



**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA  
AMBIENTAL

**“Influencia de la concentración de hidróxido de sodio y temperatura en  
la extracción de  $\alpha$  queratina del residuo pelo de INVERSIONES  
HAROD S.A.C”**

TESIS

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE INGENIRO AMBIENTAL

AUTOR

GONZALES LARIOS, ENMA SILVANA

ASESOR

Dr. JOSE FELIX RIVERO MENDEZ

LINEA DE INVESTIGACIÓN

TRATAMIENTO Y GESTION DE LOS RESIDUOS SOLIDOS

TRUJILLO – PERÚ

2016

“Influencia de la concentración de hidróxido de sodio y temperatura en la extracción de  $\alpha$  queratina del residuo pelo de INVERSIONES HAROD S.A.C”

---

GONZALES LARIOS, ENMA SILVANA  
Autor

Presentada a la Escuela de Ingeniería Ambiental de la Universidad Cesar Vallejo  
– Trujillo, para su aprobación.

---

ALBERTO QUEZADA, MERARDO  
Presidente

---

YDILBRANDO VILLACORTA, MISAEL  
Secretario

---

RIVERO MENDEZ, JOSÉ  
Vocal

TRUJILLO- PERÚ

2016

## **DEDICATORIA**

### **A Dios.**

Por haberme estado conmigo siempre y permitirme llegar hasta este punto y haberme dado salud, además de su infinita bondad y amor.

### **A mi madre Silvana.**

Por haberme apoyado en todo momento, por sus sabios consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido lograr mis objetivos, pero más que nada, por su amor.

### **A mi padre Mario.**

Por los ejemplos de constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.

### **A mis familiares.**

A mi hermana Lía, la cual estuvo conmigo en todo momento, a mis abuelos y a todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis.

### **A mis maestros.**

Dr. Rivero Méndez José, por su gran apoyo y motivación para la culminación de nuestros estudios profesionales y para la elaboración de esta tesis y al Dr. Alberto Quezada, Merardo por su apoyo ofrecido en este trabajo.

### **A mis amigos.**

Que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y que hasta ahora, seguimos siendo amigos: keevin Manosalva, Juan Ramírez, Tamara Arévalo y Luz Meléndez.

## **AGRADECIMIENTO**

A la curtiembre INVERSIONES HAROD S.A.C, la cual colaboro en la realización de esta tesis brindándome fácil acceso a su área de producción.

A mí Universidad Cesar Vallejo, y a la Escuela de Ingeniería Ambiental por acogerme durante estos años y brindarme los mejores conocimientos.

A los encargados del laboratorio químico de la Universidad Cesar Vallejo, por el tiempo, paciencia y dedicación.

A mí querido asesor de tesis, Dr. Rivero Méndez José, por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ha logrado junto a mí concluir este sueño.

Al ingeniero Zavaleta García Luis Gustavo, por su apoyo, tiempo y entereza que permitieron también la culminación de esta tesis.

## DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, **GONZALES LARIOS, ENMA SILVANA** con el DNI N° 72917578, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Cesar Vallejo, Facultad de Ingeniería, Escuela de la Ingeniería Ambiental, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompaño es verdad y autentico.

Asimismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis son auténticos y veraces.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponde ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad Cesar Vallejo.

---

GONZALES LARIOS, ENMA SILVANA  
Autor

## PRESENTACION

Señores miembros del jurado, presento antes ustedes la tesis titulada “Influencia de la concentración de hidróxido de sodio y temperatura en la extracción de  $\alpha$  queratina del residuo pelo de INVERSIONES HAROD S.A.C”, en las siguientes líneas se describirá lo se realizó para lograr la extracción de esta proteína.

En el primer capítulo de la presente tesis se encuentra la introducción, en donde está presente la realidad problemática, los trabajos previos, los cuales nos brindan información acerca de investigaciones parecidas a la nuestra y que servirán para más adelante hacer las discusiones, las teorías relacionadas al tema nos brindaron conocimiento para así complementar la investigación; seguido de esto nos formulamos un problema, justificamos el estudio con la finalidad de dar a conocer el porque es que se está realizando la tesis.

En los siguientes capítulos se explica el método utilizado para poder procesar los datos, el método empleado fue ANOVA, los análisis elaborados, la población y muestra y los resultados de los mismos.

El objetivo de la presente tesis fue determinar la influencia de la concentración de hidróxido de sodio y temperatura en la extracción de  $\alpha$  queratina del residuo pelo de INVERSIONES HAROD S.A.C, para poder cumplir con este objetivo se usó la hidrolisis básica y se analizó el porcentaje de proteína extraída usando el método de Kjeldahl, se obtuvo como resultado 54.33 % de queratina extraída.

## INDICE

|  |     |
|--|-----|
| DEDICATORIA.....   | iii |
| AGRADECIMIENTO.....  | iv  |
| DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD .....   | v   |
| PRESENTACION .....   | vi  |
| RESUMEN .....  | x   |
| ABSTRACT .....   | xi  |
| I. INTRODUCCION.....   | 12  |
| 1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA .....   | 12  |
| 1.2. TRABAJOS PREVIOS .....  | 13  |
| 1.3. TEORIAS REALACIONADAS AL TEMA.....  | 15  |
| 1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....   | 24  |
| 1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO .....   | 24  |
| 1.6. HIPÓTESIS .....   | 25  |
| 1.7. OBJETIVOS .....   | 25  |
| II. MÉTODO.....  | 26  |
| 2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.....  | 26  |
| 2.2. VARIABLES OPERACIONALIZACION .....  | 27  |
| 2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA.....  | 28  |
| 2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS,<br>VALIDEZ Y CONFIABILIDAD ..... | 28  |
| 2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS.....   | 31  |
| 2.6. ASPECTOS ÉTICOS .....   | 31  |
| III. RESULTADOS .....  | 32  |
| IV. DISCUSIÓN.....   | 37  |
| V. CONCLUSIÓN.....   | 39  |
| VII. RECOMENDACIONES .....   | 40  |
| VIII. REFERENCIAS .....  | 41  |
| ANEXOS .....   | 45  |

## INDICE DE TABLA

|   |                                      |
|---|--------------------------------------|
| <b>Tabla N° 1:</b> Aplicación del diseño bifactorial en la temperatura y concentración de hidróxido de sodio .....                            | 26                                   |
| <b>Tabla N° 2:</b> Equipos, materiales y reactivos usados en la extracción de $\alpha$ queratina .....  | 30                                   |
| <b>Tabla N° 3:</b> Propiedades Organolépticas de la $\alpha$ queratina extraída del residuo pelo de INVERSIONES HAROD S.A. ....               | 32                                   |
| <b>Tabla N° 4:</b> Resultados promedio del porcentaje de recuperación de $\alpha$ queratina del residuo pelo de INVERSIONES HAROD S.A.C. .... | 32                                   |
| <b>Tabla N° 5:</b> Análisis de la varianza .....  | <b>¡Error! Marcador no definido.</b> |
| <b>Tabla N° 6:</b> Resultados de las tres repeticiones para la extracción de alfa queratina del residuo pelo de INVERSIONES HAROD S.A.C. .... | 51                                   |

## INDICE DE GRAFICO

|   |    |
|---|----|
| <b>Gráfico N° 1:</b> Variación de la recuperación de $\alpha$ queratina en función de la temperatura para las diferentes concentraciones de NaOH..... | 33 |
| <b>Gráfico N° 2:</b> Variación de la recuperación de $\alpha$ queratina en función de la concentración e NaOH para diferentes temperaturas. ....      | 33 |

## INDICE DE FIGURA

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura N° 1</b> Proceso del curtido de pieles en INVERSIONES HAROD S.A.C. ...                   | 15 |
| <b>Figura N° 2</b> Continuación del proceso del curtido de pieles en INVERSIONES HAROD S.A.C. .... | 16 |
| <b>Figura N° 3</b> Reacción entre aminoácidos para formar el enlace peptídico .....                | 17 |
| <b>Figura N° 4</b> Formación de $\alpha$ queratina.....  | 20 |
| <b>Figura N° 5</b> Ruptura de los en enlaces disulfuros de la $\alpha$ queratina .....             | 22 |



## INDICE DE IMAGEN

|   |                                      |
|---|--------------------------------------|
| <b>Imagen Nº 1:</b> Ecuación obtenida de la regresión lineal de la extracción de $\alpha$ queratina ..... | <b>¡Error! Marcador no definido.</b> |
| <b>Imagen Nº 2:</b> Pesaje del hidróxido de sodio .....   | 54                                   |
| <b>Imagen Nº 3:</b> Preparación de solución madre .....   | 54                                   |
| <b>Imagen Nº 4:</b> Dilución de soluciones .....  | 55                                   |
| <b>Imagen Nº 5:</b> Preparación de 0.1 N .....  | 55                                   |
| <b>Imagen Nº 6:</b> Concentración de 0.1, 0.2, 0.3 y 0.4 N.....   | 56                                   |
| <b>Imagen Nº 7:</b> Hidrolisis básica .....   | 56                                   |
| <b>Imagen Nº 8:</b> Hidrolisis básica del residuo pelo verificación de pH. ....                           | 57                                   |
| <b>Imagen Nº 9:</b> $\alpha$ queratina obtenida después de la hidrolisis básica.....                      | 57                                   |
| <b>Imagen Nº 10:</b> Centrifugación de la $\alpha$ queratina .....  | 58                                   |
| <b>Imagen Nº 11:</b> Se observa color marrón lo cual indica presencia de $\alpha$ queratina               | 58                                   |
| <b>Imagen Nº 12:</b> Metodo de KJELDAH para analizar nitrógeno en $\alpha$ queratina. ....                | 59                                   |

## RESUMEN

Una de las fuentes de  $\alpha$  queratina es el pelo el cual está compuesto de 95 % de esta proteína; el pelo es uno de los residuos que se genera en las curtiembres específicamente en la actividad de pelambre; este en su mayoría de veces tienen un inadecuado manejo generando serios problemas de contaminación al ambiente.

Conociendo esto el objetivo principal de esta investigación fue, determinar si la concentración de hidróxido de sodio y temperatura influían en la extracción de  $\alpha$  queratina del residuo pelo de INVERSIONES HAROD S.A.C.; la cual actualmente desecha 600 Kg de pelo diariamente.

Se manejaron cuatro concentraciones de hidróxido de sodio que estuvieron entre 0.1, 0.2, 0.3 y 0.4 N, y se trabajó también cuatro temperaturas sus rangos variaron entre 60°, 70 °, 80° y 90° C. Se mantuvo fijos el tiempo el cual fue de tres horas y media, y se tuvo como muestra a 5g de residuo pelo.

El resultado de esta investigación fue que a 0.1 N de hidróxido de sodio y a una temperatura de 70°C se obtuvo una mayor extracción de  $\alpha$  queratina la cual fue de 54.33 % aproximadamente.

Palabras clave: proteína, enlaces disulfuros, concentración de hidróxido de sodio, temperatura y  $\alpha$  queratina.

## ABSTRACT

One of the sources of  $\alpha$ -keratin is the hair which is composed of 95% of this protein; the hair is one of the residues that is generated in the tanneries specifically in the activity of hair; this, in most cases has an inadequate handling generating serious problems of pollution to the environment.

Being aware of this problem, the main objective of this investigation was to determine if the concentration of sodium hydroxide and temperature influenced the extraction of  $\alpha$ -keratin from the hair residue of INVERSIONES HAROD S.A.C; which currently rejects 600 kg of hair daily.

Four concentrations of sodium hydroxide were used between 0.1, 0.2, 0.3 and 0.4 N, and four temperatures were also used, the range was from 60 °, 70 °, 80 ° and 90 ° C. It was considered a fixed time, which was three hours and a half and a sample 5g of residue hair.

The result of this investigation was that at 0.1 N of sodium hydroxide and at a temperature of 70 ° C a greater extraction of  $\alpha$  keratin was obtained, which was approximately 54.33%.

Key words: protein, disulfide bonds, sodium hydroxide concentration, temperature and  $\alpha$ -keratin.

## **I. INTRODUCCION**

### **1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA**

La Argentina desde fines del siglo XIX, se viene desarrollando la industria del curtido de cuero la cual va de la mano con el desarrollo de la ganadería. Los establecimientos vinculados a la industria de cuero y pieles son más de 200, de los cuales más de 170 están dedicados al curtido de cuero. La inapropiada disposición de los residuos (pelo, recortes de virutas, barros, restos de pinturas y envases), vienen generando serios problemas de contaminación a la Cuenca Mantaza – Riachuelo. La causa de esta contaminación se debe a la presencia de cromo doce veces superiores al límite fijado y de materia orgánica casi tres veces por encima de lo establecido (730 de 250 mg/L) en los sedimentos y el plomo supera más de quince veces, los parámetros internacionales. GREENPEACE (2013).

En el Perú, la industria del curtido de pieles viene generando contaminación ambiental principalmente debido a sus efluentes y a sus residuos sólidos, los cuales son originados en las diferentes etapas del curtido de cuero; el residuo pelo se origina en la etapa de pelambre, este residuo en la actualidad genera importantes problemas ecológicos y sanitarios por su incorrecto almacenamiento y disposición final, ya que son quemados y desechados en botaderos. VEGA (2014).

