

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICAS Y
AMBIENTALES

PROYECTO DE TITULACIÓN

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

**“MAGÍSTER EN GESTIÓN INTEGRAL DE LABORATORIOS
DE QUÍMICA”**

TEMA:

Validación del método Kjeldahl para determinación del
contenido de proteína en harinas y derivados de cereales de
origen andino (quinua y amaranto)

AUTOR:

ANA CRISTINA BUSTAMANTE GAVILANES

Guayaquil – Ecuador

2022

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo validar el método analítico para determinación de proteínas a partir del método Kjeldahl en harinas de quinua, amaranto y sus derivados. El método se basa en la determinación del nitrógeno total presente en las muestras seleccionadas. Los lineamientos para el procesamiento y cuantificación de las muestras fueron los establecidos según la metodología AOAC 2001.11. Los resultados de las mediciones obtenidas, de acuerdo con el diseño de validación, fueron evaluados mediante análisis estadístico en el cual se demostró que el método es preciso y exacto en los niveles establecidos, alto, medio y bajo (%RSD_r 3,95 y %RSD_R 4,87). Las nueve muestras fueron seleccionadas y se determinó el contenido de proteínas (5- 16%); observando que la mayoría cumplen con lo indicado en sus etiquetas. Se concluye que el método es preciso y exacto para determinación de proteínas en cereales andinos y que en las muestras analizadas se observó que todas las muestras cumplen con lo declarado en la etiqueta

Palabras clave: Proteína, Validación, derivados de cereales de origen andino, Kjeldahl.

ABSTRACT

The present research aimed to validate the analytical method Kjeldah to quantify the protein content in flours of quinoa, amaranth and their derivatives. The method is based on the determination of total nitrogen present in selected samples. The process guidelines and its quantification of the samples were the established at the AOAC 2001.11 methodology. The measurement results obtained, according to the validation design, were evaluated through statistical analysis in which it was shown that the method used is precise and exact at established levels high, medium and low (%RSD_r 3,95 y %RSD_R 4,87). The samples were selected, and it was determined the proteins content (5-16%); observing that the majority comply with what was indicated in their labels. In conclusion, the method used is precise and exact to the determination of proteins in Andean cereals; besides, in the analyzed samples it was observed that all the samples comply with what was established in their labels.

Key words: Protein, Validation, Andean cereals derivatives, Kjeldahl.

DEDICATORIA

A toda mi familia, en especial a ese ser especial que me dio motivos para seguir y que me apoyó en este trayecto en los cuales se han atravesado momentos malos y buenos.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por las oportunidades que ha puesto en mi camino, en las cuales una de ellas ha sido culminar esta nueva etapa profesional.

A mi Esposo y mi familia por contar con su apoyo para la culminación de este trabajo.

A mi tutor Mgs. Michael Rendón por apoyarme con sus conocimientos en este periodo de tiempo.

A la institución en la cual laboro, en la cual me permitieron desarrollar mi proyecto de grado en esta prestigiosa institución.

DECLARACIÓN EXPRESA

La responsabilidad por los hechos y doctrinas expuestas en este Proyecto de Titulación, me corresponde exclusivamente y ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría. El patrimonio intelectual del mismo, corresponde exclusivamente a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance del Trabajo de Titulación referido.

Ana Cristina Bustamante Gavilanes

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

Ph.D Joel Vielma Puente
PRESIDENTE

Msc. Michael Rendón Moran
TUTOR

Msc. Nadia Flores Manrique
DOCENTE EVALUADOR

ABREVIATURAS O SIGLAS

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (por sus siglas en inglés)

UNICEF: Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (por sus siglas en inglés)

CONTENIDO

RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
CAPÍTULO 1	1
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 ANTECEDENTES	1
1.2 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.....	2
1.3 OBJETIVOS	2
1.4 HIPÓTESIS	3
1.5 ALCANCE.....	3
CAPÍTULO 2	4
2. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 CEREALES	4
2.2 PSEUDOCEREALES	5
2.3 PROTEÍNAS.....	7
2.4 MÉTODO KJELDAHL.....	8
2.5 AMINOÁCIDOS	9
2.6 VALIDACIÓN.....	11
CAPÍTULO 3	13
3. METODOLOGÍA.....	13
3.2 PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS	14
3.3 MÉTODO DE ENSAYO	15

CAPÍTULO 4	20
4.1 Criterios para aceptación de validación	20
4.2 Datos Obtenidos de validación	20
4.3 Datos obtenidos de muestras analizadas	24
CAPÍTULO 5	27
5.1. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	27
REFERENCIAS	27
APÉNDICES Y ANEXOS	30
ANEXO 1: Datos experimentales blanco de muestra	30
ANEXO 2: Datos experimentales blanco de reactivo	30
ANEXO 3: Datos experimentales de glicina	31
ANEXO 4: Datos experimentales de material de referencia.....	31
ANEXO 5: Datos experimentales límite bajo	32
ANEXO 6: Datos experimentales límite medio	33
ANEXO 7: Datos experimentales límite alto	34

LISTADO DE FIGURAS

Fig. 1 Usos del Grano de Quinoa	4
Fig. 2 Equipo Kjeldahl: A. Destilador; B. Scrubber; C. Digestor; D. Balanza analítica	13
Fig. 3. Control de % de recuperación de material de referencia.....	22
Fig. 4. Control de % de Recuperación de Glicina	23
Fig. 5. Contenido de proteína de harinas y derivados de cereales de origen andino (quinua y amaranto)	25

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Análisis nutricional comparativo entre cereales.....	5
Tabla 2. Valor nutritivo de los granos de amaranto (100g).....	6
Tabla 3. Valor nutritivo de los granos de quinua (100g)	6
Tabla 4. Perfil de aminoácidos de la proteína de amaranto	10
Tabla 5. Perfil de aminoácidos de la proteína de la quinua	10
Tabla 6. Temperatura para digestión de muestras.....	15
Tabla 7. Factores que intervienen en la validación	16
Tabla 8. Características de desempeño	16
Tabla 9. Criterios de aceptación para validación del método	20
Tabla 10. Resultados obtenidos del análisis del Blanco muestra.....	20
Tabla 11. Resultados obtenidos del blanco reactivo	21
Tabla 12. Límite de detección	21
Tabla 13. Veracidad con material de referencia	22
Tabla 14. Veracidad del equipo con glicina	23
Tabla 15. Resultados obtenidos para repetibilidad.....	24
Tabla 16. Resultados obtenidos para reproducibilidad.....	24
Tabla 17. Alimentos procesados a base de cereales andinos analizados	25

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

1.1 ANTECEDENTES

La quinua y el amaranto son considerados alimentos ancestrales que se cultivaban desde épocas preincaicas en Perú, Ecuador y Chile. Al ser cultivos tradicionales de los Andes, fueron utilizados por las comunidades indígenas debido a sus propiedades curativas. Se conoce que desde la antigüedad, estos cereales permitían a los nativos mantener nutrida a su población [1].

