Artículo corto

Determinación cualitativa de compuestos fenólicos biológicos mediante el reactivo de Millon

Qualitative determination of biological phenolic compounds using Millon's reagent

Roger Alberto Rabelo Florez[1], Edhisson Navarro Guerrero[2], Milena Cuellar Meneses[3], Alexandra Rosmery Sanjuan Arias[4], Vicky Consuelo Caycedo Rodriguez[5], Yulitza Yaileth Caldozo Rosado[6], Ingrith Gisela Sarabia Cardenas[7], Katya Gicela García Pérez[8], Estefany Lorena Rosado Sánchez[9], Vanessa Martínez Díaz[10], Dana Vanessa Amaris Meza[11], Naren David Castañeda Lobo[12], Maria José Lora Bertel[13], Rosa Delis Torres Romero[14], Candy Margarita Alvarez Rodriguez[15], Shirly Gutiérrez Beleño[16], Carolina Judith De La Cruz García[17], Yurley Patricia Guerrero Rodríguez[18], Yamilitza Araujo Calero[19], Danna Lamboglia Rodríguez[20], Yibelis Yacelis Carrillo Almeira[21], Katerine Escorcia Díaz[22], Valerin Paola Hincapie Tapia[23], Laura Liceth Caamaño Ballesteros[24], Cristian David Rodriguez Leiva[25], Tatiana Marcela Mendoza Salas[26], Sofía Michel Lobo Pacheco[27]

Recibido: 27 de septiembre de 2026
Aceptado: 12 de noviembre de 2026

Resumen

Introducción. La tirosina es un aminoácido aromático no esencial que participa como constituyente principal en la síntesis de proteínas. **Objetivo.** La presente investigación tuvo como propósito identificar la presencia de tirosina en diferentes muestras biológicas. **Metodología.** Se desarrolló mediante un enfoque cualitativo con carácter experimental, ya que se buscó identificar la presencia de compuestos fenólicos en diferentes muestras biológicas a partir de la observación de cambios de color generados por reacciones químicas específicas. **Resultado.** Se observó que en los tubos de ensayo con los reactivos y muestras biológicas no se logró la identificación de tirosina. **Discusión.** En los tubos de ensayo, se observó resultados negativos (color amarillo) en los que se esperaba que diera positivo (color rojo o rosado). Esto se explica porque no se agitó correctamente los tubos de ensayo al agregar el reactivo de Millon. **Conclusión.** El objetivo del laboratorio no se logró. Puesto que la prueba cualitativa de Millon no permitió determinar tirosina en muestras biológicas.

Palabras clave: Prueba de Millon; Tirosina; Proteína; Anillos aromáticos.

Abstract

Introduction. Tyrosine is a non-essential aromatic amino acid that acts as a major constituent in protein synthesis. **Objective.** The purpose of this research was to identify the presence of tyrosine in different biological samples. **Methodology.** A qualitative, experimental approach was used to identify phenolic compounds in various biological samples by observing color changes

resulting from specific chemical reactions. **Results.** Tyrosine was not successfully identified in the test tubes containing the reagents and biological samples. **Discussion.** Negative results (yellow color) were observed in test tubes expected to test positive (red or pink color). This occurred because the test tubes were not properly shaken after adding Millon's reagent. **Conclusion.** The laboratory objective was not achieved, as the qualitative Millon's test did not allow for the detection of tyrosine in biological simples.

Keywords: Millon's test; Tyrosine; Protein; Aromatic rings.

1. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA), Grupo de investigación TECNNOSALUD. Colombia.
Correo electrónico: roger.rabelo@unad.edu.co
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5247-8888

2. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA), Grupo de investigación TECNNOSALUD. Colombia.
Correo electrónico: edhisson.navarro@unad.edu.co
ORCID: https://orcid.org/0009-0005-9443-4188

3. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA), Grupo de investigación TECNNOSALUD. Colombia.
Correo electrónico: milena.cuellar@unad.edu.co
ORCID: https://orcid.org/0009-0007-7456-9581

4. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA), Grupo de investigación TECNNOSALUD. Colombia.
Correo electrónico: alexandra.sanjuan@unad.edu.co
ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6404-0958

5. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA), Grupo de investigación TECNNOSALUD. Colombia.
Correo electrónico: vicky.caycedo@unad.edu.co
ORCID: https://orcid.org/0009-0002-6621-2690

6. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: caldozoyulitza@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0000-8798-0934

7. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: yiselac46@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0001-6749-5576

8. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: gikape628@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0007-2882-7834

9. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: rosadoestefany.1125@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0003-2701-3282

10. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: martinezdiasvanessa@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0001-8509-8718

11. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: danaamariz26@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0007-4624-7083

12. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: lobonarendavid@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0004-2618-2460

13. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: mmajo1999-06@hotmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0007-5774-0391

14. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: linda_182411@hotmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0004-4477-7599

15. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: cmalvarezd@unadvirtual.edu.co
ORCID: https://orcid.org/0009-0005-5826-0352

16. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: gutierrezbelenoshirly@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0003-8639-3553

17. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: jdelacruzga@unadvirtual.edu.co
ORCID: https://orcid.org/0009-0005-2299-2631

18. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: yurleyguerrero3@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0009-7803-4714

19. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: yyaraujoc@unadvirtual.edu.co
ORCID: https://orcid.org/0009-0002-8289-9146

20. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: dplambogliar@unadvirtual.edu.co
ORCID: https://orcid.org/0009-0009-1045-902X

21. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: yycarrilloa@unadvirtual.edu.co
ORCID: https://orcid.org/0009-0006-2330-7293

22. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: katherineescorciadiaz@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0000-6056-0657

23. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: valerinpaolahincapietapia@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0008-8889-9570

24. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: llcaamanob@unadvirtual.edu.co
ORCID: https://orcid.org/0009-0009-2032-4508

25. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: cristiandavidrodriguez166@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0003-8559-6578

26. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: tata91menta@hotmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0007-8310-8744

27. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: smlobop@unadvirtual.edu.co
ORCID: https://orcid.org/0009-0008-7520-2105

Introducción

Los laboratorios de la Escuela de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD) constituyen espacios fundamentales para el fortalecimiento de las competencias académicas y científicas, lo cual también se puede considerar una oportunidad para producir productos tipología MinCiencias, al permitir la articulación entre los conocimientos teóricos y su aplicación mediante procedimientos experimentales. Estos escenarios favorecen el desarrollo de habilidades relacionadas con la observación, el análisis, la interpretación de resultados y la resolución de situaciones propias del área de las ciencias de la salud. Asimismo, las

prácticas de laboratorio contribuyen al fortalecimiento de la investigación formativa, promoviendo una actitud orientada hacia la innovación, la generación de conocimiento y la identificación de oportunidades de mejora en los procesos académicos y científicos.

En ese orden de ideas, el resultado del trabajo debe superar el cansancio y el esfuerzo que este representa, esto debe mostrar un avance en la tarea encomendada, reflejarse en una mejora en los indicadores, en impulsar las metas y los resultados planeados y en alcanzar los objetivos en el menor tiempo y con los menores recursos posibles, esto es lo que se llama efectividad, o es decir, la integración de un trabajo eficaz y eficiente (1).

Dando orientación a lo anterior, se procede a redactar un artículo científico con los datos obtenidos del laboratorio de bioquímica de la Escuela de Ciencias de la Salud de la UNAD. Para este caso se trata de la prueba de Millon en muestras biológicas.

La tirosina es un aminoácido aromático no esencial que participa como constituyente principal en la síntesis de proteínas (2). La tirosina es el único aminoácido fenólico común presente en las proteínas (3) Las proteínas son biomoléculas constituidas por una o más cadenas de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos (4), se encuentran en carne, leche, huevos, cereales, legumbres y oleaginosas (5).

