



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS RECURSOS NATURALES Y
DEL AMBIENTE**

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TEMA:

**“CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE
AISLADOS PROTEICOS DEL HUEVO DE CODORNIZ”**

Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Médico Veterinario y Zootecnista, otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

AUTORA:

JESSICA YOLANDA CORNELIO YANCHALIQUIN

DIRECTORA:

MÉD. ALEJANDRA ELIZABETH BARRIONUEVO MAYORGA Mg.

Guaranda - Ecuador

2020

CERTIFICADO DE APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

**“CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE
AISLADOS PROTEICOS DEL HUEVO DE CODORNIZ”**

REVISADO Y PROBADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL:

.....

MÉD. ALEJANDRA ELIZABETH BARRIONUEVO MAYORGA Mg.

DIRECTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

.....

ING. KLEVER ESTUARDO ESPINOZA MORA Mg.

ÁREA DE BIOMETRÍA

.....

DR. FREDDY RODRIGO GUILLÍN NÚÑEZ M.Sc.

ÁREA DE REDACCIÓN TÉCNICA

CERTIFICACIÓN DE AUTORÍA

Yo, **Jessica Yolanda Cornelio Yanchaliquín** con C.I. **0202517066**, declaro que el trabajo y los resultados presentados en este informe, no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas y citadas con sus respectivos autores.

La Universidad Estatal de Bolívar puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la ley de Propiedad Intelectual, su reglamentación y la normativa institucional vigente.



Jessica Yolanda Cornelio Yanchaliquín
C.I. 0202517066



Méd. Alejandra Elizabeth Barrionuevo Mayorga Mg.
Cl. 1804156089
DIRECTORA



Ing. Kleber Estuardo Espinoza Mora Mg.
Cl. 0200989630

ÁREA DE BIOMETRÍA



Dr. Freddy Rodrigo Guillín Núñez M.Sc.
Cl. 0201091493

ÁREA DE REDACCIÓN TÉCNICA






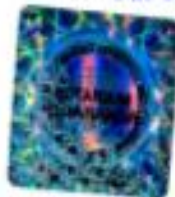
DRA. MSc. GINA CLAVIJO CARRION
Notaria Cuarta del Cantón Guaranda.


ESCRITURA N° 20200201004P000140

DECLARACIÓN JURAMENTADA
OTORGA:
JESSICA YOLANDA CORNELIO YANCHALIQUN
CUANTÍA: INDETERMINADA
Di 2 COPIA

En el Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, República del Ecuador, a los seis días del mes de febrero del año dos mil veinte, ante mi DRA. MSC. GINA LUCIA CLAVIJO CARRIÓN, NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA comparecen con plena capacidad, libertad y conocimiento, a la celebración de la presente escritura, la señorita **JESSICA YOLANDA CORNELIO YANCHALIQUN** de estado civil soltera, por sus propios y personales derechos en calidad de OTORGANTE. La compareciente declara ser de nacionalidad ecuatoriana, mayor de edad, de estado civil como se deja expresado, de ocupación estudiante, domiciliada en la parroquia Santa Fe, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, con número celular cero nueve ocho ocho uno seis uno siete ocho siete, con correo electrónico jessicayya@gmail.com hábil en derecho para contratar y contraer obligaciones, a quien de conocer doy fe, en virtud de haberme exhibido sus documentos de identificación cuyas copias fotostáticas debidamente certificadas por mí, agrego a esta escritura como documentos habilitantes. Advertida la compareciente por mí la Notaria de los efectos y resultados de esta escritura, así como examinada que fue en forma aislada y separada de que comparece al otorgamiento de esta escritura sin coacción, amenazas, temor reverencial, ni promesa o seducción instruida por mí de la obligación que tienen de decir la verdad con claridad y exactitud; y, advertida sobre la gravedad del juramento y de las penas de perjurio, me solicita que recepte su declaración juramentada: YO: **JESSICA YOLANDA CORNELIO YANCHALIQUN** de estado civil soltera, portadora de la cedula de ciudadanía número cero dos cero dos cinco uno siete cero seis seis, que los criterios e ideas emitidos en el presente Proyecto de Investigación titulado "CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE AISLADOS PROTEICOS DEL HUEVO DE CODORNIZ". Es el proyecto de investigación previo a la obtención del título de Médico Veterinario y Zootecnista, otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar, a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente. - Es todo cuanto puedo declarar en honor a la verdad. - Para su otorgamiento se observaron los preceptos de ley y leída que le fue a la compareciente íntegramente por mí la Notaria, aquella se ratifica en todas sus partes y firma junto conmigo en unidad de acto, incorporando al protocolo de esta Notaria la presente escritura de Declaración Juramentada de todo lo cual doy fe.....


SRTA. JESSICA YOLANDA CORNELIO YANCHALIQUN,
C.C. 020261706-6




DRA. MSc. GINA LUCIA CLAVIJO CARRION
NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA



URKUND

Documento: [TESIS DE GRADO DE INGENIERIA](#) 003990112
 Presentado: 2021-02-03 17:24:45:00
 Presentado por: jmorales@unibolivar.edu.co
 Recibido: asan@unibolivar.edu.co@unibolivar.edu.co
 Mensaje: [Mensaje de correo electrónico](#)
 Se están 27 páginas de contenido presentadas en 27 partes

Lista de Fuentes Bloques

Icono	Categoría	Enlace/nombre de archivo	Estado
📄		TESIS DE GRADO DE INGENIERIA 003990112	✓
📄		TESIS FINAL 003990112 asan@unibolivar.edu.co	-
📄		TESIS DE GRADO DE INGENIERIA 003990112	-
📄		TESIS DE GRADO DE INGENIERIA 003990112	-
📄		TESIS DE GRADO DE INGENIERIA 003990112	✓
📄		TESIS DE GRADO DE INGENIERIA 003990112	✓
📄		TESIS DE GRADO DE INGENIERIA 003990112	✓

🔍 ⏪ ⏩ ⏴ ⏵ ⏶ ⏷ ⏸ ⏹ ⏺ ⏻ ⏼ ⏽ ⏾ ⏿ ⏰ ⏱ ⏲ ⏳ ⏴ ⏵ ⏶ ⏷ ⏸ ⏹ ⏺ ⏻ ⏼ ⏽ ⏾ ⏿ ⏰ ⏱ ⏲ ⏳

60% #1 Activo

UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOUVAR FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA TEMA CARACTERIZACION MOLECULAR DE LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE ASILADOS PROTECTOS DEL HUEVO DE CODORNOZCO

Proyecto de investigador

previo a la obtención del título de Médico Veterinario y Zootecnista, otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

AUTORA: JESSICA OLANDA CORRALO VINCALQUI

DIRECTORA: MSc. ALEJANDRA ELIZABETH BARRONUEVO MALCOSA (Mg. Sc)

Guaymas - Ecuador 2021 CERTIFICADO DE APROBACION DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

CARACTERIZACION MOLECULAR DE LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE ASILADOS PROTECTOS DEL HUEVO DE CODORNOZCO REVISADO Y PROBADO POR

MSc. Alejandra Elizabeth Barronuevo Malcosa (Mg. Sc) DIRECTORA APROBADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE CALIFICACION DE TESIS

Archivo de registro Unidoc: UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOUVAR Tesis Final graduacion.pdf 60%

UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOUVAR Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente Carrera de Ingeniería Agroindustrial TEMA

DE LA DIGESTIBILIDAD GASTROINTESTINAL IN VITRO DE LOS ASILADOS PROTECTOS DE

Tincam Tugdum

ELECTROFRESIS (2021)

Proyecto de investigación

Previo a la Obtención del Título de Ingeniero Agroindustrial, otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Ingeniería Agroindustrial

Alejandra Barronuevo
 1804158059

DEDICATORIA

Dedico este trabajo en primer lugar a la vida por darme la oportunidad de haber llegado hasta aquí; a toda mi familia que ha sido el motor para culminar mi carrera en especial a mis padres Manuel Cornelio y Etelvina Yanchaliquin por haber dado todo de ellos por mí y ahora es mi turno de darlo todo por ellos, a mis hermanos (Anicito, Klever, Manuel, Jheonson, Javier, Vinicio y Juan) que me han enseñado a ser perseverante en esta vida muchas gracias por su apoyo, sacrificio y demanda recordando que siempre estaremos todos para uno y uno para todos los quiero.

A Michael Vergara por haberme brindado su compañía y ánimos para seguir superando todos los obstáculos que en esta vida van a presentarse.

A todas las personas que conocí durante mi carrera estudiantil por enseñarme que la vida no es fácil y que si existe algo que lo quieres hacer, lo debes hacer tú sola porque así las cosas salen mejor de lo que planeas.

A todas mis mascotas que un día necesitaron de mí y fallaba en el intento en especial a mi ex amigo Body que siempre permanecerá en mi corazón con orgullo puedo decirte amigo ahora puedo ayudar a todos los animales que se presenten durante mi vida profesional.

En especial estoy eternamente agradecida a mí persona, por no desfallecer hasta en los momentos más difíciles y crueles durante esta etapa, por darme cuenta que en esta vida puedes lograr lo que quieras con tal de hacerlo con humildad, cariño, sinceridad y perseverancia gracias

Jessica Yolanda Cornelio Yanchaliquin

AGRADECIMIENTO

Agradezco a la Universidad Estatal de Bolívar, Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia por haberme brindado una educación de calidad. Ha mis docentes, Dra. Alejandra Barrionuevo, Ing. Klever Espinoza, Dr. Rodrigo Guillin, y al Dr. Washington Carrasco por impartir sus conocimientos que ahora yo los puedo poner en práctica defendiéndome en esta vida como Médico Veterinario y Zootecnista.

Estoy eternamente agradecida al departamento de Vinculación al haberme brindado sus instalaciones y realizar esta investigación; en especial con el Ingeniero. Roberto Moran, Ing. María Fernanda Quinteros, los cuales fueron mis guías durante el proceso investigativo agradecerlos por su paciencia y constancia, a todos los que conforman el departamento gracias por su apoyo.

Jessica Yolanda Cornelio Yanchaliquin

ÍNDICE

Contenido	Pág.
I. RESUMEN Y SUMMARY	1
II. INTRODUCCIÓN.....	3
III. PROBLEMA.....	5
IV. MARCO TEÓRICO.....	6
4.1. Generalidades de la codorniz japonesa	6
4.2. Huevo	6
4.2.1 Generalidades	6
4.2.2 Estructura	6
4.2.3 Composición química del huevo	9
4.2.4 Valor nutricional del huevo de codorniz	9
4.2.5 Información nutricional del huevo de codorniz	10
4.2.6 Clara del huevo de codorniz.....	11
4.2.7 Yema	11
4.3. Proteínas	11
4.4. Tipos de proteínas	12
4.4.1 Ovoalbúmina	12
4.4.2 Ovotransferrina (Conalbúmina)	13
4.4.3 Ovomucoide	13
4.4.4 Lisozima	13
4.4.5 Calorías.....	14
4.5. Recolecta del huevo tras la puesta.....	14
4.6. Influencia de la duración	14
4.7. Aislados proteicos	14
4.7.1 Concentrados y aislados proteicos	15
4.8. Cuantificación proteica	15
4.9. Análisis elemental	16
4.10. Métodos para cuantificar proteína.....	16
4.10.1 Espectrometría de masas de proteínas.....	17
4.11. Métodos basados en nanopartículas y nanoporos.....	17

4.12.	Digestibilidad Gastrointestinal	18
4.13.	Fundamentos de la electroforesis	18
4.14.	Electroforesis NATIVE, SDS-PAGE.....	19
4.15.	Electroforesis en gel de poliacrilamida	20
4.16.	Protocolo de SDS-PAGE	20
4.16.1	Preparación de la muestra.....	20
4.16.2	Preparación de gel	20
4.16.3	Coloración y visualización	20
V.	MARCO METODOLÓGICO	22
5.1.	Materiales	22
5.1.1	Ubicación de la investigación	22
5.1.2	Situación geográfica y climática	22
5.1.3	Zona de vida	23
5.1.4	Material experimental	23
5.1.5	Materiales de campo.....	23
5.2.	Métodos	25
5.2.1	Factor en estudio	25
5.2.2	Tipos de Diseño Experimental o estadístico	25
5.2.3	Procedimiento.....	25
5.2.4	Tipo de Análisis	25
5.2.5	Métodos de evaluación y datos a tomarse	25
5.2.6	Manejo del experimento.....	27
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
VII.	VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS	44
VIII.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	45
8.1.	Conclusiones	45
8.2.	Recomendaciones.....	46
	BIBLIOGRAFÍA.....	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°	Descripción	Pág.
1.	Análisis comparativo del huevo de gallina y codorniz	7
2.	Estructura del huevo de codorniz	9
3.	Composición de la clara de huevo de codorniz.....	10
4.	Información nutricional.....	10
5.	Localización de la investigación	22
6.	Parámetros de la situación geográfica y climática	22
7.	Peso de huevos de codorniz tras el tiempo de recolección	31
8.	Valor promedio de diámetro longitudinal de huevos de codorniz	32
9.	Valor promedio de diámetro transversal del huevo de codorniz.....	33
10.	Extracción proteica.....	34
11.	Valor promedio de albumen liofilizado	35
12.	Valor promedio de cuantificación proteica de albumen liofilizado	36
13.	Evaluación del rendimiento de proteínas aisladas y liofilizadas.....	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Tabla N°	Descripción	Pág.
1.	Estructura de la cascara del huevo	8
2.	Proceso de electroforesis en geles de poliacrilamida SDS-PAGE.....	19
3.	Peso de huevos tras el tiempo de recolección	31
4.	Valor promedio de diámetro longitudinal de huevos de codorniz	32
5.	Diámetro transversal	33
6.	Extracción proteica.....	34
7.	Albumen liofilizado	35
8.	Cuantificación proteica	37
9.	Rendimiento de proteínas aisladas y liofilizadas	38
10.	Gel de poliacrilamida con pesos moleculares de huevo de codorniz....	39
11.	Digeridos in vitro a pH 1,2.....	41
12.	Digestión in vitro pH 2,0.....	42
13.	Digestión in vitro pH 3,2.....	43

ÍNDICE DE ANEXOS

Tabla N°	Descripción
1.	Mapa Satelital del Lugar de la Investigación
2.	Base de datos
3	Tabulación de datos obtenidos en los geles SDS-PAGE Caracterización de huevo de codorniz
4.	Fotografías del trabajo durante el proceso investigativo
5.	Glosario de términos

I. RESUMEN Y SUMMARY

1.1. Resumen

Existen varias investigaciones de matrices como es el huevo de gallina, pero no del huevo de codorniz. En países tercer mundistas el huevo de codorniz es muy apetecido por su pequeño tamaño. En estos tiempos se ha venido dando a conocer este producto como una fuente rica de alimento, pero no se ha desarrollado estudios que puedan corroborar esta hipótesis, por lo cual se opta realizar la siguiente investigación. En el presente estudio aislamos la proteína por su punto isoeléctrico, cuantificar, caracterizar y someterlas a estudios de digestión in vitro. Tomando en cuenta 4 tipos de muestras para comprobar, a medida que pase el tiempo las proteínas se conservan o se pierden. Huevos recolectados a las 12 horas después de la postura mostraron que poseían un valor proteico de 87,22%, huevos de 24 horas 87,80%, huevos de 48 horas 86,26% y huevos 72 horas recolectados después de la postura 90,28%, demostrándonos que el huevo de codorniz tiene un alto valor proteico comparado con la matriz huevo de gallina. En la caracterización proteica a través de electroforesis SDS-PAGE, pudimos evaluar los tipos de proteína que este producto posee tomando en cuenta que se aisló lisozima y ovomucina por lo que en este estudio sus bandas casi son inexistente. Ovotransferrina (77kDa), Avidin (65-69ka), Ovoglobulina G3 (50-55 kDa), Ovoalbúmina (39 kDa) y fracciones de Lisozima (12kDa), observadas en todas las muestras estudiadas por ende estas proteínas se conservan si no son sometidas a cambios bruscos de temperatura mayores de 50°C y menores de 25°C. Por lo tanto para la simulación del proceso gastrointestinal in vitro se utilizaron enzimas como la pepsina, pancreatina y sales biliares, preparándolas a distintos pHs y simular el estómago de una persona que padece problemas gastrointestinales pH 1,2 estómago de una persona adulta sana pH2,0 y niño no lactante pH3,2; determinamos que las proteínas del huevo de codorniz son totalmente digeridas a pH 1,2 y a pH 3,2 la proteína ovotranferrina y ovoalbúmina presentan inconvenientes para su digerido total.