El Ecuador, por un lapso de tiempo, se mantuvo al margen de la explotación agrícola de estos productos, no obstante en las últimas décadas se ha convertido en los cultivos de mayor expansión, ganando espacio en el país. Esto se debe a que han sido considerados como productos que contienen un alto valor biológico por las múltiples bondades nutritivas que poseen cada uno de ellos.

En la investigación [2] se hace referencia a que además de las diversas propiedades nutricionales que poseen los pseudocereales también contienen componentes con actividad antibacteriana, antitumoral, antioxidante, antiinflamatoria y antihipertensiva; demostrando que estos cereales pueden ser una buena fuente de compuestos bioactivos. Por otro lado, un estudio reciente [3] plantea la importancia y aporte de nutrientes de los pseudocereales, principalmente de los niveles de proteína y por ende de los aminoácidos esenciales; a pesar de ello no existe un estudio del aporte nutricional de los mencionados cereales en los alimentos procesados que se comercializan en el medio.

1.2 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

La pirámide alimenticia es una herramienta importante para la población ya que sirve como base para llevar una dieta balanceada. En esta se consideran las proporciones de alimentos que se deben ingerir, según los nutrientes y beneficios que aportan a nuestro organismo. En este contexto, una adecuada nutrición diaria garantizará el correcto funcionamiento del organismo.

Entre los grupos fundamentales de la pirámide alimenticia se encuentran las proteínas, moléculas indispensables para el desarrollo de músculos, huesos y diferentes órganos del cuerpo humano. Además, llevan a cabo múltiples funciones vitales en el cuerpo humano. Estas macromoléculas provienen principalmente de productos alimenticios de origen animal, sin embargo, en la actualidad los consumidores buscan fuentes alternativas provenientes de superalimentos que son de origen vegetal.

Es por ello que al conocer el contenido de proteína que aportan estos cereales andinos y al evidenciar el incremento de productos procesados en la industria, el interés de la presente investigación es cuantificar el aporte de proteínas de estos alimentos procesados, los cuales incluyen entre sus ingredientes a los pseudocereales. Actividad que se realizará mediante la validación de la metodología Kjeldahl, con la finalidad de obtener resultados confiables.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo General

Validar el método analítico Kjeldahl para cuantificación del contenido proteico en harinas de quinua y amaranto y sus derivados.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Estandarizar las condiciones analíticas del método Kjeldahl para la cuantificación de proteína en harinas y derivados de cereales de origen andino.

- Analizar las muestras de acuerdo al diseño y plan de validación para el posterior tratamiento estadístico.
- Evaluar el contenido de proteína que aportan los productos procesados, elaborados con pseudocereales, que se expenden en el mercado.

1.4 HIPÓTESIS

El método analítico Kjeldahl proporciona resultados precisos y veraces en el análisis de harinas y derivados de origen andino (quinua y amaranto).

1.5 ALCANCE

Las proteínas son elementos vitales para el desarrollo físico y mental de las personas, las cuales se obtiene de una adecuada alimentación; motivo por el cual las industrias alimentarias se encuentran en constante innovación para entregar al consumidor productos que satisfagan sus necesidades. No obstante se debe garantizar que estos alimentos procesados aporten verdaderamente con la concentración de nutrientes que declaran en su etiqueta, actividad que compete al laboratorio del ente de control, más aún frente a la ausencia de normativa que regule este tipo de productos.

En este contexto surge la necesidad como laboratorio de contar con metodología validada para asegurar el uso previsto. Esta acción permitirá reportar resultados de análisis que certifiquen la calidad de dichos productos. Esto representa una garantía para el consumidor y un beneficio para el fabricante ya que los productos se comercializarán como alimentos seguros y elaborados con materias primas de calidad.

Con base a la importancia destacada, el presente proyecto aspira validar el método Kjeldahl para ejecutar el control de alimentos procesados que se expenden en el medio ya sea a nivel nacional o extranjero, que hayan sido elaborados con cereales de origen andino, limitándose únicamente a los productos que en sus ingredientes se encuentren los pseudocereales quinua y amaranto.

CAPÍTULO 2

2. MARCO TEÓRICO

2.1 CEREALES

Son plantas gramíneas y herbáceas que ostentan granos o semillas que resultan imprescindibles en la base de la alimentación humana y de los animales. Constituyen la base para una gran parte de la población mundial y ocupan un lugar indiscutible en la pirámide nutricional.

Entre las últimas tendencias de consumo de este grupo se encuentran los ingredientes ancestrales que son buenas fuentes de proteínas, fibras y antioxidantes, conocidos como pseudocereales, entre ellos se destacan la quinua (*Chenopodium quinua*) y el amaranto (*Amaranthus spp*), productos que han despertado el interés para uso en los procesos industriales durante la última época [4]. A continuación, en la figura 1, se detallan las aplicaciones en la que están siendo utilizados los granos de quinua:

Fig. 1 Usos del Grano de Quinua



Fuente: W. Rojas 2011 [5].

2.2 PSEUDOCEREALES

Son sustitutos de los cereales verdaderos, puesto que provienen de semillas de flores a diferencia de los cereales que son frutos de espigas de gramíneas, sin embargo aportan propiedades nutricionales similares o incluso mejores, comparado con los cereales naturales [6]. En la tabla 1, se muestra el análisis nutricional comparativo de nutrientes que aportan los cereales que se consumen en nuestro medio.

Tabla 1.

Análisis nutricional comparativo entre cereales

ALIMENTO	PROTEÍNA	GRASA	FIBRA CRUDA	CENIZA	GLÚCIDOS
Trigo manitoba	16,0	2,9	2,6	1,8	74,1
Trigo inglés	10,5	2,6	2,5	1,8	78,6
Cebada	11,8	1,8	5,3	3,1	78,1
Avena	11,6	5,2	10,4	2,9	69,8
Centeno	13,4	1,8	2,6	2,1	80,1
Triticale	15,0	1,7	2,6	2,0	78,7
Arroz	9,1	2,2	10,2	7,2	71,2
Maíz	11,1	4,9	2,1	1,7	80,2
Sorgo	12,4	3,6	2,7	1,7	79,7
Quinua	14,4	6,0	4,0	2,9	72,6
Cañihua	18,8	7,6	6,1	4,1	63,4
Amaranto	14,5	6,4	5,0	2,6	71,5

Nota: Padrón Pereira et al, 2014. [7]

Tabla 2.*Valor nutritivo de los granos de amaranto (100g)*

Amaranto 100g	
Carbohidratos	65,3 g
Fibra	6,7 g
Proteína	13,56 g
Sodio	4 mg
Agua	11,29 g
Calorías	371
	Kcal
Colesterol	0 mg
Grasa	7,02 g
Vitamina B9	82 mg
Vitamina C	4,2 mg
Vitamina A	2 mg

*Nota: G. Núñez, 2021 [6]***Tabla 3.***Valor nutritivo de los granos de quinua (100g)*

Quinua 100g	
Carbohidratos	64,16 g
Fibra	7 g
Proteína	14,12 g
Sodio	5 mg
Calorías	368 Kcal
Grasa	6,07 g
Calcio	47 mg
Hierro	4,57 mg
Magnesio	197mg

Nota: Padrón Pereira et al, 2014. [7].