En La Regional La Libertad, no es ajena a la contaminación que se genera por las curtiembres, esto muchas veces se ve reflejado en los ríos contaminados por sus efluentes los cuales contienen grasas, pelos y químicos usados para el proceso productivo del cuero. Otro de los problemas que generan las curtiembres, son los residuos sólidos como: pelos y grasas. En la etapa de pelambre el residuo principal que se genera, es el pelo; el cual por su difícil tratamiento es llevado a botaderos en donde son quemados, causando serios problemas de contaminación. Si es que este problema persiste y no se hace nada para menguar la contaminación, las curtiembres podrían seguir generando problemas a la salud y al ambiente.

En la provincia de Trujillo operan 85 curtiembres entre formales e informales, debido a esto: “El Gobierno Regional está coordinando con el Ministerio de la Producción la creación del Parque Industrial para que todas las

curtiembres se trasladen a ese lugar. Allí el tratamiento de sus efluentes sería a través de un servicio centralizado, emitiendo sus efluentes en una planta común. Con eso se acabaría el problema del colapso de los desagües de la urbe y que sus efluentes no produzcan un impacto perjudicial en la salud de la población”. CAMARA DE COMERCIO DE LA LIBERTAD (2015).

## 1.2. TRABAJOS PREVIOS

MOORE (2006). Evaluó la extracción de la queratina de las plumas de pollo y caracterización de ellos como la masa molar, el perfil de aminoácidos y propiedades térmicas además de la determinación de algunas propiedades de las películas. La metodología usada para la extracción de queratina fue, 45 g de plumas se sumergieron en 500 ml de solución de urea acuosa que contiene 8 mol  $L^{-1}$ ; lauril sulfato de sodio 0,26 mol  $L^{-1}$  y 2 mercaptoetanol 1,66 mol  $L^{-1}$ , durante 1h a pH 9 a temperaturas de 40, 50, 60, 70 y 80 ° C, para evaluar el efecto de la temperatura sobre el rendimiento de la queratina. Se obtuvo como resultado a 70°C el rendimiento fue de 94% de queratina.

PERALTA (2012). Evaluó la extracción colágeno a partir de los cascos de bovinos, determinando la calidad del producto final por medio de pruebas funcionales y fisicoquímicas. La metodología empleada fue tratamiento ácido-básico; comenzó lavando los cascos con abundante agua; también se aplicó un tratamiento térmico a una temperatura de 90 °C por 30 minutos para limpiar el material, una parte se sumergió en hidróxido de sodio al 7 % y la segunda parte en concentración al 5 %. Se concluyó que el mejor procedimiento es al 7 % de hidróxido de sodio.

CARABALI (2013). Evaluó el efecto de la temperatura y tiempo en el hidrolizado de plumas. La metodología empleada consistió preparar 40 mL de una solución de hidróxido de sodio 0.1 M; a la cual se le adicionaron 0.25 g de plumas y se dejaron en contacto con agitación continua durante 96 horas a temperatura ambiente. El tiempo afecta positivamente el rendimiento en la hidrólisis alcalina a temperaturas bajas 25 y 180 °C, respectivamente. Sin embargo, a temperaturas altas de 210 °C decrece el rendimiento de la hidrólisis para la producción de proteínas.

VEGA (2014). Evaluó el efecto en el crecimiento de plántulas de maíz mediante la aplicación de residuos sólidos hidrolizados del proceso de pelambre de una curtiembre. El residuo sólido (pelo) del proceso de pelambre se utilizó como sustrato, a una concentración de 40 gramos de residuo sólido por litro de solución. El agente hidrolizante fue el hidróxido de calcio, a una dosis de 0.50 gramos de hidróxido de calcio por gramo de residuo sólido. La experimentación se llevó a cabo a 90 °C de temperatura constante, por un periodo de ocho horas y en agitación constante. Finalmente los resultados obtenidos fueron, el hidrolizado presentó 17815.81 mg/L de proteína total.

OREJUELA (2015). Evaluó productos a base de queratina a partir de residuos de la industria alimentaria (plumas de pollo), para lo cual la metodología empleada se realizó según el protocolo propuesto por Wrzesniewska-Tosik y col., (2007). Usando un 1L de solución alcalina de Hidróxido de Sodio a 0.1 M se disolvieron 40 g de plumas a 60°C por 1 h con agitación constante, ajustando el pH a 12.5. Se obtuvieron 9 derivados de queratina liofilizados a partir de plumas de pollo.

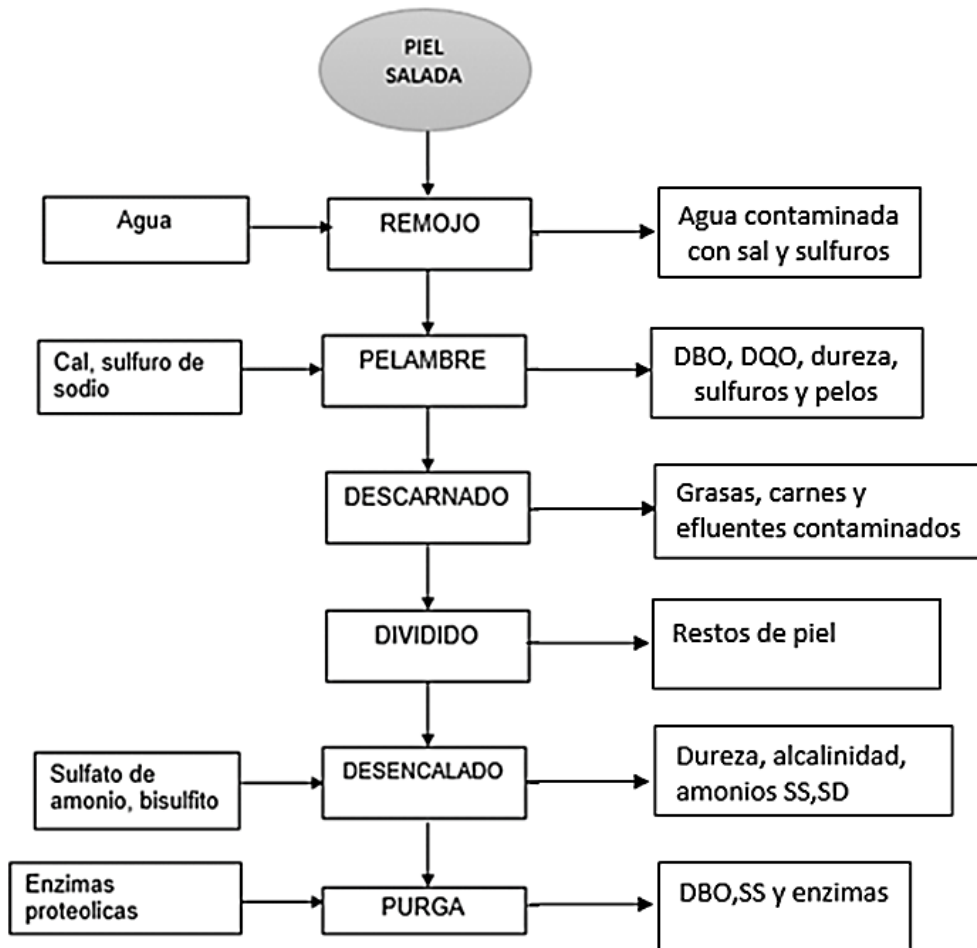
BORJA (2016). Evaluó la extracción de queratina de la raza ovina Latxa. Se han pesado 5 g de lana micronizada y dispersado en 200 mL de una disolución 0,5 M de ácido tioglicólico, con solución de hidróxido de sodio a pH = 12. La temperatura de la suspensión se ha elevado hasta 50°C y se ha agitado durante 7 horas mediante agitación magnética. Los resultados obtenidos fueron; la extracción de queratina de fibra al 51%.

### 1.3. TEORIAS REALACIONADAS AL TEMA

#### 1.3.1. MARCO TEORICO

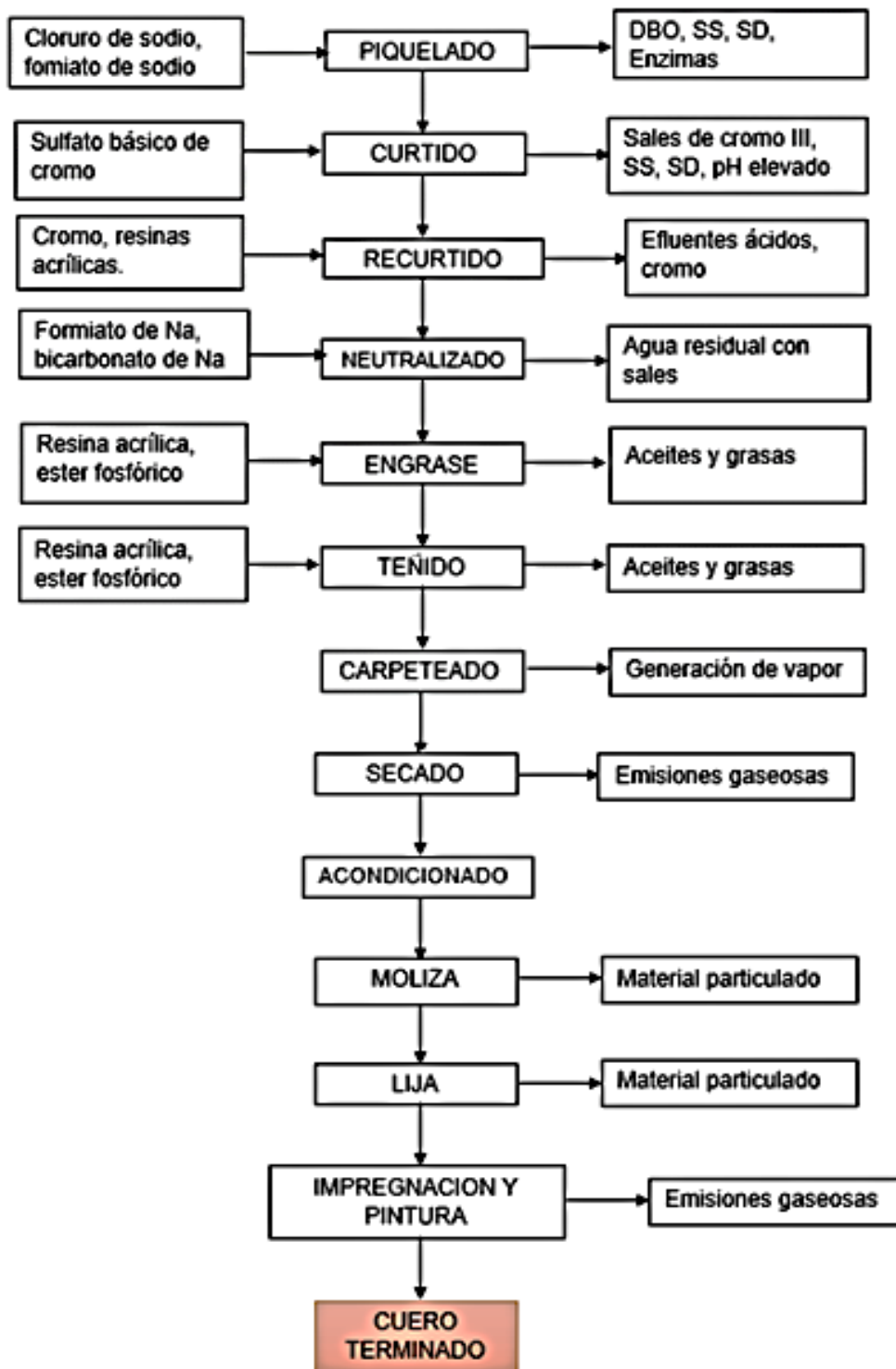
##### 1.3.1.1. PRODUCCION DE CUERO EN LA CURTIEMBRE INVERSIONES HAROD S.A.C.

La planta de curtido de pieles está ubicada en la Manzana -C3, Lote-01 Parque Industrial del distrito de La Esperanza, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad. Para la obtención de cuero la piel de vacuno pasa por un proceso general, el cual, dentro de la mencionada curtiembre se divide en proceso de ribera y acabado. Estos procesos constan de otras etapas, las cuales se muestran en la figura N°1.



**Figura N° 1:** Proceso del curtido de pieles en INVERSIONES HAROD S.A.C.

Fuente: Propia



**Figura Nº 2:** Continuación del proceso del curtido de pieles en INVERSIONES HAROD S.A.C.

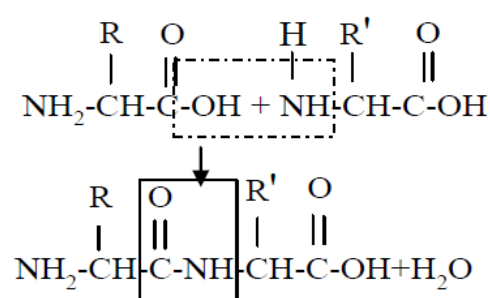
Fuente: Propia



### 1.3.1.2. LAS PROTEINAS

Las proteínas están formadas por cadenas de aminoácidos unidas por enlaces peptídicos entre el grupo carboxilo (-COOH) y el grupo amino (-NH<sub>2</sub>) de residuos de aminoácido adyacentes GARCÍA (2010).