Palabras claves: proteínas, digestión in vitro, electroforesis SDS-PAGE

1.2. Summary

There are several investigations of matrices such as the chicken egg, but not the quail egg. In third world countries the quail egg is very appealing because of its small size. In these times this product has been known as a rich source of food, but there have been no studies that can corroborate this hypothesis, which is why the following research is chosen. In the present study we isolate the protein by its isoelectric point, quantify, characterize and subject them to *in vitro* digestion studies. Taking into account 4 types of samples to check as time passes the proteins are preserved or lost. Eggs collected at 12 hours after laying showed that they had a protein content of 87.22%, eggs collected at 24 hours after laying 87.80%, eggs collected at 48 hours after laying 86.26 % and eggs collected at 72 hours after laying 90.28% showing that the quail egg has a high protein value compared to the chicken egg matrix. In the protein characterization through SDS-PAGE electrophoresis, we were able to evaluate the types of protein that this product has taking into account that lysozyme and ovomucine were isolated, so in this study their bands are almost non-existent. Ovotransferrin (77kDa), Avidin 65-69ka), Ovoglobulin G3 (50-55 kDa), Ovalbumin (39 kDa) and Lysozyme fractions (12kDa), observed in all the samples studied, therefore these proteins are conserved if they are not subjected to Sudden temperature changes greater than 50 ° C and less than 25 ° C. Therefore, for the simulation of the gastrointestinal process *in vitro* enzymes such as pepsin, pancreatin and bile salts were used, preparing them at different pHs and simulating the stomach of a person suffering from gastrointestinal problems pH 1.2 stomach of a healthy adult person pH2, 0 and non-infant child pH3,2; We determined that quail egg proteins are fully digested at pH 1.2 and at pH 3.2, ovotranferrin and ovalbumin protein have problems for their total digestion.

Keywords: proteins, *in vitro* digestion, SDS-PAGE electrophoresis

II. INTRODUCCIÓN

El huevo es una de las mejores y más económicas fuentes de proteína de alta calidad conteniendo un balance equilibrado de los distintos minerales y vitaminas, la incorporación de huevos en la dieta humana provee de los nueve aminoácidos esenciales, haciendo de estos una excelente fuente de aminoácidos esenciales con alto valor biológico. (USDA, 2009)

El huevo de codorniz, siendo una fuente de proteína, se encuentra subutilizado debido a los inconvenientes que presenta, entre otras cosas, su pequeño tamaño para ser consumido como huevo de plato lo hace ver menos apreciable ante las personas que consumen huevo de gallina.

La composición y calidad nutritiva de un ingrediente proteico son necesarias para descubrir su utilidad como fuente de proteína en un sistema alimenticio contribuyendo a la calidad final del producto.

Debido al bajo costo de producción que presenta este producto, podría considerarse que su clara deshidratada como una posible fuente de proteína funcional o como enriquecedor de alimentos; para lo cual, se hace necesaria su caracterización.

Las proteínas del huevo se han convertido en una de las fuentes principales para la obtención de péptidos bioactivos. Los péptidos bioactivos son secuencias específicas de aminoácidos, inactivos en el interior de la proteína precursora, que ejercen determinadas actividades biológicas tras su liberación mediante hidrólisis química o enzimática. (López Fandiño, 2014)

El proceso de digestibilidad de alimentos es uno de los parámetros más empleados para determinar la calidad de las proteínas. Para evaluar la calidad de la proteína existen diversos métodos que se pueden clasificar en químicos, biológicos y microbiológicos generalmente uno de los métodos que se aplica en la evaluación del grado de digestibilidad de las proteínas es el enzimático, ensayo basado en crear un medio muy similar al de los organismos de las personas con una mezcla de enzimas y sales biliares. Los hidrolizados proteicos juegan un papel importante en el proceso de digestión. (Quinteros F. , 2016)

Por lo tanto, los objetivos planteados en esta investigación fueron:

- Caracterizar molecularmente la digestibilidad *in vitro* de aislados proteicos del huevo de codorniz.
- Extraer la proteína de albumen de huevo de codorniz mediante su punto isoeléctrico.
- Cuantificar el contenido de proteína mediante el método Analizador elemental.
- Caracterizar el perfil proteico de los aislados mediante la técnica de electroforesis SDS-PAGE
- Establecer las diferencias y relaciones entre las muestras de acuerdo al tiempo de recolección después de la postura.

III. PROBLEMA

A pesar de los procesos tecnológicos y su gran avance son muchas las matrices de origen animal que no se han estudiado a profundidad y a nivel de laboratorio, siendo esto de gran importancia ya que existe un crecimiento constante de la población humana a nivel mundial, por lo cual la demanda de alimentos de mejor calidad es creciente, el consumo de huevo de codorniz es de 15 huevos al año por persona con relación al de la gallina que es de 183 huevos por persona al año. (Angeles , 2014)

Al no haber un estudio más minucioso de la mayoría de tipos de alimentos estos quedan en segundo grado en la escala alimenticia creyendo que estos no poseen el valor nutricional diferente a los que se consume habitualmente; por ejemplo el huevo de gallina posee 75kcal, 6.25g de proteína, vitaminas A, D, B2, Biotina, B12, minerales: Selenio, Yodo, Hierro y Zinc (Araneda, Edualimentaria, 2018), estos datos son conocidos con mucha frecuencia caso contrario de los huevos de codorniz que por convicción social se cree tienen mayor valor nutricional que el huevo de gallina; teoría que no ha sido validada a nivel científico.

En Ecuador sobre todo en la región interandina se busca constantemente el fortalecer los procesos de crianza animal que satisfagan la demanda y el equilibrio de consumo de productos ricos en nutrientes, buscando alternativas de matrices origen animal de especies menores que tengan alto rendimiento y bajo impacto a nivel ambiental como la codorniz. (Sánchez Gómez, 2015)

IV. MARCO TEÓRICO

4.1. Generalidades de la codorniz japonesa

La codorniz pertenece al orden de las gallináceas, fasiánidas y al género Coturnix. Dentro de las variedades que se explotan comercialmente se encuentran la coturnix var. Cortunix o codorniz europea, coturnix var. Japónica o codorniz japonesa y coturnix var, pharaoh. La explotación coturnicola, en cuanto a huevo, se centra en la Coturnix var. Japónica, también llamada codorniz doméstica, asiática, rey o del este: fue domesticada hace mucho tiempo en Japón e introducida en Europa y América. (Omlet, 2015)

El huevo de la codorniz pesa el 10% de su propio peso corporal, lo que indica su excepcional capacidad de conversión alimenticia al compararlo con la gallina que solo es el 3%, por lo que resulta un ave muy atractiva para su explotación. (Gomez Parada, 2013)

4.2. Huevo

4.2.1 Generalidades

Presenta una forma ovoide ligeramente irregular, con un diámetro transversal de 2.41cm y un diámetro longitudinal de 3.25cm.

Se reporta un peso promedio de 11.40g. Algunos factores relacionados con el mismo son el grosor de la Cáscara, la alimentación de las reproductoras; la humedad y la temperatura ambiente. El color del huevo de codorniz depende del material pigmentario segregado por el tejido glandular situado en las proximidades de la pseudovagina o segmento terminal del oviducto.

4.2.2 Estructura

La estructura del huevo de codorniz, en términos generales, es la misma que en el huevo de gallina. En el cuadro 1 se comparan sus composiciones:

Tabla 1

Análisis comparativo de los componentes estructurales del huevo de gallina y codorniz

	Gallina	Codorniz
Peso promedio (g)	67.8	11.4
Porción comestible (%)	88.4	88.59
Cáscara (%)	11.5	11.41
Yema (%)	29.1	42.98
Clara (%)	59.3	45.61

Fuente: Araneda , Eidualimentaria , 2018

La cáscara limita físicamente el contenido del huevo del ambiente que lo rodea y constituye una barrera protectora contra la penetración de microorganismos; se divide en cutícula, cáscara propiamente dicha y membranas.

La cutícula es poco soluble en agua, posee una estructura parecida a la del colágeno, se encuentra atravesada por una infinidad de poros y está compuesta aproximadamente de 90% de proteína; entre los aminoácidos que la componen se encuentran la glicina, lisina, cistina y tirosina. (Hoy Digital, 2009)

La cáscara es la cubierta exterior del huevo actúa como barrera bacteriológica. Está constituida, por una matriz cálcica con un entramado orgánico, el calcio es el elemento más abundante otros minerales como sodio, magnesio, zinc, magnesio, hierro, cobre, aluminio y boro, en menores concentraciones.

Está atravesada por numerosos poros que forman túneles entre los cristales minerales y permiten el intercambio gaseoso entre el interior y el exterior. El color de la cáscara, depende de la concentración de pigmentos, denominados porfirinas, depositados en la matriz cálcica y no afecta a la calidad, ni a las propiedades nutritivas del huevo.

La calidad o resistencia de la cáscara depende del metabolismo mineral de la gallina, alimentación, genética, el estado sanitario y la temperatura ambiente. (Taipe, 2016)

La Cáscara limita físicamente el contenido del huevo con el del ambiente que lo rodea y constituye una barrera protectora contra el acceso de microorganismos: se divide en cutículas, Cáscara y membranas.

- **Cutícula**

La cutícula es poco soluble en agua, posee una estructura parecida a la del colágeno, se encuentra atravesada por una infinidad de poros y está compuesta aproximadamente de 90% de proteína; entre los aminoácidos que la componen se encuentran la glicina, lisina, cistina y tirosina. (Paradais-Sphynx, 2017)

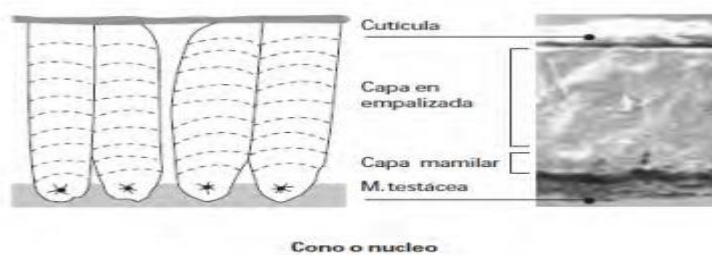


Figura 1. Estructura de la cascara del huevo

Fuente: Instituto de estudios del huevo, 2010

- **Cáscara**

La cáscara o estrato calcáreo, limitada exteriormente por la cutícula e interiormente por las membranas. Está compuesta principalmente por cristales de carbono de calcio. Es permeable a los gases, por lo que durante el almacenamiento del huevo ingresa aire y el volumen de la cámara de aire formada entre la Cáscara y las membranas aumenta, lo que constituye un índice de menor frescura.

La yema consiste en una dispersión de partículas en una fase acuosa o plasma, sus componentes mayoritarios son proteínas y lípidos, existiendo cantidades menores de carbohidratos y minerales. Contiene la mayoría de los lípidos del huevo, siendo éstos esencialmente triglicéridos y fosfolípidos. La intensidad del color de la yema depende del contenido en carotenoides, lo cual está relacionado con la alimentación de la codorniz.

Posee gran parte de las vitaminas y minerales que convierten el huevo en un alimento de una calidad excepcional. Destaca el calcio, el sodio, el hierro, el

potasio, la vitamina B, B12, D y K, entre otras. Sin embargo, existe un compuesto que llama la atención frente al resto: la colina. Este favorece el crecimiento celular, así como eliminación de toxinas, la correcta contracción de los músculos o la memoria. (Mollejo, 2018)

La clara está constituida por cuatro capas distintas: externa fluida, densa, interna fluida y chalazas. La proporción de cada una de estas capas es variable, atribuyéndose esto a la raza, condiciones ambientales, tamaño del huevo y nivel de producción. El constituyente mayoritario de las distintas capas es el agua, descendiendo ligeramente su contenido desde las externas hacia las internas.

La clara de huevo es el nombre común que hace referencia al líquido semitransparente que contienen los huevos. Se caracteriza por su alto contenido en proteínas del huevo, por lo que científicamente se le conoce con el nombre de albumen. (Mojon & Brusi, 2017)

4.2.3 Composición química del huevo

El huevo de codorniz contiene un mayor porcentaje de proteína y grasa (13.10y 11.10% respectivamente) en comparación con el huevo de gallina (12.5 y 10.0% respectivamente), así como un elevado contenido de minerales como fósforo, sodio, potasio, calcio y magnesio. (González & Hernández , 2011)

4.2.4 Valor nutricional del huevo de codorniz

Tabla 2

Estructura del huevo de codorniz

Componente	Cantidad
Yema	42.3%
Clara	46.1%
Agua	73.9%
Proteínas	15.6%

Fuente: Closa, Marchesich, Cabrera , & Morales , 1999

Tabla 3

Composición de la clara de huevo de codorniz

Componente	Cantidad
Ovoalbúmina	80%
Ovomucoide	10%
Ovomucina	7%
Ovoglobulina	3%

Fuente: Closa, Marchesich, Cabrera , & Morales , 1999

4.2.5 Información nutricional del huevo de codorniz

Tabla 4

Información nutricional

	Cantidad por 100g
Calorías	158
Grasas totales	158
Grasas totales	11g
Ácidos grasos saturados	3.6g
Ácidos grasos poliinsaturados	1.3g
Ácidos grasos monoinsaturados	4.3g
Colesterol	844g
Sodio	141mg
Potasio	132mg
Carbohidratos	0.4g
Fibra alimentaria	0g
Azúcares	0.4 g
Proteínas	13g

Fuente: Uruguay, 2015

Los principales constituyentes de la clara, además del agua, son las proteínas que se segregan en el oviducto y que tienen primordialmente una función biológica.

4.2.6 Clara del huevo de codorniz

Está compuesta por agua y proteínas (fundamentalmente la ovoalbúmina) vertida por secreciones del epitelio del oviducto durante el paso del ovulo por él. Su función natural primaria es la de proteger la yema del huevo y proveer nutrientes adicionales para el crecimiento del embrión. (Wolk , 2015)

4.2.7 Yema

La yema de huevo es un tipo de huevo que contiene 16,12 gramos de proteínas, no contiene carbohidratos, contiene 31,90 gramos de grasa por cada 100 gramos y no contiene azúcar, aportando 353 calorías a la dieta. Entre sus nutrientes también se encuentran las vitaminas A, B7, D y E. Además de estas propiedades, la yema de huevo contiene hierro. (Fatsecret, 2018)

La yema tiene un alto contenido proteico, pero también es donde se concentra las grasas y el colesterol que tan mala fama le ha dado a este alimento durante años

La yema es donde existe una alta cantidad de proteínas de muy alto valor biológico. (Delgado, 2009)

4.3. Proteínas

Las proteínas son las moléculas que desempeñan un mayor número de funciones en el organismo. Uno de sus principales papeles es el estructural. Son las biomoléculas que conforman casi todas las estructuras corporales, como los músculos, la piel, etc.

Las proteínas del cuerpo están en un continuo proceso de renovación. Por un lado, se degradan hasta convertirse en aminoácidos y, por otro, se utilizan estos aminoácidos junto con los obtenidos de la dieta para formar nuevas proteínas según lo que necesite el organismo en cada momento. Esto se denomina recambio proteico. (Morán, 2015)

La función principal de las proteínas en el cuerpo es la construcción de nuevas células, el mantenimiento de células existentes y el reemplazo de células viejas. Las proteínas son fuentes de energía en el cuerpo, la oxidación de un gramo de proteína produce cuatro calorías. Las proteínas son también necesarias para la formación de varias enzimas y hormonas que se encuentran en el cuerpo. (Delgado Fajardo, 2008)

Las proteínas que poseen los huevos de codorniz ayuda a nuestro organismo a crear nuevas proteínas estas serán las responsables de construir tejido y masa muscular también regula los fluidos del organismo están formadas por aminoácidos como ácido aspártico, ácidos glutámico, , alanina, arginina, cistina, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, prolina, serina, tirosina, treonina, triptófano y valina estas son las responsable de crear las proteínas de los huevos de codorniz.