La carne de res es el músculo esquelético y los tejidos conectivos relacionados, originarios de animales de granja que han generado cambios fisicoquímicos post mórtem (6). En la carne fresca, la concentración de proteína total varía normalmente entre el 19% y el 22% según la especie (7,8).

En cuanto a la leche, es una secreción biológica líquida de la glándula mamaria de bovinos sanos (9), la concentración de proteínas de la leche constituye entre el 3,0% y el 3,5% de su composición (10), la principal proteína es la caseína (11).

La clara de huevo, también denominada albumen, es la estructura incolora y gelatinosa que circunda la yema; es una combinación biológica nutrida en proteínas y péptidos, no es un compuesto único (12), está constituida principalmente por la proteína ovoalbúmina (13), la concentración proteica varía entre un 10,6% a 11% de proteína bruta, según la especie de ave, la edad y el manejo dietético de las ponedoras (14), del total de la concentración proteica la albúmina representa aproximadamente el 54,0% (15).

Revisando la harina de trigo, se define como el polvo resultante de la limpieza, molienda y tamizado de los granos de trigo (*Triticum aestivum*) (16), está constituida por almidón (entre el 68% al 78%), proteínas formadoras de red viscoelástica (varía entre el 10% y el 18%), agua, lípidos y minerales (17).

La reacción de Millon es una prueba analítica e histoquímica clásico cuyo fundamento radica en la mercuración y nitrosación del anillo fenólico de la tirosina en proteínas (3,18), esta prueba detecta compuestos fenólicos, específicamente el aminoácido tirosina (19). El reactivo en mención, está constituido por solución de mercurio metálico disuelto en ácido nítrico fuerte, que contiene trazas esenciales de ácido nitroso (20,21). La presente investigación tuvo como propósito identificar la presencia de tirosina en diferentes muestras biológicas.

Materiales y Metodología

El presente trabajo se desarrolló mediante un enfoque cualitativo con carácter experimental, ya que se buscó identificar la presencia de compuestos fenólicos en diferentes muestras biológicas a partir de la observación de cambios de color generados por reacciones químicas específicas. Se trabajó con un diseño experimental de tipo transversal, debido a que todas las muestras fueron analizadas en un solo momento durante la práctica de laboratorio, sin modificar variables externas.

La práctica de laboratorio se realizó con el propósito de observar la reacción del reactivo de Millon frente a diferentes muestras y reconocer aquellas que podían presentar compuestos con grupos fenólicos. Para realizar la experiencia se utilizaron muestras de extracto de carne, harina de trigo, leche, albúmina, y agua como control negativo. Además, se utilizó un tubo con tirosina como control positivo.

Materiales y reactivos

Para desarrollar la práctica se utilizó los siguientes materiales:

- Tubos de ensayo, gradilla.
- Pipetas
- Vasos de precipitado.
- Pinza para tubos.
- Plancha de calentamiento para baño María.

Las muestras y reactivos utilizados fueron:

- Extracto de carne: 1,5 mL.
- Harina de trigo: 1,5 mL.
- Leche: 1,5 mL.
- Agua: 1,5 mL.
- Albúmina: 1,5 mL.
- Tirosina: utilizada como muestra de referencia 1,5 mL.
- Reactivo de Millon 2 mL.

Procedimiento

Primero se organizó los tubos de ensayo y se rotuló de acuerdo con cada una de las muestras. Luego se colocó 1,5 mL de extracto de carne, harina de trigo, leche, agua, albúmina y tirosina en los respectivos tubos (ver figura 1).