Con base a la composición indicada en la tabla 1 (amaranto) como en la tabla 2 (quinua) se observa el valor nutritivo que estos alimentos poseen. Una característica notable es el contenido de proteínas que aportan a su

consumidor. Esto es un indicativo de calidad que se encuentra ligada a la biodisponibilidad, digestibilidad y perfil de aminoácidos.

Estos pseudocereales presentan mayor contenido de lisina a diferencia de otros cereales que son deficientes en este aminoácido, además cuentan con un alto contenido de aminoácidos esenciales y elevada biodisponibilidad [8].

2.3 PROTEÍNAS

Las proteínas son moléculas grandes y complejas que están conformadas en mayor cantidad por Carbono, Hidrógeno, Oxígeno y Nitrógeno. Se forman por cientos o miles de unidades más pequeñas llamadas aminoácidos, que se unen entre sí en largas cadenas llamadas enlaces peptídicos. Hay 20 tipos diferentes de aminoácidos que se pueden combinar de múltiples maneras para formar una proteína.

Estas constituyen uno de los macronutrientes vitales para el cuerpo humano, volviéndolas imprescindibles para ingesta diaria. Cumplen funciones esenciales en nuestro organismo tales como: estructura y plasticidad, regulación, defensa, homeostasis, enzimas, transporte, reserva y otras secundarias [9].

La calidad de las proteínas depende del tipo de aminoácidos que la componen. Si una proteína es deficiente en uno o más aminoácidos esenciales tienen baja calidad, puesto que la síntesis proteica requiere la disponibilidad de todos los aminoácidos que la integran. Una proteína de alta calidad tiene todos los aminoácidos en las proporciones adecuadas; sin embargo, no todos los aminoácidos están realmente disponibles [10]. En este contexto, la ingesta de proteínas debe ser de acuerdo a los requerimientos diarios y a la etapa de vida del consumidor.

Las proteínas son de origen animal o de origen vegetal. En este caso, las proteínas que se encuentran presentes en los pseudocereales son el segundo nutriente con mayor presencia después de los carbohidratos y a diferencia de los cereales, son de mejor calidad debido a la porción equilibrada de aminoácidos y presencia de aminoácidos esenciales [11].

2.3.1 Cuantificación de Proteína

La cuantificación de proteínas brinda información nutricional adecuada del tipo de alimento que se consume, además es considerada por los organismos reguladores como un parámetro obligatorio que debe reportar un producto alimenticio.

El método Kjeldahl, fue desarrollado en 1883 por Johann Kjeldahl y sigue siendo la técnica más confiable para la determinación de nitrógeno orgánico y proteína [12].

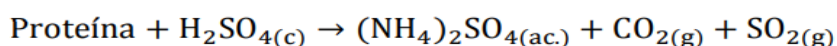
2.4 MÉTODO KJELDAHL

Este método se basa en la descomposición de los compuestos de nitrógeno orgánico por ebullición con ácido sulfúrico. El hidrógeno y el carbón de la materia orgánica se oxidan para formar agua y dióxido de carbono. El ácido sulfúrico se transforma en sulfato, el cual reduce el material nitrogenado a sulfato de amonio.

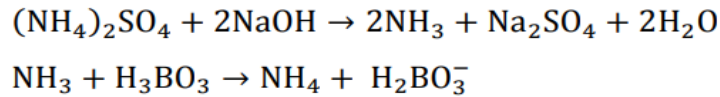
El amoníaco se libera después de la adición de hidróxido de sodio y se destila recibiendo en una solución de ácido bórico. Se titula el nitrógeno amoniacal con una solución valorada de ácido sulfúrico o ácido clorhídrico, cuya normalidad depende de la cantidad de nitrógeno que contenga la muestra.

El método Kjeldahl se lleva a cabo en tres etapas:

a. Digestión: Los componentes proteicos y orgánicos presentes en los alimentos se digestan con ácido sulfúrico en presencia de catalizadores, hasta descomponer toda la materia orgánica. El nitrógeno orgánico total se convierte en sulfato de amonio no volátil, además producto de la combustión se libera dióxido de carbono (CO₂) y dióxido de azufre (SO₂).



b. Neutralización y Destilación: Se alcaliniza la muestra digerida con Hidróxido de sodio, lo que permite que se libere amoníaco de la sal de amonio. El amoníaco destilado se recoge sobre de ácido bórico formando borato de amonio, el cual es titulado directamente.



c. Valoración: La cuantificación del nitrógeno amoniacal se realiza por volumetría ácido-base del ion borato formado. Para ello se emplea ácido clorhídrico o sulfúrico y la valoración se la realiza potenciométricamente hasta llegar al equilibrio de un pH de 4,65. Los equivalentes de ácido consumidos corresponden a los equivalentes de amoniaco destilados.

2.5 AMINOÁCIDOS

Son Compuestos orgánicos que contienen grupos funcionales amina (-NH₂) y carboxilo (-COOH), adyacentes a un grupo R que es único para cada aminoácido.

Existen veinte aminoácidos distintos, codificados en el material genético de los organismos, los cuales pueden combinarse en cualquier orden y repetirse de cualquier manera para dar lugar a las macromoléculas denominadas proteínas [9]. Una proteína está formada por unos cien o doscientos aminoácidos, lo que da lugar a un número muy grande de combinaciones diferentes lo que determina su función específica.

El ser humano necesita un total de veinte aminoácidos, de los cuales, 11 produce nuestro propio organismo, los sintetiza y no necesitamos adquirirlos de la dieta, éstos son llamados no esenciales o dispensables, mientras que los demás son los que no somos capaces de sintetizarlos y deben ser aportados por la dieta, los cuales se denominan aminoácidos esenciales [13].