Las proteínas son biopolímeros formados por unidades sencillas llamados α – aminoácidos (aminoácidos cuyo grupo amino y carboxilo se localizan en el carbono α de la molécula) a través de enlaces llamados peptídicos, con una organización molecular generalmente caracterizada por cuatro tipos de estructura. (Ulloa, Ulloa, Ramírez Ramíres, & Ulloa , 2012)

4.4. Tipos de proteínas

La diversidad de estructuras de las proteínas del huevo, con muy diferentes propiedades fisicoquímicas, las hace especialmente atractivas para la búsqueda de nuevos péptidos biológicamente activos. (López Fandiño, 2014)

La clara contiene más de 13 poli péptidos con características de glicoproteínas que integran una estructura bien organizada, gelatinosa y espesa. La composición proteica de las capas delgadas y gruesa de la clara se diferencia únicamente en el contenido de ovomucina.

4.4.1 Ovoalbúmina

Es la principal proteína de la clara del huevo (60-65% de las proteínas totales). Pertenece a la súper familia proteínica de las serpinas (son un grupo numeroso de proteínas con estructuras similares identificados inicialmente como capases de inhibir otras enzimas del grupo de las proteasas.

La ovoalbúmina s considerada una serpina a diferencia de la mayoría de estas la ovoalbúmina no es capaz de inhibir cualquier peptidasa. La ovoalbúmina se considera que es un mecanismo protector contra las bacterias exteriores agresoras al huevo. (Fernando, 2014)

4.4.2 Ovotransferrina (Conalbúmina)

Es la segunda proteína más abundante en la clara, la cual es una cadena de aproximadamente 80kDa. Es una glicoproteína que contiene 0.8% de hexosa y 1.4% de hexosamina. Es obtenida de la clara por precipitación fraccionada con sulfato amónico, no contiene fosforo ni grupos sulfhídricos la ovotransferina es muy sensible a la desnaturalización térmica (57-65°C) pero menos sensible a la desnaturalización superficial que la ovoalbúmina.

4.4.3 Ovomucoide

Ha sido identificado como uno de los alérgenos dominantes de la clara y es la causa de la mayoría de las reacciones alérgicas en niños. Ovomucoide exhibe grado variable de actividad inhibitoria hacia varias proteasas de serina. Es una proteína altamente glucosalizada con 20-25% de carbohidrato, peso molecular de 28kDa y punto isoeléctrico. El ovomucoide está compuesta de 186 aminoácidos arreglaos en 3 dominios en tándem, con 60 aminoácidos cada uno. Una variante genética con eliminación de un di péptido ocurre en aproximadamente el 20% de las moléculas de ovomucoide. (Nutricionpersonalizada, 2010)

4.4.4 Liozima

La liozima de la clara de huevo de gallina es una de las principales proteínas que se encuentran en ella, con una actividad antimicrobiana bien demostrada. No se han notificado péptidos bioactivos distintos de los péptidos antimicrobianos de HEWL. Tiene una alta concentración (1.3g/L de clara de huevo). La liozima de huevo es una proteína que puede representar cerca del 3,4% de las proteínas de la clara del huevo. Su masa molecular es 14.307 Da y está compuesta por una secuencia de 129 residuos de aminoácidos.

Es una proteína muy catiónica, con un elevado punto isoeléctrico (pl.=10.7), con 19 aminoácidos en su secuencia cargados positivamente. Posee cuatro puntos disulfuro que le confieren una alta estabilidad, en ellos se encuentra los ochos cisteínas presentes en las moléculas. (You, Undeniwe, Aluko, R, & Wu, 2010)

4.4.5 Calorías

La cantidad de calorías que hay en 100 gramos de huevos de codorniz son 155 esto le proporciona a nuestro cuerpo un aproximado de 6% de la cantidad que se recomienda diariamente a un adulto de edad y estatura media que tenga una actividad física moderada, estas proporcionan a nuestro cuerpo la energía necesaria para realizar las actividades diarias es una fuente de energía.

4.5. Recolecta del huevo tras la puesta

Cuando el huevo es puesto no posee cámara de aire, si no que ésta se forma después. Cuando el huevo se seca y se enfría, el contenido se retrae y en el espacio restante entra aire por aspiración a través de los poros de la Cáscara, de manera que, si la superficie está sucia, de manera visible o no, o contaminada por bacterias procedentes del oviducto del ave, los microorganismos pasan al interior del huevo con el aire. Este fenómeno se realiza aproximadamente en unas tres horas después de la puesta. (García & Dalmau, 2003)

4.6. Influencia de la duración y temperatura de conservación sobre la viabilidad del huevo

Según (Proudfoot, 1969)La viabilidad del huevo disminuye con la duración del periodo de conservación, la razón es que la deshidratación del huevo aumenta cuando la duración de la conservación se alarga, lo que significa en una pérdida del peso del huevo. Esta pérdida de vapor de agua desde el interior del huevo contribuye al envejecimiento o deterioro progresivo de su calidad interna. (Nahm, 2001)

Es decir que a medida que pase el tiempo se disminuye la tasa de supervivencia de las células originales y disminuye el nivel sustitución por parte de células nuevas, aumenta el pH del albumen y disminuye la elasticidad de la yema. (Elibol , Peak, & Brake, 2002)

4.7. Aislados proteicos

Según (Càrdenas , 2016), un aislado proteico se obtiene aplicando un tratamiento de solubilización alcalina seguido de una precipitación acida, la misma que se logra ajustando el pH hasta alcanzar el punto isoeléctrico de la proteína. Este método es

el más empleado por su facilidad, por el alto rendimiento obtenido y por la mejora de la digestibilidad que produce en la misma. Además, permite reducir o eliminar los factores anti nutritivos o la presencia de componentes no peptídicos como lípidos, azúcares, fibra y otros no deseables en el producto final

4.7.1 Concentrados y aislados proteicos

Los aislados proteicos son la forma comercial más purificada, se obtiene eliminando los polisacáridos, oligosacáridos y otros componentes ya sea por hidrólisis y posterior precipitación, por adición de ácidos, controlando los diferentes parámetros como el pH, solubilidad y otros, que permiten el enriquecimiento de la proteína requerida. Este tipo de producto posee entre el 85-95% de proteína, debido a que es sometido a un proceso de cromatografía de intercambio iónico. Los aislados proteicos se pueden conseguir a partir de un concentrado proteico, así como de materia prima natural los concentrados proteicos, se pueden variar considerablemente el contenido de proteínas entre 35 y 85%, por lo que existe una enorme diferencia en la calidad de este producto. (Rizo, 2012)

Una amplia variedad de herramientas de extracción y fraccionamiento de proteína y peptídicos se disponen en base a sus características fisicoquímicas y estructurales, tales como la solubilidad, hidrofobicidad, peso molecular, punto isoelectrico (pI) y así sucesivamente. (Martínez, Hernandez, Amigo, Millares, & Gómez , 2013)

4.8. Cuantificación proteica

Se han desarrollado diferentes métodos para cuantificar las proteínas totales, o alguna en particular en un ensayo dado. Los métodos de cuantificación de proteínas totales incluyen métodos tradicionales tales como la medición de la absorbancia a 280nm, electroforesis, los ensayos de Bradford y ácido binciconìnico, así como métodos alternativos como el de Lowry o ensayos novedosos desarrollados por los proveedores comerciales. Los proveedores comerciales típicamente proveen un kit bien diseñado y conveniente para cada tipo de ensayo. Los métodos para cuantificar incluyen ELIS, el Western blot y, más recientemente, espectrometría de masas entre otros. (Johnson, 2016)

4.9. Análisis elemental

Es una técnica que proporciona el contenido total de carbono, hidrogeno, nitrógeno, y azufre presente en un amplio rango de muestras de naturaleza orgánica tanto solidas como liquidas. La técnica está basada en la completa e instantánea oxidación de la muestra mediante una combustión de oxígeno puro a una temperatura aproximada de 1000°C. los diferentes productos de combustión son transportados mediante el gas portador ((He) a través de un tubo de reducción y después selectivamente separados en columnas específicas para luego ser absorbidos térmicamente.

Los campos de aplicación de esta técnica son diversos y van desde el análisis de combustibles fósiles hasta la industria farmacéutica y la química fina, pasando por el análisis de suelos, industrial alimenticia, etc. (UA, 2012)

4.10. Métodos para cuantificar proteína

Determinar la concentración de proteínas en una muestra bilógica, es una técnica básica cuando se trata de purificar una proteína concreta, conocer la actividad específica de una preparación enzimática, para el diagnóstico de enfermedades, así como para otros muchos propósitos. Existen diferentes métodos para la cuantificación de proteínas basándose en: la propiedad intrínseca de las proteínas para absorber luz en la zona ultravioleta (UV), formación de derivados químicos, o la capacidad que tienen las proteínas de unir ciertos colorantes. (Reyes & Galvan , 2001)

Es importante conocer el contenido de proteína de la muestra de estudio, es posible utilizar un método oficial de análisis de proteínas como el de kjeldahl que determina el contenido de nitrógeno total de la muestra. (Nielsen, 2010)

Aquí describimos algunos de los métodos comúnmente utilizados para determinar la concentración de proteínas.

4.10.1 Espectrometría de masas de proteínas

Es un método emergente para la cuantificación de proteínas. Un paso importante en el análisis proteómico, además de la caracterización proteica, es la posibilidad de cuantificar una proteína específica.

Normalmente, se añade isótopos estables más pesados de carbono o nitrógeno a una muestra (péptidos o proteínas) mientras que sus isótopos ligeros correspondientes se añaden a una segunda muestra (estándar interno) que luego se mezcla en el análisis. Debido a la diferencia de masas es posible analizar la relación entre las intensidades de los picos de las dos muestras por un analizador de masas la cual se corresponde con relación de sus abundancias relativas. (Jhonson & Carvajal, 2018)

4.11. Métodos basados en nanopartículas y nanoporos

Se puede aplicar este método debido a sus propiedades ópticas. Brevemente una propiedad importante es el cambio de la longitud de onda a la cual absorben luz cuando su tamaño aumenta por la unión a otras moléculas o por agregación. Dado que el cambio de absorción de luz es el rango visible, el cambio se percibe como un cambio de color. Hasta ahora se han utilizado en conjunto con partículas de unión a proteínas. Por ejemplo, anticuerpos, péptidos o aptámeros.

Más recientemente (Rogowski , Verman, & Chen , 2016), propusieron un nuevo tipo de sensores de nanopartículas para la detección y cuantificación de proteínas, al que llamaron “nariz química”. Su sensor consiste de una mezcla de nanopartículas de oro con diferentes formas que se puede agregar de diferente manera diferencial cuando interactúa con diferentes proteínas.

Un segundo método que ha sido desarrollado recientemente se basa en el uso de nanoporos en estado sólido. Se utilizó moléculas largas de ADN como portadoras y nanoporos de vidrio para medir la concentración de proteínas en solución en el rango nanomolar. En el método las proteínas son capaces de unir proteínas en sitios específicos, translocan a través de los nanoporos con la ayuda de una corriente eléctrica.

Cuando transloca, el ADN causa una caída en la señal de la corriente. Una segunda caída se registra cuando la proteína se une al ADN. Cuanta más alta es la

concentración de proteína, más cargado se encuentra el portador. La frecuencia de los picos de las caídas secundarias de corriente también incrementa con la concentración de proteína. (Kong, Bell, & Keyser, 2016)

4.12. Digestibilidad Gastrointestinal

La combinación de conocimientos sobre la composición química y digestibilidad de un aislado proteico permite su uso en la formulación de un alimento y precisar cálculos sobre su contribución en términos de energía y nutrientes. El conocimiento de la digestibilidad viabiliza la inclusión de una variedad de productos y subproductos de la agroindustria. (Pezzato, y otros, 2002)

El organismo humano ha desarrollado un sistema complejo para descomponer los alimentos y extraer los nutrientes que necesita para mantener la salud. Los estudios en sistemas animales son una alternativa eficaz para reemplazar los estudios en sistemas humanos, especialmente cuando se refiere al caso de las alergias. Los estudios en humanos se dificultan por consideraciones éticas y técnicas, especialmente por la cantidad y el número de individuos voluntarios que se necesitan. Por esta razón se ha desarrollado la aplicación de modelos *in vitro* que simulan condiciones que suceden en los procesos *in vivo* en el organismo humano. (Carrillo W., Digestibilidad de las proteínas alergénicas, 2014)

4.13. Fundamentos de la electroforesis

La electroforesis es la migración de solutos iónicos bajo la influencia de un campo eléctrico; estas partículas migran hacia el cátodo o ánodo (electrodos $-y +$), en dependencia de una carga, peso molecular y una estructura tridimensional.

Es de destacar que, a escala analítica, los métodos electroforéticos son de alta sensibilidad, poder de resolución y versatilidad, y sirven como métodos de separación de mezclas complejas de ácidos nucleicos, proteínas y otras biomoléculas, donde aportan un potente criterio de pureza. Es útil además para determinar otros parámetros como peso molecular, punto isoeléctrico y número de cadenas polipéptidos de las proteínas.

La velocidad de migración de la partícula es directamente proporcional al producto de su carga efectiva y el gradiente de potencial eléctrico e inversamente

proporcional al coeficiente de fricción relativo a la talla y forma de la molécula, o sea, a la resistencia que le ofrece el medio. (García Pèrez, 2000)

4.14. Electroforesis NATIVE, SDS-PAGE

La tecnología más utilizada para obtener una separación analítica de alta resolución de mezclas de proteínas es la electroforesis en el gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio. Esta técnica fue empleada por primera vez por Tiselius (1937), quien descubrió que las proteínas se podían separar por acción de un campo eléctrico y fue el inventor de un equipo para la electroforesis. Por otro lado, (Laemmli, 1970) describió una nueva técnica que logra un incremento en la resolución por la utilización de dodecil sulfato de sodio (SDS). En los años posteriores se comenzaron a emplear agentes reductores y SDS, para la determinación del peso molecular de las proteínas a lo que se denominó electroforesis en geles de poliacrilamida SDS-PAGE. (Carrillo, Candia , Lugo, Espinoza, & Noriega , 2013)

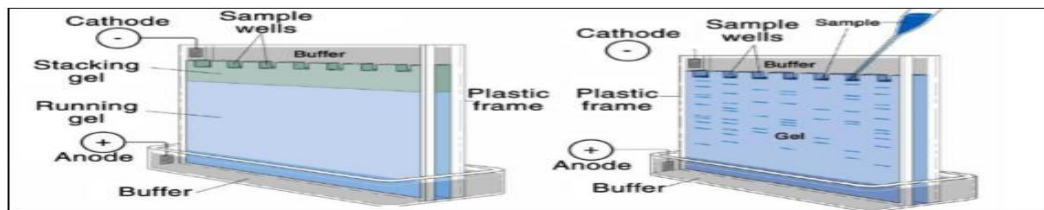


Figura 2. Proceso de electroforesis en geles de poliacrilamida SDS-PAGE

Fuente: Carrillo, Candia , Lugo, Espinoza, & Noriega , 2013.

El procedimiento implica una desnaturalización inicial de las proteínas componentes con un detergente amónico que también se une a ellas, impartiendo a todas las proteínas una carga negativa proporcional a su masa molecular.

A este paso le sigue la electroforesis a través de una matriz de gel de acrilamida porosa que separa las proteínas con una resolución excelente en la función de la masa molecular. La evaluación de la pureza de las muestras de proteínas, la evaluación de la expresión de proteínas y la identificación y cuantificación inmunoquímica de proteínas son métodos que utiliza SDS-PAGE. (Nowakowski, Wobig, & Petering, 2015)

4.15. Electroforesis en gel de poliacrilamida

La poliacrilamida es un soporte empleado frecuentemente en electroforesis en gel, es químicamente inerte, de propiedades uniformes, capaz de ser preparado de forma rápida y reproducible. Forma, además, geles transparentes con estabilidad mecánica, insolubles en agua, relativamente no iónicos y que permiten buena visualización de las bandas durante tiempo prolongado. Además, tiene la ventaja de que, variando la concentración de polímeros, se puede modificar de manera controlada el tamaño del poro. (Garcia Pèrez, 2000)

4.16. Protocolo de SDS-PAGE

4.16.1 Preparación de la muestra

Las muestras de las proteínas son desnaturalizadas calentándolos con un detergente SDS y mercaptoetanol. Los enlaces anteriores fuertemente a las proteínas y les dan una alta carga negativa mientras que este último libera grupos de sulfhidrilo, así en el rendimiento del polipéptido en cadena llevar exceso de una carga negativa y la carga similar al índice en masa. Esto ayuda a la resolución de las proteínas basadas estrictamente en su talla durante electroforesis del gel.

