidad Nacional Agraria La molina. Facultad de Agronomía; 2015. [Citado el 12 de octubre del 2019]. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/953>
15. Cabrera W. Validación de variedades de garbanzo (*Cicer arietinum* L.); joyabaj, quiché [Tesis de Grado]. Quetzaltenango: Facultad de ciencias ambientales y agrícolas, Universidad Rafael Landívar; 2017. [Citado el 14 de octubre del 2019]. Disponible en <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesiseortiz/2017/06/14/Cabrera-William.pdf>
16. Ramirez F, Rodriguez K. Cuantificación de hierro en diferentes formas de preparación de *cicer arietinum* [tesis de grado]. Trujillo: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Trujillo; 2000.
17. Gaytán R. Elaboración de Galletas con alto contenido proteico a base de harina de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) [Tesis de Grado]. México: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; 2015. [Citado el 7 de abril del 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/6614/T20414%20GAYTAN%20RODRIGUEZ%2C%20ROSA%20ELVA%20%2063298.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
18. Lazaro J, Sotelo M. Optimización por diseño de mezcla de un snack de grits de maíz amarillo (*Zea mays*), harina de quinua (*Chenopodium quinoa*) y harina de garbanzo (*Cicer arietinum*) obtenido mediante extrusión [Tesis de grado]. Chimbote: Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Santa; 2017.
19. Bermeo T, Bolaños C. Plan de negocio para la comercialización de galletas a base de harina de garbanzo y frutos secos en el cantón durán [Tesis de grado]. Ecuador, Guayaquil: Facultad de ciencias sociales y humanísticas, Escuela Superior Politécnica del Litoral; 2018.
20. Cabrera C. Manual del cultivo de pallar. Ica: CEDEP. 2009; 2:1-14.
21. Palomino P. Fenología e influencia térmica en Pallar bebe (*Phaseolus lunatus* L.) y fréjol castilla (*Phaseolus vulgaris*) en diferentes épocas de siembra en la molina [Tesis de grado]. Lima: Facultad de Agronomía, Universidad Nacional La Molina; 2015. [Citado el 15 de setiembre del 2019]. Disponible en:

- <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1409/t007168.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
22. Lezama R, Chel L, Acevedo J, Betancur D. Efecto cicatrizante de fracciones peptídicas derivadas de la hidrólisis enzimática de proteínas de *Phaseolus lunatus*. Rev Nutr Hosp. 2019; 34(1):15-18. doi.org/10.20960/nh.1967
 23. Silgado T. Efectos en el desarrollo foliar en una plantación de lúcuma (*Pouteria lucuma*) por la asociación con pallar (*Phaseolus lunatus*), Fundo Buenos Aires, Quilmana, Cañete [Tesis de grado]. Lima: Facultad de ciencias ambientales, Universidad Científica del Sur; 2019. [Citado el 12 de diciembre del 2019]. Disponible en: http://repositorio.cientifica.edu.pe:8080/bitstream/handle/UCS/808/TL_Silgado_Bianchi.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 24. López J, Lépiz R, González D, Rodríguez R, López E. Variabilidad morfológica de *Phaseolus lunatus* L. silvestre de la región occidente de México. Rev Fitotec Mex. 2016; 39(1):49-58.
 25. Yesid A, Piedad M, Marlene D. Evaluación nutricional de concentrados proteicos de *Phaseolus lunatus* y *Vigna unguiculata*. Inf Tecnol. 2016; 27(6):107-114.
 26. Zeña C. Efecto de la fertilización con fertilizantes inorgánicos, proteicos y biofertilizantes, sobre los parámetros agronómicos del pallar (*Phaseolus lunatus* L.) tipo americano en la parte baja del valle Chancay Lambayeque. [Tesis de grado] Lima: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. 2018. [citado el 24 de julio del 2019]. Disponible en: <http://repositorio.unprg.edu.pe/handle/UNPRG/2118>
 27. Polanco A. Extracción, modificación y caracterización de proteínas de amaranto. [Tesis de Magister en tecnología de los alimentos]. México: Universidad Veracruzana. 2017. [Citado el 20 de octubre del 2019]. Disponible en: <https://www.uv.mx/mca/files/2018/01/Tesis-Ana-Isabel-Polanco-Murrieta.pdf>
 28. Espitia F. Caracterización de las proteínas de reserva de la Semilla de Parota (*Enterolobium cyclocarpum*). Espitia al/ Vol 1, No 2 147-152. 2016; 1(2):147-152.