Los 9 aminoácidos esenciales son: fenilalanina (+ tirosina), histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina (+ cisteína), treonina, triptófano y valina.

Tabla 4.

Perfil de aminoácidos de la proteína de amaranto

Aminoácido	Amaranto
Isoleucina	4,0
Leucina	6,2
Lisina	6,1
Metionina	2,3
Cisteína	3,9
Fenilalanina	4,8
Tirosina	4,3
Treonina	4,6
Valina	4,4
Triptófano	1,3
Histidina	2,7
Arginina	3,9
Ácido aspártico	8,1
Ácido glutámico	16,6
Glicina	8,4
Prolina	4,6
Serina	8,0

Nota: E. Cano, 2022 [9]

Tabla 5.

Perfil de aminoácidos de la proteína de la quinua.

Aminoácido	Quinua
Histidina*	4,6
Isoleucina*	7,0
Leucina*	7,3
Lisina*	8,4
Metionina*	2,1
Fenilalanina*	5,3
Treonina*	5,7
Triptófano*	0,9

Valina*	7,6
Ácido aspártico	8,6
Ácido glutámico	16,2
Cisteína	7,0
Serina	4,8
Tirosina	6,7
Argina*	7,4
Prolina	2,5
Alanina	4,7
Glicina	5,2
*Aminoácidos Esenciales	

Nota: E. Cano, 2022 [9]

En este sentido, se muestra que la calidad de los pseudocereales está determinada por las proporciones de aminoácidos esenciales que aportan. En las tablas 4 y 5 se indica el perfil de aminoácidos que contienen estos pseudocereales, demostrando que su aporte es realmente significativo para el consumidor.

2.6 VALIDACIÓN

Es la evidencia documental de que los procedimientos analíticos se ejecutan con un alto grado de seguridad, para la obtención de resultados precisos y veraces, dentro de las especificaciones y los atributos de calidad previamente establecidos. Internacionalmente, la comunidad analítica ha determinado las principales especificaciones y requisitos operativos de un laboratorio por medio de la norma internacional ISO/IEC 17025, es decir esta es la guía que se debe cumplir para validar y posteriormente, acreditar un método analítico.

En la validación de métodos intervienen diferentes parámetros que permiten evaluar este desempeño, entre los principales se encuentran:

2.6.1 Blanco reactivo

Son muestras compuestas únicamente por los reactivos que son utilizados para el proceso analítico. Se analizan para determinar si contribuyen a la señal de la medida.

2.6.2 Blanco muestra

Son muestras matriz sin presencia del analito, pueden ser difíciles de obtener, pero son necesarios para tener una estimación más real de las interferencias que pueden aparecer en un análisis de muestras de rutina.

2.6.3 Límite de detección

Es la mínima cantidad de analito en la muestra que se puede detectar.

Los valores por encima del LD pueden ser atribuidos a la presencia del analito y los valores por debajo del LD son indicativos de la ausencia de analito en cantidades detectables.

2.6.4 Límite de cuantificación

Es la menor cantidad de analito en una muestra que se puede determinar con precisión y veracidad, bajo las condiciones establecidas del experimento.

2.6.5 Intervalo de trabajo

Se refiere al intervalo de concentraciones de analito que pueden ser determinadas con exactitud.

2.6.6 Veracidad

Determina la proximidad entre la media de un número infinito de valores medidos repetidos y un valor de referencia

2.6.7 Repetibilidad

Estudia la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra pero en condiciones de trabajo diferentes (por un mismo analista, con los mismos equipos y reactivos).

2.6.8 Reproducibilidad

Estudia la variabilidad del método bajo condiciones operativas diferentes y en distintos laboratorios.

CAPÍTULO 3

3. METODOLOGÍA

Esta investigación tuvo un enfoque cuantitativo. No obstante, ocupó otros métodos particulares como el documental, analítico no experimental y estadístico.

3.1 EQUIPOS, MATERIALES, REACTIVOS Y MATERIALES DE REFERENCIA

3.1.1 Equipos

El equipamiento utilizado fue un equipo Kjeldahl Master de la marca BUCHI. El cual se compone de un destilador modelo K-375 con titulador potenciométrico, un digestor modelo K-379, que funciona con un scrubber modelo K-415 que permite la absorción de vapores. Para el pesaje de la muestra y reactivos se utilizó la balanza analítica de la marca Mettler Toledo modelo ME204. Para el monitoreo de condiciones ambientales se utilizó un Termohigrómetro digital.

Fig. 2 Equipo Kjeldahl: A. Destilador; B. Scrubber; C. Digestor; D. Balanza analítica



3.1.2 MATERIALES, REACTIVOS Y MATERIALES DE REFERENCIA

3.1.2.1 Materiales

- ✓ Pesas patrón para verificación de balanzas, Clase F.
- ✓ Tubos 300ml (BUCHI)
- ✓ Balones de aforo (para preparación de soluciones), Clase A.
- ✓ Pipetas graduadas 10ml, Clase A.

3.1.2.2 Reactivos:

- ✓ Agua purificada, grado II.
- ✓ Ácido sulfúrico, pureza del 95- 98%, Marca: Fisher Scientific
- ✓ Tabletas kjeldahl, Missouri, Marca: Merck
- ✓ Ácido Bórico 4%, Marca: Fisher Scientific
- ✓ Hidróxido de sodio 32%, Marca: Merck
- ✓ Todos de grado analítico.

3.1.2.3 Material de referencia

- ✓ Glicina marca Sigma Aldrich con pureza del 99%.
- ✓ Buffer: pH 4.0 y pH 7.0, marca Merck.

3.2 PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

- a. Se verificó las condiciones ambientales para iniciar el procesamiento de la muestra.
- b. Preparación de la muestra, para ello:
 - ✓ Se homogenizó la muestra revirtiendo varias veces el envase que lo contiene.
 - ✓ A través de un mortero se trituró el producto hasta que quedó lo más homogéneo posible.
- c. Se Verificó la balanza analítica con el uso de pesas calibradas.
- d. Se Pesó la muestra en papel libre nitrógeno de 0,1000 a 1,0000 gramo máximo de muestra (en función del contenido de proteína del producto) y se transfirió a un tubo de vidrio Büchi (Capacidad: 300 ml)
- e. Se Adicionó 10 ml de ácido sulfúrico concentrado.
- f. Se Adicionó 1 tableta Kjeldahl.

g. Se Realizó la digestión en base al programa predeterminado por el equipo en base a la siguiente tabla:

Tabla 6.

Temperatura para digestión de muestras.

Etapa	Temperatura (°C)	Tiempo (min)
1	320	10
2	420	55
Enfriamiento	-	35

h. Procedió a la destilación y titulación, en donde los resultados se calcularon como porcentaje de nitrógeno con lectura directa del equipo.