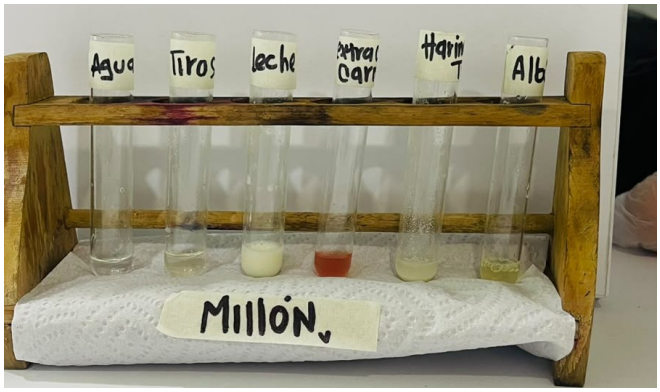


Figura 1. Muestras biológicas sin Millon

Después se vertió cuidadosamente el reactivo de Millon a las muestras (ver figura 2).

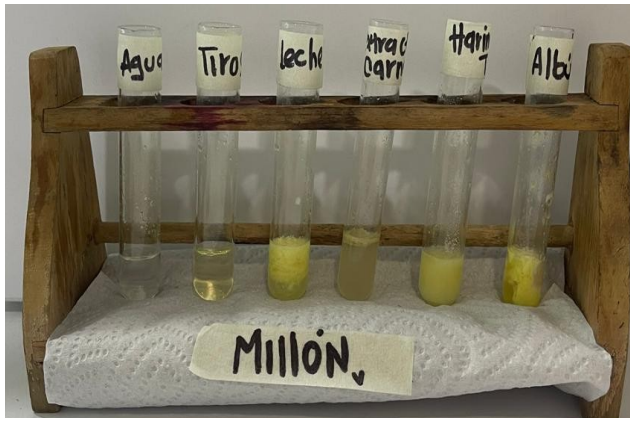


Figura 2. Muestras biológicas con Millon antes del calentamiento.

Posteriormente, se llevó los tubos al calentamiento mediante baño María hirviendo por 10 minutos teniendo precaución durante todo el proceso (ver figura 3).

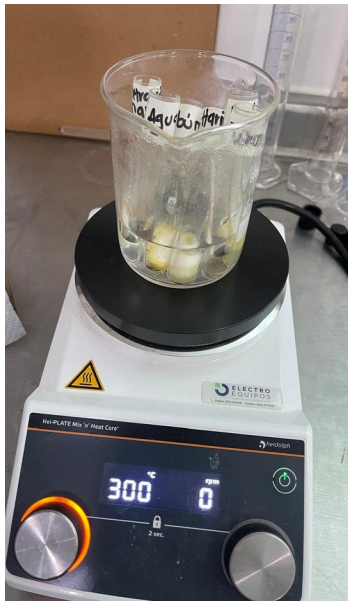


Figura 3. Tubos de ensayo con muestras biológicas con Millon en calentamiento.

Resultados

En la figura 4, se observó que todos los tubos dieron negativo. En los tubos de extracto de carne, albúmina, harina de trigo, tirosina y leche se esperaban que dieran una coloración roja o rosada pero no presentó esa coloración.

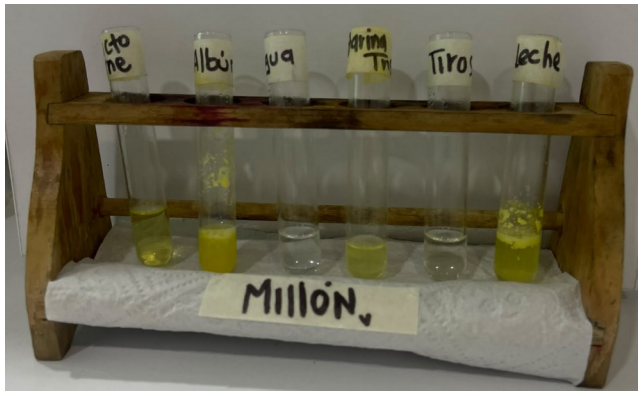


Figura 4. Reacción de Millon. De izquierda a derecha, el primer tubo que contiene extracto de carne (color amarillo), el segundo tubo que contiene albúmina de huevo (color amarillo turbio), el tercer tubo que contiene agua (incoloro) control negativo, el cuarto tubo que contiene harina de trigo (color amarillo), el quinto tubo que contiene tirosina (color amarillo muy leve) y el sexto tubo que contiene leche (color amarillo).