Por hidrólisis, estas se dividen en numerosos compuestos simples, que son las unidades fundamentales componentes de la macromolécula; estas unidades son los aminoácidos, de los cuales existen veinte especies diferentes que se unen entre sí mediante enlaces peptídicos GARCÍA (2010).



**Figura Nº 3** Reacción entre aminoácidos para formar el enlace peptídico.

Fuente: GARCIA (2010)

### 1.3.1.3. ESTRUCTURA DE LAS PROTEÍNAS Y RELACION CON LA QUERATINA

Las moléculas proteicas poseen cuatro niveles de organización estructural: primaria (secuencia), secundaria (plegado local), terciaria (plegado global) y cuaternaria (asociación de varias cadenas). La estructura primaria es elemental para la forma tridimensional que tendrá la proteína. Los aminoácidos más abundantes presentes en la queratina son: Glicina 21,5% (Gli), Fenilalanina 3,9% (Fen), Alanina 11% (Ala), Ácido aspártico 9,3% (Asp), Cisteína 12,2% (CiSH), Lisina 7,3% (Lis), Prolina 2,3% (Pro), Valina 4,2% (Val), Leucina 3,2% (Leu), Isoleucina 1,2% (Ile) Treonina 4,8%(Tre), Otras.19, 1%. Conforme la cadena de aminoácidos se va acoplado, empiezan a tener interacciones la variedad aminoácidos de la cadena. Formándose puentes de hidrógeno, entre el hidrógeno del amino de un aminoácido y el oxígeno del carboxilo de otro aminoácido. A causa de esta unión la cadena polipeptídica se pliega, tomado forma de dos posibles

alineaciones, las cuales son conocidas como:  $\alpha$ -hélice y  $\beta$ -hoja plegada. La  $\alpha$ -hélice, se identifica por formar una estructura espiral, muy uniforme, en la que cada vuelta está formada por 3,6 aminoácidos. Esta se mantiene mediante puentes de hidrógeno entre el hidrógeno del grupo amino del enlace peptídico de un aminoácido y el oxígeno del grupo carboxilo del cuarto residuo más delante de la hélice. Dentro de este grupo se pueden mencionar proteínas estructurales como el colágeno, la queratina y la elastina SERRANO (2011).

#### **1.3.1.4. PROPIEDADES DE LAS PROTEÍNAS PARA EXTRACCION DE ALFA QUERATINA**

##### **a. Capacidad amortiguadora**

Las proteínas tienen un comportamiento anfótero y esto las hace capaces de neutralizar las variaciones de pH del medio, esto significa que pueden comportarse como un ácido o una base y por tanto liberar o retirar protones ( $H^+$ ) del medio donde se encuentran SALAZAR (2013).

##### **b. Solubilidad**

Las proteínas son solubles en agua cuando adoptan una conformación globular. La solubilidad se debe a los radicales (-R) libres de los aminoácidos, estos al ionizarse, establecen enlaces débiles (puentes de hidrógeno) con las moléculas de agua SALAZAR (2013).

##### **c. Desnaturalización**

Se origina debido al rompimiento de los enlaces que mantenían sus estructuras cuaternaria, terciaria y secundaria, conservándose solamente la primaria. Los agentes que pueden desnaturalizar a una proteína pueden ser: calor excesivo; sustancias que modifican el pH; alteraciones en la concentración; alta salinidad; agitación molecular; etc.

La mayor parte de las proteínas experimentan desnaturalizaciones cuando se calientan entre 50 y 60 °C; otras se desnaturalizan también cuando se enfrían por debajo de los 10 a 15°C SALAZAR (2013).

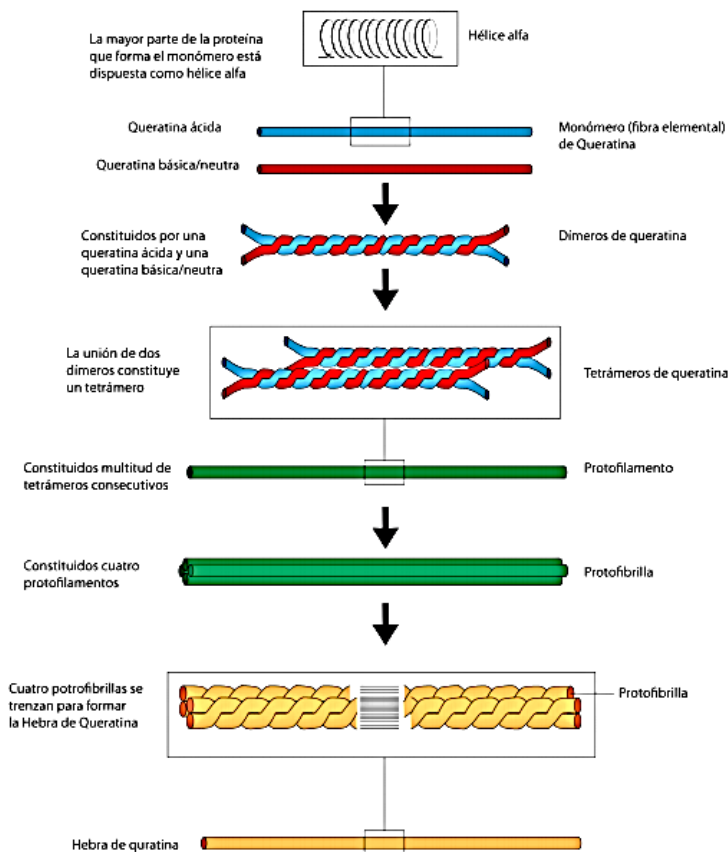
#### **d. Especificidad**

Cada una de las especies de seres vivos es capaz de fabricar sus propias proteínas (diferentes de las de otras especies) y, aún dentro de una misma especie hay diferencias proteicas entre los distintos individuos SALAZAR (2013).

##### **1.3.1.5. FORMACION DE ALFA QUERATINA**

Los monómeros de queratina se unen para formar dímeros. El dímero es el primer predecesor de la gran molécula de la queratina en la cual interactúan varias proteínas. La unión se inicia con una subunidad ácida la cual se unirá con una subunidad básica. De esta forma, la macromolécula acabará teniendo la misma proporción de subunidades básicas que de subunidades ácidas. Seguidamente dos dímeros se unirán para formar tetrámeros. Multitud tetrámeros se unen, unos detrás de otros, dando lugar a los protofilamentos.

Varios protofilamentos se unen, en grupos de unos cuatro protofilamentos, formando una protofibrilla. Las protofibrillas bien enlazadas formarán las grandes moléculas de queratina uniéndose muchas subunidades y entrelazándose formando un trenzado. Para ello, se requiere de la presencia de una molécula que hará de puente entre los precursores de la queratina esta es la molécula de filagrina. SALAZAR (2013).



**Figura Nº 4:** Formación de  $\alpha$  queratina.

Fuente: SAZALAR (2013)

### 1.3.1.6. APLICACIONES DE LA ALFA QUERATINA

#### a. Cosmetología

La queratina es parte de muchos tratamientos cosméticos capilares, protege el interior del cabello. La queratina puede evitar el deterioro del cabello por la continua exposición a estos factores climatológicos y químicos. WILKINS y MOORE (1990).

#### b. Industria textil

La queratina se usa como material de refuerzo en la fabricación de polímeros industriales, tales como: los polietilenos y los polipropilenos, y en la producción de pasta de papel o cartón y la fabricación de biomateriales o materiales biomédicos, entre otros. SALAZAR (2013).

### **c. Industria alimenticia**

La queratina, que contienen las plumas y pelo es un recurso alimenticio potencial. Luego de un proceso hidrolítico, de estos residuos, ellos se transformarán en una proteína digestible, que es útil como concentrado proteico para rumiantes y en algunos casos para humanos SALAZAR (2013).

### **d. Industria agrícola**

La queratina presente en las plumas y pelo es un recurso adecuado para la elaboración del compost SALAZAR (2013).

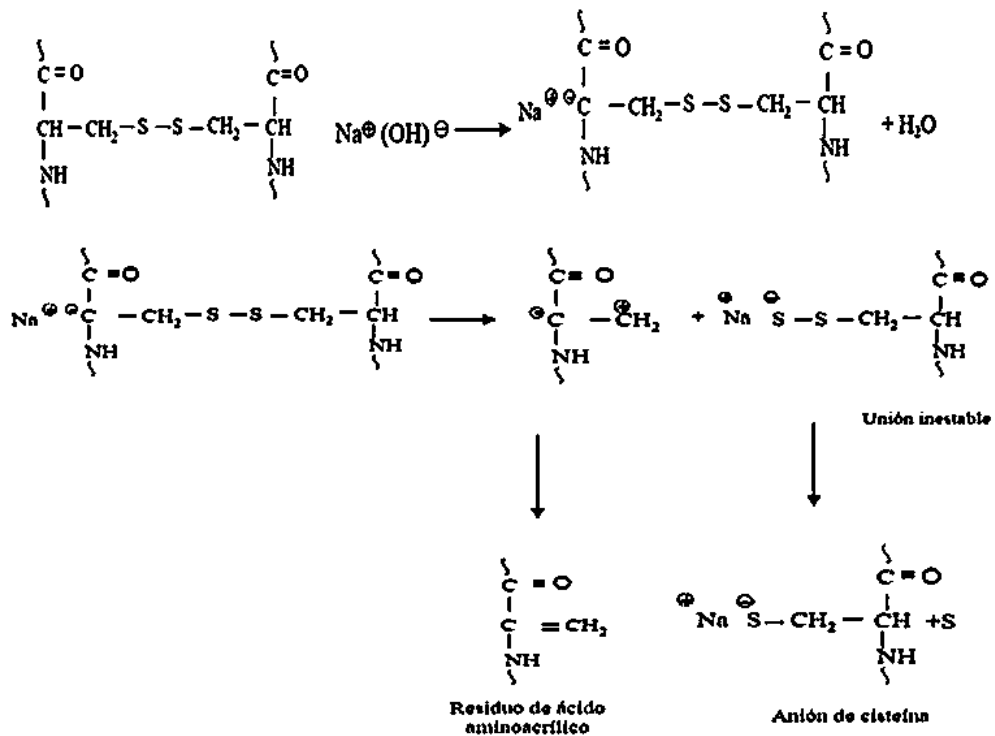
#### **1.3.1.7. HIDROLISIS BÁSICA**

Permite romper los fuertes enlaces disulfuros y en consecuencia, obtener proteína soluble, la hidrolisis básica respeta los aminoácidos que se destruyen por la hidrolisis acida estos son el triptófano y la serina, el agente hidrolizante que se usa con mayor frecuencia es el NaOH. JORDAN (2011). Los autores definen la combinación ideal de temperatura, presión, pH y tiempo de exposición, permitiendo así obtener un adecuado valor nutritivo. Existe una gran variedad de agentes hidrolizantes y las concentraciones a utilizar, entre los cuales destacan: hidróxido de calcio (Piccioni, 1970), hidróxido de sodio (Kim et al., 2002), hidróxido de potasio (Mohamed et al., 1991.).

#### **1.3.1.8. REDUCCIÓN DE $\alpha$ QUERATINA**

##### **a. CONCENTRACION HIDROXIDO DE SODIO**

El hidróxido de sodio actúa como catalizador de la reacción. Por lo tanto, la velocidad de reacción de hidrolisis se verá afectada dependiendo de la concentración de la solución de hidróxido de sodio que se emplee LARSON Y WEBER (1994). El hidróxido de sodio influye en la hidrolisis puesto que es un agente hidrolizante y como tal ayuda en la ruptura del enlace peptídico que une a los aminoácidos, esta ruptura dependerá de la cantidad de hidróxido de sodio que se emplee URBANO (2015).



**Figura N° 5:** Ruptura de los enlaces disulfuros de la  $\alpha$  queratina

Fuente: SALAZAR (2013)

## b. TEMPERATURA

La temperatura es importante puesto que influyen en la solubilización de las proteínas, esto debido a que la energía cinética aumenta los choques moleculares produciendo así la ruptura de los enlaces disulfuros que presenta la alfa queratina URBANO (2015).

El incremento en la temperatura induce cambios estructurales en la queratina por el aumento de las colisiones moleculares al aumentar la energía cinética de las moléculas, así la fuerza de estos impactos es suficiente para romper enlaces entre grupos funcionales y destruir el arreglo natural de la proteína BOLAÑOS (2013).