29. Figueroa J, Guzmán S, Herrera G. Atributo nutricional y nutracéutica de panqué y barritas a base de harina de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Biotecnia*. 2015; 17(3):9. doi:10.18633/bt.v17i3.231
30. Tobar S. Innovación en legumbres. *Rev Chile Nutr*. 2018; 45:50-53.
31. Wade L. Química Orgánica. 5ª Edición [Internet]. España: Jr.Whitman College; 2004. [Citado 10 de agosto del 2019]. Disponible en: <https://docer.com.ar/doc/nnesn5>
32. Aylas R. Desarrollo de una mezcla alimenticia en polvo de balanceado valor proteico y libre de gluten, a base de cereales y leguminosas. [Tesis de Magister Ingeniero agrónomo]. Santiago de Chile: Universidad de Chile. 2017:121. [Citado el 16 de octubre del 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/150225>
33. Morrison R, Boyd R. Química Orgánica. 5 a. Edición. México: Ed. Addison Wesley Logman de México, S.A. de C.V; 1998:1101-1120
34. Ruiz C, Díaz C, Anaya J, Rojas R. Análisis proximal, antinutrientes, perfil de ácidos grasos y de aminoácidos de semillas y tortas de 2 especies de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* y *Plukenetia huayllabambana*). *Rev la Soc Química del Perú*. 2013;79(1):29-36
35. Rodwell V. Sección VI: Metabolismo de proteínas y aminoácidos. Harper Bioquímica [Internet], ACCESS.MEDICINA, 31 e. [citado el 10 de Julio del 2019].
Disponible en:
<https://accessmedicina.mhmedical.com/book.aspx?bookID=2743#229797064>
36. Carbonero P. Metabolismo de aminoácidos. [Libro en línea]. Monografías de la escuela técnica superior de ingenieros agrónomos, complementos de Bioquímica industrias agrícolas. Madrid: Universidad politécnica. [Citado el 12 de julio del 2019]. Disponible en: oa.upm.es/54762/1/metabolismo.pdf
37. Laurente Y. Obtención del concentrado proteico y determinación del perfil de aminoácidos de dos variedades de tarwi (*Lupinus mutabilis sweet*). [tesis de grado].Puno: facultad de ciencias agrarias, escuela profesional de ingeniería agroindustria, Universidad nacional del altiplano;2016
38. Fessenden J. Química Orgánica. 2nd edición. EE.UU. Grupo Editorial Internacional Iberoamérica s.a. 1983.

39. ACD/ChemSketch Freeware (Versión 2019.2.1) [Aplicación para actividad científica].
Disponible en: <https://www.acdlabs.com/resources/freeware/chemsketch/>
40. Moreno S. Aminoácidos y Proteínas. :70-88. Harper Bioquímica Ilustrada.; 2014. [citado el 1 de julio del 2019]. Disponible en: doi:10.1007/s13398-014-0173-7.2
41. Christian G. Química Analítica.; 1985. [Citado el 20 de agosto del 2019].
Disponible en: www.lalibreria.upv.es.
42. García A, Yusá D. HPLC Instrumental. Vol 5.; 2016. [citado 1 de julio del 2019].
Disponible en: www.lalibreria.upv.es.
43. Alaiz M, Navarro J, Girón J y Vioque E. Amino acid analysis by high performance liquid chromatography after derivatization with 2000. Journal chromatography 591; 181-186.
44. Cortez R. Cromatografía de Líquida de alta eficiencia 2010. [citado 10 de setiembre del 2020].
Disponible en:
<http://www.relaq.mx/RLQ/tutoriales/cromatografia/hplc.htm#Tipos>.
45. Corzo A. Técnicas de Análisis en Química Orgánica – Cromatografía. Cátedra de química orgánica y biológica. [internet]. 1ª ed. Santiago del Estero:UNSE.Facultad de ciencias Forestales;2019.[citado el 13 setiembre del 2020]. Disponible en: <https://fcf.unse.edu.ar/archivos/series-didacticas/SD-44-Cromatografia-CORZO.pdf>
46. Rounds M, Gregory J. High Performance Liquid Chromatography. En: S.S. 2003.
47. Montaña M. Determinación, cuantificación y comparación de la concentración de vitamina C en naranja (*Citrus aurantium*), limón (*Citrus aurantifolia*) y mandarina (*Citrus reticulata*) por HPL. [Tesis para optar el título de licenciado en ciencias química]. Quito. Universidad católica del Ecuador, Facultad de ciencias exactas y naturales. Escuela de ciencias químicas 2011. [citado el 13 de Setiembre del 2020]. Disponible en:
[file:///C:/Users/user/Downloads/Tesis%20HPLC%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/user/Downloads/Tesis%20HPLC%20(3).pdf)
48. Belmán I, Cerón A, Sosa J, Gómez S. Cambios en compuestos bioactivos asociados al procesamiento en semillas de mijo (*Pennisetum glaucum*). 2017; 2:41-47. [citado el 1 de julio del 2019]. Disponible en:

- <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume2/3/1/7.pdf>. Accessed June 22, 2018.
49. Henderson J, Ricker R, Bidlingmeyer B, Woodward C. Rapid Accurate, Sensitive and Reproducible HPLC Analysis of Amino Acids. Agilent Technologies.
 50. Knauer H. Determination of Amino acids by UHPLC with automated OPA Derivatization by the Autosampler. August 2012. [citado el 13 de setiembre del 2020].
Disponible en:
https://d1lqgfmy9cwjff.cloudfront.net/csi/pdf/admin/kn_app_vbs0029n.pdf
 51. Castillo C. Fundamentos básicos e instrumentación de HPLC [High performance liquid chromatography]. [citado el 13 de setiembre del 2020].
Disponible en: <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/4519/UDLA-EC-TIAG-2015-12.pdf>
 52. Perugachi M. Análisis de la sustitución de proteína animal por concentrado proteico de haba (*Vicia faba*) en salchichas tipo vienensa. 2017:78. [Citado el 14 de abril del 2019]. Disponible en:
<http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/17044/1/CD-7627.pdf>.
 53. Aguilar V, Velez J. Propiedades nutricionales y funcionales del garbanzo [tesis para optar ingeniería química de alimentos y ambientales]. México: Universidad de las américas puebla 2013.
 54. Reyes C, Romero C, Milan J, Gomez R. Composición química y calidad nutritiva de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) fresco y endurecido después de la fermentación en estado sólido (FES)/Chemical composition and nutritional quality of fresh and hardened chickpea (*Cicer arietinum* L). after the solid . Food Sci Technol Int. 2000; 6(3):251-258. [citado el 1 de julio del 2019]. Disponible en: doi:10.1177/108201320000600308
 55. Flores E, Montoya K. Identificación y Cuantificación de aminoácidos esenciales en *Vigna unguiculata* (frejol castilla) y *Phaseolus vulgaris* (frejol guinda) por Cromatografía Líquida de Alta Performance HPLC [Tesis de grado]. Lima: Univ Priv Norbert Wiener.
 56. Zevallos A, Arce A. Efecto del pH de extracción y caracterización funcional de proteínas de ñuña (*Phaseolus vulgaris* L.) Effect of pH on protein extraction and functional properties of Ñuña (*Phaseolus vulgaris* L.) beans. Pueblo cont. 2014;

- 25:81-86. [Citado el 14 de octubre del 2019]. Disponible en: <http://journal.upao.edu.pe/PuebloContinente/article/viewFile/265/233>.
57. Nota de Prensa. INEI: Instituto Nacional de Estadística e Informática. Desnutrición Crónica. Lima-Perú: Instituto Nacional de Estadística e Informática [actualizado en febrero de 2019; acceso 15 de abril de 2019]. 2019:2017-2018. [Citado el 14 de octubre del 2019]. Disponible en: <https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/noticias/nota-de-prensa-n017-2019-inei.pdf>.
58. United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 39-NF 34). Vol1. Rockville, MD: United States Pharmacopeia Convention; 2015:1096-1105.
59. Vintimilla P, Reinoso G. Comprobación de métodos para la caracterización de ácidos grasos y aminoácidos de la semilla Chía (*Salvia hispánica* L.). [Tesis para optar el título de Ingeniería Agroindustrial y de Alimentos] 2015. [citado 5 de abril del 2019]. Disponible en: <http://dspace.udla.edu.ec/bistream/33000/4519/1/UDLA-EC-TIAG-2015-12.pdf>
60. Gallegos S, Pacheco J, Belancur D, Chel L. Extracción y caracterización de las fracciones proteínicas solubles del grano de *Phaseolus lunatus* L. Arch Latinoam Nutr. 2004; 54(1):81-88.
61. Ramiro G, Polo I. Determinación proximal de los principales componentes de seis leguminosas. Revista infoanalítica. Pontificia Universidad católica del Ecuador, facultad de ciencias exactas, escuela de ciencias químicas, Quito. 2013. [Citado el 12 de julio del 2019].

ANEXOS

ANEXO A. Matriz de consistencia

Planteamiento de Problema	Objetivos	Hipótesis	Justificación	Variables	Metodología
<p>Problema General</p> <p>¿Qué aminoácidos esenciales tendrán las especies de <i>Cicer arietinum</i> L “garbanzo” y <i>Phaseolus lunatus</i> L. “pallar” identificado por cromatografía líquida de alta performance (HPLC)?</p>	<p>Objetivo General:</p> <p>Identificar y cuantificar los aminoácidos esenciales en <i>Cicer arietinum</i> L “garbanzo” y <i>Phaseolus lunatus</i> L. “pallar” por cromatografía líquida de alta performance (HPLC).</p>	<p>Hipótesis de investigación</p> <p>Los aminoácidos esenciales están presentes en el extracto proteico de <i>Cicer arietinum</i> L. “garbanzo” y <i>Phaseolus lunatus</i> L. “pallar” por HPLC.</p>	<p>Es analizar e identificar científicamente los aminoácidos presentes de <i>Cicer arietinum</i> L “garbanzo” y <i>Phaseolus lunatus</i> L. “pallar” utilizando el equipo de cromatografía líquida de alta performance (HPLC)</p>	<p>Independiente:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Cicer arietinum</i> L. “garbanzo” y <i>Phaseolus lunatus</i> L. “pallar”. <p>Dependiente:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aminoácidos esenciales presentes en <i>Cicer arietinum</i> L. “garbanzo” y <i>Phaseolus</i> 	<p>Analítico:</p> <p>Se propuso a realizar una búsqueda bibliográfica exhaustiva con criterio crítico para el presente estudio.</p> <p>Descriptivo:</p> <p>Porque solo se va describir la realidad observada y encontraba en las muestras y sin</p>