3.3 MÉTODO DE ENSAYO

Se basó en dos partes, la primera se fundamentó en la validación del método de ensayo, en este caso el método kjeldahl y la segunda en el estudio exploratorio a partir de los productos derivados de los productos de cereales andinos.

3.3.1 Validación

Para poder definir el alcance de validación que tuvo el método de análisis, se definió lo siguiente:

- Es un método normalizado, es decir, es un método desarrollado por una Institución técnicamente reconocida, en este caso “AOAC 2001.11. *Proteína (Cruda) en alimentos para animales, forraje (tejido vegetal), cereales y semillas oleaginosas*”
- El método mide un componente mayoritario que es la proteína, su rango de aplicabilidad está establecido para el 0,5 y 50%, sin embargo para el presente trabajo de investigación es del 5 al 19% para los productos derivados de los cereales andinos.

3.3.2 Esquema de Validación

Con base a lo indicado en la tabla 7 se establecieron los factores que intervienen en la validación, mientras que en la tabla 8, las características de desempeño que fueron evaluados en la misma.

Tabla 7.

Factores que intervienen en la validación.

Muestra	Cereales derivados de alimentos de origen andino (quinua y amaranto)
Material de referencia	Glicina Sulfato de amonio
Reactivos	Ácido sulfúrico Tabletas Kjeldahl
Controles	Blancos Muestra control

Tabla 8.

Características de desempeño

PARÁMETRO	ACTIVIDAD
Blanco de reactivos	10 Réplicas
Blanco muestra	10 Réplicas
Límite de detección	Calculo del LD teórico, 10 Réplicas el blanco
Límite de cuantificación	10 Réplicas del MRC y determinar % de recuperación.
Intervalo de trabajo	10 Réplicas para límite alto y bajo
Veracidad	10 Réplicas del MRC y se determinó el % de recuperación
Repetibilidad	10 Réplicas al nivel bajo, medio y alto
Reproducibilidad	5 Réplicas por c/analista:

3.3.3 Herramientas estadísticas

Para la estimación de estos parámetros se evaluó el promedio de las réplicas obtenidas, para ello se utilizaron las siguientes herramientas estadísticas:

3.3.3.1 Media aritmética o promedio

En donde, la suma de todos sus valores dividida entre el número de sumados.

$$\bar{X} = \frac{\sum x_i}{n}$$

x_i = Valor obtenido de una lectura

n = Número total de datos

3.3.3.2 Desviación estándar (s)

Es la medida de cómo se dispersan los valores respecto a la media. Es directamente proporcional, es decir si la desviación es mayor la dispersión de datos también aumenta.

$$S = \frac{\sqrt{n \sum x_i \dots (x_i - \bar{X})^2}}{n}$$

x_i = Valor obtenido de una lectura

\bar{X} = Media o promedio de las lecturas

n = Número total de datos

3.3.3.3 Coeficiente de variación (CV)

Desviación estándar dividida por la media. También es conocida como la desviación estándar relativa (RSD). El coeficiente de variación puede ser expresado en porcentaje.

$$\%CV = \frac{S \times 100}{\bar{X}}$$

S = Desviación estándar

\bar{X} = Media o promedio de las lecturas

3.3.3.4 Varianza

La varianza es una medida de dispersión que representa la variabilidad de una serie de datos respecto a su media. Está definida como el cuadrado de la desviación estándar.

$$S^2 = \frac{\sum x_i (x_i - \bar{X})^2}{n - 1}$$

x_i = Valor obtenido de una lectura

\bar{X} = Media o promedio de las lecturas

n = Número total de datos

3.3.3.5 Prueba t – Student

Esta prueba compara las medidas de dos grupos de datos y determina si entre estos parámetros las diferencias son estadísticamente significativas. En la prueba t se determina el valor t de student calculado, obteniendo de las experiencias analíticas, y este valor posteriormente se compara con el llamado valor crítico, este valor crítico se obtiene de las tablas de t student para un determinado porcentaje de confiabilidad. Si no existen diferencias significativas entre 2 grupos, la t calculada debería ser inferior al t crítico (o conocido también como t de tablas).

Con la evaluación de parámetros y su respectivo análisis estadístico se determina que si el método es adecuado para el uso previsto o no de acuerdo a los resultados obtenidos, demostrando que estos se ajustan a las condiciones operativas del laboratorio y se confirma su correcta aplicación en las condiciones mencionadas.

3.3.3.6 Porcentaje de recuperación

Es el cociente entre la cantidad de analito medida y el contenido en la muestra.

$$\% \text{Recuperación} = \frac{\% \text{ experimental de proteína}}{\% \text{ teórico de proteína}} \times 100$$

3.3.3.7 ANOVA

Es una técnica estadística paramétrica de contraste de hipótesis. Es decir nos permite determinar, si diferentes tratamientos muestran diferencias

significativas en sus resultados o si por el contrario no difieren. Para ello se aplicaron las siguientes formulas:

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F_0
Entre los tratamientos	$SS_{\text{Tratamientos}} = n \sum_{i=1}^a (\bar{y}_i - \bar{y}_{..})^2$	$a-1$	$MS_{\text{Tratamientos}}$	$F_0 = \frac{MS_{\text{Tratamientos}}}{MS_E}$
Error (dentro de los tratamientos)	$SS_E = SS_T - SS_{\text{Tratamientos}}$	$N-a$	MS_E	
Total	$SS_T = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_{..})^2$	$N-1$		

3.3.3.8 Test de Cochran

Determina que los resultados pertenecen a la misma población estadística mediante el cálculo el C estadístico el cual una vez calculado es comparado con el valor tabulado existente en tablas en caso de incumplimiento se puede eliminar los datos anómalos.

CAPÍTULO 4

4.1 Criterios para aceptación de validación

Para la aceptación de los resultados obtenidos se tomó en consideración lo establecido por: “AOAC SMPR® 2016.014 .*Standard Method Performance Requirements* (SMPRs) for Identification and Quantitation of Non-Animal-Derived Proteins in Dietary Supplements”, de acuerdo a lo detallado en la siguiente tabla:

Tabla 9.

Criterios de aceptación para validación del método

	Range, %	
	0.1–1	>1
Recovery, %	90–110	97–103
RSD _r , %	≤10	≤6
RSD _R , %	≤12	≤8

4.2 Datos Obtenidos de validación

Los parámetros de validación fueron realizados en secuencia de acuerdo a lo descrito en la tabla 8 en donde se obtuvieron los siguientes resultados:

4.2.1 Análisis de blancos

Tabla 10.

Resultados obtenidos del análisis del Blanco muestra.