### 1.3.2. MARCO CONCEPTUAL

#### 1.3.2.1. ALFA QUERATINA DEL PELO

Pertenece a una familia de proteínas fibrosas estructurales, ya que está formada por cadenas de aminoácidos (de alto contenido en azufre) que se

enlazan entre sí formando microfibrillas. Son el componente primordial de las capas más, externas de la epidermis de los vertebrados, y de otros órganos derivados del ectodermo, como: pelo, uñas, plumas, cuernos, y pezuñas. Según su estructura y componentes, se distinguen dos tipos de queratina: la alfa y la beta. La  $\alpha$ -queratina se caracteriza por presentar monómeros de cisteína, que constituyen los puentes disulfuro, proporcionando una gran resistencia y dureza (por eso se encuentra en mayor proporción en pelos, cuernos y uñas) ROMAN (2011).

#### **1.3.2.2. HIDRÓXIDO DE SODIO**

El hidróxido de sodio es corrosivo. Usualmente se usa en forma sólida o como una solución de 50%. Su nombre común es soda cáustica. El hidróxido de sodio se usa como hidrolizaste debido a que conserva los aminoácidos que la hidrolisis acida elimina, debido a esto expertos recomiendan trabajar con NaOH JORDAN (2011).

#### **1.3.2.3. TEMPERATURA**

Magnitud física que expresa el grado o nivel de calor de los cuerpos o del ambiente, su unidad en el sistema internacional es el kelvin (K). La mayor parte de las proteínas experimentan desnaturalizaciones cuando se calientan entre 50 y 60 °C; otras se desnaturalizan también cuando se enfrían por debajo de los 10 a 15°C SERRANO (2011).

#### **1.3.2.4. CURTIDO**

Proceso por el cual se obtienen el cuero mediante la estabilización del colágeno para el curtido de pieles se usa minerales o vegetales, transformándola en cuero REY DE CASTRO (2013).

#### **1.3.2.5. CUERO**

Es la piel tratada mediante curtido. Deriva de una capa de tejido que recubre a los animales, tiene propiedades de resistencia y flexibilidad REY DE CASTRO (2013).

#### **1.3.2.6. PELAMBRE**

Proceso a través del cual se elimina el pelo empleando cal y sulfuro de sodio, en este proceso se prepara el cuero para el posterior curtido. Se emplean grandes volúmenes de agua y la descarga de sus efluentes representa el mayor aporte de carga orgánica REY DE CASTRO (2013).

#### **1.3.2.7. PELO**

Es una continuidad del cuero cabelludo, constituida por una fibra de queratina y compuesto por una raíz y un tallo. La queratina presente en el pelo es de constituye al 95% del pelo. La composición química de la queratina determina que se forme una estructura helicoidal proteínica de mucha fortaleza, con un comportamiento elástico y prácticamente indisoluble RANGEL (2013).

### **1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

¿Cómo influye la concentración de hidróxido de sodio y temperatura en la extracción de  $\alpha$  queratina del residuo pelo de INVERSIONES HAROD S.A.C?

### **1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**

Uno de los principales problemas que existen en el Perú se debe a la contaminación que muchas veces es generadora por las industrias que viene operando en nuestro país, siendo una de estas la industria del curtido de cuero.

En el Parque Industrial del distrito de la Esperanza – Trujillo, se viene desarrollando esta industria, la cual genera contaminación al ambiente no solo por los efluentes sino que también por los residuos sólidos que se generan producto de las diferentes etapas por las que pasa la piel para convertirse en cuero, uno de los residuos que se generan en estas etapas es el residuo pelo el cual es producido en la etapa de pelambre. El pelo está formado por una fibra de queratina, la cual es rica en aminoácidos los cuales pueden ser usados en distintas industrias como: la industria de belleza, industria alimentaria, etc. Siendo consientes entonces del gran valor que tiene el pelo y el mal manejo de residuos sólidos que en la actualidad viene



afectando a los ciudadanos, se realizó este proyecto con la finalidad de disminuir las cantidades del mencionado residuo, esto se logró mediante la hidrólisis básica la cual nos dará como resultado alfa queratina .

En INVERSIONES HAROD S.A.C se producen diariamente 600 kg de pelo del cual se obtuvo la  $\alpha$  queratina , este producto podría generar una nueva fuente de ingresos para la curtiembre INVERSIONES HAROD S.A.C, trayendo consigo nuevas oportunidades de trabajo y lo más importante disminuyendo los impactos ambientales que son producidos por los residuos sólidos.

## **1.6. HIPÓTESIS**

La concentración de hidróxido de sodio y temperatura influyen en la extracción de  $\alpha$  queratina del residuo pelo de INVERSIONES HAROD S.A.C.

## **1.7. OBJETIVOS**

### **1.7.1. GENERAL**

Determinar la influencia de la concentración de hidróxido de sodio y temperatura en la extracción de  $\alpha$  queratina del residuo pelo de INVERSIONES HAROD S.A.C.

### **1.7.2. ESPECÍFICOS**

- Evaluar la concentración de hidróxido de sodio para la extracción de  $\alpha$  queratina del residuo pelo de INVERSIONES HAROD S.A.C.
- Evaluar la temperatura para la extracción de  $\alpha$  queratina del residuo pelo de INVERSIONES HAROD S.A.C.
- Determinar el porcentaje de proteína extraída usando el método KJELDAH.

## II. MÉTODO

### 2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Se estableció un diseño experimental bifactorial, teniendo dos variables independientes: concentración de hidróxido de sodio (0.1, 0.2, 0.3, 0.4) N y temperatura (60,70, 80, 90) °C, realizándose un total de 48 experimentos.

Se mantuvieron fijos la velocidad de agitación (200 rpm), tiempo (tres horas y media) y la muestra (5 g) de residuo pelo .Se estudiaron las interacciones entre los dos factores a ser evaluados y su efecto en la extracción de alfa queratina del residuo pelo de INVERSIONES HAROD S.A.C.

**Tabla N° 1:** Aplicación del diseño bifactorial en la temperatura y concentración de hidróxido de sodio

|                      | <b>B<sub>1</sub></b>          | <b>B<sub>2</sub></b>          | <b>B<sub>3</sub></b>          | <b>B<sub>4</sub></b>          |
|----------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| <b>A<sub>1</sub></b> | A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> | A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> | A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> | A <sub>1</sub> B <sub>4</sub> |
| <b>A<sub>2</sub></b> | A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> | A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> | A <sub>2</sub> B <sub>4</sub> |
| <b>A<sub>3</sub></b> | A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> | A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> | A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> | A <sub>3</sub> B <sub>4</sub> |
| <b>A<sub>4</sub></b> | A <sub>4</sub> B <sub>1</sub> | A <sub>4</sub> B <sub>2</sub> | A <sub>4</sub> B <sub>3</sub> | A <sub>4</sub> B <sub>4</sub> |

Fuente: Propia

Concentración

A<sub>1</sub>: 0.1 N

A<sub>2</sub>: 0.2 N

A<sub>3</sub>: 0.3 N

A<sub>4</sub>: 0.4 N

Temperatura

B<sub>1</sub>: 60°C

B<sub>2</sub>: 70°C

B<sub>3</sub>: 80°C

B<sub>4</sub>: 90°C

## 2.2. VARIABLES OPERACIONALIZACION

| Variable   | Definición conceptual   | Definición operacional  | Indicadores   | Escala de medición |
|--|---|---|---|--------------------|
| Concentración de hidróxido de sodio.<br>(variable independiente) | La concentración es la medida de cantidad de soluto en una cantidad de solvente. La concentración de hidróxido de sodio que se agregará al reactor, actuará como solvente, propiciando la ruptura de los enlaces disulfuros. RIÑO(2007) | Se preparó una solución madre a 1N, utilizando 40 g de NaOH. De esta solución madre se diluyo para 0.1,0.2,0.3 y 0.4 N.   | Cantidad de hidróxido de sodio que se agregará al reactor expresado en concentración Molar. | De intervalo       |
| Temperatura<br>(variable independiente)                          | La temperatura expresara el nivel de calor que está alcanzando en la reacción. La temperatura influirá en la ruptura de los enlaces disulfuros. KANE Y STRERMEIN(2007)  | Para la medición de la temperatura se utilizó un termómetro ASTM, el cual tiene una escala de 0 a 100 °C ( $\pm x$ ), el termómetro se colocará al centro del reactor con la finalidad de que la temperatura que se tome sea lo más representativa posible. | Lectura registrada en el termómetro ASTM expresada en °C.                                   | De intervalo.      |
| Extracción de $\alpha$ queratina<br>(variable dependiente)       | El proceso de hidrolisis permitirá la extracción de alfa queratina, puesto que se separan o romperán lo enlaces disulfuros que mantienen unida a esta proteína. VEGA(2014)  | Para la extracción de $\alpha$ queratina se procedió a digerir el pelo, con la solución de NaOH por un periodo de tres horas y media. Para luego usar el método de kJEDHAL con la finalidad de conocer el porcentaje de $\alpha$ queratina extraída.        | Cantidad de alfa queratina extraída en %.   | De intervalo.      |

## **2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA**

### **2.3.1. POBLACIÓN**

El residuo pelo, de la etapa de pelambre, de INVERSIONES HAROD S.AC.

### **2.3.2. MUESTRA**

De acuerdo con el modelo bifactorial elegido, se tiene el siguiente cálculo de tamaño de muestra:

$$N = A \times B \times R$$

Donde:

- A: Cantidad de hidróxido de sodio ( 4 niveles)
- B: Lectura registrada en termómetro ASTM (4 niveles)
- R: 3 repeticiones o replicas.

Por lo tanto:

$$N = 4 \times 4 \times 3 = 48$$

La muestra del residuo pelo de la etapa de pelambre de INVERSIONES HAROD S.A.C, se obtuvo tomando como base el tamaño de muestra que es 48, multiplicado por los 5 g de pelo que sería la unidad experimental; obteniéndose aproximadamente *240 g de pelo* que vendría a hacer nuestra muestra

### **2.3.3. UNIDAD EXPERIMENTAL**

5 gramos de residuo pelo de la etapa de pelambre de INVERSIONES HAROD S.A.C.

## **2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD**

### **2.4.1. TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

#### **2.4.1.1. HIDROLISIS BASICA**

Para la recolección de la muestra se utilizó el muestro aleatorio simple. Se llevó a cabo experimentos batch o discontinuos, con el residuo sólido

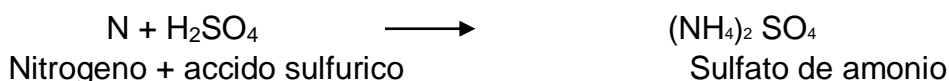
(pelo) de la etapa de pelambre de INVERSIONES HAROD S.A.C; para lo cual se contó con: balanza electrónica, agitador magnético con calefacción, balón de 3 bocas, soporte universal, pHmetro, termómetro, centrifuga.

Para la realización de los experimentos, se introdujeron 5 g de residuo pelo en 300 mL de solución, a concentraciones de 0.1, 0.2, 0.3 y 0.4 N de hidróxido de sodio. Se ajustaron las temperaturas a 60°C, 70°C, 80°C y 90°C. Cada prueba se llevó a cabo por un periodo de tres horas y media, manteniendo constante la agitación

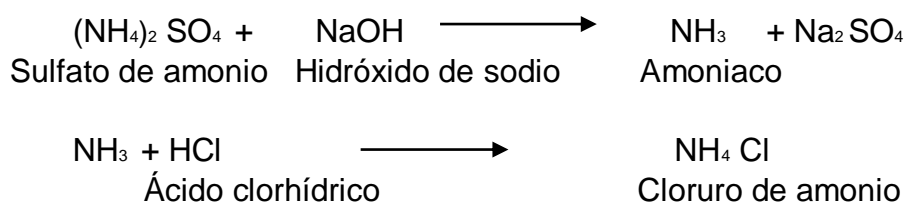
Después de este periodo, se procede a centrifugar la solución con la finalidad de separar la queratina disuelta y residuos de pelo que aún puede quedar, obtenidas las proteínas solubles; se procedió a analizar cuanto se había extraído de  $\alpha$  queratina, para lo cual se utilizó el método de KJEDHAL, para el desarrollo de este se tomó una alícuota de 30 mL (equivalente a 0,5 g de pelo).