Discusión de resultados

En los tubos de ensayo, se observó resultados negativos (color amarillo) en los que se esperaba que diera positivo (color rojo o rosado). Lo anterior se explica de la siguiente manera: No se agitó correctamente los tubos de ensayo al agregar el reactivo de Millon. Este argumento se respalda en otras pruebas que necesitó agitarse y por eso dio negativo, como es el caso de una investigación en 2024, en las mediciones de tiroglobulina sérica fueron bajas a causa de no mezclarse adecuadamente (22), otro caso refieren directamente al desarrollo del color Millon y destacan que la medición del color depende del control de variables (23). La ausencia de agitación puede generar una mezcla deficiente y facilitar a un resultado negativo en el ensayo de Millon, pero la evidencia científica encontrada no confirma directamente esa relación. La combinación propicia el contacto uniforme entre la muestra y el reactivo de Millon. Si la mezcla es deficiente, la reacción podría ser incompleta o desigual y generar una coloración tenue que resulta difícil de ver, lo cual podría considerarse un falso negativo, sin embargo necesita ser verificada a través de experimentos para la reacción de Millon. Aunque pudo haber fallado otras variables; 1. las cantidades de las muestras biológicas no son las idóneas o 2. la cantidad de reactivo agregado no fue la adecuada.

Conclusiones

El objetivo del laboratorio no se logró. Puesto que la prueba cualitativa de Millon no permitió determinar tirosina en muestras biológicas. Apesar que posiblemente hubo un error humano al no mezclar adecuadamente los tubos de ensayo. No se comprobó que el desarrollo metodológico y el análisis de los resultados sean los óptimos, dado que la estructura de cada alícuota puede

distorsionar la reacción. En conclusión, en este ensayo no se evidenció la tirosina en muestras biológicas.



Figura 5. Foto del grupo de estudiantes y docente del laboratorio de Bioquímica en la Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA), UNAD - CEAD Valledupar.

Referencias

1. Leal Afanador JA. Trabajo inteligente productivo. Bogotá: Sello Editorial UNAD; 2023. doi: 10.22490/9789584975096
2. Shi K, Shi Y, Ji A. Recent advances in metabolic engineering for microbial production of L-tyrosine. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2026;42(1):38. doi: 10.1007/s11274-025-04776-y
3. Ramya S, Chandran M, King IJ, Jayakumararaj R, Loganathan T, Pandiarajan G, et al. Phytochemical Screening, GCMS and FTIR Profile of Bioactive Compounds in Solanum lycopersicum Wild Fruits collected from Palani Hill Ranges of the Western Ghats. Journal of Drug Delivery and Therapeutics. 2022;12(6):56-64. doi: 10.22270/jddt.v12i6.5665
4. Małecki J, Muszyński S, Sołowiej BG. Proteins in Food Systems—Bionanomaterials, Conventional and Unconventional Sources, Functional Properties, and Development Opportunities. Polymers. 2021;13(15):1-21. doi: 10.3390/polym13152506
5. Dolganyuk V, Sukhikh S, Kalashnikova O, Ivanova S, Kashirskikh E, Prosekov A, et al. Food proteins: Potential resources. Sustainability. 2023;15(7):5863. doi: 10.3390/su15075863
6. Shan K, Zhou G, Li C. Meat phenomics: A novel concern linking meat across the whole chain. Meat Science. 2025;229(109913):109913. doi: 10.1016/j.meatsci.2025.109913
7. Dai Y, Yi S, Lu Z, Pan XL, Li YX, Chen YY, et al. Mechanisms underlying the changes in interaction characteristics of beef sarcoplasmic, myofibrillar protein and their correlations induced by ovalbumin and ethanol addition. Food Chemistry: X. 2026;36(103905):103905. doi: 10.1016/j.fochx.2026.103905
8. Kulkarni VV, Girish PS, Barbuddhe SB, Naveena BM, Muthukumar M. Meat protein analysis. En: Analytical techniques in meat science. CRC Press; 2021. p. 8-21. doi: 10.1201/9781003230892-3
9. Mezzetti M, Passamonti MM, Dall'Asta M, Bertoni G, Trevisi E, Ajmone Marsan P. Emerging Parameters Justifying a Revised Quality Concept for Cow Milk. Foods (Basel, Switzerland). 2024;13(11). doi: 10.3390/foods13111650
10. Goulding DA, Fox PF, O'Mahony JA. Milk proteins: an overview. En: Milk proteins. Elsevier; 2020. p. 21-98. doi: 10.1016/b978-0-12-815251-5.00002-5