4.16.2 Preparación de gel

El gel electroforético tiene generalmente varios componentes incluyendo la acrilamida, el BIS, un almacenador intermedio. La mezcla se desgasifica para prevenir la formación de la burbuja durante la polimerización del gel. El persulfato del amonio, una fuente del radical libre, y un estabilizador se agregan a la polimerización del comienzo. (Cheriyedath, 2018)

4.16.3 Coloración y visualización

Una vez que la electroforesis es completa, el gel se puede manchar usando los tintes coloreados tales como azul de Coomassie o bromuro de etidio brillante para hacer que las proteínas separadas aparecen como bandas coloreadas distintas en el gel.

Algunos sistemas del gel introducen un tinte de búsqueda tal como azul de bromofenol junto con la muestra de la proteína-la distancia visible viaja por el tinte en las ayudas del gel en decidir a la duración requerida de la electroforesis. El azul

de bromofenol viaja junto con las moléculas de la muestra hasta que alcance eventual la parte inferior del gel. (Cheriyedath, 2018)

- **Preparación gel separador 12%**

Agregar agua destilado 1.425ml, Tris 1M HCl pH 8.8 3ml, Acrilamida 30% 3ml, SDS10% 75ul, Temed 9ul, PSA10% 30ul.

- **Preparación de gel concentrador 4%**

Se agrega agua destilado 2.2ml, Tris 1.5M HCl pH 6.8 0.42ml, Acrilamida 30% 0.7ul, SDS10% 75ul, Temed 6ul, PSA10% 20ul.

Sometiendo esto a influencias de un campo eléctrico con un voltaje de 200 voltios con 50 mA por 1 hora. (Lee, Costumbrado, & et, 2012)

V. MARCO METODOLÓGICO

5.1. Materiales

5.1.1 Ubicación de la investigación

Tabla 5

Localización de la investigación

País	Ecuador
Provincia	Bolívar
Cantón	Guaranda
Parroquia	Gabriel Ignacio de Veintimilla
Sector	Laguacoto II
Lugar Experimental	Laboratorio de Análisis del Departamento de Investigación UEB.
Dirección	Km 1 ½ vía Guaranda - San Simón

Elaborado por: Cornelio, J. 2018

5.1.2 Situación geográfica y climática

Tabla 6

Parámetros de la situación geográfica y climática del lugar de la investigación

Parámetros	
Latitud	01° 34' 15" Sur
Altitud	2622 msnm
Humedad relativa promedio anual	70 %
Precipitación promedio anual	632 mm/ año
Temperatura máxima	21 ° C
Temperatura media	14.4 ° C
Temperatura mínima	7 ° C

Fuente: Estación Meteorológica Laguacoto II, 2017

5.1.3 Zona de vida

La zona de vida donde se realizó la investigación, presenta un Bosque Húmedo Montano Bajo (bhmb), de acuerdo con la clasificación de las zonas de vida de Leslie Holdridge.

5.1.4 Material experimental

- 80 huevos de codorniz

5.1.5 Materiales de campo.

- Vasos de precipitación
- Balones de aforo
- Magneto
- Espátula
- Kit de micro pipetas
- Tubos para centrifugar
- Puntas para micropipetas
- Tubos eppendorf
- Gradilla
- Papel filtro
- Envases herméticos
- pH-metro
- Goteros
- Rotuladores
- Guantes de látex
- Mascarillas

Materiales de oficina

- Computadora
- Cámara fotográfica
- Flash memory
- Impresora
- Papel bond tamaño A4

- Lápices y esferográficos
- Cuaderno de apuntes

Reactivos

- Hidróxido de sodio NaOH 2 N
- Ácido Clorhídrico HCL 2 N
- Cloruro de sodio NaCl
- Bicarbonato de sodio NaHCO₃
- Enzimas SFG, Pepsina; SFD, Protein Dual Xtra Standars
- β-mercaptoetanol
- Tris-Cl a pH 8,8 y 6,8
- Acrilamida 30%
- Temed
- SDS (dodecil sulfato sódico) 10%
- PSA 10%
- Azul de coomassie
- Buffer

Equipos de laboratorio

- Balanza marca Citizem
- Plancha de Agitador magnético marca ika cmag hs7
- pH metro marca Hach
- Centrifuga eppendorf 5804R
- Liofilizadora marca christ, modelo alpa1-4Dplus.
- Equipo de electroforesis marca Analytikjena
- Termo agitador marca Ivymen TR100
- Ultra congelador marca Panasonic
- Analizador elemental Vario Macro Cube
- Balanza analítica
- Papel filtro

5.2. MÉTODOS

5.2.1 Factor en estudio

Huevo de codorniz en diferentes horas de recolección después de la postura 12 horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas.

5.2.2 Tipos de Diseño Experimental o estadístico

Estadística descriptiva

5.2.3 Procedimiento

Número de localidades 1

Número de tratamientos 4

Numero de huevos por unidad experimental 20

Número de unidades experimentales 80

5.2.4 Tipo de Análisis

Estadística descriptiva según el siguiente detalle:

Mínimas = Min

Máximas = Max

Media =U

Prueba de Fisher

Prueba de Tukey

5.2.5 Métodos de evaluación y datos a tomarse

- **Peso del huevo (PH)**

Dato que se registró por cada muestra utilizando una balanza analítica seleccionando 5 huevos completamente al azar y sus datos fueron expresados en gramos.

- **Diámetro transversal (DT)**

Esta variable se tomó en el momento que los huevos llegaron al laboratorio y tomados completamente al azar por cada muestra con un calibrador de vernier y sus datos fueron expresados cm

- **Diámetro longitudinal (DL)**

Esta variable se tomó en el momento que los huevos llegaron a los laboratorios y fueron seleccionados 5 totalmente al azar por cada muestra mediante un calibrador de vernier y sus datos serán expresados en cm

- **Extracción de albumen (EXT ALBM)**

Dato que fue evaluado utilizando albumen huevos de codorniz de cada tratamiento extraído y depositado en un vaso de precipitación de 100ml y sus resultados fueron expresados en medidas de ml.

- **Peso del albumen centrifugado (PAC)**

Después que el albumen haya sido sometido a un proceso de centrifugado, el sobrenadante será colocado en vasos herméticos y pesados en una balanza analítica la cual sus datos serán expresados en gramos.

- **Peso del albumen liofilizado (PAL)**

El peso del albumen fue tomado después de que las muestras salieron del equipo de liofilización, las cuales se pesaron en una balanza analítica y sus datos se expresaron en gramos.

- **Análisis elemental (AE)**

Variable fue registrada en todos los tratamientos en la cual se utilizó el analizador elemental y sus datos fueron expresados en %N.

- **Cuantificación proteica por analizador elemental (CPAE)**

Se evaluó el porcentaje de nitrógeno obtenido en el analizador elemental y para obtener el porcentaje de proteína aplicamos las siguiente formula

$$\%P = 6.68 * \%N =$$

- **Rendimiento (R)**

Dato que se evaluó en relación al peso del albumen centrifugado con el albumen liofilizado para lo cual se aplica la siguiente formula:

$$\%R = \frac{Wf}{Wi} * 100 =$$

- **Electroforesis (SDS-PAGE)**

Dato que se determinó con 20g de proteína liofilizada por muestra, se va utilizar el equipo de electroforesis y sus datos serán expresados en PM

- **Digestibilidad gástrica in vitro (DGIV)**

Variable en la cual se tomó de 10 mg de albumen liofilizado por cada muestra, añadiendo pepsina y simulador de fluido gástrico sometido a los pH 1,2; 2,0; 3,2 para obtener la proteína digerida y sus datos fueron evaluados mediante electroforesis expresados en PM.

- **Digestibilidad duodenal in vitro (DDIV)**

Variable que se evaluó de los resultados de la digestión gástrica, por cada muestra añadiendo pancreatina y simulador de fluido gástrico duodenal con pH 7.0y sus datos son evaluados mediante electroforesis expresados en PM.

5.2.6 Manejo del experimento

- **Selección de los huevos**

Se irán a lugar de producción de las codornices en donde dependiendo del tiempo de recolección los huevos serán tomados al azar colocándolos en una canastilla para que los huevos no se estropeen.

- **Llevado al laboratorio**

Los huevos ya colocados en la canastilla son llevados con mucho cuidado al laboratorio lo más pronto posible para no alterar sus componentes y ser precisos en las horas de las muestras.

- **Extracción de proteína de albumen de huevo de codorniz mediante su punto isoeléctrico**

Se obtuvo mediante el método descrito por (Carrillo , Tubòn , & Vilcacundo , 2016), con modificaciones la cual se detalla a continuación:

1. Se extrajo aproximadamente 90 ml de clara de 20 huevos

2. Tomamos 90 ml de clara de huevo tratado con etanol al 30% en una relación 1.1 respectivamente, se ajustó a pH 5,8 con la solución de HCl y agitamos la muestra a 500rpm/15min para separar la mucina.
3. La mezcla fue llevada a centrifugar a 4°C durante 30 minutos a 4.500rpm
4. Se descartó el precipitado y se trabajó con el sobrenadante.
5. El sobrenadante quedo en reposo durante 3 días en el ultracongelador marca Panasonic a -80°C con la finalidad de precipitar las proteínas.
6. Para el proceso de liofilización de las muestras se trabajó bajo condiciones estándares del equipo de liofilización marca CHRIST modelo ALPA1-4Dplus.

- **Cuantificación proteica mediante Analizador elemental**

1. Del material liofilizado se tomó 20mg aproximadamente de muestra liofilizada, colocándolo en canastillas de papel aluminio, se comprimió en un peletizador donde se obtuvo una pastilla la cual fue colocada en una gradilla numerada.
2. Colocamos las pastillas contenidas con las muestras en el carrusel del analizador elemental en el número que corresponda y obtuvimos los resultados en porcentajes de nitrógeno.

- **Caracterización del perfil proteico de los aislados mediante la técnica de electroforesis SDS-PAGE**

Se empleó la técnica analítica de electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE). Utilizando el método descrito por (Laemmli, 1970) con modificaciones, la cual será descrita a continuación:

1. Se preparó geles de 1 mm de espesor, en donde el gel separador será preparado al 12% y el gel concentrador al 4% de solución acrilamida.

- **Preparación gel separador 12%**

Se utilizó agua destilado 1.425ml, Tris 1M HCl pH 8.8 3ml, Acrilamida 30% 3ml, SDS10% 75ul, Temed 9ul, PSA10% 30ul.

- **Preparación de gel concentrador 4%**

1.- Se utilizó agua destilado 2.2ml, Tris 1.5M HCl pH 6.8 0.42ml, Acrilamida 30% 0.7ul, SDS10% 75ul, Temed 6ul, PSA10% 20ul.

2.- Se colocó el peine para generar los pocillos.

3.- Preparación de las muestras

4.- Se pesó 10 mg de proteínas aisladas de los mejores tratamientos

5.- Se añadió 1 ml de agua y se mezclaron en el vortex VWR.

6.- Se tomó 200 µL y se mezcló con 200 µL de buffer de muestra.

7.- Se llevó las muestras a una temperatura de 90 °C durante 5 minutos en un termo agitador marca Ivymen TR100-G

8.- Una vez gelificado, el gel fue trasladado a la cámara electroforética donde se puso 10 µL de la muestra y 10 µL del estándar en los respectivos pocillos formados por el peine.

9.- La cámara fue llenada con la solución del buffer running,

10.- La separación electroforética se realizó bajo influencia de un campo eléctrico con un voltaje de 200 Vv con 50mA y un tiempo de 45 min.

11.- Los geles fueron teñidos durante 12h con solución de azul de coomassie, y fueron desteñidos con mezcla de metanol, etanol y ácido acético.

12.- Los geles fueron interpretados de acuerdo a su peso molecular (PM

Estudio de la digestibilidad gastrointestinal in vitro de las proteínas del albumen de huevo.

- **Digestión gástrica *in vitro***

Para el proceso de la digestión gástrica *in vitro* se siguió la metodología descrita por (Quinteros , Vilcacundo , Carpio, & Carrillo , 2016) con modificaciones. Las proteínas fueron sometidas a un proceso de hidrolisis gástrica simulando las condiciones fisiológicas humanas del estómago. Para ello se usó la enzima pepsina a dos concentraciones diferentes. Las digestiones se llevarán a cabo en fluido

gástrico simulado de pH: 1,2; 2,0; 3,2, simulando condiciones estomacales de adultos con trastornos gástricos, adultos sanos y niños no lactantes.

Se pesó 10mg de proteína aislada a pH 5,8 en un tubo eppendorf de 1.5ml y se añadió 1 ml de agua mili Q o tipo 1 para ser diluida con fluido gástrico simulado (SFG, NaCl 0,35 M) ajustados a diferentes pHs: 1,2; 2,0; 3,2 a 37°C durante 120 minutos con pepsina porcina. Para detener la hidrolisis, en cada muestra se debe colocar 200µL de NaHCO₃ (bicarbonato de sodio) 1M, deteniendo de esta manera la reacción enzimática a 10 min por 80°C. Para comparar resultados se debe usar la técnica de electroforesis SDS-PAGE para asegurar la repetitividad de los resultados.

- **Digestión duodenal *in vitro***

Para este proceso de digestión duodenal se siguió el método descrito por (Martos, Contreras , Molina , & Lòpez, 2010) , preparamos los simuladores de fluido duodenal (SFD). Fosfato de potasio monobásico KHPO₄ + NaOH ajustados a pH 6.8 a 7.0 neutro, en la cual se tomó KHPO₄ diluyéndolo en 200ml de agua a una concentración final de 100 µL; Proceso en la cual se tomó en cuenta una relación de 1:1 el digerido gástrico fue de 1ml + 1ml de SFD a pH 7 manteniéndolo en temperatura de 37°C durante 120 minutos, finalmente se elevó a una temperatura de 80°C por 10 minutos la cual permite parar la reacción enzimática. Para determinar resultados se obtuvo por electroforesis SDS-PAGE. Sometiendo esto a influencias de un campo eléctrico con un voltaje de 200 voltios con 50 mA por 1 hora.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 7

Peso de huevos de codorniz tras el tiempo de recolección

Tratamiento	Peso de huevo		NS 2,07	
	Medias	Tukey 5 %	Mínima	Máxima
H 12	12,99	A	11,30	13,33
H 72	11,82	A	10,83	12,93
H 24	11,61	A	10,16	13,12
H 48	11,37	A	10,58	12,20
Gran Media	11,95			

Fuente: Investigación de campo

Elaborado por: Cornelio J, 2019

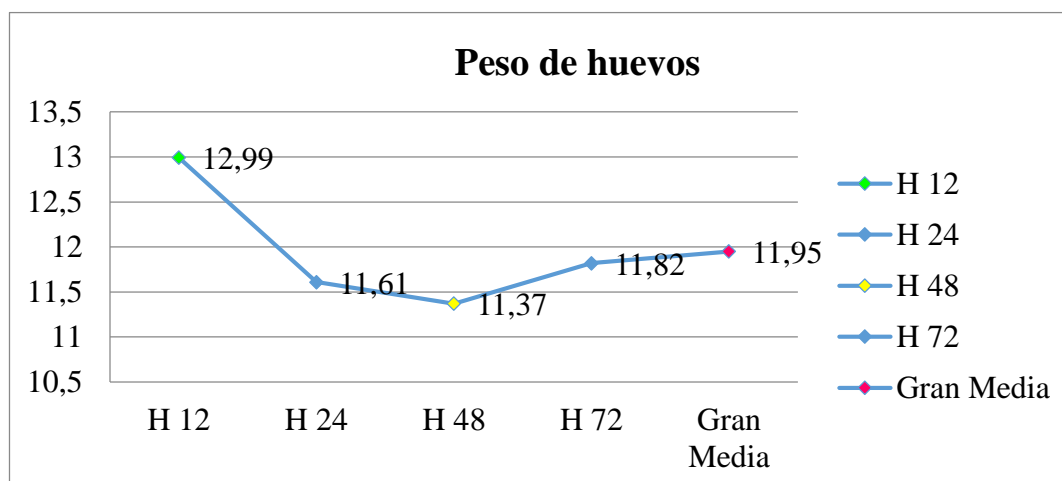


Figura 3. Peso de huevos tras el tiempo de recolección

Fuente: Investigación de campo

Elaborado por: Cornelio J, 2019

En la tabla 7, se da a conocer los resultados estadísticos de la distribución de Fisher del peso de huevos de codorniz en donde obtenemos un peso mínimo de 11,37g una máxima de 12,99g con una media general de 11,95g entre los tratamientos por lo cual no observamos diferencia estadística significativa con un CV de 9.34 y un nivel de confianza del 95%.