#### 2.4.1.2. MÉTODO DE KJELDAHL

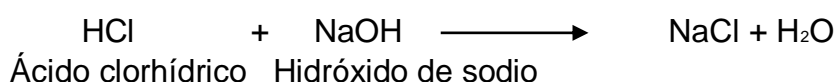
##### a. Digestión



##### b. Neutralización y destilación



##### c. Titulación (ácido base)



## 2.4.2. INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

**Tabla Nº 2:** Equipos, materiales y reactivos usados en la extracción de  $\alpha$  queratina

| EQUIPOS                                 | MATERIALES          | REACTIVOS  |
|---|---------------------|--|
| Balanza electrónica (Sartorus)          | Pinzas              | Agua destilada   |
| pHmetro<br>(Hanna Instrument)           | Balón de tres bocas | Hidróxido de sodio (NaOH)  |
| Agitador magnético( MRC modelo<br>HM-4) | Residuo pelo        | Ácido clorhídrico (HCl)  |
| Termómetro ASTM                         | Soporte universal   | Carbonato de sodio $\text{Na}_2\text{CO}_3$                                      |
| Centrifuga (Boeco)                      | Tapones de caucho   | Biftalato de potasio( $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ )                       |
|   | Tubos de ensayo     | Ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )                                      |
|   |                     | Sulfato de sodio( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )                                     |
|   |                     | Sulfato de cobre pentahidratado<br>( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) |

Fuente: Propia

## 2.4.3. CALIBRACION Y VALIDEZ DEL INSTRUMENTO

**Tabla Nº3:** Calibración y validación de los instrumentos

| EQUIPO              | CALIBRACION   |
|---------------------|---|
| Balanza electrónica | Norma Metrológica Peruana<br>003 .12. 2009  |
| pHmetro             | Norma Metrológica Peruana<br>009.08.1999  |
| Termómetro          | Norma Metrología Peruana<br>020.12.2014   |
| DETERMINACION       | VALIDACION  |
| Queratina           | APHA, AWWA, WPCF. Nitrogen ammonia phenate method. En:<br>Standard methods for the examination of water and wastewater.<br>Washington DC, CD ROOM; 2000 |

Fuente: Propia

## **2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS**

Para la realización del proyecto se usara el método ANALIS DE VARIANZA conocido también como ANOVA.

## **2.6. ASPECTOS ÉTICOS**

Para la realización de este proyecto de investigación se tendrá presente la veracidad de los resultados, el respeto por la propiedad intelectual y el respeto por el medio ambiente y la biodiversidad.

### III. RESULTADOS

En la tabla N°4 se muestra las características organolépticas de la  $\alpha$  queratina obtenida después de haberse realizado la hidrólisis básica, se observó que las características de nuestra  $\alpha$  queratina eran muy similares a las que obtuvieron otros investigadores.

**Tabla N°4:** Propiedades Organolépticas de la  $\alpha$  queratina extraída del residuo pelo de INVERSIONES HAROD S.A.

| CARACTERISTICAS | RESULTADO              |
|-----------------|------------------------|
| Color           | Marrón                 |
| Olor            | Característico         |
| Trasparencia    | Opaco                  |
| Aspecto         | Líquido fluido viscoso |

Fuente: Propia- Laboratorio Químico Universidad Cesar Vallejo.

Cada experimento realizado contó con 3 repeticiones según el diseño de investigación, siendo un total de 48 experimentos. Es así que en la tabla N°4 se muestran los promedios obtenidos después de haberse realizado el proceso de extracción de  $\alpha$  queratina. Observamos que el mayor porcentaje de extracción de  $\alpha$  queratina fue 554.33 % a una concentración de 0.1N y temperatura de 70°C.

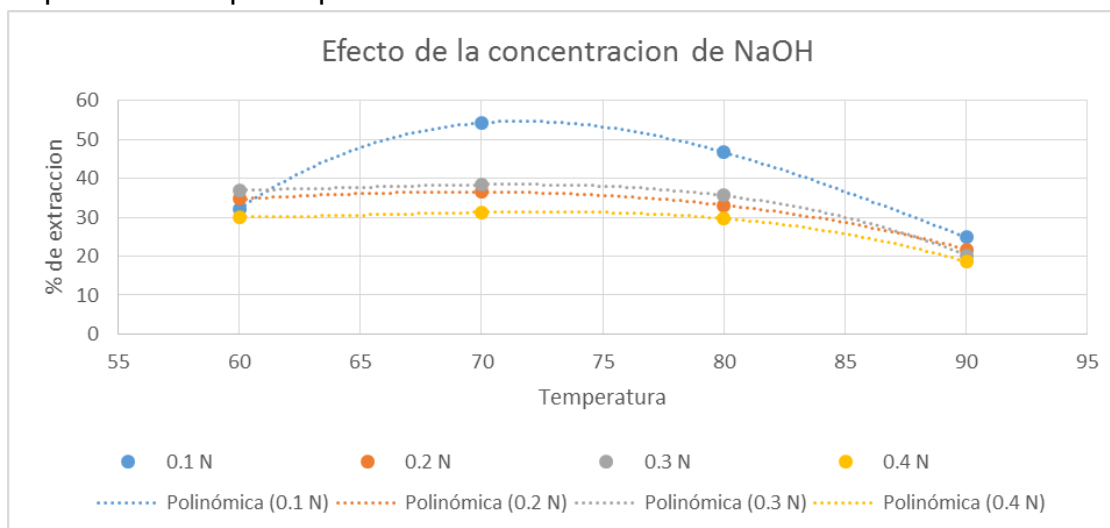
**Tabla N° 5:** Resultados promedio del porcentaje de recuperación de  $\alpha$  queratina del residuo pelo de INVERSIONES HAROD S.A.C.

| CONCENTRACIÓN [NaOH] | 60°C  | 70°C  | 80°C  | 90°C  |
|----------------------|-------|-------|-------|-------|
| 0.1 N                | 32.25 | 54.33 | 46.75 | 24.81 |
| 0.2 N                | 34.7  | 36.53 | 33.15 | 21.8  |
| 0.3 N                | 37.05 | 38.41 | 35.59 | 20.3  |
| 0.4 N                | 30.04 | 31.3  | 29.72 | 18.6  |

Fuente: Propia- Laboratorio Químico Universidad Cesar Vallejo.



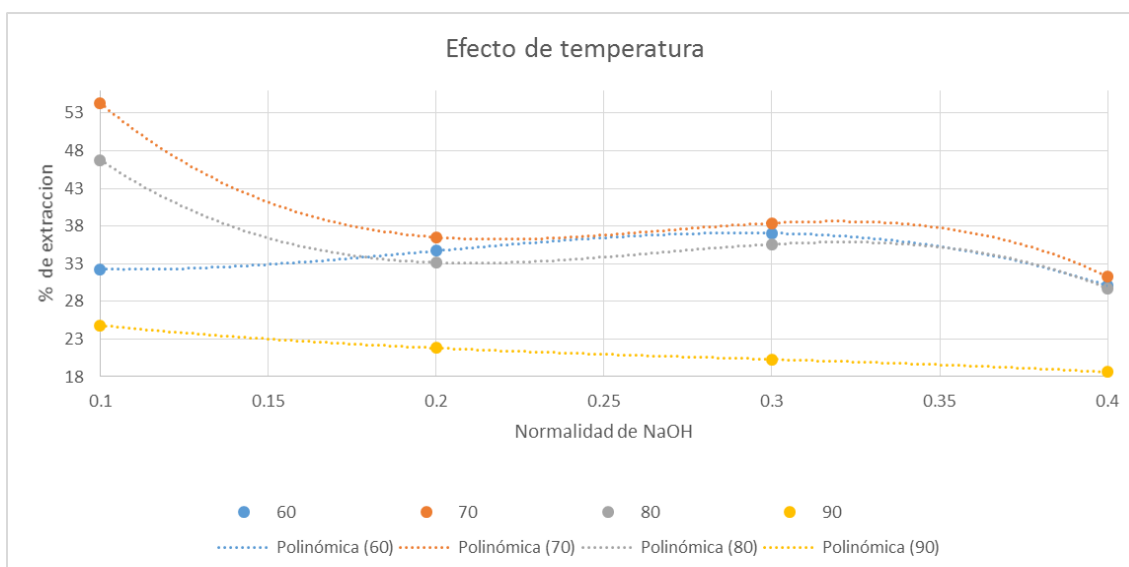
En el gráfico N°1 se observa la interacción que hay entre la concentración de hidróxido de sodio y el porcentaje de extracción de  $\alpha$  queratina, se obtuvieron mejores resultados con una concentración de 0.1 N los cuales fueron representados por la polinómica de color azul.



**Figura N° 6:** Variación de la recuperación de  $\alpha$  queratina en función de la temperatura para las diferentes concentraciones de NaOH.

Fuente: Propia – Excel (2013)

En el gráfico N° 2 se observa la interacción que hay entre la temperatura y el porcentaje de extracción de  $\alpha$  queratina, se alcanzaron mejores resultados a una temperatura de 70°C los cuales fueron representados por la polinómica de color de naranja.



**Figura N° 7:** Variación de la recuperación de  $\alpha$  queratina en función de la concentración de NaOH para diferentes temperaturas.

Fuente: Propia – Excel (2013)

Para analizar los datos obtenidos se utilizó el programa estadístico, IBM SPSS statistics 23; previo al análisis de varianza (ANOVA) tuvo presente ciertas consideraciones las cuales fueron explicadas a continuación:

#### **a. Homogeneidad de varianzas**

Se observa en la tabla N°5 que el P valor (sig.) resultante de la prueba de prueba de Levene fue mayor que el nivel de significancia (0.01), indicando así que los resultados fueron obtenidos sobre la base de un muestreo aleatorio de una población con varianzas iguales.

**Tabla N°6:** Prueba de igualdad de Levene de varianzas de error

| <b>F</b> | <b>df1</b> | <b>df2</b> | <b>Sig.</b> |
|----------|------------|------------|-------------|
| 2.418    | 15         | 48         | 0.011       |

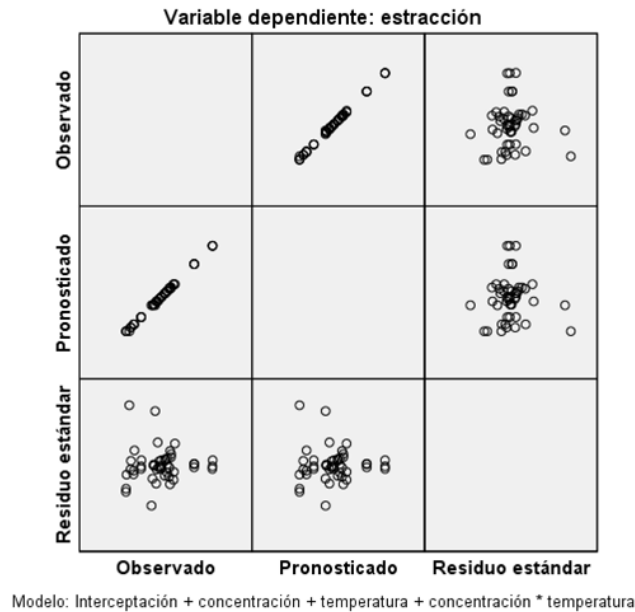
Fuente: IBM SPSS statistics 23

#### **b. Las muestras son independientes**

La nube de puntos que se forme debe tener la representación de un triángulo o un embudo con vértice izquierdo, entendiéndose esto se podría decir que existe autocorrelación. Se observó en la figura N° 6 la presencia de estas características, puntualmente en la cuadrícula 3 empezando a contar de arriba abajo y ubicándose al lado izquierdo se observa el residuo estándar (eje y) y lo observado y pronosticado en (eje x), donde los puntos se notan dispersos, demostrado que las muestras son independientes.

#### **c. La distribución normal**

Con respecto a la normalidad, si la nube de puntos se ubica muy cerca de la línea, se dice que los datos siguen una distribución normal. Se observaron estas características en la Figura N°6, específicamente en las cuadrículas 1 y 2 empezando a contar de arriba abajo y ubicándose al lado izquierdo se observa el pronosticado y observado (eje y) con los observado y pronosticado (eje x), donde los puntos se ubicaron formando una línea, demostrando así que la distribución es normal.



**Figura N°6:** Distribución normal y muestras independientes

Fuente: IBM SPSS statistics 23

Luego de comprobar que las 3 condiciones se cumplen, se procedió a realizar el análisis de varianza (ANOVA), teniendo como H<sub>0</sub> (hipótesis nula) que los experimentos realizados son iguales, mientras que la H<sub>1</sub> (hipótesis alternativa) indica que al menos de los experimentos realizados es diferente, es así que en la tabla N° 7 se observa que el P valor (sig.) fue menor que el nivel de significancia(0.01), con un nivel de confianza de 99% , rechazándose así a H<sub>0</sub> y por lo tanto afirmándose a sí que al menos uno de los tratamientos fue diferente, además de existir diferencia significativa entre todos los experimentos realizados.

**Tabla N°7:** Análisis de varianza - ANOVA

| Origen                              | Tipo III de suma      |    | Media      |             | Sig. |
|-------------------------------------|-----------------------|----|------------|-------------|------|
|                                     | de cuadrados          | gl | cuadrática | F           |      |
| Modelo corregido                    | 5181.677 <sup>a</sup> | 15 | 345.445    | 6872.179    | .000 |
| Intersección                        | 68992.246             | 1  | 68992.246  | 1372510.558 | .000 |
| Concentración NaOH                  | 1214.594              | 3  | 404.865    | 8054.254    | .000 |
| Temperatura                         | 3154.379              | 3  | 1051.460   | 20917.417   | .000 |
| Concentración NaOH *<br>Temperatura | 812.704               | 9  | 90.300     | 1796.409    | .000 |
| Error                               | 2.413                 | 48 | .050       |             |      |
| Total                               | 74176.335             | 64 |            |             |      |
| Total corregido                     | 5184.090              | 63 |            |             |      |

Fuente: IBM SPSS statistics 23

Después de comprobarse que existió diferencia significativa entre los resultados, se comprobó cual de los experimentos realizados fue el mejor, ratificando así que la concentración de 0,1 N y temperatura de 70°C, fueron las condiciones óptimas para la extracción de  $\alpha$  queratina como se puede observar en las tablas N°8 y N°9.