MEDIA (\bar{X})	0,582
D. ESTÁNDAR (S)	0,011
C. VARIACIÓN (C.V.)	1,806

Tabla 11.

Resultados obtenidos del blanco reactivo.

MEDIA (\bar{X})	0,280
DES. ESTÁNDAR(S)	0,003
C. VARIACIÓN (C.V.)	1,314

Los datos obtenidos se evaluaron mediante la repetibilidad de resultados, en donde las muestras trabajadas muestran que los valores de coeficiente de variación no superan el 6% de acuerdo el límite establecido.

4.2.2 Límite de detección y cuantificación

Tabla 12.

Límite de detección.

Nro. De Repeticiones	Resultados Obtenidos
1	0,567
2	0,571
3	0,585
4	0,580
5	0,573
6	0,587
7	0,600
8	0,593
9	0,589
10	0,576
MEDIA	0,582
DES. EST	0,011
COEF. VAR	1,806

El Límite de Detección (LD) se determinó con el %Proteína presente en el blanco de muestra, se realizaron 10 réplicas y con los valores obtenidos se halló el promedio.

4.2.3 Veracidad

Tabla 13.

Veracidad con material de referencia.

	VALOR MRC: 8,8		PROMEDIO
MEDIA	8,651	8,667	8,659
DES. EST	0,123	0,349	0,236
C. VARIACIÓN	1,422	4,025	2,724
%RECUPERACIÓN	98,307	98,484	98,395

Fig. 3. Control de % de recuperación de material de referencia

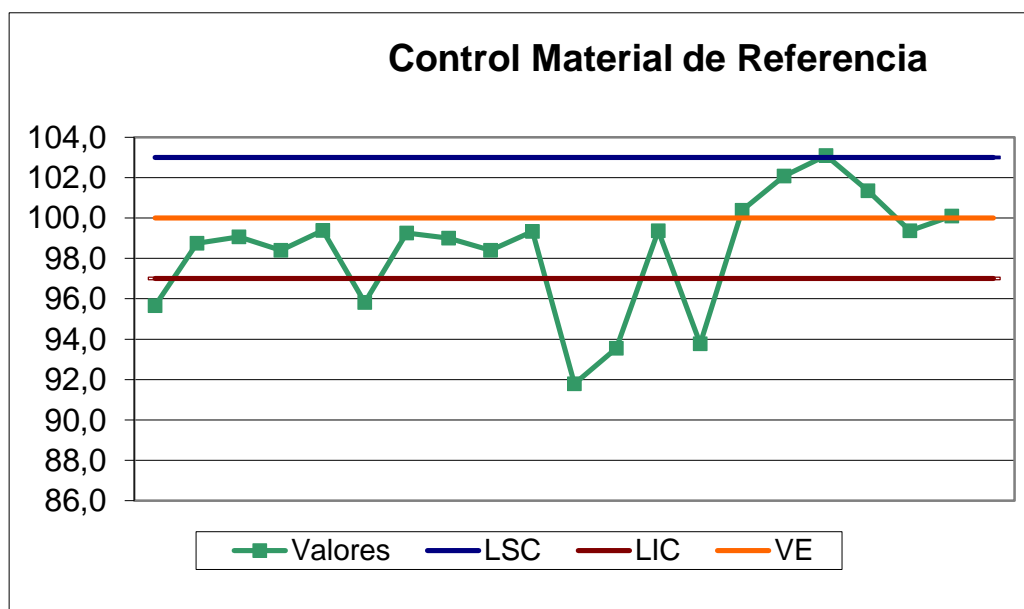
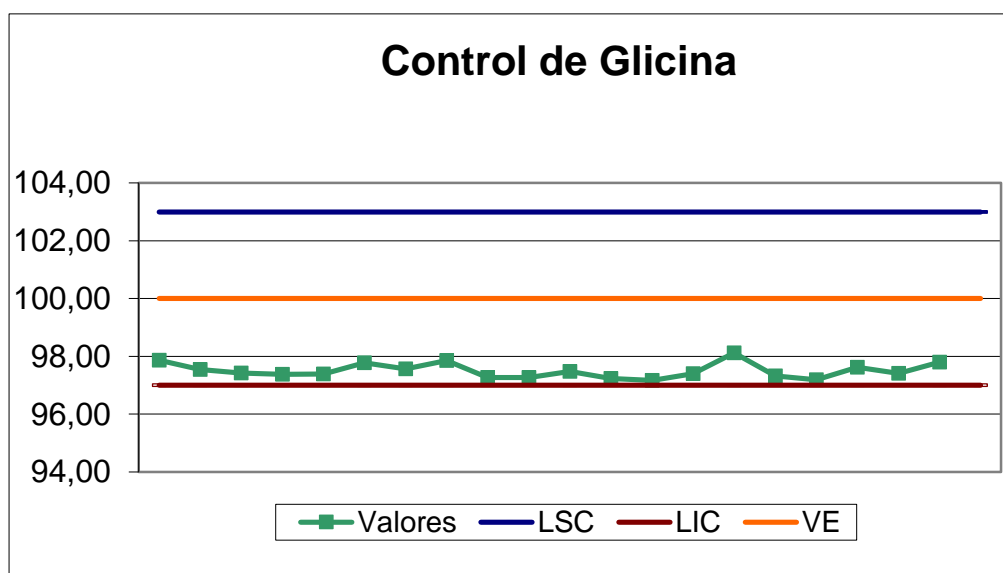


Tabla 14.

Veracidad del equipo con glicina.

	VALOR MRC: 99,0		PROMEDIO
MEDIA	97,530	97,474	97,502
DES. ESTA	0,227	0,300	0,264
C. VARIACIÓN	0,233	0,308	0,270
% RECUPERACIÓN	98,515	98,459	98,487

Fig. 4. Control de % de Recuperación de Glicina



El porcentaje de promedio de recuperación es de 98,48% el cual se encuentra entre el rango de 97 y 103%, adicional se utilizó material de referencia como la glicina para verificación del equipo el cual se obtuvo un 98,487% lo que indica que es aceptable.

4.2.4 Repetibilidad

Tabla 15.*Resultados obtenidos para repetibilidad*

MEDIA GRUPO	DEL	DCMw	Sr Total	%RSDr %CV
BAJO	5,400	0,045	0,213	3,945
MEDIO	7,804	0,010	0,098	1,258
ALTO	16,801	0,005	0,068	0,407

Se evaluaron tres niveles bajo, medio y alto, para ello se determinó la media de las réplicas realizadas, y se evaluaron los datos determinando el coeficiente de variación, en todos los casos son $\leq 6\%$, lo que indica que se encuentran dentro los límites establecidos.

