Artículo de investigación

Identificación cualitativa de proteínas en leche bovina y variaciones asociadas a factores nutricionales y ambientales

Qualitative identification of proteins in bovine milk and variations associated with nutritional and environmental factors

Roger Alberto Rabelo Florez[1], Edhisson Navarro Guerrero[2], Milena Cuellar Meneses[3], Alexandra Rosmery Sanjuan Arias[4], Vicky Consuelo Caycedo Rodriguez[5], Ferney Mauricio Maldonado Reatiga[6], Luisa Fernanda Santana Uribe[7], Cherlis Bernard Ramos[8], Wanda Yarceny Miranda Urdaneta[9], Obelis Barbosa Sanchez[10], Laura Sofía Melo Diaz[11], Gabriela Margarita Casas Narvaez[12], Elizabeth Ospino Guisao[13], Katherin Dayanis Dupperly Pacheco[14], Sharith Yulianna Madera Quintero[15], Martin Andres Molina de Armas[16], Lorena Patricia Rosenstiehl Sanchez[17], Ledis Alfaro Torres[18], Adrian Jose Inca Dagil[19], Paula Andrea Rojas Ospino[20], Alberto Jose Velilla Romero[21], Edilberto Segundo Sarmiento Sanchez[22], Maria Fernanda Isaza Plata[23]

Recibido: 23 de octubre de 2026
Aceptado: 12 de noviembre de 2026

Resumen

Introducción. Las proteínas son biomoléculas constituidas por cadenas lineales de aminoácidos que adoptan estructuras tridimensionales complejas y catalizan todas las reacciones celulares en los seres vivos. **Objetivo.** El presente trabajo tuvo como objetivo identificar la presencia de proteínas en 4 muestras diferentes de leche. **Metodología.** La presente investigación se realizó a través de un enfoque cualitativo con carácter experimental, ya que se indagó para determinar la presencia de proteínas en diferentes muestras de leche, teniendo como referencia el viraje de color producido por reacciones químicas específicas. **Resultado.** Todas las muestras dieron positivas para la presencia de proteínas, variando la intensidad del color en cada muestra. **Discusión.** Las condiciones nutricionales de los bovinos pueden influir en las características de la leche. Aspectos de la alimentación, el tipo de forraje y el manejo nutricional con los parámetros de calidad y producción de leche. Además, factores ambientales y productivos como la altitud, la región y las condiciones de manejo pueden contribuir a modificar sus propiedades fisicoquímicas. **Conclusión.** El propósito del laboratorio se cumplió. La prueba cualitativa de Biuret facilitó identificar proteínas en las muestras de leche. Además, se evidenció que la realización metodológica y el estudio de los resultados fueron óptimos. En conclusión, este ensayo se estructura como un ensayo previo clave para el análisis cualitativo de proteínas.

Palabras clave: Leche; Proteínas; Prueba de Biuret; Caseína.

Abstract

Introduction. Proteins are biomolecules made up of linear chains of amino acids that adopt complex three-dimensional structures and catalyze all cellular reactions in living beings. **Objective.** The present work aimed to identify the presence of proteins in 4 different milk samples. **Methodology.** This research was carried out through a qualitative approach with an experimental character, as it investigated the presence of proteins in different milk samples using the color change produced by specific chemical reactions as a reference. **Result.** All samples tested positive for the presence of proteins, with the color intensity varying in each sample. **Discussion.** The nutritional conditions of cattle can influence the characteristics of milk. Aspects such as feeding, type of forage, and nutritional management affect milk quality and production parameters. In addition, environmental and productive factors such as altitude, region, and management conditions can contribute to modifying its physicochemical properties. **Conclusion.** The purpose of the laboratory was fulfilled. The qualitative Biuret test made it easier to identify proteins in the milk samples. Furthermore, it was evidenced that the methodological execution and the study of the results were optimal. In conclusion, this assay is structured as a key preliminary test for the qualitative analysis of proteins.

Keywords: Milk; Proteins; Biuret Test; Casein.

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), Grupo de investigación TECNNOSALUD. Colombia.
Correo electrónico: ferney.maldonado@unad.edu.co
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6928-6997

7. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: luisafernandasantanauribe2905@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0003-4266-020X

8. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: bernardramoscherlys19@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0007-0955-9977

9. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.