	<p style="text-align: center;">Objetivos</p> <p style="text-align: center;">Específicos:</p> <p>1. Identificar los aminoácidos esenciales en <i>Cicer arietinum</i> L. "garbanzo" y <i>Phaseolus lunatus</i> L. "pallar" por cromatografía líquida de alta performance (HPLC).</p> <p>2. Cuantificar los aminoácidos esenciales en <i>Cicer arietinum</i> L. "garbanzo" y <i>Phaseolus lunatus</i> L. "pallar" por cromatografía</p>			<p><i>lunatus</i> L. "pallar".</p>	<p>manipulación de las variables.</p> <p>Prospectivo: El presente estudio se realizará en un tiempo determinado.</p>
--	--	--	--	------------------------------------	---

	<p>líquida de alta performance (HPLC).</p> <p>3. Establecer la diferencia de porcentaje de aminoácidos esenciales entre <i>Cicer arietinum</i> L. "garbanzo" y <i>Phaseolus lunatus</i> L. "pallar".</p>				
--	--	--	--	--	--

ANEXO B. Operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Dimensión	Indicador	Valores	Criterios de medición	Escala de medición de Variable	Instrumentos de recolección de datos
Aminoácidos esenciales en <i>Cicer arietinum</i> L. y <i>Phaseolus lunatus</i> L.	Es la presencia de cuanto aminoácidos contiene cada especie estudiada.	Presencia de aminoácidos esenciales en <i>Cicer arietinum</i> L. y <i>Phaseolus lunatus</i> L.	Identificar	Negativo Positivo	Cualitativo	Dicotómica	Se utilizará el equipo de Cromatografía de alta performance (HPLC)
		Estudiar los aminoácidos presentes en <i>Cicer arietinum</i> L. y <i>Phaseolus lunatus</i> L.	Cuantificar	Negativo Positivo	cuantitativa	Continuas	

Anexo C. Clasificación taxonómica de *Cicer arietinum* L. "Garbanzo"



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



"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

CONSTANCIA N° 095-USM-2019

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 (SEMILLA) recibida de **JACKELIN CCALA SUCASACA y SHAILA RAMIREZ CARRASCO**, estudiantes de la Universidad Privada Norbert Wiener, ha sido estudiada y clasificada como: ***Cicer arietinum* L.**, y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ROSIDAE

ORDEN: FBALES

FAMILIA: FABACEAE

GENERO: Cicer

ESPECIE: *Cicer arietinum* L.

Nombre vulgar.: "Garbanzo"

Determinado por: Mg. María Isabel La Torre Acuy

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

Lima, 15 de abril de 2019



Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/yrh.

Anexo D. Clasificación taxonómica de *Phaseolus lunatus* L. "Pallar"

		<p>UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO</p>	
MUSEO DE HISTORIA NATURAL			
<i>"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"</i>			
CONSTANCIA N° 094-USM-2019			
<p>EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:</p>			
<p>La muestra vegetal (SEMILLA) recibida de JACKELIN CCALA SUCASACA y SHAILA RAMIREZ CARRASCO, estudiantes de la Universidad Privada Norbert Wiener, ha sido estudiada y clasificada como: <i>Phaseolus lunatus</i> L., y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).</p>			
DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA			
CLASE: MAGNOLIOPSIDA			
SUBCLASE: ROSIDAE			
ORDEN: FBALES			
FAMILIA: FABACEAE			
GENERO: Phaseolus			
ESPECIE: <i>Phaseolus lunatus</i> L.			
<p>Nombre vulgar.: "Pallar" Determinado por: Mg. María Isabel La Torre Acuy</p>			
<p>Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.</p>			
<p>Lima, 15 de abril de 2019</p>			
			 Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)
ACE/yrh.			

Anexo E. Protocolo de analisis por HPLC de *Cicer arietinum* L. "Garbanzo"



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA




PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00296-CPF-2019

ORDEN DE ANÁLISIS : 05428/2019
SOLICITADO POR : JACKELIN CCALA SUCASACA Y SHAILA RAMIREZ CARRASCO
MUESTRA : GARBANZO
NÚMERO DE LOTE : ----
CANTIDAD : 01 bolsa
FECHA DE RECEPCIÓN : 10 de Julio del 2019
FECHA DE FABRICACIÓN : ----
FECHA DE VENCIMIENTO : ----

ENSAYO	ESPECIFICACIONES	MÉTODO	RESULTADOS
AMINOÁCIDO			
ALANINA			
M1	----	HPLC	6.9 mg/100g
M2	----	HPLC	7.6 mg/100g
GLICINA			
M1	----	HPLC	0.894mg/100mg
M2	----	HPLC	0.965mg/100mg
METIONINA			
M1	----	HPLC	1.03mg/100g
M2	----	HPLC	1.06mg/100g
VALINA			
M1	----	HPLC	1.220mg/100g
M2	----	HPLC	1.40mg/100g
FENILALANINA			
M1	----	HPLC	33.7mg/100g
M2	----	HPLC	32.4mg/100g
LISINA			
M1	----	HPLC	1.027mg/100mg
M2	----	HPLC	1.028mg/100mg

Lima, 01 de Agosto del 2019


Q.F. Gustavo Guerra Brizuela
Director del Centro de Control Analítico



“FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO”

Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
(511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1
mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe http://farmacia.unmsm.edu.pe



ISO 9001

BUREAU VERITAS
Certification

N° BR232265





Anexo F. Análisis por HPLC – Alanina de *Cicer arietinum* L. “Garbanzo”



 UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS (Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA) FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA		 FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA	
CENPROFARMA CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO			
ANÁLISIS POR HPLC-UV			
		ORDEN DE ANÁLISIS	05428-2019
PRODUCTO	: Garbanzo	FECHA DE ANÁLISIS	: 24/07/2019
PRESENTACIÓN	: Sólido	LOTE	: ---
ANALITO	: ALANINA		
MÉTODO	: DERIVATIZACIÓN OPA-2ME		
ESTÁNDAR			
Nombre	: ALANINA	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)	: 1 g	Factor de dilución (Fdmp)	: 0.02
Cantidad (Wmp2)	: 1 g		
LECTURA DE ÁREAS			
Estándares	<u>S1</u>	<u>S2</u>	<u>Promedio</u>
	: 341.68265	349.61472	rS : 345.65
Muestras			
Am 1	: 11.95635	rU 1	: 11.95635
Am 2	: 15.68436	rU 2	: 15.68436
CÁLCULOS			
Resultado (mg/100mg)	:	$\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$	
RESULTADOS			
M1	: 0.0069 mg/100mg	Contenido	: 0.0072 mg/100mg
M2	: 0.0076 mg/100mg	%RSD	: 6.3 %
ANALIZADO POR:	REVISADO POR:	FECHA:	OBSERVACIONES:
N. Neira		31/07/2019	----

F/CCA - 062 R1



Anexo G. Análisis por HPLC – Glicina de *Cicer arietinum* L. “Garbanzo”

		UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS (Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA) FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA			
CENPROFARMA CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO					
<u>ANÁLISIS POR HPLC-UV</u>					
				ORDEN DE ANÁLISIS	05428-2019
PRODUCTO	: Garbanzo	FECHA DE ANÁLISIS	: 24/07/2019		
PRESENTACIÓN	: Sólido	LOTE	: ---		
ANALITO	: GLICINA				
MÉTODO	: 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)	: 0.1		
		Concentración corregida (Cs)	: 1 mg/mL		
MUESTRA					
Cantidad (Wmp1)	: 1 g	Factor de dilución (Fdmf)	: 0.02		
Cantidad (Wmp2)	: 1 g				
LECTURA DE ÁREAS					
Estándares		<u>St1</u>	<u>St2</u>	<u>Promedio</u>	
	:	90.42747	87.78860	rS : 89.11	
Muestras					
Am 1	: 15.92868	rU 1	: 15.92868		
Am 2	: 18.91404	rU 2	: 18.91404		
CÁLCULOS					
Resultado (mg/100mg)	:	$\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmf}$			
RESULTADOS					
M1	: 0.894 mg/100mg	Contenido	: 0.929 mg/100mg		
M2	: 0.965 mg/100mg	%RSD	: 5.4 %		
ANALIZADO POR:	REVISADO POR:	FECHA:	OBSERVACIONES:		
N. Neira		31/07/2019	----		
F/CCA - 062 R1					



Anexo H. Análisis por HPLC – Metionina de *Cicer arietinum* L. “Garbanzo”

		UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS <i>(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)</i> FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA				
CENPROFARMA CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO						
<u>ANÁLISIS POR HPLC-UV</u>						
				ORDEN DE ANÁLISIS	05428-2019	
PRODUCTO	:	Garbanzo	FECHA DE ANÁLISIS	:	24/07/2019	
PRESENTACIÓN	:	Sólido	LOTE	:	---	
ANALITO	:	METIONINA				
MÉTODO	:	DERIVATIZACIÓN OPA-2ME				
ESTÁNDAR						
Nombre	:	METIONINA	Peso 1	:	10.2 mg	
N° Lote	:	---	Peso 2	:	10.0 mg	
Potencia Base seca (Pot)	:	1.0000	Peso promedio (Wst)	:	10.1 mg	
			Factor de dilución (Fdst)	:	0.004	
			Concentración corregida (Cs)	:	0.0404 mg/mL	
MUESTRA						
Cantidad (Wmp1)	:	1 g	Factor de dilución (Fdmp)	:	0.02	
Cantidad (Wmp2)	:	1 g				
LECTURA DE ÁREAS						
Estándares	:	<u>St1</u> 4352.40039	<u>St2</u> 4167.85352	<u>Promedio</u> rS : 4260.13		
Muestras						
Am 1	:	21.71131	rU 1	:	21.71131	
Am 2	:	22.36159	rU 2	:	22.36159	
CÁLCULOS						
Resultado (mg/100mg)	:	$\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$				
RESULTADOS						
M1	:	0.00103 mg/100mg	Contenido	:	0.00104 mg/100mg	
M2	:	0.00106 mg/100mg	%RSD	:	2.1 %	
ANALIZADO POR:	REVISADO POR:	FECHA:	OBSERVACIONES:			
N. Neira		31/07/2019	-----			
F/CCA - 062 R1						

Anexo I. Análisis por HPLC – Valina de *Cicer arietinum* L. “Garbanzo”



	UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS <i>(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)</i> FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA		
CENPROFARMA CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO			
<u>ANÁLISIS POR HPLC-UV</u>			
		ORDEN DE ANÁLISIS	
		05428-2019	
PRODUCTO	: Garbanzo	FECHA DE ANÁLISIS	: 24/07/2019
PRESENTACIÓN	: Sólido	LOTE	: ---
ANALITO	: VALINA		
MÉTODO	: DERIVATIZACIÓN OPA-2ME		
ESTÁNDAR			
Nombre	: VALINA	Peso 1	: 10.1 mg
N° Lote	: ---	Peso 2	: 10.0 mg
Potencia Base seca (Pot)	: 1.0000	Peso promedio (Wst)	: 10.1 mg
		Factor de dilución (Fdst)	: 0.004
		Concentración corregida (Cs)	: 0.0402 mg/mL
MUESTRA			
Cantidad (Wmp1)	: 1 g	Factor de dilución (Fdmp)	: 0.02
Cantidad (Wmp2)	: 1 g		
LECTURA DE ÁREAS			
Estándares	<u>S1</u>	<u>S2</u>	<u>Promedio</u>
	: 1463.88708	1419.46875	rS : 1441.68
Muestras			
Am 1	: 4.73690	rU 1	: 4.73690
Am 2	: 14.46428	rU 2	: 14.46428
CÁLCULOS			
Resultado (mg/100mg)	:	$\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$	
RESULTADOS			
M1	: 0.00122 mg/100mg	Contenido	: 0.00131 mg/100mg
M2	: 0.00140 mg/100mg	%RSD	: 9.6 %
ANALIZADO POR:	REVISADO POR:	FECHA:	OBSERVACIONES:
N. Neira		31/07/2019	-----

Anexo J. Análisis por HPLC – Fenilalanina de *Cicer arietinum* L. “Garbanzo”

 UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS <i>(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)</i> FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA			
CENPROFARMA CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO			
<u>ANÁLISIS POR HPLC-UV</u>			
		ORDEN DE ANÁLISIS	05428-2019
PRODUCTO	: Garbanzo	FECHA DE ANÁLISIS	: 24/07/2019
PRESENTACIÓN	: Sólido	LOTE	: ---
ANALITO	: FENILALANINA		
MÉTODO	: DERIVATIZACIÓN OPA-2ME		
ESTÁNDAR			
Nombre	: FENILALANINA	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)	: 1 g	Factor de dilución (Fdmp)	: 0.02
Cantidad (Wmp2)	: 1 g		
LECTURA DE ÁREAS			
Estándares	<u>St1</u>	<u>St2</u>	<u>Promedio</u>
	: 131.90752	129.21771	rS : 130.56
Muestras			
Am 1	: 24.22333		rU 1 : 24.22333
Am 2	: 21.15154		rU 2 : 21.15154
CÁLCULOS			
Resultado (mg/100mg)	:	$\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$	
RESULTADOS			
M1	: 0.0337 mg/100mg	Contenido	: 0.0331 mg/100mg
M2	: 0.0324 mg/100mg	%RSD	: 2.8 %
ANALIZADO POR:	REVISADO POR:	FECHA:	OBSERVACIONES:
N. Neira		31/07/2019	-----

F/CCA - 062 R1

Anexo K. Análisis por HPLC – Lisina de *Cicer arietinum* L. “Garbanzo”

		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					
				ORDEN DE ANÁLISIS	05428-2019
PRODUCTO	: Garbanzo	FECHA DE ANÁLISIS	: 24/07/2019		
PRESENTACIÓN	: Sólido	LOTE	: ---		
ANALITO	: LISINA				
MÉTODO	: 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)	: 1 g	Factor de dilución (Fdmp)	: 0.02		
Cantidad (Wmp2)	: 1 g				
LECTURA DE ÁREAS					
Estándares		<u>St1</u>	<u>St2</u>	<u>Promedio</u>	
	: 934.82971	860.97217	rS : 897.90		
Muestras					
Am 1	: 4611.81836	rU 1 :	4611.81836		
Am 2	: 4616.14258	rU 2 :	4616.14258		
CÁLCULOS					
Resultado (mg/100mg)	:	$\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$			
RESULTADOS					
M1	: 1.027 mg/100mg	Contenido	: 1.0277 mg/100mg		
M2	: 1.028 mg/100mg	%RSD	: 0.1 %		
ANALIZADO POR: N. Neira	REVISADO POR:	FECHA: 31/07/2019	OBSERVACIONES: -----		
F/CCA - 062 R1					

Anexo L. Protocolo de análisis por HPLC de *Phaseolus lunatus* L. "pallar"



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA




PROTOKOLO DE ANÁLISIS N.º00295-CPF-2019

ORDEN DE ANÁLISIS : 05429/2019
SOLICITADO POR : JACKELIN CCALA SUCASACA Y SHAILA RAMIREZ
CARRASCO
MUESTRA : PALLAR
NÚMERO DE LOTE : ----
CANTIDAD : 01 bolsa
FECHA DE RECEPCIÓN : 10 de Julio del 2019
FECHA DE FABRICACIÓN : ----
FECHA DE VENCIMIENTO : ----