4.2.5 Reproducibilidad

Tabla 16.*Resultados obtenidos para reproducibilidad.*

DCMb Varianza Reproducibilidad	VL Varianza INTERLABORATORIO	Valores (-) se consideran cero	Vi Varianza de Reprod. INTERLABORATORIO	SR Total	%RSD
0,028	0,024	0,000	0,069	0,263	4,872
0,022	0,021	0,000	0,031	0,175	0,239
0,010	0,010	0,000	0,015	0,121	0,722

Todos los datos fueron evaluados determinando el coeficiente de variación, en todos los casos son $\leq 8\%$, lo que indica que se encuentran dentro los límites establecidos.

4.3 Datos obtenidos de muestras analizadas

En la tabla 16 se detallan los valores obtenidos de los análisis para el contenido de proteína de los alimentos procesados que se expenden en los

supermercados de la ciudad que han sido elaborados a base de cereales andinos.

En ella podemos determinar que los productos en su mayoría se encuentran acorde a lo declarado en la etiqueta del mismo, sin embargo el contenido proteico de los productos derivados (en su mayoría bocaditos) no aportan mayormente. Esta información podemos verificar en la figura 3 en donde se observa que el resultado de los análisis realizados en los productos oscilan en su mayoría entre el 4 al 8%, entre ellos solo el Cereal crocante de quinua natural contiene un 16,77%, mientras que las harinas de origen natural tienen un aporte del 14% resultados similares a estudios realizados en años anteriores en diferentes partes del mundo.

Tabla 17.

Alimentos procesados a base de cereales andinos analizados.

PRODUCTOS	%Pr	DECLARADO EN ETIQUETA (%)
Minitortitas de maíz y quinoa	6,970	6,4
Cereal crocante de quinua natural	16,778	8
Galletas de quinuavena	9,405	5
Galletas con chispas de chocolate quinua y amaranto	12,219	6
Quinoa pop	5,362	8
Cereal de maíz y quinoa con canela	8,667	8
Bolitas de quinua con chocolate	4,864	2
Harina de quinua	14,480	14
Harina de amaranto	13,683	14

Fig. 5. Contenido de proteína de harinas y derivados de cereales de origen andino (quinua y amaranto)

Contenido de Proteína en Derivados de Cereales Cereales de Origen Andino (Quinoa y Amaranto)



CAPÍTULO 5

5.1. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De acuerdo al trabajo de investigación se puede llegar a las siguientes conclusiones:

Finalmente podemos indicar que estos resultados pueden ayudar a los consumidores a prestar más atención a la lista de ingredientes y por ende al contenido de proteínas que se consumen.

REFERENCIAS

- [1] E. J. Pozo Sánchez. “*Elaboración De Embutidos Con Alto Contenido Nutricional A Base De Quinoa Y Amaranto*”, Trabajo de titulación, Universidad Iberoamericana Del Ecuador Unib.E, Quito, Ecuador, 2015. [en línea] disponible en:
<http://repositorio.unibe.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/123456789/133/POZO%20SANCHEZ%20ENRIQUE%20JAVIER.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- [2] B. Valcarcel-Yamani y S. C. Da Silva Lannes. “Applications of Quinoa (Chenopodium Quinoa Willd.) and Amaranth (Amaranthus Spp.) and Their Influence in the Nutritional Value of Cereal Based Foods”. *Scientific & Academic Publishing*, 2(6): 265-275. 2012. [en línea]. Disponible en: [doi: 10.5923/j.fph.20120206.12](https://doi.org/10.5923/j.fph.20120206.12)
- [3] E. Villacrés, M. Quelal, S. Galarza, D. Iza y E. Silva. “Nutritional Value and Bioactive Compounds of Leaves and Grains from Quinoa (Chenopodium quinoa Willd.)”. *Plants*, vol. 11, no.2, 213. Ene. 2022. [en línea]. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/plants11020213>
- [4] I. Torrejón, B.L. Martin, T.B. De la Puente, J.R. Nasser y R. Rizzi. “La Kañiwa: Nueva alternativa alimentaria para la prevención de la desnutrición y las Enfermedades Cardiovasculares” *Revista de Salud Pública*, vol. XX. no. 2. 17-

- 21 Jul. 2018. [en línea]. Disponible en:
DOI: <https://doi.org/10.31052/1853.1180.v20.n2.14351>
- [5] W. Rojas. “La Quinoa: Cultivo milenario para contribuir a la Seguridad Alimentaria Mundial”. fao.org. Disponible en:
<https://www.fao.org/3/aq287s/aq287s.pdf>
- [6] G. E. Núñez Villacis. “Desarrollo De Harinas Precocidas A Partir De Pseudocereales Andinos De Alta Digestibilidad Proteica”. Trabajo de titulación. Universidad Técnica De Ambato, A Través De La Facultad De Ciencias E Ingeniería En Alimentos Y Biotecnología. Febrero 2021. [en línea]. Disponible en : <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/32122>
- [7] C. A. Padrón Pereira, R. A. Oropeza González, A. I. Montes Hernández. “Semillas de Quinoa (*Chenopodium Quinoa Willdenow*): Composición Química y Procesamiento. Aspectos relacionados con otras áreas”. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, vol. 5, no. 2. Dic. 2014. [en línea]. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/274435593_Semillas_de_quinoa_Chenopodium_quinoa_Willdenow_composicion_quimica_y_procesamiento_Aspectos_relacionados_con_otras_areas
- [8] B. Guzmán; D. Cruz; J. Alvarado; P. Mollinedo. “Cuantificación De Saponinas En Muestras De Cañihua *Chenopodium pallidicaule Aellen*”. *Revista Boliviana de Química*. Vol. 30. no. 2. Jul-Dic. 2013. [en línea]. Disponible:
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=426339680004>
- [9] E. E. Cano Naranjo. “Valor Nutricional Y Biológico Del Amaranto Variedad *Amaranthus Caudatus L. (Kiwicha)*”. Trabajo de titulación. Universidad Técnica De Ambato. Ambato, Marzo, 2022. [en línea]. Disponible:
<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/34924/1/AL%20815.pdf>
- [10] C.C. Mamani Ponce. “Efecto Del Tiempo De Germinación De Tres Variedades De Quinoa (*Chenopodium Quinoa Willd.*) Sobre El Contenido De Proteína, Digestibilidad In Vitro, Ácido Ascórbico Y Evaluación Sensorial”. Universidad Nacional del Altiplano. Perú, 2021.
- [11] W. J. Huamanchumo Prado. “Pseudocereales Andinos: Valor Nutritivo Y Aplicaciones Para Alimentos Libres De Gluten”. Trabajo de maestría.