**Tabla N°8: Prueba post hoc para hidróxido de sodio (NaOH)**

|           | NaOH | N  | Subconjunto |         |         |         |
|-----------|------|----|-------------|---------|---------|---------|
|           |      |    | 1           | 2       | 3       | 4       |
| HSD Tukey | 0.4  | 16 | 27.4775     |         |         |         |
|           | 0.2  | 16 |             | 31.5456 |         |         |
|           | 0.3  | 16 |             |         | 32.8375 |         |
|           | 0.1  | 16 |             |         |         | 39.5338 |
|           | Sig. |    |             | 1.000   | 1.000   | 1.000   |
| Duncan    | 0.4  | 16 | 27.4775     |         |         |         |
|           | 0.2  | 16 |             | 31.5456 |         |         |
|           | 0.3  | 16 |             |         | 32.8375 |         |
|           | 0.1  | 16 |             |         |         | 39.5338 |
|           | Sig. |    |             | 1.000   | 1.000   | 1.000   |
| Scheffe   | 0.4  | 16 | 27.4775     |         |         |         |
|           | 0.2  | 16 |             | 31.5456 |         |         |
|           | 0.3  | 16 |             |         | 32.8375 |         |
|           | 0.1  | 16 |             |         |         | 39.5338 |
|           | Sig. |    |             | 1.000   | 1.000   | 1.000   |

Fuente: IBM SPSS statistics 23

**Tabla N°9: Prueba post hoc para temperatura**

|           | Temperatura | N  | Subconjunto |         |         |         |
|-----------|-------------|----|-------------|---------|---------|---------|
|           |             |    | 1           | 2       | 3       | 4       |
| HSD Tukey | 90°C        | 16 | 21.3775     |         |         |         |
|           | 60°C        | 16 |             | 33.5100 |         |         |
|           | 80°C        | 16 |             |         | 36.3019 |         |
|           | 70°C        | 16 |             |         |         | 40.2050 |
|           | Sig.        |    |             | 1.000   | 1.000   | 1.000   |
| Duncan    | 90°C        | 16 | 21.3775     |         |         |         |
|           | 60°C        | 16 |             | 33.5100 |         |         |
|           | 80°C        | 16 |             |         | 36.3019 |         |
|           | 70°C        | 16 |             |         |         | 40.2050 |
|           | Sig.        |    |             | 1.000   | 1.000   | 1.000   |
| Scheffe   | 90°C        | 16 | 21.3775     |         |         |         |
|           | 60°C        | 16 |             | 33.5100 |         |         |
|           | 80°C        | 16 |             |         | 36.3019 |         |
|           | 70°C        | 16 |             |         |         | 40.2050 |
|           | Sig.        |    |             | 1.000   | 1.000   | 1.000   |

Fuente: IBM SPSS statistics 23

#### IV. DISCUSIÓN

La  $\alpha$  queratina que se obtuvo en la presente tesis, presentó las siguientes características organolépticas; color marrón, olor característico, de transparencia opaca y presentó viscosidad; estas características fueron muy parecidas a las que obtuvieron SALAZAR (2013) y CARABALI (2013).

Con relación a la concentración de hidróxido de sodio (NaOH), en el gráfico N°1 se evidenció que a 0,1 N se logró la mayor extracción de  $\alpha$  queratina la cual fue de 54.33 %. Así OREJUELA (2015) indicó que a una concentración de 0.1 N se obtuvieron 9 derivados de queratina, del mismo modo CARABELI (2013) refiere que una solución de 0.1 N se obtuvo un rendimiento de 34.7%. Se observa también que lo contrario ocurrió a una concentración de 0.4 N, puesto el porcentaje de extracción disminuyó llegando solo al 18.6%.

Podemos decir entonces que la concentración de hidróxido de sodio fue de gran ayuda para la ruptura de enlaces disulfuros; lográndose así la mayor extracción de  $\alpha$  queratina como fue sustentado por LARSON Y WEBER (1994), el cual refiere que el hidróxido de sodio actúa como catalizador de la reacción. Por lo tanto, la velocidad de reacción de hidrólisis se verá afectada dependiendo de la concentración de la solución de hidróxido de sodio que se emplee. Este concepto también fue compartido por el investigador URBANO (2015) quien menciona que, el hidróxido de sodio influye en la hidrólisis puesto que es un agente hidrolizante y como tal ayuda en la ruptura del enlace peptídico que une a los aminoácidos

Con respecto a la influencia de temperatura, se observa en el gráfico N°2, que el mayor porcentaje de extracción de  $\alpha$  queratina fue del 54.33 % como ya se mencionó, esto se logró a una temperatura de 70°C. Así MOORE (2006) indicó que a una temperatura de 70 °C extrajo 94% de

queratina; de la misma manera OREJUELA (2015) indico también que a temperaturas cercanas a 70°C se obtuvieron 9 derivados de queratina.

La temperatura influyo en la solubilizacion de las proteínas, debido a que la energía cinética aumenta las choques moleculares produciendo así la ruptura de los enlaces disulfuros que presenta la alfa queratina URBANO (2015). Se observó también que a temperaturas elevadas como es el caso de 90°C la extracción de  $\alpha$  queratina decreció esto sucede porque a estas condiciones no solo se rompen los enlaces disulfuros que forman a la  $\alpha$  queratina sino que también esta se desnaturaliza, destruyéndose así gran cantidad de aminoácidos CARABELI (2013).

Para el análisis de los datos se empleó el análisis de varianza (ANOVA); los datos fueron procesados en el programa estadístico IBM SPSS statistics 23, teniendo presente las consideraciones (homogeneidad de varianzas, muestras independientes y distribución normal) conocidas también como bondad de ajustes las cuales nos permitieron realizar el análisis de varianza de forma segura. Es así que en la tabla N°7 se muestra que los datos obtenidos presentaron diferencia significativa, lo cual demostró que las variables independientes (concentración de hidróxido de sodio y temperatura) influyeron en la variable dependiente (extracción de  $\alpha$  queratina).

Las tablas N°8 y N°9 indicaron que los experimentos más significativos se encuentran presentes a condiciones de 0.1 N de hidróxido de sodio y a una temperatura de 70°C; esto fue corroborado por los test de Tukey, Duncan y Scheffe.

## V. CONCLUSIÓN

1. Se concluyó que tanto la temperatura y concentración de hidróxido de sodio si influyeron en la extracción de  $\alpha$  queratina, ya que los enlaces disulfuros que componen a la  $\alpha$  queratina, se rompieron a temperaturas no menores a las de 70°C; mientras que el hidróxido de sodio como agente hidrolizante influyo también en la ruptura de los mencionados enlaces.
2. La concentración óptima de hidróxido de sodio para lograr la mayor extracción de alfa queratina, fue de 0.1N.
3. La temperatura óptima para lograr la mayor extracción de alfa queratina, fue de 70 °C.
4. El mayor porcentaje de extracción de alfa queratina que se obtuvo fue a 0.1N de hidróxido de sodio y temperatura igual a 70 °C, manteniendo constantes el tiempo de reacción, la velocidad de agitación y la cantidad pelo, fue de 54.33 %.

## **VII. RECOMENDACIONES**

Para futuras investigaciones se recomienda que se pruebe con concentraciones inferiores a la de 0.1N, que estén entre 0.05N, 0.10N, 0.15N y 0.20 N; con respecto a la tempera de igual manera se sugiere trabajar a condiciones que estén por debajo de los 70 °C, están podrían ser temperaturas de 45°C, 50°C, 55°C y 65°C; con la finalidad de conocer si a estas condiciones se podrían obtener mejores resultados, para la extracción de  $\alpha$  queratina.

Se recomienda también trabajar con mayor cantidad de muestra de pelo e implementar así una planta pilo en las curtiembres, teniendo ya las condiciones óptimas para la extracción de  $\alpha$  queratina.



## VIII. REFERENCIAS

- APLICACIÓN de residuos sólidos hidrolizados del proceso de pelambre enzimático como fuente de aminoácidos libres en el crecimiento de plántulas de maíz por Vega Zapata Lusiana [et al]. *Saber y Hacer* [en línea]. Segundo semestre 2014, vol. 1, n°. 2. [fecha de consulta: 29 Abril 2016]

Disponible: <http://revistas.usil.edu.pe/index.php/syh/article/view/19/20>

ISSN 2311-7613

- BORJA, Arlas, PEÑA, Cristina y ARANTXA, Eceiza. Extracción de la queratina de la lana de oveja "Latxa". *Revista Iberoamericana de Polímeros* [en línea]. Mayo 2016, vol. 17 n°. 3 [fecha de consulta: Mayo 2016].

Disponible: <http://www.ehu.eus/reviberpol/pdf/MAY16/borja.pdf>

ISSN 1988-4206

- BIOQUIMICA por Mathews, Chistoper [et.al]. Madrid: Pearson Educación, 2002. 1230p.

ISBN: 84-7829-3

- CARABALÍ Ocoró, Víctor David. Producción de proteína para consumo animal mediante hidrólisis de plumas de pollo en agua subcrítica. Tesis (Ingeniero Químico). Santiago de Cali, Colombia: Universidad del Valle, 2013. 56p

- *Cueros tóxicos II* [en línea]. Argentina: Greenpeace. [Fecha de consulta: 20 Abril 2016]

Disponible desde Internet:

<http://www.greenpeace.org/argentina/es/informes/Cueros-Toxicos-2/>

- FLORIDO, José. Procedimiento para la obtención de microfibras de queratina a partir de residuos ganaderos. España, A61K8/98C6. 4 de Marzo de 2010. App. P200502083, 7p.

- PROTEÍNAS por García T. México: El Pequeño Larousse Ilustrado, 2010.1824p

- JORNADAS de Investigación, Transferencia y Extensión de la Facultad de Ingeniería (3º: 2015: La Plata, Argentina). Desarrollo de productos a base de queratina a partir de residuos de la industria avícola.

La Plata, Argentina: Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos, 2015. 503 p.

- JORDAN Núñez, Mario. Obtención de colágeno por hidrolisis alcalina enzimática del residuo de “Wet blue” en el proceso de curtación. Tesis (Ingeniero en Biotecnología Ambiental). Riobamba, Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 2011. 108p.

- KANE, Josephw y STERMEIN, Marton. Física. 2ª. ed. USA: Reverte, 2007. 762p.

ISBN: 978842914318

- LOPEZ García, Mercedes. Creación de Parque Industrial mejoraría procesos de 85 curtiembres. En: Cámara de comercio de la Liberad [fecha de consulta: 21 de Abril 2016]

Disponible en:

[http://camaratra.org.pe/web.pag/camaratra/web1.5/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5854:creacion-de-parque-industrial-mejoraria](http://camaratra.org.pe/web.pag/camaratra/web1.5/index.php?option=com_content&view=article&id=5854:creacion-de-parque-industrial-mejoraria)

- Oficina española de patentes y marcas. Composiciones estables de sulfuros, usos y un procedimiento para su preparación. España., (Es.2-105-642-T3), 16 de Octubre 1996, App. 2 105 642. 11p

- PERALTA, Carlos, RIVERA, Neify y GUALDRON Lucila. Extracción de colágeno en medio ácido-básico a partir de los cascotes de bovinos. *Revista Épsilon* [en línea]. Enero- junio 2012, n°18. [Fecha de consulta: Abril 2016].

Disponible en: <http://oaji.net/articles/2015/2065-1432506825.pdf>

ISSN 1692-1259

- PLUMAS de pollo de queratina: la extracción, la caracterización y la obtención de películas por Moore Geovana [et al.]. *Ciencia y Tecnología de Alimentos* [en línea]. Junio 2006, vol.6 n°2 [fecha de consulta: Mayo 2016].

Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v26n2/30192.pdf>

ISSN 1678-457X

- PRACTICAS DE QUIMICA ORGANICA por Molina Buendía [et al.]. Murcia: 2007. 58 p. [fecha de consulta: 1 de Junio 20016].

Disponible en:

<https://books.google.com.pe/books?id=WsQ7ahmtk4C&pg=PA15&dq=que+es+extracci%C3%B3n+en+quimica&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwjPrtqYsKDNAhXFMx4KHbt9BAgQ6AEIjAB#v=onepage&q=que%20es%20ISBN:847684185>

- RANGEL Robles, Evelyn. Extracción de Queratina del cabello por medio de una hidrolisis ácida. Tesis (Ingeniero Industrial). México, México D.F: Instituto Politécnico Nacional ,2013. 62p

- RIÑO, Néstor. Fundamentos de Química Analítica. Análisis cuantitativo. Colombia: Universidad de Caldas, 2007. 276p. [fecha de consulta: 16 de Abril 20016].