ENSAYO	ESPECIFICACIONES	MÉTODO	RESULTADOS
AMINOÁCIDO			
ALANINA			
M1	----	HPLC	7.9 mg/100g
M2	----	HPLC	7.1 mg/100g
GLICINA			
M1	----	HPLC	0.3253mg/100mg
M2	----	HPLC	0.3423mg/100mg
METIONINA			
M1	----	HPLC	1.32mg/100g
M2	----	HPLC	1.46mg/100g
VALINA			
M1	----	HPLC	3.10mg/100g
M2	----	HPLC	2.48mg/100g
FENILALANINA			
M1	----	HPLC	32.7mg/100g
M2	----	HPLC	33.2mg/100g
LISINA			
M1	----	HPLC	0.9272mg/100mg
M2	----	HPLC	0.9414mg/100mg

Lima, 01 de Agosto del 2019


Q.F. Gustavo Guerra Brizuela
Director del Centro de Control Analítico





"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>

ISO 9001
BUREAU VERITAS
Certification
N° DR23325





Anexo LL. Análisis por HPLC – Alanina de *Phaseolus lunatus* L. “pallar”

		UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS (Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA) FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA			
CENPROFARMA CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO					
<u>ANÁLISIS POR HPLC-UV</u>					
				ORDEN DE ANÁLISIS	05429-2019
PRODUCTO	:	Pallar	FECHA DE ANÁLISIS	:	25/07/2019
PRESENTACIÓN	:	Sólido	LOTE	:	---
ANALITO	:	ALANINA			
MÉTODO	:	DERIVATIZACIÓN OPA-2ME			
ESTÁNDAR					
Nombre	:	ALANINA	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)	:	1 g	Factor de dilución (Fdmp)	:	0.02
Cantidad (Wmp2)	:	1 g			
LECTURA DE ÁREAS					
Estándares		<u>St1</u>	<u>St2</u>		<u>Promedio</u>
	:	341.68265	349.61472	rS :	345.65
Muestras					
Am 1	:	16.36109		rU 1 :	16.36109
Am 2	:	12.26974		rU 2 :	12.26974
CÁLCULOS					
Resultado (mg/100mg)	:	$\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$			
RESULTADOS					
M1	:	0.0079 mg/100mg	Contenido	:	0.0075 mg/100mg
M2	:	0.0071 mg/100mg	%RSD	:	7.4 %
ANALIZADO POR:	REVISADO POR:	FECHA:	OBSERVACIONES:		
N. Neira		31/07/2019	-----		



F/CCA - 062 R1

Anexo M. Análisis por HPLC – Glicina de *Phaseolus lunatus* L. “pallar”



	UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS <i>(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)</i> FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA		
CENPROFARMA CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO			
<u>ANÁLISIS POR HPLC-LV</u>			
		ORDEN DE ANÁLISIS : 05429-2019	
PRODUCTO	: Pallar	FECHA DE ANÁLISIS	: 25/07/2019
PRESENTACIÓN	: Sólido	LOTE	: ---
ANALITO	: GLICINA		
MÉTODO	: 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)	: 0.1
		Concentración corregida (Cs)	: 1 mg/mL
MUESTRA			
Cantidad (Wmp1)	: 1 g	Factor de dilución (Fdmp)	: 0.02
Cantidad (Wmp2)	: 1 g		
LECTURA DE ÁREAS			
Estándares	<u>St1</u>	<u>St2</u>	<u>Promedio</u>
	: 90.42747	87.78860	rS : 89.11
Muestras			
Am 1	: 5.79777	rU 1	: 5.79777
Am 2	: 8.53988	rU 2	: 8.53988
CÁLCULOS			
Resultado (mg/100mg)	:	$\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$	
RESULTADOS			
M1	: 0.3253 mg/100mg	Contenido	: 0.33 mg/100mg
M2	: 0.3423 mg/100mg	%RSD	: 3.6 %
ANALIZADO POR:	REVISADO POR:	FECHA:	OBSERVACIONES:
N. Neira		31/07/2019	-----

F/CCA - 062 B1

Anexo N. Análisis por HPLC – Metionina de *Phaseolus lunatus* L. “pallar”



		UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS <i>(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)</i> FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA			
CENPROFARMA CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO					
<u>ANÁLISIS POR HPLC-UV</u>					
				ORDEN DE ANÁLISIS	05429-2019
PRODUCTO	:	Pallar	FECHA DE ANÁLISIS	:	25/07/2019
PRESENTACIÓN	:	Sólido	LOTE	:	---
ANALITO	:	METIONINA			
MÉTODO	:	DERIVATIZACIÓN OPA-2ME			
ESTÁNDAR					
Nombre	:	METIONINA	Peso 1	:	10.2 mg
N° Lote	:	---	Peso 2	:	10.0 mg
Potencia Base seca (Pot)	:	1.0000	Peso promedio (Wst)	:	10.1 mg
			Factor de dilución (Fdst)	:	0.004
			Concentración corregida (Cs)	:	0.04 mg/mL
MUESTRA					
Cantidad (Wmp1)	:	1 g	Factor de dilución (Fdmp)	:	0.02
Cantidad (Wmp2)	:	1 g			
LECTURA DE ÁREAS					
Estándares	:	<u>St1</u> 4352.40039	<u>St2</u> 4167.85352	<u>Promedio</u> rS :	4260.13
Muestras	:	Am 1 : 25.35000	rU 1 :	25.35000	
	:	Am 2 : 43.50567	rU 2 :	43.50567	
CÁLCULOS					
Resultado (mg/100mg)	:	$\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$			
RESULTADOS					
M1	:	0.00132 mg/100mg	Contenido	:	0.00139 mg/100mg
M2	:	0.00146 mg/100mg	%RSD	:	6.9 %
ANALIZADO POR:	REVISADO POR:	FECHA:	OBSERVACIONES:		
N. Neira		31/07/2019	-----		