Universidad Politécnica De Valencia, Valencia. Agosto, 2020 [en línea].
Disponibile en: <http://hdl.handle.net/10251/151184>

[12]. A. M. Salazar Moya. “Implementación del Método Kjeldahl para la determinación de proteína para diferentes matrices en el laboratorio ECUACHEMLAB CÍA. LTDA”. Trabajo de titulación. Universidad Técnica de Ambato. Ambato, 2016. [en línea]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/23816>

[13] W. I. Carrillo Terán, R. Vilcacundo, C. Carpio. “Compuestos Bioactivos Derivados De Amaranto Y Quinoa”, *Actualización En Nutrición*. vol. 16. No. 1. Marzo. 2015. [en línea]. Disponible en: http://www.revistasan.org.ar/pdf_files/trabajos/vol_16/num_1/RSAN_16_1_18.pdf

APÉNDICES Y ANEXOS

ANEXO 1: Datos experimentales blanco de muestra

Nro. De Repeticiones	Blanco Muestra
1	0,567
2	0,571
3	0,585
4	0,580
5	0,573
6	0,587
7	0,600
8	0,593
9	0,589
10	0,576
MEDIA	0,582
DES. EST	0,011

ANEXO 2: Datos experimentales blanco de reactivo

Nro. De Repeticiones	Blanco reactivo
1	0,275
2	0,283
3	0,282
4	0,282
5	0,283
6	0,283
7	0,283
8	0,282
9	0,275
10	0,275
MEDIA	0,280
DES. EST	0,004

ANEXO 3: Datos experimentales de glicina

REPETICIONES	DIA 1		DIA 2	
	PESO	%REC	PESO	%REC
1	0,1202	97,86	0,1201	97,48
2	0,1200	97,54	0,1200	97,23
3	0,1208	97,42	0,1203	97,17
4	0,1205	97,38	0,1206	97,40
5	0,1203	97,39	0,1205	98,12
6	0,1209	97,77	0,1204	97,32
7	0,1207	97,56	0,1211	97,19
8	0,1205	97,85	0,1207	97,62
9	0,1205	97,26	0,1205	97,41
10	0,1212	97,27	0,1210	97,80
	MEDIA	97,530	MEDIA	97,474
	DES. ESTA	0,227	DES. ESTA	0,300

ANEXO 4: Datos experimentales de material de referencia

REPETICIONES	DIA 1		DIA 2	
	PESO	%Pr	PESO	%Pr
1	1,0006	8,418	1,0005	8,078
2	1,0008	8,690	1,0011	8,232
3	1,0006	8,718	1,0014	8,744
4	1,0004	8,659	1,001	8,252
5	1,0005	8,746	1,0006	8,833
6	1,0004	8,432	1,0008	8,983
7	1,0007	8,735	1,0015	9,072
8	1,0003	8,712	1,0008	8,918
9	1,0006	8,659	1,0006	8,745
10	1,0004	8,741	1,0007	8,809
	MEDIA	8,651	MEDIA	8,667
	DES. EST	0,123	DES. EST	0,349

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
DIA 1	10	86,51	8,651	0,01514333
DIA 2	10	86,666	8,6666	0,12166493

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Fcalculado	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,0012168	1	0,0012168	0,0177884	0,895378073	4,41387342
Dentro de los grupos	1,2312744	18	0,068404133			
Total	1,2324912	19				

ANEXO 5: Datos experimentales límite bajo

REPETICIONES	DIA 1		DIA 2	
	PESO	%Pr	PESO	%Pr
1	1,0045	5,189	1,0023	5,703
2	1,0042	5,290	1,0001	5,234
3	1,0063	5,408	1,0006	5,321
4	1,0062	5,597	1,0011	5,228
5	1,0035	5,952	1,0004	5,324
6	1,0041	5,401	1,0009	5,618
7	1,0027	5,697	1,0023	5,432
8	1,0069	5,156	1,0002	5,187
9	1,0004	5,286	1,0007	5,245
10	1,0008	5,396	1,0012	5,327
	MEDIA	5,437	MEDIA	5,362
	DES. EST	0,247	DES. EST	0,173
	COEF. VAR	4,535	COEF. VAR	3,229

Análisis de varianza de un factor						
RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
DIA 1	10	54,372	5,4372	0,06079084		
DIA 2	10	53,619	5,3619	0,02996899		
ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Fcalculado	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,02835045	1	0,02835045	0,62473561	0,439582916	4,41387342
Dentro de los grupos	0,8168385	18	0,045379917			
Total	0,84518895	19				

ANEXO 6: Datos experimentales límite medio

REPETICIONES	DIA 1		DIA 2	
	PESO	%Pr	PESO	%Pr
1	1,0000	7,905	1,0001	7,793
2	1,0002	8,012	1,0005	7,845
3	1,0005	7,904	1,0002	7,765
4	1,0010	7,820	1,0002	7,694
5	1,0008	7,766	1,0006	7,549
6	1,0007	7,791	1,0010	7,885
7	1,0000	7,839	1,0000	7,761
8	1,0011	7,857	1,0001	7,815
9	1,0004	7,624	1,0006	7,834
10	1,0001	7,856	1,0007	7,772
	MEDIA	7,837	MEDIA	7,771
	DES. EST	0,102	DES. EST	0,094

Análisis de varianza de un factor						
RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
DIA 1	10	78,374	7,8374	0,010368489		
DIA 2	10	77,713	7,7713	0,008912233		
ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,02184605	1	0,02184605	2,266102872	0,149578524	4,413873419
Dentro de los grupos	0,1735265	18	0,009640361			
Total	0,19537255	19				

ANEXO 7: Datos experimentales límite alto

REPETICIONES	DIA 1		DIA 2	
	PESO	%PR	PESO	%PR
1	1,0002	16,890	1,0009	16,772
2	1,0009	16,871	1,0008	16,754
3	1,0003	16,815	1,0006	16,857
4	1,0002	16,774	1,0002	16,863
5	1,0003	16,781	1,0004	16,776
6	1,0007	16,753	1,0011	16,849
7	1,0008	16,837	1,0007	16,727
8	1,0005	16,854	1,0008	16,618
9	1,0005	16,786	1,0007	16,870
10	1,0008	16,876	1,0005	16,693
	MEDIA	16,824	MEDIA	16,778
	DES. EST	0,049	DES. EST	0,084

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN						
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>		
DIA 1	10	168,237	16,8237	0,002361344		
DIA 2	10	167,779	16,7779	0,007001433		

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,0104882	1	0,0104882	2,240403489	0,151775344	4,413873419
Dentro de los grupos	0,084265	18	0,004681389			
Total	0,0947532	19				