Correo electrónico: wandamiranda080@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0003-6935-4835

10. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: mazhiel2020@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0003-2480-6797

11. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: laumelo218@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0004-3706-3387

12. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: gabrielacasasnarvaez@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0007-3644-1704

13. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: elizabethmore995@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0005-3507-2914

14. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: kddupperly@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0002-8239-2855

15. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: sharithmadera4@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0006-4638-1752

16. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: m-dearmas07@hotmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0009-7205-6111

17. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: lorepatry1428@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0000-1888-7488

18. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: ledisalfaro147@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0009-1869-5887

19. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: adrinca23@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0009-2639-5200

20. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: 2004.rojas16@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0007-2516-1475

21. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: albertojvr58@hotmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0009-1145-9072

22. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: jancersarmientosanchez@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0001-9908-0877

23. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Escuela de Ciencias de la Salud (ECISA). Colombia.
Correo electrónico: mariafernandaplata65@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0008-8050-2057

Introducción

La leche del ganado vacuno es un alimento necesario en la dieta diaria de los seres humanos (1). Porque contiene nutrientes esenciales entre ellos proteínas, grasas, carbohidratos, minerales, vitaminas, entre otros (2). Las proteínas de la leche es un alimento de suma importancia que suministra los aminoácidos necesarios que el cuerpo humano necesita para funcionar bien (3).

Las proteínas son biomoléculas constituidas por monómeros lineales de aminoácidos que determinan estructuras tridimensionales complejas para realizar todas las reacciones celulares en los seres vivos (4). Los aminoácidos son compuestos carbonados que se enlazan mediante uniones peptídicas para formar proteínas, actuando como las unidades principales y metabólicas básicas de la vida (5)

En referencia a la leche, es un alimento líquido producido por las ubres de bovinos en buena salud (6), las proteínas de la leche está conformada entre el 3,0% y el 3,5% de sus nutrientes (7), la proteína más representativa es la caseína (8). La cantidad de proteínas en la leche cambia según distintos factores (9), la raza y la genética (10,11), la alimentación y el forraje (12,13), el nivel de altura donde se están criando, región (14,15) y el sobrecarga térmica (16).

Un ensayo cualitativo que permite determinar la presencia de proteínas en leche es la prueba de Biuret (17). Este es un reactivo de colorimetría que identifica la presencia de tripéptidos, polipéptidos y proteínas a través de la síntesis de un complejo violeta en medio básico (18,19). Este cambio de color es el resultado de un complejo de coordinación donde los iones cúpricos (Cu^{2+}) se quelan con los electrones disponibles del nitrógeno peptídico (20). El presente trabajo tuvo como objetivo identificar la presencia de proteínas en diferentes 4 muestras de leche.

Materiales y metodología

Los materiales y reactivos usados en la identificación cualitativa de proteínas, según la reacción de Biuret fueron:

- 4 Tubos de ensayo (140 mm*14 mm)
- 1 Pinza para tubos
- 4 Vasos de precipitado de 500 ml
- 1 Plancha de agitación y calentamiento
- 1 balanza analitica
- 1 Gradillas
- 4 Pipetas Pasteur con bulbo Pera de goma para pipetas
- 3 Pipetas de vidrio de 1 ml
- Reactivo de Biuret
- 4 bolsas de leche de diferentes marcas.

Procedimiento a realizar para la reacción de Reacción de Biuret:

La presente investigación se desarrolló bajo un enfoque cualitativo de carácter experimental y con un diseño transversal, orientado a determinar la presencia de proteínas en distintas muestras de leche (figura 1) en un único momento de evaluación y sin modificar variables externas. Como supuesto de trabajo, se planteó como hipótesis nula () que el reactivo de Biuret no generaría un viraje de color en las muestras (ausencia de reacción positiva a proteínas), frente a la hipótesis alternativa () que sostiene la presencia de un viraje de color violeta indicativo de la existencia de proteínas (enlaces peptídicos) en las muestras analizadas.

Para llevar a cabo el ensayo, se dispusieron cuatro tubos de ensayo en una gradilla, rotulados según la muestra correspondiente (del # uno al # cuatro). A cada tubo se le adicionaron 1,5 mL de la muestra de leche entera respectiva y, posteriormente, 1,0 mL de reactivo de Biuret. Los reactivos e insumos analíticos fueron suministrados por la Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD).



Figura 1. Cuatro muestras de leche entera de diferentes marcas.

Resultados

En la figura 2, se observó que el tubo uno presentó una coloración violeta intensa evidenciando la presencia de proteínas (positivo). En el tubo dos se notó una coloración violeta no tan intensa sin embargo indica la presencia de proteínas (positivo). En el tubo tres mostró una coloración violeta un poco más intensa que el tubo dos, demostrando la presencia de proteínas (positivo). En el tubo cuatro es el tubo con menos intensidad del color violeta, aun así indica la presencia de proteínas (positivo).