Tras la evaluación de medias mediante la prueba de Tukey al 5% de significancia determinamos que todos los tratamientos son homogéneos. Del cual el tratamiento H12 se alcanza un peso más elevado con 12,99g.

Tabla 8

Valor promedio de diámetro longitudinal de huevos de codorniz

Diámetro longitudinal			NS 0,57	
Tratamiento	Medias	Tukey 5%	Mínima	Máxima
H 72	3,3	A	3,1	3,4
H 24	3,2	A	3,2	3,4
H 12	3,2	A	3	3,4
H 48	3,2	A	3	3,4
Gran Media	3,2			

Fuente: Investigación de campo

Elaborado por: Cornelio J, 2019

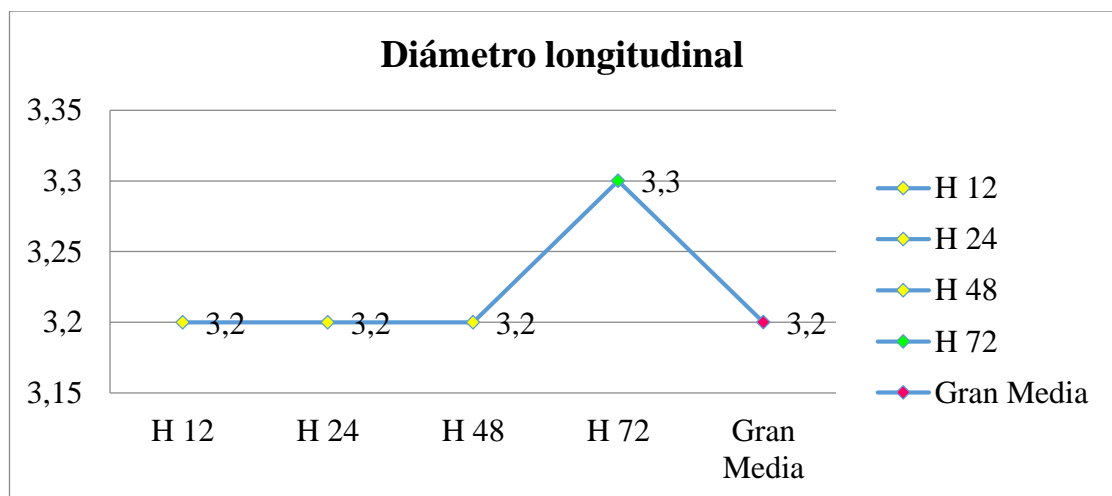


Figura 4. Valor promedio de diámetro longitudinal de huevos de codorniz

Fuente: Investigación de campo

Elaborado por: Cornelio J, 2019

En la tabla 8, damos a conocer los resultados según la distribución de Fisher del diámetro longitudinal del huevo en el cual obtenemos un mínimo de 3,2 cm un

máximo de 3,3cm y un valor medio entre los tratamientos de 3,2cm con un CV de 4,79 demostrando que no existe diferencia estadística entre los tratamientos.

Tras la evaluación de medias mediante la prueba de Tukey al 5% de significancia determinamos que todos los tratamientos son homogéneos. Del cual el tratamiento H72 alcanza una longitud de 3,3cm.

Tabla 9

Valor promedio de diámetro transversal del huevo de codorniz

Diámetro transversal			6,63**	
Tratamiento	Medias	Tukey 5%	Mínima	Máxima
H 24	2,5	A	2,3	2,6
H 12	2,4	AB	2,3	2,5
H 48	2,2	AB	2,1	2,4
H 72	2,1	B	2,1	2,3
Gran Media	2,3			

Fuente: Investigación de campo

Elaborado por: Cornelio J, 2019

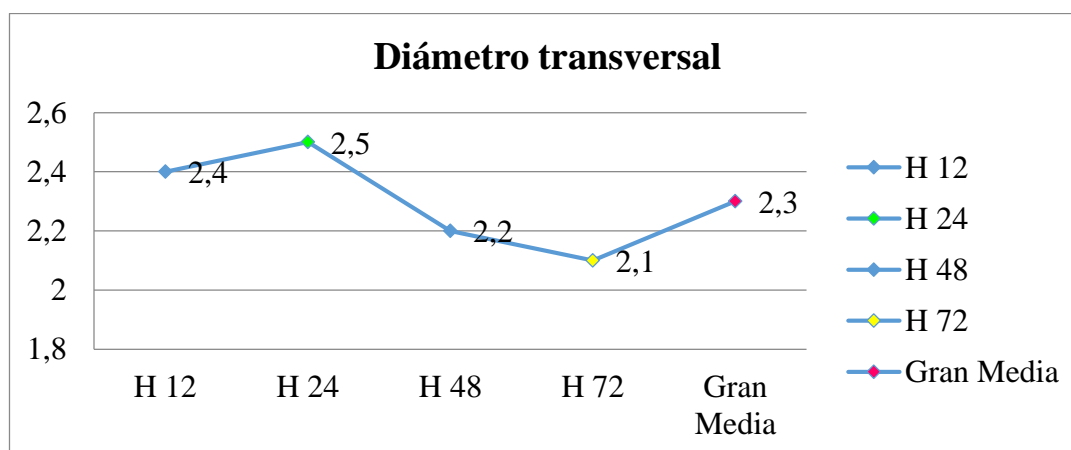


Figura 5. Diámetro transversal

Fuente: Investigación de campo

Elaborado por: Cornelio J, 2019

Los resultados estadísticos según la distribución de Fisher damos a conocer los resultados donde obtuvimos un valor mínimo de 2,1cm una máxima de 2,5cm con

un valor medio entre los tratamientos de 2,3cm, podemos notar que existe diferencia estadística altamente significativa con un valor de 6,63 con un 99,0% de nivel de confianza. (Ortiz, 2007), menciona que el tamaño del huevo varía según la genética de las estirpes de puesta, seleccionando para producir mayor número de huevos, menor peso corporal del ave y mejor índice de conversión.

Tras la evaluación de medias mediante la prueba de Tukey al 5% de significancia determinamos que existe diferencia altamente significativa ya que los resultados se comportan de diferente manera.

Tabla 10

Extracción proteica

Extracción Proteica			36.74**	
Tratamiento	Medias	Tukey 5%	Mínima	Máxima
H 12	28,90	A	27,7	30,0
H 24	24,11	B	20,7	26,0
H 48	20,04	C	17,9	22,7
H 72	19,98	C	18,4	21,9
Gran Media	23,26			

Fuente: Investigación de campo

Elaborado por: Cornelio J, 2019

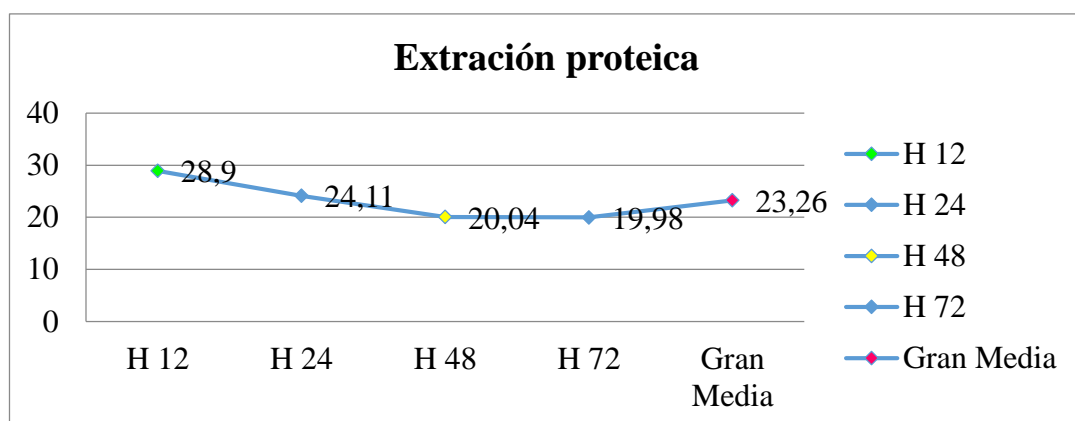


Figura 6. Extracción proteica

Fuente: Investigación de campo

Elaborado por: Cornelio J, 2019

Damos a conocer los resultados de extracción proteica mediante la distribución de Fisher obteniendo datos con un valor mínimo de 20,04g máximo de 28,9g con gran media de 23,26g entre los tratamientos donde indica una diferencia altamente significativa con un valor de 36.74** con el 99,9% de confianza.

Al comparar las medias obtenidas tras la evaluación del test de Tukey al 5% determinamos 3 grupos (A, B, C) del cual el tratamiento H12 ha alcanzado un valor máximo de 28,90g de extracción proteica en relación a H48 y H72. Debido a que no existen datos estadísticos referenciales sobre peso de extracción proteica en huevo de codorniz después del tiempo de recolección tras la postura esta investigación es considerada innovadora.

Tabla 11

Valor promedio de albumen liofilizado

Albumen liofilizado			4,91*	
Tratamiento	Medias	Tukey 5%	Mínima	Máxima
H 24	1,94	A	1,65	2,27
H 12	1,64	A B	0,75	2,44
H 48	1,42	BC	1,17	1,95
H 72	1,15	C	0,95	1,40
Gran Media	1,53			

Fuente: Investigación de campo

Elaborado por: Cornelio J, 2019

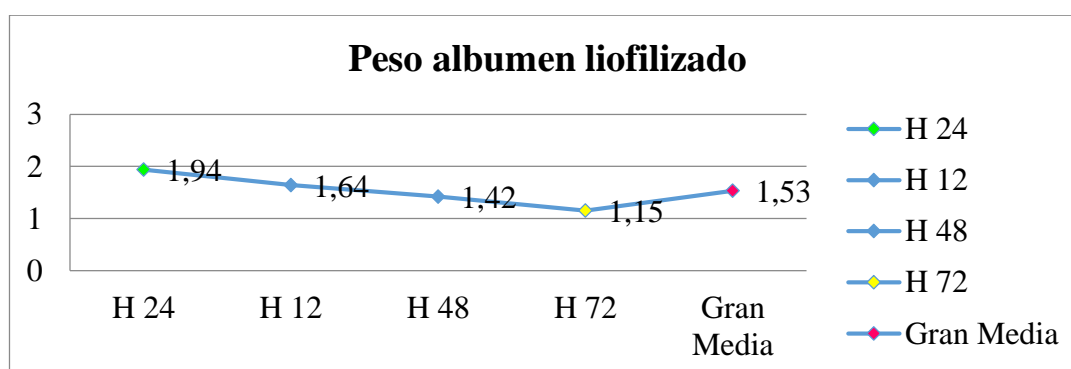


Figura 7. Albumen liofilizado

Fuente: Investigación de campo

Elaborado por: Cornelio J, 2019

En la tabla 11, tenemos los datos estadísticos según la distribución de Fisher para albumen liofilizado obteniendo un peso mínimo de 1,15g una máxima de 1,94g y una media entre los tratamientos de 1,53g donde indica una diferencia significativa con un 95% de confianza según la distribución de Fisher.

Los resultados analizados por el Test de Tukey al 5% dan como resultado que H24 tiene contenido elevado tras la liofilización 1,94g, H12 tiene un comportamiento similar en los pesos con una media de 1,64g con relación a H24 y H48 mientras que H72 horas se obtiene una media de 1,15g representando una diferencia estadística entre los tratamientos.

Debido a que no existen datos estadísticos referenciales en investigaciones anteriores a esta con respecto a peso de albumen liofilizado en huevo de codorniz consideramos esta investigación innovadora.

Tabla 12

Valor promedio de cuantificación proteica de albumen liofilizado

Tratamiento	Media Nitrógeno	%	Medias proteína	%	Tukey 5%	
H 72	13,51		90,28		A	6,79*
H 24	13,14		87,80		B	%P
H 12	13,05		87,22		B	= 6.68 * %N =
H 48	12,91		86,26		B	
Gran Media	13,12		87,67			

Fuente: Investigación de campo

Elaborado por: Cornelio J, 2019

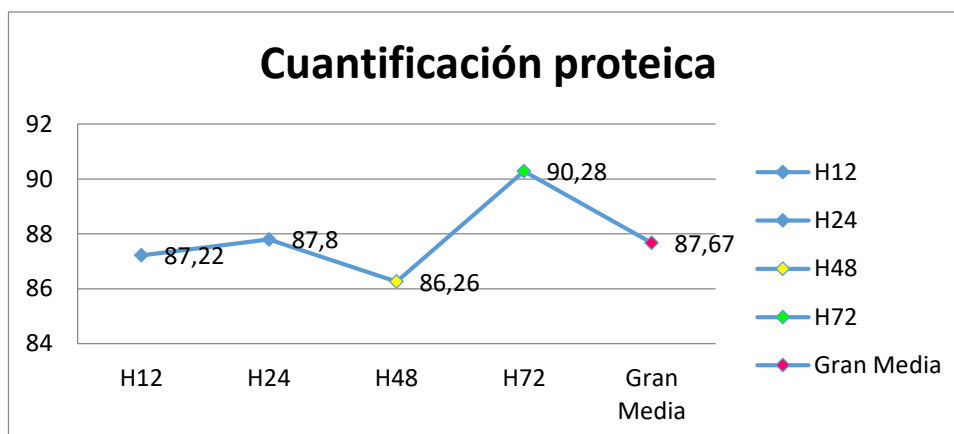


Figura 8. Cuantificación proteica

Fuente: Investigación de campo

Elaborado por: Cornelio J, 2019

En la tabla 12, podemos observar el porcentaje de proteína dadas por el equipo de analizador elemental donde cuantifica de manera porcentual el: Carbono (C), Hidrogeno (H), Azufre (S) y Nitrógeno (N); en donde con el factor de conversión para proteína de yema huevo de 6,8 mencionado por (García Martínez & Fernández Segovia, 2013), la cual se calculó el contenido proteico a partir del dato de Nitrógeno.

Según la distribución de Fisher para los datos evaluados de cuantificación proteica de albumen de huevo de codorniz, el porcentaje proteico obtenido en esta investigación es de una máxima de 90,28% a las 72 horas y una media mínima de 87,22% a las 12 horas. Siendo que huevos de 72horas se comporta de una manera heterogénea resto de tratamientos con un CV 1,33 siendo significativo estadísticamente con un 95% de confianza.

En la figura 8, podemos observar donde H 72 contiene una porcentaje proteico elevado con relación a los otros tratamientos, dándonos a conocer que a medida que transcurre el tiempo de recolección el porcentaje proteico se eleva. (Rodríguez, 2017) Menciona que las proteínas tienen capacidad desnaturizante y renaturalizante si esta no es sometida a cambios extremos de temperatura, agentes físicos u otros.

En la cuantificación proteica por analizador elemental de albumen liofilizado de huevo de codorniz obtenido por su punto isoeléctrico nos mostró un contenido de proteico (87,22-90,28%) comparación con el valor reportado por (Verdezoto, 2019), cuantificación proteica por analizador elemental en albumen liofilizado de huevo de gallina producción comercial vs producción ecológica obtenido por su punto isoeléctrico (79,90-84,01%). Dándonos a conocer que el huevo de codorniz contiene mayor valor biológico con relación al huevo de gallina.

Debido a que no existen datos estadísticos reportados en investigaciones anteriores a cuantificación proteica en albumen de huevo de codorniz los datos de esta investigación son innovadora en cuanto a esta matriz.