Disponible en:

<https://books.google.com.pe/books?id=CfxqMXYfu7wC&pg=PA19&dq=que+es+concentracion+en+quimica&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwi41ISBN:9789588319001>

- REY DE CASTRO Rosas, Cristina. Recuperación de cromo (III) de efluentes de curtido para control ambiental y optimización del proceso productivo. Tesis (Licenciado en Química). Lima, Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú, 2013. 86p

- ROMÁN, Cano L. Queratina, la proteína protectora. *Revista Química Pablo de Olavide* [en línea]. Junio 2012, n°6. [Fecha de consulta: Abril 2016].

Disponible en:

[https://www.upo.es/moleqla/export/sites/moleqla/documentos/Numero\\_6.pdf](https://www.upo.es/moleqla/export/sites/moleqla/documentos/Numero_6.pdf)ISSN 2173-0903

- SALAZAR Cedillo, Marcela. Determinación del método para la obtención de queratina cosmética a partir de plumas gallináceas. Tesis (Químico Farmacéutico). Quito, Ecuador: Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas. 2013. 79p.

- SERRANO Gaona, Jenifer. Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia

(*Oreochromis sp*) y cachama (*Piaractus brachypomus*). Tesis (Magister en Ingeniería Química). Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia, 2011. 82p.

- SIERRA Hernández, Martín. Efecto de la inclusión de hidrolizados de plumas sobre la performance de cerdos en engorde facultad de agronomía. Tesis (Ingeniero Agrónomo).Montevideo, Uruguay: Universidad de la Republica, 2011. 33p.

- Wilkinson y Moore. Cosmetología de Harry [en línea]. Madrid: Diaz de Santos, 1990 [fecha de consulta: Abril 2016].

ISBN: 84871189385

Disponible en:

[https://books.google.com.pe/books?id=fnQ9mGMH15oC&redir\\_esc](https://books.google.com.pe/books?id=fnQ9mGMH15oC&redir_esc)

- WRZESNIWSKA-TOSIK, k. y ADAMIEK, J. Biocomposites with a content of keratin. Fibres and textiles in Eastern Europe. [en línea]. Junio 2007, Vol.1 n°. 60. [fecha de consulta: Mayo 2016].

Disponible en: <http://www.fibtex.lodz.pl/article1096.html>

ISSN: 1230- 36666

## ANEXOS

### REPARACIÓN DE HIDROXIDO DE SODIO (NaOH)

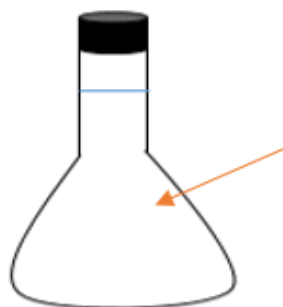
➤ NaOH 1N = 1M

$$M = \frac{\# \text{ mol}}{V(l)}$$

$$(1N)(1L) = \# \text{ mol}$$

$$1 = \# \text{ mol} = \frac{\text{masa (gr)}}{PM} = \frac{\text{gr NaOH}}{40 \text{ gr/mol}}$$

$$40 \text{ gr} = \text{gr NaOH}$$



1 Litro de agua destilada

+

40 gramos de NaOH

➤ Preparación de 500 mL de NaOH a 0.1 N

$$1N (V) = (0.1 N) (500 \text{ ml})$$
$$V = 50 \text{ ml}$$

➤ Preparación de 500mL de NaOH a 0.3 N

$$1N (V) = (0.3 N) (500 \text{ ml})$$
$$V = 150 \text{ ml}$$

➤ Preparación de 500 mL de NaOH a 0.2 N

$$1N (V) = (0.2 N) (500 \text{ ml})$$
$$V = 100 \text{ ml}$$

➤ Preparación de 500 mL de NaOH a 0.4 N

$$1N (V) = (0.4 N) (500 \text{ ml})$$
$$V = 200 \text{ ml}$$

## REPARACION Y ESTANDARIZACION DE SOLUCIONES DE HCl 0.1000 N – NaOH 0.100 N

### I. FUNDAMENTO TEORICO

Para recuperar soluciones de HCl 0.1 N se diluyen ácidos de mayor concentración, según la ley de dilución. El HCl concentrado tiene 37% de pureza en peso, densidad = 1,190 g/mL y el peso molecular de HCl es 36,46; según estos datos el HCl se usa generalmente como patrón primario al  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  usando como indicador anaranjado de metidlo. Un patrón primario es compuesto químicamente puro y estable que reacciona estequiometricamente con el soluto de una solución.

Para preparar soluciones de NaOH 0.1 N se usa soluciones de mayor concentración o NaOH en pellets, y para su valoración podemos usar como patrón primario al biftalato de potasio ( $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ ), en presencia del indicador de fenolftaleína.

Es suficiente que una de las dos soluciones (HCl o NaOH) se valore con su patrón primario respectivo para valorar la otra usando el número de equivalentes de ambos.

### II. REACTIVOS

1. HCl concentrado (37% de pureza) densidad 1.19g/mL  $\bar{M}=36,46$
2. NaOH en pellets
3. Carbonato de sodio  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (G.R)
4. Biftalato de potasio  $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$  (G.R)
5. Indicador anaranjado de metilo (1g/ L alcohol 50°)
6. Indicador de fenolftaleína (1g/L alcohol 50°)

### III. PROCEDIMIENTO

#### a. PREPARACION DE HCl 0.1000 N

Se calcula el volumen de HCl concentrado (12N) necesario para la preparación de un volumen determinado de una solución aproximadamente 0.1 N y luego se lleva a enrase con agua destilada del volumen determinado.

Ejemplo: Preparar 500 mL de HCl 0.1 N ¿Cuántos mL de HCl concentrado (12N) se necesitara?

$$N_1 * V_1 = N_2 * V_2$$

$$0.1 * 500 = 12 * V_2$$

$$V_2 = 4,2 \text{ mL}$$

Por lo tanto para preparar 500 mL de HCl 0.1N se debe colocar 4.2 mL de HCl concentrado en una fiola de 500 mL y se le afora con agua destilada.

- ESTANDARIZACION DE HCl 0.100 N

Para estandarizar la solución HCl se usa patrón primario al  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ; teóricamente en la estandarización se quiere gastar 40 mL para HCl teórico 0.100 N. El volumen 40 se escogido al azar, pero debe cumplir la condición que el peso teórico calculado de patrón primario (en este caso  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) debe ser mayor que 0.100 gramos.

Peso miliequivalente  $\text{Na}_2\text{CO}_3 = \text{Peso molecular}/(1000*i) = 106.0/2000 = 0.5300\text{g}$

$$W_{\text{Na}_2\text{CO}_3} = N * v * P \text{ mequiv } \text{Na}_2\text{CO}_3 = 0.1000 * 40 * 0.05300 = 0.2120\text{g}$$

Entonces:

1. Pesar con cuatro cifras significativas entre 0,20 y 0,22g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  en una balanza analítica y ponerlo en un Erlenmeyer.
2. Agregar aproximadamente 50 mL de agua destilada (puede usar probeta o el mismo Erlenmeyer).
3. Agregar 3 gotas de anaranjado de metilo.
4. Titular con HCl hasta el cambio de color amarillo canario hasta amarillo anaranjado salmón,
5. Calcular la normalidad con 4 cifras decimales, según formula  $F_1$ .

$$N_{\text{HCl}} = \frac{W}{(P_{\text{meqNa}_2\text{CO}_3}) * \text{mL gastados HCl}}$$

Donde:

$W = \text{g Na}_2\text{CO}_3$  con cuatro cifras decimales

$P_{\text{meq Na}_2\text{CO}_3} = \text{peso miliequivalente de Na}_2\text{CO}_3 = 0.05300$

- Cálculos

Se pesó 0.2088 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$

$$N_{\text{HCl}} = \frac{0.2088}{(0.053) * 31.85}$$

$$N_{\text{HCl}} = 0.1236$$

Se pesó 0.2428 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$

$$N_{\text{HCl}} = \frac{0.2428}{(0.053) * 36.6}$$

$$N_{\text{HCl}} = 0.1252$$

Se pesó 0.2530 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$

$$N_{\text{HCl}} = \frac{0.2530}{(0.053) * 38.5}$$

$$N_{\text{HCl}} = 0.1240$$

$$\bar{X} N_{\text{HCl}} = 0.1255$$

- PREPARACION DE NaOH 0.1000 N

Para estandarizar la solución de NaOH se usa patrón primario  $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ ; teóricamente en la estandarización se quiere gastar 25 mL para un NaOH teórico 0.1000 N. El volumen 25 se escogió al azar, pero debe cumplir la condición que el peso teórico calculado de patrón primario (en este caso  $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ ) debe ser mayor que 0.100 gramos

$\text{Pesomiliequivalente KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4 = \text{peso molecular} / (1000 * i) = 204.23 / 100 = 0.20423 \text{g}$

$W_{\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4} = N * v * P_{\text{mequiv KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4} = 0.1000 * 25 * 0.20423 = 0.5106 \text{g}$



Entonces:

1. Pesar en una balanza analítica con cuatro cifras significativas entre 0.50 y 0.52 g de  $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ .
2. Agregar aproximadamente 50 mL de agua destilada (puede usar probeta o el mismo Erlenmeyer).
3. Agregar 3 gotas de fenolftaleína.
4. Titular de incoloro hasta que se vuelva rosada.
5. Calcular la normalidad según fórmula F2.

$$N_{\text{NaOH}} = \frac{W}{(\text{PmeqKHC}_8\text{H}_4\text{O}_4) * \text{mL gastados NaOH}}$$

Donde:

W = g  $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$  con cuatro cifras decimales

Pmeq  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  = peso miliequivalente de  $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$  = 0.20423

- Cálculos

Se pesó 0.5464 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$

$$N_{\text{NaOH}} = \frac{0.5464}{(0.20423) * 27.1}$$

$$N_{\text{HCl}} = 0.09871$$

Se pesó 0.5615 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$

$$N_{\text{HCl}} = \frac{0.5615}{(0.20423) * 37.33}$$

$$N_{\text{HCl}} = 0.1006$$

$$\bar{X} N_{\text{NaOH}} = 0.0997$$

## DETERMINACION DEL NITROGENO TOTAL – METODO MACRO – KJELDAHL

### I. FUNDAMENTO TEORICO

El método de Kjeldahl se ha convertido en el método patrón para determinación de Nitrógeno en todo tipo de muestra.

El nitrógeno se presenta en gran variedad de sustancias orgánicas importantes incluidas proteínas, péptidos, drogas sintéticas y fertilizantes. El método se basa en la oxidación en caliente de la muestra orgánica con  $H_2SO_4$  cc, para transformar el nitrógeno orgánico en sulfato de amoníaco, el cual es descompuesto posteriormente con una base fuerte siendo entonces liberado el  $NH_3$  a través de una destilación. El  $NH_3$  ahora es capturado haciéndolo reaccionar en una cantidad medida de ácido valorando, para finalmente titular el remanente de este ácido que no fue consumido por el  $NH_3$ , lo cual se conoce como retrotiluación. Generalmente se retrovalora con NaOH estandarizado.

### II. MATERIALES Y REACTIVOS

- ✓ Ácido Sulfúrico cc
- ✓ Solución de NaOH al 50 %
- ✓ Solución Stándar de HCl 0,100N
- ✓ Solución Stándar de NaOH 0,100 N
- ✓ Mezcla catalítica: Mezclan íntimamente 400g de  $Na_2SO_4$ , 16g de  $CuSO_4$
- ✓ Indicador de proteínas (Rojo enmascarado): Disolver 0.16 g de rojo de metilo y 0.083 de verde de bromocresol en 100 mL de alcohol al 50 %

### III. PROCEDIMIENTO

1. Pesar una muestra entre 0.25-2.5 g según el contenido de N y colocar en balón Kjeldahl de 500 mL.
2. Añadir 8 g de mezcla catalítica y 25 mL de  $H_2SO_4$  cc. Mezclar por agitación
3. Realizar la digestión en caliente dentro de campana para gases.

4. Calentar gradualmente hasta que el líquido hierva moderadamente. Asegurar la reacción total del material.
5. Una vez aclarado el líquido, se continúa calentando durante 1 hora. Dejar enfriar a temperatura ambiente.
6. Diluir la mezcla con 200 mL de agua y trasvasar a un balón de destilación de 1 L.
7. Lavar el balón de Kjeldahl con pequeños volúmenes de agua destilada hacia el balón de destilación, hasta completar un volumen aproximado de 400 mL. Adicionar trozos pequeños de perlas de vidrio.
8. Adicionar 5 gotas de indicador de fenolftaleína, y conectar al refrigerante.
9. Depositar 50 mL ( $V_1$ ) de una solución estándar de HCl 0,100N ( $N_1$ ) y 5 gotas del indicador de proteínas en un frasco lavador de gases. Conectar a la salida del condensador.
10. Agregar al balón de destilación, (por la trampa con llave), 75 mL de NaOH al 50%. Cerrar todo el circuito. En realidad la cantidad de de NaOH es hasta que cambie el color del indicador de fenolftaleína.
11. Tratar de uniformizar con cuidado la mezcla dentro del balón.
12. Destilar hasta obtener un recuperado dentro del frasco lavador de gases de aproximadamente 120 mL.
13. Abrir la llave de la trampa de entrada del NaOH, (es crucial en el éxito realizar primero este paso).
14. Lavar el interior del condensador con pequeños volúmenes de agua destilada hacia el lavador de gases.
15. Trasvasar todo el contenido del frasco lavador a un matraz Erlenmeyer de 500 mL.
16. Adicionar 3 gotas del indicador de proteínas y titular con la solución estándar de NaOH 0,1000 N, el volumen gastado se denominara ( $V_2$ )
17. Anotar el gasto y realizar los cálculos para determinar el 1% nitrógeno y luego aplicar el factor adecuado para transformarlo en % proteína.