11. Zou Y, Chen Y, Meng Q, Wang Y, Zhang Y. Cow milk fatty acid and protein composition in different breeds and regions in China. Molecules (Basel, Switzerland). 2024;29(21):5142. doi: 10.3390/molecules29215142

12. Mannott I, Bosse R, Gibis M. Recent Advances in Egg White Biotechnology, Microbiology, and Quality. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2026;25(3):e70495. doi: 10.1111/1541-4337.70495

13. Tomczak A, Zielińska-Dawidziak M, Klimowicz P, Hejdysz M, Kaczmarek S, Siger A, et al. Modification of the protein amino acid content in hen eggs as a consequence of different concentrations of lupine and soy in feed. Molecules (Basel, Switzerland). 2024;29(16):3727. doi: 10.3390/molecules29163727

14. Samira M, El-Mokhtar DA, Noureddine M, Mustapha D, Mohammed Z, Mohammed B, et al. Egg quality from avian species: electrophoretic characterization of egg white proteins. Animal Production. 2021:34-43. doi: 10.20884/1.jap.2021.23.1.2

15. Li Z, Huang X, Tang Q, Ma M, Jin Y, Sheng L. Functional properties and extraction techniques of chicken egg white proteins. Foods (Basel, Switzerland). 2022;11(16):2434. doi: 10.3390/foods11162434

16. Remi VO, Esther OM. Characterization of phytochemical and nutritional composition of wheat flour (Triticum aestivum). GSC Advanced Research and Reviews. 2025;22(1):031-036. doi: 10.30574/gscarr.2025.22.1.0001

17. Dziki D, Krajewska A, Findura P. Particle size as an indicator of wheat flour quality: A review. Processes (Basel, Switzerland). 2024;12(11):2480. doi: 10.3390/pr12112480

18. Tamura Z, Iitaka Y, Kido Y. Mechanism of the Millon reaction. Bunseki Kagaku. 1966;15(10):1136-7. doi: 10.2116/bunsekikagaku.15.1136

19. Silvano F, Santos LH, Campos CE. Urinary tyrosine detection for cancer screening and metabolic disorder diagnosis: a comprehensive evaluation of a colorimetric method [Internet]. Zenodo; 2025. doi: 10.5281/ZENODO.17630234

20. Muñoz YLA, Tueros VJM. Efecto cicatrizante del gel elaborado con extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) en ratones albinos [tesis de pregrado en Internet]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2019. Disponible en: https://hdl.handle.net/20.500.11818/4540

21. Pedley E. A volumetric determination of barbituric acid derivatives. The Journal of Pharmacy and Pharmacology. 1950;2(1):39-44. doi: 10.1111/j.2042-7158.1950.tb12901.x

22. Bordas J, Philpot R, Elkins M, Nasr MR, Cao ZT. B-310 Freezing and thawing serum without mixing prior to analysis causes false low Thyroglobulin results. Clinical Chemistry. 2024;70(Supplement_1). doi: 10.1093/clinchem/hvae106.667

23. Rasch E, Swift H. Microphotometric analysis of the cytochemical Millon reaction. Journal of Histochemistry & Cytochemistry. 1960. doi: 10.1177/8.1.4