Tabla 13

Evaluación del rendimiento de proteínas aisladas y liofilizadas

Rendimiento			4,89*
Tratamiento	Media	Tukey 5%	Formula
H 24	12,24	A	$\%R = \left(\frac{wf}{wi}\right) \times 100$
H 12	10,37	AB	
H 48	8,94	AB	
H 72	7,27	B	
Gran Media	9,70		

Elaborado por: Cornelio J, 2019

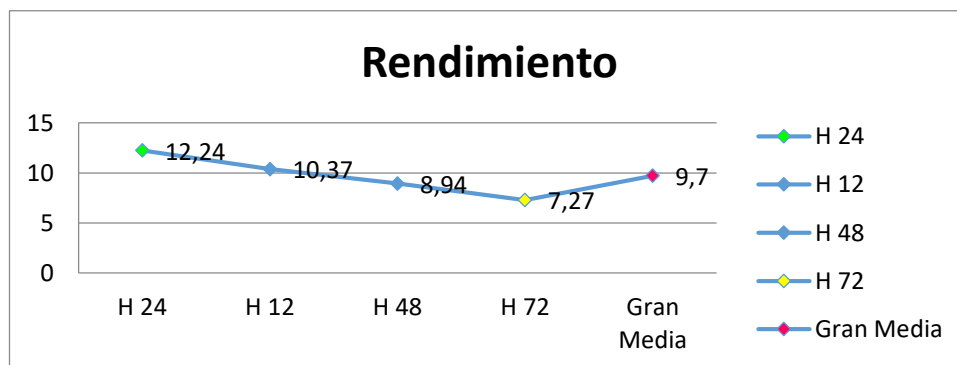


Figura 9. Rendimiento de proteínas aisladas y liofilizadas

Fuente: Investigación de campo

Elaborado por: Cornelio J, 2019

Se reportan los valores promedios de rendimiento de las proteínas liofilizadas; los cuales son similares a los mencionados por (Verdezoto, 2019) en rendimiento de proteína liofilizada de huevo de gallina por su punto isoeléctrico pH 5,8 reporta el valor de 13,18%

Se demuestran los resultados de análisis de varianza para rendimiento dio como resultado significativo demostrando que el tratamiento (Tiempo) existe diferencias estadísticas sobre las réplicas con un 95% de confianza.

Al observar los rangos obtenidos tras la prueba de Tukey al 5% determinamos dos grupos A y B del cual el tratamiento H124 ha alcanzado el rendimiento más alto con un valor de 12,24% demostrados en la Tabla 13

Caracterización del perfil proteico mediante la técnica de electroforesis

Los aislados proteicos de yema de huevo de codorniz fueron analizados mediante la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE), aislado por su punto isoeléctrico a pH 5.8.

Técnica de electroforesis SDS-PAGE con β -mercaptoetanol la cual ayuda a romper los enlaces disulfuro. Pocillo 1: estándar; pocillo 2, 3, 4, 5 proteína aislada de huevo de codorniz con buffer + β ; pocillos 6, 7, 8, 9 proteína aislada de huevo de codorniz en sus respectivos tiempos con buffer - β .

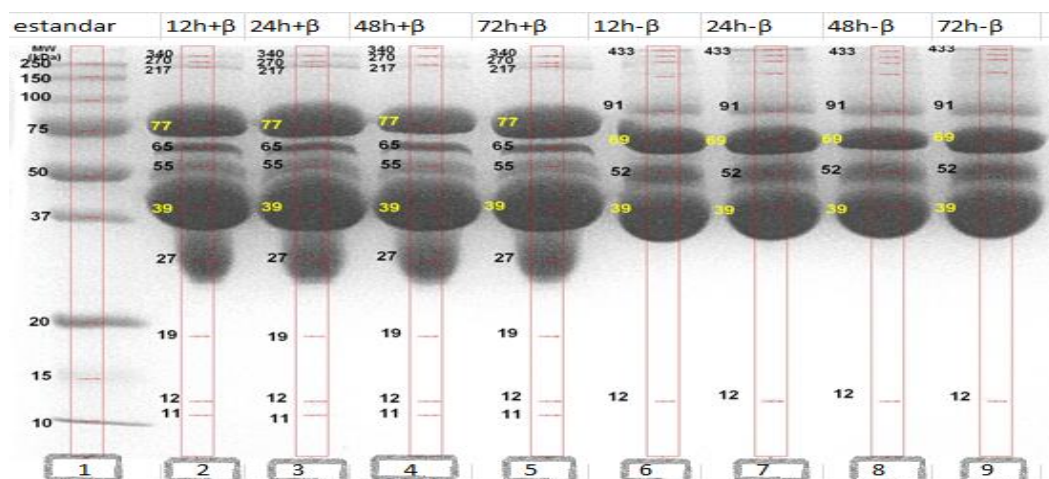


Figura 10. Gel de poliacrilamida con pesos moleculares de huevo de codorniz

Fuente: Investigación de campo

Elaborado por: Cornelio J, 2019

Se muestra en el patrón electroforético de las muestras liofilizadas de clara de huevo de codorniz, en donde se encontraron 8 bandas siendo las de mayor contenido las de 77, 39 y 27 kDa también encontramos bandas de menor contenido que pertenecen a pesos moleculares de 270, 65, 55, 19 y 12 kDa dando los mismos patrones en huevos de 12,24 48 y 72 horas en presencia del agente desnaturizante β -mercaptoetanol.

En el patrón electroforético de muestras liofilizadas en ausencia de β -mercaptoetanol, Muestra 3 banda siendo de mayor cantidad las de 69,52, 39kDa y en menor cantidad las proteínas de 433, 91 y 12kDa. Conteniendo el mismo patrón en huevos de 12, 24, 48 y 72 horas.

Las proteínas con pesos moleculares de 218,55- 500kDa pertenece a ovomucina encontradas en menor cantidad, la presencia de esta fracción proteica puede deberse a residuos que sobraron ,ya que cuando encontramos el punto isoeléctrico separamos la ovomucina, según (Cienfuegos, 2006), esta proteína junto al ovomucoide y lisozima confiere al albumen las características espesas y gelatinosas ; La banda de 91, y 77 kDa, pertenecientes a la fracción proteica de Ovotransferrina (Conalbúmina) (PM 76.60 - 85 kDa) mostrando un contenido considerable (Seicap, 2004) menciona que un 12% de albumen corresponde a esta proteína.

En las líneas 2, 3, 4 ,5 podemos verificar una proteína con peso molecular 65kDa en presencia de β -mercaptoetanol en baja cantidad, debido a que se rompe los puentes disulfuros, en líneas 6, 7, 8, 9 apreciamos proteínas con escasa diferencia en su peso molecular pero en mayor cantidad con 69kDa según (Molecular Diagnostic Service, 2016) este peso pertenece a la proteína Avidin (PM 65 -69 kDa), esta proteína tiene afinidad por la Biotina (National Institutes of Health, 2017) menciona que es una vitamina B y ayuda a convertir los carbohidratos, grasas y las proteínas en energía.

Las bandas de ovoglobulina G3 con PM de 55kDa se aprecian en las líneas 2,3 4 5, en presencia del agente reductor; en líneas 6, 7, 8, 9 en ausencia del mismo observamos esta proteína en menor concentración al resto con PM de 52kDa siendo el rango de peso para esta proteína (PM 50- 55 kDa); (Arzeni, 2014) menciona que

esta es una glucoproteína cuya función biológica aún se desconoce y que tiene características de ser un buen agente espumante.

La banda de 39 kDa fue la de mayor intensidad en relación al resto de proteínas siendo esta la ovoalbúmina con PM que va de (39-45kDa), se observa en todas las líneas tanto en huevos de 12, 24, 48 y 72 horas en presencia y ausencia del agente reductor; según (Pérez Hernández, 2004) esta proteína representa el 50% del contenido proteico, no sufre alteración a la temperatura por los cuales sus componentes no se desnaturalizan con el tiempo y se conservan.

Líneas 2, 3, 4, 5 presentan la misma banda perteneciente a ovomucoide con PM de 27kDa donde el rango para esta proteína es de (PM 25-28kDa) por lo cual está determinada basándose en ese dato; a diferencia de en líneas 6, 7, 8 y 9 esta proteína no se presenta. Según (Jiménez, 2012) esta proteína representa en un 11% de en clara de huevo. La banda de lisozima con PM de 12kDa está presente en todas las líneas con un rango de (PM 12-14,3 kDa).

Podemos corroborar que no existen diferencias entre huevos de 12horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas de recolección después de la postura ya que se conservan las proteínas en todas las muestras analizadas.

Evaluación de la digestibilidad gástrica y duodenal *in vitro* mediante la técnica de electroforesis SDS-PAGE

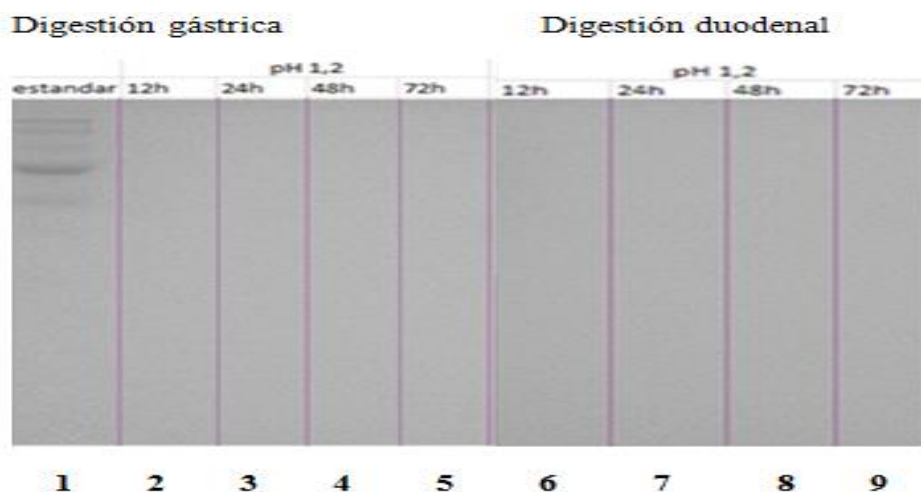


Figura 11. Digeridos a pH1,2

Fuente: Investigación de campo
Elaborado por: Cornelio J, 2019

Los hidrolizados fueron analizados mediante electroforesis SDS-PAGE dando como resultado que las proteínas de los pocillos 2, 3, 4 y 5 que simulan un pH (1,2) de adultos con problemas gástricos comparados con el estándar las bandas son inexistentes, lo que evidencia una digestión total evidenciados también en la digestión Duodenal que observamos en los pocillos 6, 7, 8 y 9.

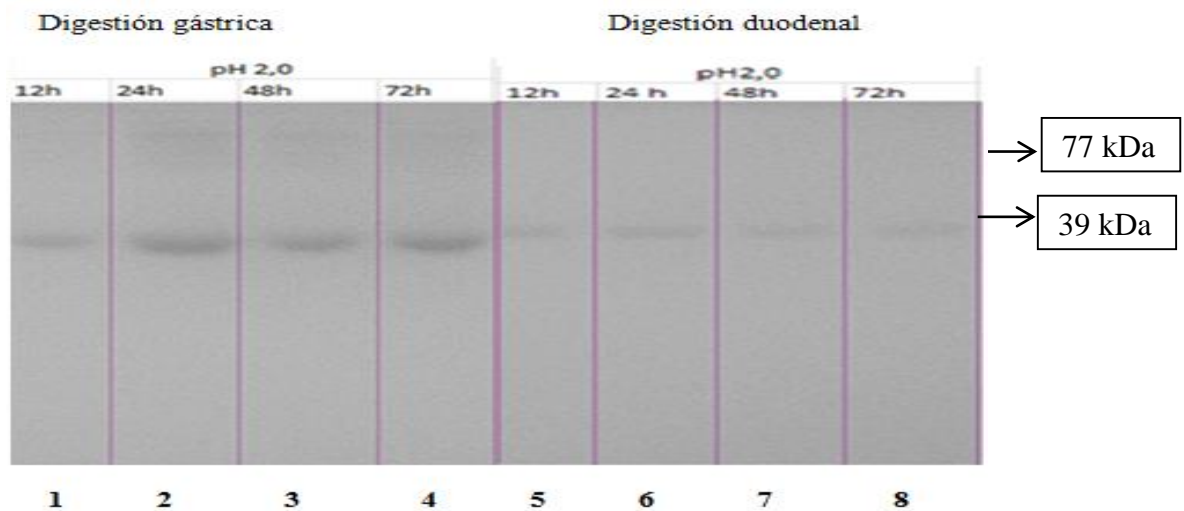


Figura 12. Digestión in vitro pH 2,0

Fuente: Investigación de campo

Elaborado por: Cornelio J, 2019

En el siguiente gel donde se realizó la digestión en pH (2,0) que simula el estómago de un adulto sano, podemos evidenciar que en los pocillos 1, 2, 3 y 4 de digestión gástrica encontramos bandas con PM de 39kda correspondiente a ovoalbúmina las cuales al pasar al siguiente proceso de digestión como es la duodenal aún quedan residuos.

También se evidencia las bandas de 77 kDa en baja densidad en los pocillos 2, 3, 4 correspondientes a ovotransferrina, pero al completarse la digestión esta proteína desaparece en su totalidad demostrando que esta proteína es digerible para las personas adultos sanos.

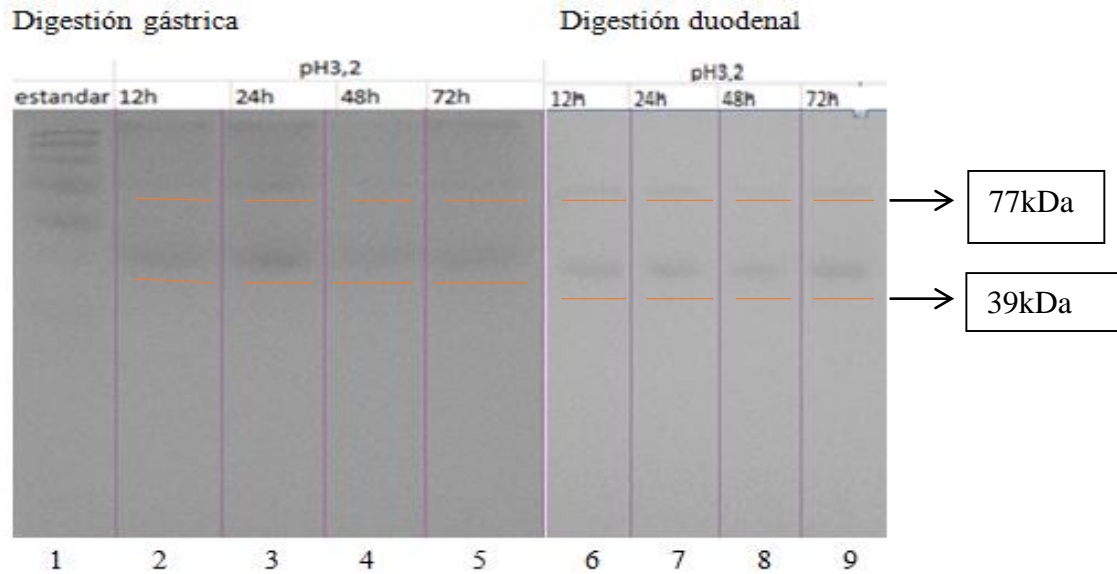


Figura 13. Digestión in vitro pH 3,2

Fuente: Investigación de campo

Elaborado por: Cornelio J, 2019

En el siguiente gel correspondiente a digestión *in vitro* a pH 3,2 que simula el estómago de un niño no lactante, se evidencia dos proteínas cuyas bandas pertenecen a 77 kDa ovotransferrina, y 39kDa ovoalbúmina su presencia es en todos los pocillos.

Según (Hoffmann-Sommergruber & Mills, 2009), la ovoalbúmina se encuentra en el grupo de los alérgenos animales la cual pertenece a la familia proteica de las serpinas cuya función es inhibidores de proteasas, (Mine & Yang, 2008) mencionan que el determinante antigénico de la ovoalbúmina es reconocida por IgE y por la célula T por lo que se determina que es un alérgeno. (Mine, Y; Zhang, JW, 2002) Dicen que la ovoalbúmina es una proteína que cambia al ser expuesto al calor y se produce una desnaturalización, disminuyendo así su reconocimiento por el IgE calentado a temperatura superior a 90°C. La ovotransferrina tiene actividad transportadora de hierro y bacteriostática gracias a la capacidad de unión al metal mencionado, también se le han atribuido efectos inmunomoduladores y antioxidantes (Mine, Y; Zhang, JW, 2002) describe que aún no se han caracterizado los epítomos responsables que atribuyen actividades alérgicas a esta proteína pero estas son lábiles al tratamiento térmico de 95°C durante 15 minutos.