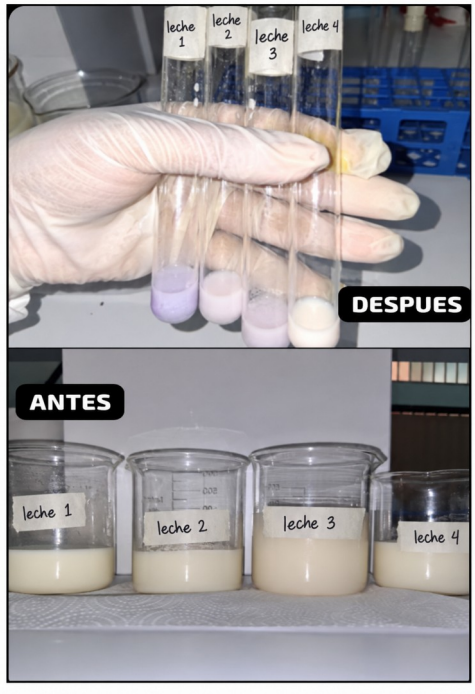


Figura 2. Resultado después de agregar 1 mL del reactivo de Biuret. Se puede observar que en la muestra de leche # uno, el viraje de color a violeta es intenso, indicando una posible alta concentración de proteínas. Mientras que el tubo # dos presentó un cambio a color violeta, pero no tan intenso como el primero. En la muestra de leche # tres, se generó un viraje de color a violeta un poco superior en intensidad al del segundo tubo. En cambio, el tubo # cuatro presentó un leve viraje de color a violeta, indicando una posible baja concentración de proteínas.

Discusión de resultados

La reacción de Biuret se realizó para analizar las muestras de leche, mostró cambios de color en las cuatro muestras estudiadas, lo que coincide con una reacción positiva para la detección de proteínas. Este resultado es consistente con la composición bioquímica esperada para la leche de vaca, en donde la fracción proteica representa entre 3,0 % y 3,5 % de su composición, siendo la caseína el componente proteico predominante (7,8,21). En este sentido, el viraje observado experimentalmente puede deberse a la interacción de los iones cúpricos del reactivo de Biuret con los enlaces peptídicos presentes en las proteínas de las muestras, dando lugar a la formación del complejo coloreado característico de una reacción positiva (18,20,22). Esta base química coincide con el método que se detalla en el estudio y sirve como apoyo para confirmar la identificación cualitativa de proteínas en las cuatro muestras analizadas.

También las diferencias visuales observadas en la intensidad y tonalidad de la coloración entre las muestras pueden estar asociadas a variaciones en su composición proteica; sin embargo, debido al carácter cualitativo del ensayo realizado, estas diferencias no permiten establecer directamente cuál de las cuatro muestras presenta una mayor concentración de proteínas. Por lo tanto, las diferencias observadas en los experimentos son plausibles biológicamente, pero el diseño desarrollado no permite atribuirlas a un factor específico. La literatura señala que la leche de vaca no contiene una composición proteica completamente uniforme, sino que ésta puede ser modificada por factores biológicos, productivos y ambientales. Acosta-Acosta et al., (2020) describen variaciones asociadas a las características del animal y a la lactancia. Mientras que Amalfitano et al., (2020) y Tirfie (11) afirman que la raza y los componentes genéticos constituyen fuentes importantes de variabilidad en el perfil proteico de la leche. Por tanto, las diferencias observadas en los experimentos son plausibles biológicamente, pero el diseño desarrollado no permite atribuirlas a un factor específico.

Las condiciones nutricionales de los bovinos pueden influir en las características de la leche, complementariamente. Simoni et al., (2024) y Van Soest et al. (13) vinculan aspectos de la alimentación, el tipo de forraje y el manejo nutricional con los parámetros de calidad y producción de leche. Asimismo, factores ambientales y productivos como la altitud, la región y las condiciones de manejo pueden contribuir a modificar sus propiedades fisicoquímicas (14,15). Se suma a ello el estrés térmico, que, como documentan Habimana et al., puede afectar variables fisiológicas y productivas del ganado lechero (2024). Estas evidencias permiten comprender que las posibles diferencias entre las muestras comerciales analizadas pueden responder a múltiples factores anteriores a su procesamiento y comercialización y, por tanto, no deben interpretarse exclusivamente como diferencias entre marcas.