#### IV. CALCULOS

Aplicar la relación si no se usa blanco

$$\%N = \frac{(N_1 * V_1 - N_2 * V_2) * 0.014 * 100}{W_m}$$

Donde:

N<sub>1</sub>= normalidad de la solución estándar de HCl 0.1000 N

N<sub>2</sub>=normalidad de la solución estándar de NaOH 0.100 N

V<sub>1</sub>=mL utilizados de la solución estándar de HCl 0.100 N

V<sub>2</sub>=mL gastados de la solución estándar de NaOH 0.100 N

Nota: Cuando no se conoce el factor para un alimento se usa el factor universal= 6.25.

**Tabla N° 10:** Resultados de las tres repeticiones para la extracción de alfa queratina del residuo pelo de INVERSIONES HAROD S.A.C.

| Concentración de [NaOH] | Temperatura  |              |              |              |
|-------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                         | 60°C         | 70°C         | 80 °C        | 90°C         |
| 0.1 N                   | 32.31        | 54.41        | 46.71        | 24.75        |
|                         | 32.2         | 54.31        | 46.77        | 24.79        |
|                         | 32.23        | 54.27        | 46.76        | 24.89        |
|                         | <b>32.25</b> | <b>54.33</b> | <b>46.75</b> | <b>24.81</b> |
| 0.2 N                   | 34.53        | 36.34        | 33.09        | 21.65        |
|                         | 34.78        | 36.49        | 33.13        | 21.71        |
|                         | 34.8         | 36.76        | 33.23        | 22.04        |
|                         | <b>34.70</b> | <b>36.53</b> | <b>33.15</b> | <b>21.8</b>  |
| 0.3 N                   | 37.18        | 38.3         | 35.6         | 20.57        |
|                         | 37.23        | 38.17        | 35.7         | 20.43        |
|                         | 36.74        | 38.76        | 35.47        | 19.9         |
|                         | <b>37.05</b> | <b>38.41</b> | <b>35.59</b> | <b>20.3</b>  |
| 0.4 N                   | 30.03        | 31.67        | 29.06        | 18.54        |
|                         | 30.05        | 31.23        | 29.5         | 18.49        |
|                         | 30.04        | 31           | 30.6         | 18.77        |
|                         | <b>30.04</b> | <b>31.3</b>  | <b>29.72</b> | <b>18.6</b>  |

Fuente: Propia- Laboratorio Químico Universidad Cesar Vallejo

**Tabla N° 11: Estadística de la regresión**

| <b>Estadísticas de la regresión</b>         |             |
|---|-------------|
| Coeficiente de correlación múltiple         | 0.663178031 |
| Coeficiente de determinación R <sup>2</sup> | 0.439805101 |
| R <sup>2</sup> ajustado                     | 0.353621271 |
| Error típico                                | 7.471583867 |
| Observaciones                               | 16          |

Fuente: Propia – Excel (2013)

**Tabla N°12: Valor de los coeficientes**

|              | <b>Coeficientes</b> | <b>Error típico</b> | <b>Estadístico t</b> | <b>Probabilidad</b> | <b>Inferior 95%</b> | <b>Superior 95%</b> | <b>Inferior 95.0%</b> | <b>Superior 95.0%</b> |
|--------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|
| Intercepción | 71.778125           | 13.3394454          | 5.38089276           | 0.00012517          | 42.96000535         | 100.5962446         | 42.96001              | 100.5962446           |
| Normalidad   | -35.0675            | 16.7069694          | -2.09897433          | 0.05591659          | -71.16071309        | 1.025713093         | -71.1607              | 1.025713093           |
| Temperatura  | -0.402375           | 0.16706969          | -2.40842603          | 0.03158276          | -0.763307131        | -0.04144287         | -0.76331              | -0.041442869          |

Fuente: Propia – Excel (2013)

$$\% \text{ Extracción} = 71.778125 - 35.0675 * (\text{Normalidad}) - 0.402375 * (\text{Temperatura en } ^\circ\text{C})$$

**Imagen N° 1:** Ecuación obtenida de la regresión lineal de la extracción de  $\alpha$  queratina

Fuente: Propia – Excel (2013)

**Tabla N°13:** Valor de los coeficientes

| <b>Observación</b> | <b>Pronóstico<br/>para %</b> | <b>Residuos</b> |
|--------------------|------------------------------|-----------------|
| 1                  | 44.128875                    | -11.878875      |
| 2                  | 40.622125                    | -5.922125       |
| 3                  | 37.115375                    | -0.065375       |
| 4                  | 33.608625                    | -3.568625       |
| 5                  | 40.105125                    | 14.224875       |
| 6                  | 36.598375                    | -0.068375       |
| 7                  | 33.091625                    | 5.318375        |
| 8                  | 29.584875                    | 1.715125        |
| 9                  | 36.081375                    | 10.668625       |
| 10                 | 32.574625                    | 0.575375        |
| 11                 | 29.067875                    | 6.522125        |
| 12                 | 25.561125                    | 4.158875        |
| 13                 | 32.057625                    | -7.247625       |
| 14                 | 28.550875                    | -6.750875       |
| 15                 | 25.044125                    | -4.744125       |
| 16                 | 21.537375                    | -2.937375       |

Fuente: Propia – Excel (2013)



**Imagen N° 2:** Pesaje del hidróxido de sodio  
Fuente: Propia



**Imagen N° 3:** Preparación de solución madre  
Fuente: Propia





**Imagen Nº 4:** Dilución de soluciones  
Fuente: Propia



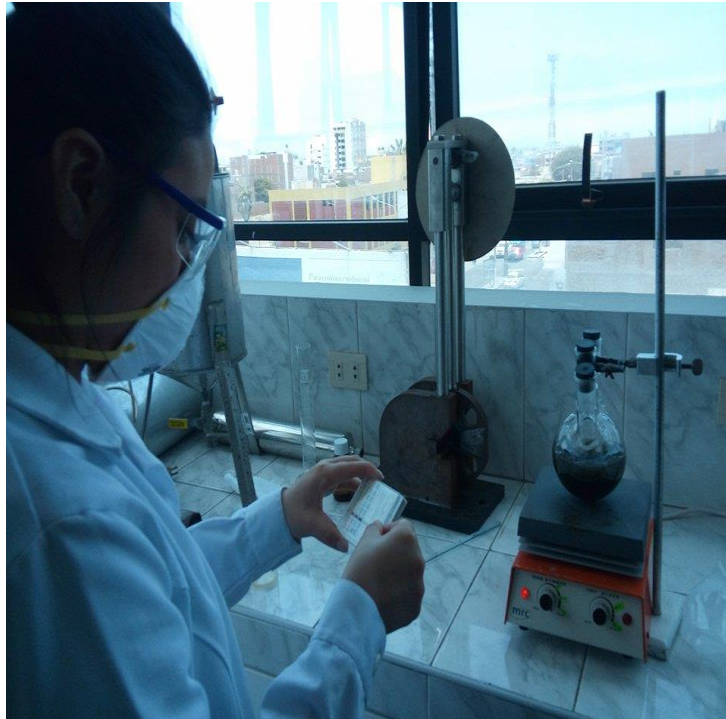
**Imagen Nº 5:** Preparación de 0.1 N  
Fuente: Propia



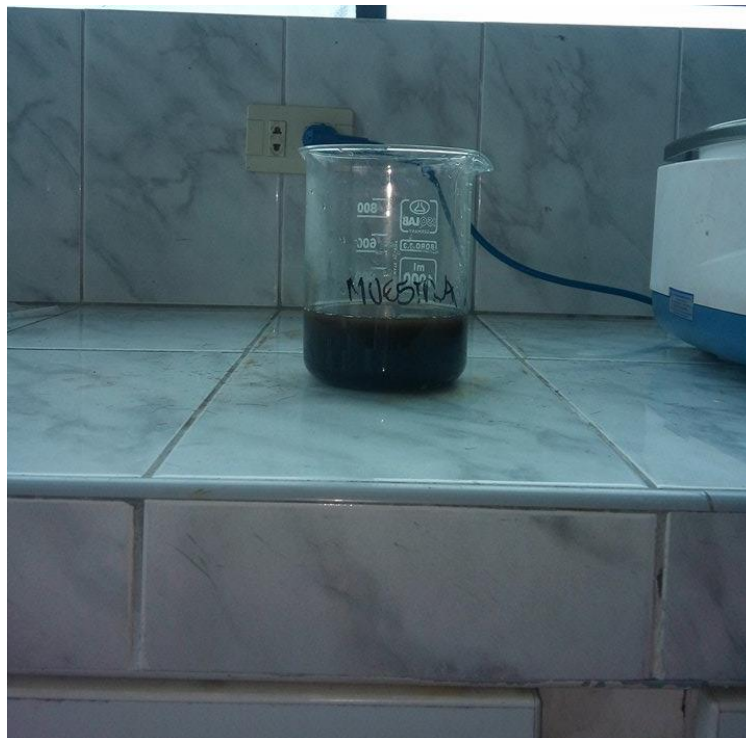
**Imagen Nº 6:** Concentración de 0.1, 0.2, 0.3 y 0.4 N  
Fuente: Propia



**Imagen Nº 7:** Hidrolisis básica  
Fuente: Propia



**Imagen N° 8:** Hidrolisis básica del residuo pelo verificación de pH.  
Fuente: Propia



**Imagen N° 9:**  $\alpha$  queratina obtenida después de la hidrolisis básica  
Fuente: Propia

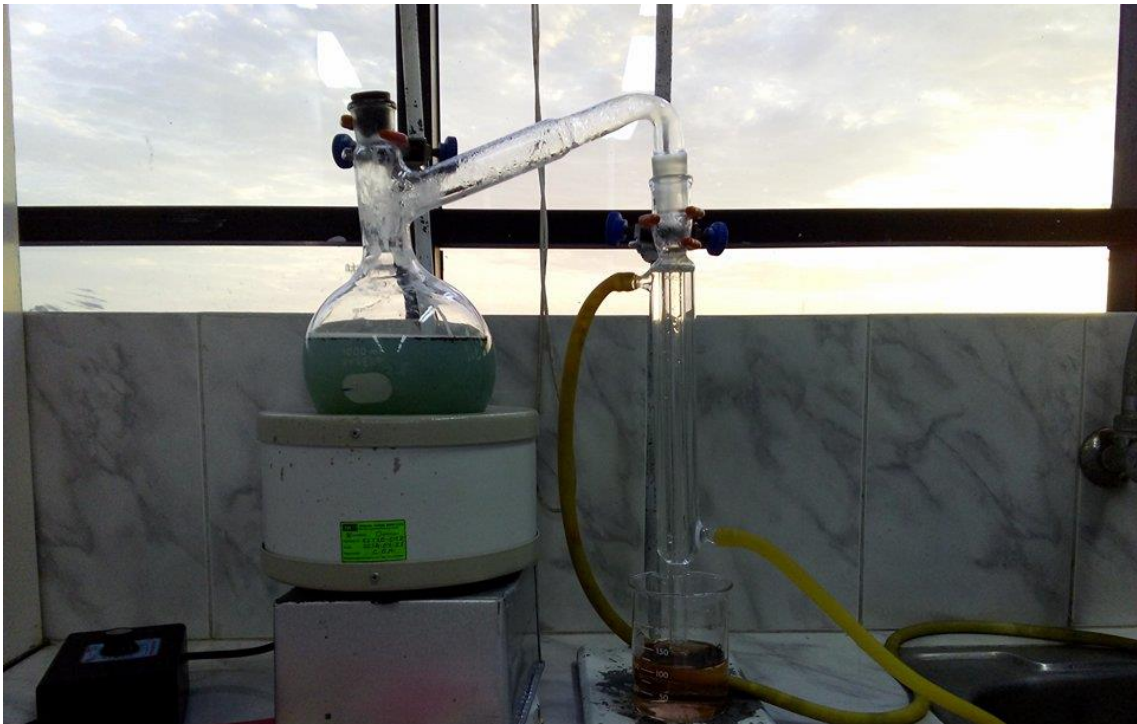




**Imagen N° 10:** Centrifugación de la  $\alpha$  queratina  
Fuente: Propia



**Imagen N° 11:** Se observa color marrón lo cual indica presencia de  $\alpha$  queratina  
Fuente: Propia



**Imagen Nº 12:** Metodo de KJELDAH para analizar nitrógeno en  $\alpha$  queratina  
Fuente: Propia