Anexo O. Análisis por HPLC – Valina de *Phaseolus lunatus* L. “pallar”



	UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS <i>(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)</i> FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA		
CENPROFARMA CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO			
ANÁLISIS POR HPLC-UV			
		ORDEN DE ANÁLISIS : 05429-2019	
PRODUCTO	: Pallar	FECHA DE ANÁLISIS	: 25/07/2019
PRESENTACIÓN	: Sólido	LOTE	: ---
ANALITO	: VALINA		
MÉTODO	: DERIVATIZACIÓN OPA-2ME		
ESTÁNDAR			
Nombre	: VALINA	Peso 1	: 10.1 mg
N° Lote	: ---	Peso 2	: 10.0 mg
Potencia Base seca (Pot)	: 1.0000	Peso promedio (Wst)	: 10.1 mg
		Factor de dilución (Fdst)	: 0.004
		Concentración corregida (Cs)	: 0.04 mg/mL
MUESTRA			
Cantidad (Wmp1)	: 1 g	Factor de dilución (Fdmp)	: 0.02
Cantidad (Wmp2)	: 1 g		
LECTURA DE ÁREAS			
Estándares		St1	St2
	: 1463.88708	1419.46875	Promedio
			rS : 1441.68
Muestras			
Am 1	: 32.14302	rU 1	: 32.14302
Am 2	: 14.31722	rU 2	: 14.31722
CÁLCULOS			
Resultado (mg/100mg)	:	$\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$	
RESULTADOS			
M1	: 0.00310 mg/100mg	Contenido	: 0.00279 mg/100mg
M2	: 0.00248 mg/100mg	%RSD	: 15.6 %
ANALIZADO POR:	REVISADO POR:	FECHA:	OBSERVACIONES:
N. Neira		31/07/2019	-----

F/CCA - 062 R1

Anexo P. Análisis por HPLC – Fenilalanina de *Phaseolus lunatus* L. “pallar”

		UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS <i>(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)</i> FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA			
CENPROFARMA CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO					
<u>ANÁLISIS POR HPLC-UV</u>					
				ORDEN DE ANÁLISIS	05429-2019
PRODUCTO	: Pallar	FECHA DE ANÁLISIS	:	25/07/2019	
PRESENTACIÓN	: Sólido	LOTE	:	---	
ANALITO	: FENILALANINA				
MÉTODO	: DERIVATIZACIÓN OPA-2ME				
ESTÁNDAR					
Nombre	: FENILALANINA	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)	: 1 g	Factor de dilución (Fdmp)	:	0.02	
Cantidad (Wmp2)	: 1 g				
LECTURA DE ÁREAS					
Estándares		<u>St1</u>	<u>St2</u>	<u>Promedio</u>	
	:	131.90752	129.21771	rS :	130.56
Muestras					
Am 1	:	25.62614		rU 1 :	25.62614
Am 2	:	21.68846		rU 2 :	21.68846
CÁLCULOS					
Resultado (mg/100mg)	:	$\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$			
RESULTADOS					
M1	:	0.0327 mg/100mg	Contenido	:	0.0330 mg/100mg
M2	:	0.0332 mg/100mg	%RSD	:	1.1 %
ANALIZADO POR:	REVISADO POR:	FECHA:	OBSERVACIONES:		
N. Neira		31/07/2019	-----		
F/CCA - 062 R1					

Anexo Q. Análisis por HPLC – Lisina de *Phaseolus lunatus* L. “pallar”

	UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS <i>(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)</i> FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA		
CENPROFARMA CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO			
<u>ANÁLISIS POR HPLC-UV</u>			
		ORDEN DE ANÁLISIS	
		05429-2019	
PRODUCTO	: Pallar	FECHA DE ANÁLISIS	: 25/07/2019
PRESENTACIÓN	: Sólido	LOTE	: ---
ANALITO	: LISINA		
MÉTODO	: 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)	: 1 g	Factor de dilución (Fdmp)	: 0.02
Cantidad (Wmp2)	: 1 g		
LECTURA DE ÁREAS			
Estándares		<u>St1</u>	<u>St2</u>
	: 934.82971	860.97217	rS : 897.90
Muestras			
Am 1	: 4162.59424	rU 1	: 4162.59424
Am 2	: 4649.17236	rU 2	: 4649.17236
CÁLCULOS			
Resultado (mg/100mg)	:	$\frac{rU \times Wst \times Fdst \times Pot \times 100}{rS \times Wmp \times Fdmp}$	
RESULTADOS			
M1	: 0.9272 mg/100mg	Contenido	: 0.934 mg/100mg
M2	: 0.9414 mg/100mg	%RSD	: 1.1 %
ANALIZADO POR:	REVISADO POR:	FECHA:	OBSERVACIONES:
N. Neira		31/07/2019	-----

F/CCA - 062 R1