En conjunto, los resultados experimentales concuerdan con la literatura científica respecto a la naturaleza proteica de la leche de vaca y evidencian la utilidad de la reacción de Biuret como

herramienta cualitativa para reconocer proteínas en matrices alimentarias. Bhavya Sri y cols. (2023) hacen referencia a la aplicabilidad de los métodos basados en esta reacción para el análisis de caseína en leche y productos lácteos, mientras que Mihalcea et al. (18) describen las bases del procedimiento de Biuret para la determinación de proteínas y péptidos. Por lo tanto, el experimento permite confirmar cualitativamente la presencia de proteínas en las cuatro muestras, pero no determinar diferencias cuantitativas en su contenido proteico. Para estudios posteriores sería conveniente incorporar técnicas espectrofotométricas y experimentales que permitan una comparación objetiva de la concentración de proteínas entre las muestras.

Conclusiones

El propósito del laboratorio se cumplió. La prueba cualitativa de Biuret facilitó identificar proteínas en las muestras de leche. Además, se evidenció que la realización metodológica y el estudio de los resultados fueron óptimos. En conclusión, este ensayo se estructura como un ensayo previo clave para el análisis cualitativo de proteínas.

El test comprobó ser un ensayo suficientemente efectivo para la identificación cualitativa de cualitativa en diferentes muestras de leche. La intensidad del color violeta está directamente relacionado a la cantidad de proteínas presentes en las muestras. A pesar de ello el tono del color está relacionado por las propiedades inherentes de cada muestra.

El protocolo no sólo enriquece su valor analítico para identificar la biomolécula proteica, sino que incrementa la importancia de un estricto control metodológico para eliminar fallos en el estudio de los resultados.

Se infiere que las razas de las vacas, las condiciones ambientales de alimentación, el tipo de forraje, el clima, entre otros factores, podrían influir en la calidad de la leche en cuanto a sus proteínas.

Agradecimientos

Se agradece a la Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD, por el respaldo brindado en la realización de este artículo.

CONTRIBUCIÓN DE AUTORÍA

RARF: Escritura del trabajo, ejecución del trabajo de laboratorio y redacción del artículo. ENG: revisión y corrección final del artículo. MCM: revisión y corrección final del artículo. ARSA: revisión y corrección final del artículo. VCCR: revisión y corrección final del artículo. FMMR: revisión y corrección final del artículo. LFSU: Ejecución del trabajo de laboratorio y fotografía. CBR: Ejecución del trabajo de laboratorio y generación de ideas. WYMU: Ejecución del trabajo de laboratorio y redacción del borrador. OBS: Ejecución del trabajo de laboratorio y búsqueda bibliográfica. LSMD: Ejecución del trabajo de laboratorio y redacción del borrador. GMCN: Ejecución del trabajo de laboratorio y fotografía. EOG: Ejecución del trabajo de laboratorio y generación de ideas. KDDP: Ejecución del trabajo de laboratorio y redacción del borrador. SYMQ: Ejecución del trabajo de laboratorio y búsqueda bibliográfica. MAMDA: Ejecución del trabajo de laboratorio y fotografía. LPRS: Ejecución del trabajo de laboratorio y generación de ideas. LAT:

Ejecución del trabajo de laboratorio y redacción del borrador. AJID: Ejecución del trabajo de laboratorio y búsqueda bibliográfica.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Referencias