VII. VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS

De acuerdo a la evidencia estadística, numérica y bibliográfica existe diferencia significativa en el valor biológico del huevo de codorniz vs el huevo de gallina; por lo que se acepta la hipótesis alternativa ya que existe la suficiente evidencia para esta no ser rechazada.

VIII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

8.1. Conclusiones

- El contenido proteico encontrado en las muestras utilizadas para este estudio (87,22-90,28%) es superior a porcentaje proteico de huevo de gallina (82,11%) reportado en antiguas investigaciones.
- El tiempo influye en proporciones estadísticas significativas en cuanto a la obtención de un producto proteico como en este caso fueron huevos de 72 horas tras su recolección obteniendo un alto porcentaje en esta muestra, esto puede deberse a que al recolectarse en este tiempo no existe cambios en temperatura, movimientos u otros factores que degraden la proteína.
- Las proteínas ovotransferrina y ovoalbúmina son las que se encuentran en mayor cantidad en la yema de huevo de codorniz mostradas en la caracterización proteica mediante electroforesis SDS-PAGE.
- La ovoalbúmina fue mostrada en grandes proporciones esta proteína pertenece al grupo de los alérgenos animales, familia serpinas la cual cumple una función de inhibidores de proteasas las cuales encontramos en medicamentos antirretroviral contra el VIH.
- Al haber realizado la simulación de digestión gástrica y duodenal se ha podido establecer que las proteínas del huevo de codorniz son de fácil digestión en adultos que presentan problemas gastrointestinales pH 1,2 mientras que en la simulación in vitro de menores no lactantes a pH 3,2 estas proteínas son parcialmente digeribles lo cual puede representar un problema.

8.2. Recomendaciones

- Realizar estudios bromatológicos con respecto a esta matriz usando la misma metodología de extracción proteica.
- Se recomienda utilizar aves que estén en un mismo tiempo de postura, con diferente tipo de alimentación a ver si esto influye en el contenido proteico de la yema de huevo de codorniz.
- Continuar con futuras investigaciones y determinar si las proteínas presentan alteraciones más significativas a medida que pase el tiempo, se lo podría realizar en el periodo para el consumo 35 días o semana 1, semana 2, semana 3, semana 4, semana 5.
- Realizar estudios aislando las proteínas por específico, determinar función, actividad alergénica, actividad antiinflamatoria etc.
- Tomar en cuenta la proteína ovoalbúmina para futuras investigaciones y centrarse en la bioactividad de esta proteína ya que no existen investigaciones actualizadas en donde corroboren que esta pertenezca al grupo de los alérgenos animales, familia serpinas la cual cumple una función de inhibidores de proteasas las cuales encontramos en medicamentos antirretroviral contra el VIH.

BIBLIOGRAFÍA

- Angeles, C. (2014). *UCM*. Recuperado el lunes 8 de Julio de 2018, de *Hàbitos dec onsumo de huevos, calidad nutricional y relacion con la salud*: <https://www.ucm.es/nutricioncarbajal>
- Araneda, M. (2018). *Edualimentaria*. Recuperado el 18 de Julio de 2018, de Huevos y derivados, Composición y Propiedades : <http://www.edualimentaria.com/huevos-composicion-y-propiedades>
- Araneda, M. (2018). *Edualimentaria*. Recuperado el lunes de Julio de 2018, de Huevos y derivados, composición y propiedades: <http://www.edualimentaria.com/huevos-composicion-y-propiedades>
- Arzeni, C. (2014). *Biblioteca Central Leloir*. Recuperado el 01 de Julio de 2019, de Modificación molecular y funcional de proteínas de clara de huevo mediante ultrasonidos de alta intensidad: aplicación de esta tecnología al diseño de nanovehículos para ácido fólico: https://digital.bl.fcen.uba.ar/download/tesis/tesis_n5480_Arzeni.pdf
- Càrdenas, K. (2016). *Obtención de aislados proteicos de chía(Salvia Hispànica L) y evaluación in vitro de su digestibilidad gastrointestinal, actividad antiinflamatoria y antioxidante*. En U. t. Alimentos.
- Carrillo, W, Tubòn , J., & Vilcacundo , J. (2016). *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 345.
- Carrillo, J, Candia, M., Lugo, R., Espinoza, E., & Noriega, J. (2013). Evaluaciòn de procedimientos de tincion para el anàlisis de proteìnas por electroforesis(SDS-PAGE). *INVURNUS*, 8:19-26.
- Carrillo, W. (2014). Digestibilidad de las proteìnas alergènicas. *Quìmica Viva*, 109-122.
- Chel, G. L. (2001). Fraccionamiento de las proteìnas del grano de Phaseolus lunatus y sus principales características bioquìmicas, tèrmicas y funcionales. En

Tesis de Doctorado Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-Instituto Politécnico Nacional Mexico. Mexico .

- Cheriyeath, S. Recuperado 23 de Agosto de 2018. *NewsMedical*. Obtenido de Electroforesis del gel de poliacrilamida: [https://www.news-medical.net/life-sciences/What-is-Polyacrylamide-Gel-Electrophoresis-\(PAGE\)-\(Spanish\).aspx](https://www.news-medical.net/life-sciences/What-is-Polyacrylamide-Gel-Electrophoresis-(PAGE)-(Spanish).aspx)
- Cienfuegos, C. (2006). *Revista Cubana Alimentacion y Nutrición* . Recuperado el 01 de Julio de 2019, de El huevo como aliado de la nutricion y la Salud: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Seminario-Proteinasdelhuevo_27414.pdf
- Closa, S. J., Marchesich, C., Cabrera, M., & Morales , J. C. (1999). Composición de uestos de gallina y codorniz. En *Archivos Latinoamericanos de Nutricion* (págs. 49: 181-185).
- Delgado. (2009). *Vitónica* . Recuperado el 01 de Mayo de 2018, de El huevo fuente de nutrientes <https://www.vitonica.com/grasas/yema-o-clara-de-huevo>
- Delgado Fajardo, B. I. (2008). *Aprende en linea* . Recuperado el 01 de Mayo de 2018, de Las proteínas : http://aprendeonline.udea.edu.co/lms/moodle/pluginfile.php/6415/mod_resource/content/0/LAS_PROTEINAS-2008.pdf
- Elibol, O., Peak, S. D., & Brake, J. (2002). *Effect of flock age, length of egg storage, and frequency of turning during storage on hatchability of broiler hatching eggs*.
- Fatsecret. (2018). *FatSecret Chile*. Recuperado el 01 de Mayo de 2018, de <https://www.fatsecret.cl/calor%C3%ADas-nutrici%C3%B3n/gen%C3%A9rico/clara-de-huevo>
- Fernando. (2014). *Blogspot*. Recuperado el 20 de agosto 2019, de Informe química : <http://qpr2014.blogspot.com/2014/06/ovoalbumina.html>

- García, M. E., & Dalmau, A. (2003). Reproduccion de la perdiz roja y la codorniz. En R. E. Avicultura, *Reproducción e incubacion en avicultura* (págs. 457-490). Barcelona-España: Arenys de Mar.
- García Martínez, E., & Fernández Segovia, I. (2013). *RiuNet*. Recuperado el 29 de Junio de 2019, de Universidad Politecnica de Valencia :
<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/16338/Determinaci%C3%B3n%20de%20proteinas.pdf?sequence=1>
- Garcia Pèrez, H. M. (2000). Electroforesis en geles de poliacrilamida: fundamentos actualidad e importancia . *Universo Diagnòstico*.
- Gomez Parada, B. (2013). *Prezi*. Recuperado el 18 de Julio de 2018, de Historia de la codorniz: https://prezi.com/6gpnrn_eiizy/historia-codorniz/
- González , J., & Hernández , U. (2011). *Evaluación sensorial de huevos de codorniz en conserva y composición nutricional*. Recuperado el 25 de Abril de 2018, de Redvet, Revista electrónica de Veterinaria :
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=1198534&pid=S2077-9917201600040001000007&lng=es
- Hoffmann-Sommergruber, & Mills, K. (2009). Food allergen protein families and their structural characteristics and application in component-resolved diagnosis: new data from the EuroPrevall project. *Anal Bioanal Chem*, 25-35.
- *Hoy Digital*. (2009). Recuperado el 18 de Julio de 2018, de Huevos de Codorniz: <http://hoy.com.do/huevos-de-codorniz/>
- Instituto de estudios del huevo. (2010). *Estructura del huevo*. Recuperado el 1 de Mayo de 2018, de http://www.huevo.org.es/el_huevo_estructura.asp
- J. M. (2016). cuantificaciòn de proteïnas. *labome*.
- Jhonson, M., & Carvajal, A. (2018). *Labome*. Recuperado el 20 de noviembre 2018, Obtenido de Cuantificación de proteínas :
<http://www.labome.es/method/Protein-Quantitation.html>

- Jiménez, R. (2012). Digestibilidad, Alergenecida in vitro y efecto inmunomodulador de proteína de huevo procesado.
- Kong, J., Bell, N., & Keyser, U. (2016). Quantifying Nanomolar Protein Concentrations Using Designed DNA Carriers and Solid-State Nanopores. *Nano Lett*, 16-62.
- Laemmli, U. (1970). Cleavage of structural proteins during assembly of the heat bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-685.
- Langeland, T. (1983). A Clinical and Immunological Study of Allergy to Hens Egg-White. *Allergy*.
- Lee, P. Y., Costumbrado, J., & et, a. (2012). *Jove*. Obtenido de Electroforesis en gel de agarosa para la separación de los fragmentos de ADN: <https://www.jove.com/video/3923/electroforesis-en-gel-de-agarosa-para-la-separacin-de-los-fragmentos?language=Spanish>
- López Fandiño, R. (2014). *Compuestos Bioactivos del Huevo de uso Potencial en Alimentos Funcionales*. Recuperado el 30 de Abril de 2018, de Avicultura: <http://www.avicultura.com/2014/03/27/12218/>
- Martínez, D., Hernández, B., Amigo, L., Millares, B., & Gómez, J. (2013). Extraction/Fractionation Techniques for Proteins and Peptides and protein Digestion. *Proteomics in Foods: Principles and Applications, Food Microbiology and Food Safety*, 21-50.
- Martos, G., Contreras, P., Molina, E., & López, R. (2010). Egg White Ovoalbumin digestion mimicking physiological conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 5640-5648.
- Mine, Y., & Yang, M. (2008). Recent advances in the understanding of egg allergens: basic, industrial, and clinical perspectives. *J Agric Food Chem*.
- Mine, Y; Zhang, JW. (2002). Comparative studies on antigenicity and allergenicity of native and denatured egg white proteins. *J Agric Food Chem*, 83.

- Mojon, G., & Brusi, A. (2017). Recuperado el 3 de Junio de 2018, *Books*. Obtenido de Cursft analítico de química:

https://books.google.es/books?id=zSQIxgSsyMsC&pg=PA426&dq=La+clara+de+huevo+l%C3%ADquido+semitransparente&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiUvMHQw_jXAhVIDxoKHafYC0oQ6AEIJzAA#v=onepage&q=La%20clara%20de%20huevo%20l%C3%ADquido%20semitransparente&f=false
- *Molecular Diagnostic Service*. (2016). Recuperado el 01 de Julio de 2019, de Avidin Biotin Methods: <https://translate.google.com/translate?hl=es-419&sl=en&tl=es&u=http%3A%2F%2Fwww.mds-usa.com%2Favidbiomethods.html&anno=2>
- Mollejo, V. (16 de Enero de 2018). *okidiario*. Obtenido de Las increíbles propiedades nutricionales de la yema de huevo:

<https://okdiario.com/salud/2018/01/16/yema-huevo-1694546>
- Morán, A. (2015). Recuperado el 5 de junio 2018 *dciencia*. Obtenido de Nutricion proteínas : <http://www.dciencia.es/nutricion-proteinas/>
- Nahm, K. H. (2001). *Effects of storage length and weight loss during incubation on the hatchability of ostrich eggs (Struthio camelus)*. Poult.
- *National Institutes of Health*. (2017). Recuperado el 01 de Julio de 2019, de Datos sobre la biotina: [https://ods.od.nih.gov/pdf/factsheets/Biotin-Datos En Español.pdf](https://ods.od.nih.gov/pdf/factsheets/Biotin-Datos%20En%20Espa%F1ol.pdf)
- Nielsen, S. (2010). Food Analysis Laboratory Manual: Fish Muscle Proteins: Extraction, Quantitation, and Electrophoresis. *Food Science Texts series*, 115-121.
- Nowakowski, A. B., Wobig, W. J., & Petering, D. H. (2015). *NCBI*. Recuperado el 01 de Mayo de 2018, de UD National Library of Medicine National Institutes of Health: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4517606/>
- *Nutricion personalizada*. (2010). Obtenido de Características de los alérgenos más importantes en el huevo:

https://nutricionpersonalizada.wordpress.com/2010/01/07/alergenos_huevo/

- *Omlet*. (2015). Recuperado el 18 de Julio de 2018, de https://www.omlet.es/guide/codornices/sobre_la_codorniz/historia/?hideRedirect=1
- Ortiz, A. (2007). *Avicultura*. Recuperado el 7 de Julio de 2019, de Factores influenciando el tamaño del huevo: manejo y alimentación: <https://www.engormix.com/avicultura/articulos/factores-influenciando-tamano-huevo-t27401.htm>
- *Paradais-Sphynx*. (2017). Recuperado el 18 de Julio de 2018, de Codorniz Japonesa:<https://aves.paradais-sphynx.com/galliformes/codorniz-japonesa.htm>
- Pérez Hernández, R. (2004). *Repertorio de la Universidad Tecnológica de la Mixteca*. Recuperado el 01 de Julio de 2019, de Caracterización fisicoquímica y funcional de la clara deshidratada de huevo de codorniz: http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/8772.pdf
- Pezzato, L., Miranda, E., Barros, M., Quintero, L., Furuya, W., & Pezzato, A. (2002). Digestibilidad aparente de ingredientes pela tilapia do nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 1595-1604.
- Proudfoot, F. G. (1969). Handling and storage of hatching eggs. En *The Fertility and Hatchability of Hen's Egg* (págs. 125-129). London-Reino Unido: Academic Press.
- Quinteros, F. (2016). *Estudio de la Digestibilidad Gastrointestinal, citotoxicidad y actividad antiinflamatoria de proteínas extraídas de la torta de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.)*. Obtenido de Universidad Técnica de Ambato : <http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/23823/1/AL608.pdf>
- Quinteros, M., Vilcacundo, R., Carpio, C., & Carrillo, W. (2016). Digestibility and Anti-inflammatory Activity in vitro of Sachá Inchi (*Plukenetia Volubilis* L) Proteins. *Asian Journal of Pharmaceutical And Clinical Research*, 9, 302, 303.
- Reyes, E., & Galvan, A. (2001). Métodos para la cuantificación de proteínas. En D. d. molecular, *Universidad de Rabanales, Córdoba* (págs. 1-7). España.