1. Bjørklund Holven K, Sonestedt E. Milk and dairy products - a scoping review for Nordic Nutrition Recommendations 2023. Food & Nutrition Research. 2024;68. doi: 10.29219/fnr.v68.10486
2. van de Langerijt TM, Crowley SV, O'Mahony JA, Fox PF. Bovine milk. En: Encyclopedia of dairy sciences. Elsevier; 2022. p. 778-783. doi: 10.1016/b978-0-12-818766-1.00186-0
3. Volek JS, Kackley ML, Buga A. Nutritional Considerations During Major Weight Loss Therapy: Focus on Optimal Protein and a Low-Carbohydrate Dietary Pattern. Current Nutrition Reports. 2024;13(3):422-443. doi: 10.1007/s13668-024-00548-6
4. Morris R, Black KA, Stollar EJ. Uncovering protein function: from classification to complexes. Essays in Biochemistry. 2022;66(3):255-285. doi: 10.1042/EBC20200108
5. Wang Z. Amino Acids as Multifunctional Molecules in Plants: From Fundamental Metabolism to Precision Agriculture. Plants (Basel, Switzerland). 2026;15(10). doi: 10.3390/plants15101583
6. 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
7. 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
8. 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
9. Acosta-Acosta Y, La O-Michel AL, La O-Cantalapiedra LA. La composición de la leche, su variación según raza y la lactancia. Hombre, Ciencia Y Tecnología. 2020;24:93-98. Disponible en: http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/441/4411976012/index.html
10. Amalfitano N, Stocco G, Maurmayr A, Pegolo S, Cecchinato A, Bittante G. Quantitative and qualitative detailed milk protein profiles of 6 cattle breeds: Sources of variation and contribution of protein genetic variants. Journal of Dairy Science. 2020;103(12):11190-11208. doi: 10.3168/jds.2020-18497
11. Tirfie FW. A Review of Genetic and Non-Genetic Parameter Estimates for Milk Composition of Cattle. Animal and Veterinary Sciences. 2023;11(3):64-70. doi: 10.11648/j.avs.20231103.12
12. Simoni M, Temmar R, De Marchi M, Revello-Chion A, Pozza M, Righi F, et al. Milking system and diet forage type effect on milk quality of Italian Holstein-Friesian. Journal of Dairy Science. 2024;107(9):6983-6993. doi: 10.3168/jds.2023-24464
13. Van Soest BJ, Matson RD, Santschi DE, Duffield TF, Steele MA, Orsel K, et al. Farm-level nutritional factors associated with milk production and milking behavior on Canadian farms with automated milking systems. Journal of Dairy Science. 2024;107(7):4409-4425. doi: 10.3168/jds.2023-24355
14. Malagira JM, Nziku ZC, French P, Kabululu ML, Lyimo CM, Kashoma IP. Exploring the Interaction of Altitude, Breedand Management on Physicochemical Properties of Milk in Admixed Dairy Cattle of Muheza District. European Journal of Agriculture and Food Sciences. 2025;7(5):12-18. doi: 10.24018/ejfood.2025.7.5.957
15. Peña-Avelino LY, Ceballos-Olvera I, Rosales-Martinez GN, Hernández-Melendez J, Alva-Pérez J. Milk Composition of Creole Goats Raised at Different Altitudes in an Extensive Production System in Northeast Mexico. Animals : An Open Access Journal from MDPI. 2023;13(11). doi: 10.3390/ani13111738

16. Habimana V, Nguluma AS, Nziku ZC, Ekine-Dzivenu CC, Morota G, Mrode R, et al. Heat Stress Effects on Physiological and Milk Yield Traits of Lactating Holstein Friesian Crossbreds Reared in Tanga Region, Tanzania. Animals : An Open Access Journal from MDPI. 2024;14(13). doi: 10.3390/ani14131914

17. Bhavya Sri K, Hema B, Anila B, Sumakanth M. A simple spectrophotometric method for quantification of casein in milk and milk products. International Journal of Advanced Research. 2023;11(01):1741-1745. doi: 10.21474/ijar01/16200

18. Mihalcea E, Drochioiu G, Jitaru SC, Mangalagiu V, Gradinaru RV. Protein and peptide determination based on the modified biuret procedure: implications for various biotechnologies. SGEM International Multidisciplinary Scientific GeoConference EXPO Proceedings. 2022;22:113-20. doi: 10.5593/sgem2022/6.1/s25.14

19. Rodriguez-Garcia M, Surman AJ, Cooper GJT, Suárez-Marina I, Hosni Z, Lee MP, et al. Formation of oligopeptides in high yield under simple programmable conditions. Nature Communications. 2015;6:8385. doi: 10.1038/ncomms9385

20. Spiaggia F, Sembranti L, Vivaldi FM, Cuffaro D, Chovelon B, Ravelet C, et al. Fast ratiometric colorimetric sensing of total protein content in human serum based on classic biuret method. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2026:1-10. doi: 10.1007/s00216-026-06470-w

21. Pawar S, Bajpai R, Yadu* B. Comparative Analysis of Protein Concentration and Casein Extraction from Cow, Buffalo, and Goat Milk. NewBioWorld. 2026;8(1):53-59. doi: 10.52228/NBW-JAAB.2026-8-1-5

22. Mihalcea E, Drochioiu G. Improved protein assay based on the biuret reaction: interference of proteinogenic amino acids. Revue Roumaine Du Chimie. 2025;70(7-8):513-533. doi: 10.33224/rrch.2025.70.7-8.15