- Rizo, G. (2012). diferencia entre: preteina concentrada, aislada e hidrolizada. *Nutriciòn-Salud*, 2.
- Rodríguez, V. (27 de Noviembre de 2017). *Prezi*. Recuperado el 23 de Julio de 2019, de Renaturalizacion y desnaturalizacion de las proteínas : <https://prezi.com/gnp5763y2ej3/renaturalizacion-y-desnaturalizacion-de-las-proteinas/>
- Rogowski , J., Verman, M., & Chen , P. (2016). Chemical Nose Biosensor for detecting proteins in complex mixtures . *Analyst*, 141-627.
- Sàncnez Gòmez, M. (2015). Produccion de Huevos de Codorniz. *SEAM*, 26-30.
- *Seicap*. (2004). Recuperado el 01 de Julio de 2019, de Alergia a proteínas de huevo: http://www.seicap.es/es/alergia-a-prote%C3%ADnas-de-huevo_30347
- Taipe, V. (2016). *SlideShare*. Recuperado el 01 de Junio de 2019, Obtenido de Formación el huevo, estructura del huevo y formación del embrión : <https://es.slideshare.net/veronicataipe904/formacion-el-huevo-estructura-del-huevo-y-formacin-del-embrin>
- UA. (2012). *Obtenido de laUniversidad de alicante*. Recuperado el 13 de diciembre de 2018, de <https://ssti.ua.es/es/instrumentacion-cientifica/unidad-de-rayos-x/analisis-elemental.html>
- Ulloa, J. A., Ulloa, P. R., Ramírez Ramíres, J. C., & Ulloa , B. E. (2012). Producción de aislados proteicos a partir de subproductos industriales . *Fuente nueva época*, 9-10.
- Uruguay, G. d. (27 de 07 de 2015). *Granjas del Uruguay*. Recuperado el 01 de Mayo de 2018, de <http://www.granjasdeluruguay.com.uy/>
- USDA. (2009). *Nutrient data laboratory*. Recuperado el 25 de abril de 2018, de http://www.ars.usda.gov/main/s_main.htm?modecode-12-35-45-
- Valverde Quispe, G. (8 de Agosto de 2016). *Dspace*. Recuperado el 29 de Junio de 2019, de Valor Biologico de las proteinas contenidas en el producto comerciales ensure utilizando en terapia nutricional farmacológica:

<http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/2562/TESIS%20MAESTRIA%20%20Grace%20Joan%20Valverde%20Quispe.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Verdezoto, S. (2019). Caracterización molecular de aislados proteicos de albumen de huevo de gallina, procedentes de producción ecológica vs producción comercial. 53.
- You, S., Undeniwe, C. C., Aluko, R., R, E., & Wu, J. (2010). Multifunfnctional peptides from egg white lysozyme. *Food Research International*, 848-85

ALEXOS

Anexo 1. Mapa Satelital del Lugar de la Investigación



Anexo 2 Base de datos

		huevos de codorniz								
	Tratamiento	Repetición	longitud cm	Dm trans cm	peso en gr	ext. proteica	lío filizado gr	% N	% Proteico	Rendimiento
12 horas		1	3,4	2,4	13,98	29,34	1,28	13,1	87,51	8,10
		1	3,1	2,5	11,30	28,37	1,55	12,79	85,44	9,77
		1	3,2	2,3	12,29	29,96	2,07	13,28	88,71	13,10
		1	3	2,4	12,15	29,98	1,75			11,03
		1	3,3	2,4	15,23	27,71	0,76			4,78
		1				28,07	2,45			15,48
24 horas										
		2	3,4	2,6	11,87	26,01	2,23	13,08	87,37	14,07
		2	3,3	2,4	13,12	25,79	2,27	13,19	88,11	14,35
		2	3,2	2,6	11,26	24,68	1,74	13,16	87,91	10,98
		2	3,1	2,4	10,16	24,86	2,05			12,92
		2	3,1	2,3	11,64	22,62	1,66			10,45
		2				20,70	1,70			10,72
48 horas										
		3	3,4	2,4	12,20	18,60	1,24	12,82	85,64	7,85
		3	3	2,2	11,09	17,88	1,36	12,91	86,24	8,58
		3	3	2,4	10,99	19,79	1,17	13,01	86,91	7,38
		3	3,2	2,1	11,98	18,76	1,33			8,42
		3	3,2	2,3	10,58	22,55	1,44			9,07
		3					1,96			12,35
		3				22,66				
72 horas										
		4	3,1	2,1	12,93	21,85	1,40	13,45	89,85	8,85
		4	3,4	2,2	12,31	21,40	1,38	13,58	90,71	8,71
		4	3,3	2,3	12,13	20,37	1,13			7,17
		4	3,4	2,1	10,83	19,40	1,08			6,84
		4	3,2	2,2	10,91	18,41	0,96			6,05
		4				18,44	0,95			6,03

Anexo 3 Tabulación de datos obtenidos en los geles SDS-PAGE Caracterización de huevo de codorniz

Estandar	12h+β	24h+β	48h+β	72h+β	12h-β	24h-β	48h-β	72h-β		
1 250 kDa	340	340	340	340	433	433	433	433	Ovomucoide	503,95-349,86 kDa
2 150 kDa	217	217	217	217					Ovomucina	218,55 kDa
3 100 kDa					91	91	91	91		
4 75 kDa	77	77	77	77					ovotransferrina	76,60 - 77 kDa
5 50 kDa	65	65	65	65	69	69	69	69	Avidin	65-69 kDa
6 37 kDa	55	55	55	55	52	52	52	52	ovoglobulina G3	50-55kDa
7 25 kDa	39	39	39	39	39	39	39	39	Ovoalbúmina	39,87 kDa
8 20 kDa	27	27	37	27						
9 15 kDa	19	19	19	19						
10 10 kDa	12	12	12	12	12	12	12	12	Lisozima	12,39kDa

Anexo 4 Fotografías del trabajo durante el proceso investigativo

Obtención de las muestras



Selección de huevos completamente al azar



Selección de huevos de acuerdo a las horas de postura

Recepción de las muestras en el laboratorio



Revisión de calidad de huevo



revisar si los huevos se encuentran en buenas condiciones

Toma de datos de las muestras



Verificación de pesos



Verificación de medidas longitudinales y transversales

Extracción de albumen de huevo de codorniz

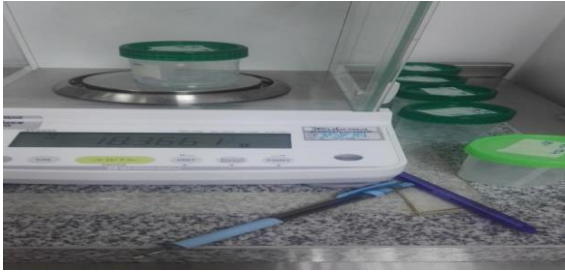


Extracción por tratamiento

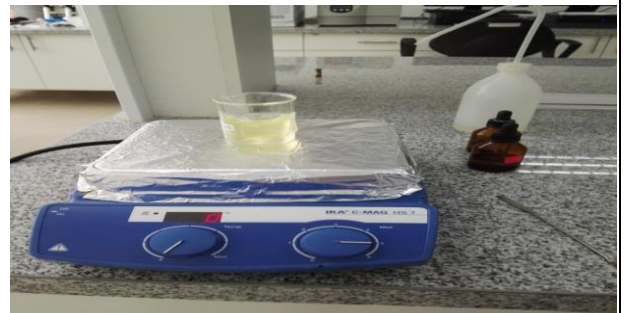
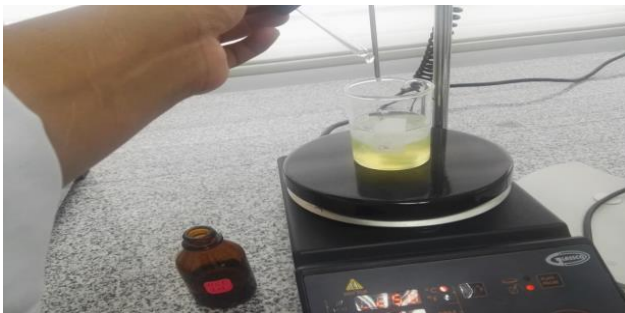


Extracción 90ml (95g) total divididos en proporciones de 30ml

Pesado de albumen extraído aislando la lisozima



Ajustado de pH 5,8 por su punto isoeléctrico



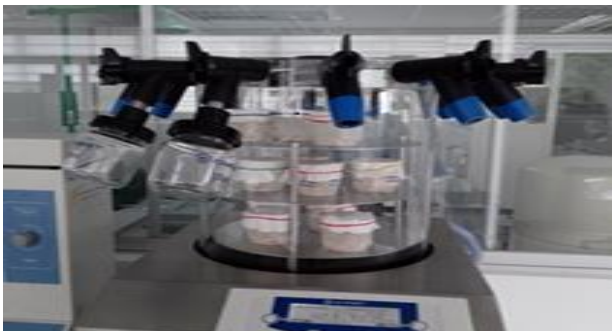
Centrifugado de albumen



Conservación a -80°C en el ultracongelador



Liofilización



Analizador elemental



Preparación de muestras para electroforesis (caracterización proteica)

Pesar 10 μ g de muestra de cada tratamiento

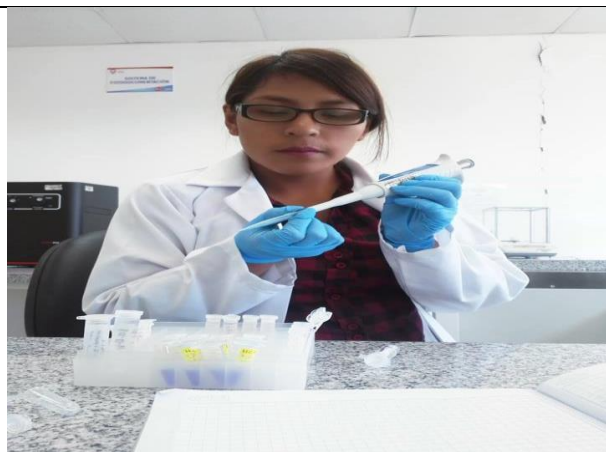


Adicionamos 1ml de agua

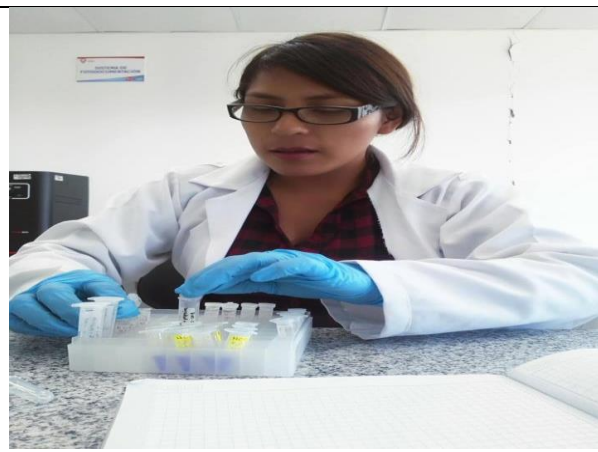


Mesclamos Muestras con Buffer + β y - β

Tomamos 200 μ g de muestras y 200 μ de Buffer + β



Tomamos 200 μ g de muestras y 200 μ de Buffer - β



Muestras colocadas en el termoagitador

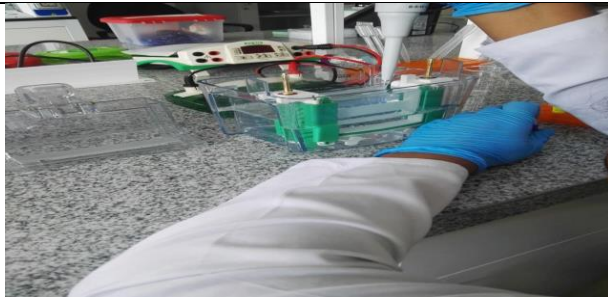


Preparación del equipo de electroforesis y geles



Depositando las muestras junto al estándar en los pocillos del gel

Corrido de geles



Extracción de geles y colocación en envases con solución de tñido



Cambiar de solución

Cambiar de solución de tñido a desteñido

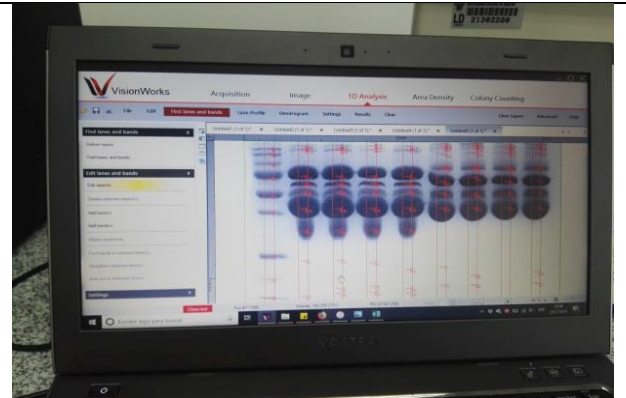
Cambiar de solución de desteñido a agua



Interpretación de geles en el fotodocumentador
Geltowner



Pesos moleculares de la proteína



Digestión in vitro

Preparación de muestras



SFG en pH 1.2, 2.0, 3.2



Bicarbonato de Sodio: SFD+ pancreatina



Simulación de digestión gástrica

Añadimos NaHCO_3 (stop de la digestión G)



Adicionamos SFD pH 7 digestión duodenal



Simulación in vitro de digestión duodenal



Conservación de digeridos a-40°C



Geles de digeridos



Visita de campo



Anexo 5. Glosario de términos

- **Hidrolizados proteicos.** -El hidrolisis proteico es la ruptura del enlace peptídico y en consecuencia de este proceso a la generación de péptidos de menor tamaño incluso de aminoácidos libres, y esta rotura de enlaces puede ser por métodos químicos con ácidos o bases, o biológicos con enzimas
- **Aislados proteicos.** -Un aislado proteico es la solubilización alcalina seguido de una precipitación acida, la misma que se logra ajustando el pH hasta alcanzar el punto isoeléctrico de la proteína.
- **Punto isoeléctrico.** -El punto isoeléctrico es el pH al que un polianfólito tiene carga neta cero. El concepto es particularmente interesante en los aminoácidos y también en las proteínas. A este valor de pH la solubilidad de la sustancia es casi nula.
- **Técnica de electroforesis.** -La electroforesis es una técnica para la separación de moléculas según la movilidad de estas en un campo eléctrico a través de una matriz porosa, la cual finalmente las separa por tamaños moleculares y carga eléctrica, dependiendo de la técnica que se use.
- **El pH.** - Coeficiente que indica el grado de acidez o basicidad de una solución acuosa.
- **Proteínas.** - Las proteínas son biopolímeros formados por unidades sencillas llamados α -aminoácidos (aminoácido cuyo grupo amino y carboxilo se localizan en el carbono α de la molécula) a través de enlaces llamados peptídicos.
- **Enzima pepsina.** -La pepsina es una enzima digestiva que es liberada por las células principales del estómago y cuya función es degradar las proteínas de los alimentos en péptidos (proteasa). El precursor de la pepsina es el pepsinógeno, una proforma cuya estructura primaria tiene 44 aminoácidos adicionales.
- **SDS (dodecil sulfato sódico).** - El dodecilsulfato sódico (SDS o NaDS) ($C_{12}H_{25}NaO_4S$), también conocido como laurilsulfato sódico (SLS), es un compuesto tensioactivo aniónico, empleado en diversos productos de

higiene personal, como pasta de dientes, champú y jabones de baño. El SDS es probablemente el compuesto aniónico tensoactivo más investigado.

- **PSA (persulfato de amonio).** - El persulfato de amonio forma los radicales libres que inducen la polimerización de la acrilamida y la bisacrilamida. Esta solución se descompone lentamente y debe renovarse cada semana.
- **Hidróxido de sodio.** - Hidróxido de Sodio. Su fórmula química es (NaOH), también conocido como sosa cáustica es un sólido blanco cristalino sin olor que absorbe humedad del aire (higroscópico). El hidróxido de sodio es muy corrosivo, generalmente se usa en forma sólida o como una solución de 50%. Es usado en la industria (principalmente como una base química) en la fabricación de papel, tejidos, y detergente.
- **Tris.** - es el nombre abreviado del compuesto orgánico conocido como (hidroximetil)aminometano. se utiliza ampliamente en bioquímica y biología molecular.
- **Metanol.** - líquido incoloro y muy tóxico, obtenido por destilación de la madera la reacción de monóxido de carbono y el hidrógeno, que se emplea étílico y como activo de combustibles líquidos.
- **Temed.** - la tetrametiletilendiamina conocida también como TEMED, es una diamina.
- **Azul de comassie.** - es un colorante derivado del trifenilmetano. Originalmente se utilizó en la industria textil, pero actualmente se emplea principalmente en bioquímica para teñir proteínas en geles de electroforesis.
- **Vortex.** - o mezclador de vórtice es un dispositivo simple que se utiliza comúnmente en los laboratorios para agitar pequeños tubos o frascos de líquidos
- **Sistema de ordenación del color de Mussell.** - una forma precisa de especificar y mostrar las relaciones entre los colores. Cada color dispone de tres cualidades o atributos: tono, valor y croma o saturación. Creo unas escalas numéricas que intentaba mostrar los colores separados por espacios visualmente iguales.

- **Serpinas.** – son un grupo numeroso de proteínas con estructuras similares identificados inicialmente como capaces de inhibir otras enzimas del grupo de las proteasas.
- **Peptidasas o proteasas.** – son enzimas que rompen los enlaces peptídicos de las proteínas.
- **Fasianidas.** - Familia de aves gallináceas, a la cual pertenece el faisán.