



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA, LEÓN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGIA**  
**DEPARTAMENTO DE QUIMICA**

**“DETERMINACION DEL CONTENIDO DE PROTEINAS  
TOTALES EN CLARA DE HUEVOS POR MÉTODOS  
GRAVIMETRICOS Y ESPECTROFOTOMETRICOS”**



**MONOGRAFÍA PARA OPTAR AL TILULO DE LICENCIADO EN QUIMICA**

**PRESENTADO POR:**

**Bra. MARIA DE LOS ANGELES BENITEZ ROMERO**

**Br. HAENGELLS KARIM GARCIA**

**TUTOR:**

**Dr. SERGIO LOPEZ GRIO**

**LEÓN, NICARAGUA, ENERO DE 2013**





**Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (UNAN-León)**

**Faculta de Ciencias y Tecnología**

El suscrito Dr. Sergio José López Grío, Profesor Titular Doctor de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua de León (UNAN-León), adscrito al Departamento de Química de la Facultad de Ciencias y Tecnología.

### **CERTIFICA**

Que la presente Memoria *Determinación del contenido de proteínas totales en clara de huevos por métodos gravimétricos y espectrofotométricos*, constituye la Monografía de:

Bra. María de los Ángeles Benítez Romero

Br. Haengells Karim García

Así mismo, certifica haber dirigido y supervisado todos los distintos aspectos relacionados con el trabajo experimental que condujeron a la elaboración y redacción de la presente Memoria.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmo la presente en León, Nicaragua, a los catorce días del mes de enero del año dos mil trece.

Dr. Sergio José López Grío



# Contenido

<b>AGRADECIMIENTO .....</b>	<b>I</b>
<b>DEDICATORIA 1 .....</b>	<b>III</b>
<b>DEDICATORIA 2 .....</b>	<b>IV</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>1</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>2</b>
<b>1- OBJETIVOS.....</b>	<b>3</b>
1.1. General.....	3
1.2. Específicos .....	3
<b>2. MARCO TEORICO .....</b>	<b>4</b>
2.1 El huevo .....	4
2.2 Características .....	4
2.3 Clasificación y procedencia de los huevos de gallina.....	6
2.3.1 Huevos de clase 0: gallinas ecológicas .....	6
2.3.2 Huevos de clase 1: gallinas camperas .....	7
2.3.3 Huevos de clase 2: gallinas criadas en galerones.....	7
2.3.4 Huevos de clase 3: gallinas criadas en jaulas .....	8
2.4. Propiedades de los huevos de gallina .....	9
2.5 Beneficios de los huevos de gallina .....	10
2.6 Las proteínas.....	10
2.6.1 Estructura de las proteínas.....	11
2.6.1.1 Estructura primaria de las proteínas.....	12
2.6.1.2 Estructura secundaria de las proteínas .....	12
2.6.1.3 Estructura terciaria de las proteínas .....	13
2.6.1.4 Estructura cuaternaria de las proteínas.....	13

2.6.2 Clasificación de las proteínas.....	14
2.6.2.1 En base a sus propiedades físico-químicas .....	14
2.6.2.2 En base a su forma .....	14
2.7 Proteínas presentes en la clara de huevo .....	15
2.8 Reacciones de reconocimiento de las proteínas .....	15
2.8.1 Reacción de Biuret .....	15
2.8.2 Reacción de los aminoácidos azufrados .....	16
2.8.3 Reacción de Millón .....	16
2.8.4 Reacción Xantoproteica .....	16
2.9 Análisis de proteínas en los alimentos .....	16
2.8 Espectrofotometría de ultravioleta-visible (UV/VIS).....	17
2.9 Gravimetría.....	18
2.9.1 Métodos usados en el análisis gravimétrico .....	18
2.9.1.1 Método por precipitación .....	18
2.9.1.2 Método por volatilización .....	19
2.9.1.3 Método por electrodeposición .....	19
2.10 Tratamiento de datos .....	20
2.10.1 Test de Cochran .....	21
2.10.2 Análisis de varianza (ANOVA) de un factor.....	22
2.10.3 Análisis de correlación.....	23
2.10.4 Test de Tukey.....	25
<b>3. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.....</b>	<b>26</b>
3.1 Materiales.....	26
3.2 Equipos .....	27
3.3 Reactivos.....	27
<b>4. SOLUCIONES.....</b>	<b>28</b>
4.4 Soluciones.....	28
4.4.1 Solución de sulfato de cobre 1% .....	28
4.4.2 Solución de hidróxido de sodio 20% .....	28

4.4.3 Solución saturada de sulfato de amonio .....	28
4.4.4 Solución “madre” de albúmina de huevo .....	28
4.4.5 Soluciones de “trabajo” de albúmina de huevo .....	29
<b>5. METODOLOGÍAS .....</b>	<b>30</b>
5.1 Separación selectiva de las proteínas en clara de huevo .....	30
5.2 Determinación de las proteínas totales por gravimetría .....	31
5.3 Elaboración de la recta de regresión .....	32
5.4 Determinación de las proteínas por espectrofotometría UV-vis .....	33
<b>6. ANÁLISIS DE RESULTADOS .....</b>	<b>34</b>
6.1 Optimización de las condiciones experimentales espectrofotométricas .....	34
6.1.1 Selección del reactivo de Biuret .....	35
6.1.2 Obtención del espectro de máxima absorción.....	37
6.1.3 Obtención de la recta de regresión .....	39
6.2 Optimización de las condiciones experimentales gravimétricas.....	41
6.3 Determinación y comparación de proteínas en huevos de distintas granjas .....	43
6.3.1 Determinación del contenido de proteínas de huevos de distintas granjas.....	43
6.3.2 Comparación del contenido de proteínas de huevos de distintas granjas.....	47
6.3.2.1 Aplicación de test de Cochran.....	47
6.3.2.2 Aplicación de análisis de varianza de un factor.....	49
6.3.2.3 Aplicación de test de Tukey.....	51
6.4 Determinación de proteínas en huevos de granja y de “amor” .....	53
<b>7. CONCLUSIONES .....</b>	<b>56</b>
<b>8. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>57</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>58</b>

<b>10. ANEXOS .....</b>	<b>60</b>
10.1 Porcentajes de proteínas en sobrenadantes de 3 granjas .....	60
10.2 Porcentajes de proteínas en precipitados de 3 granjas.....	61
10.3 Porcentajes totales de proteínas de huevos de 3 granjas .....	61
10.4 Porcentajes de proteínas en sobrenadantes de granja y de “amor” .....	62
10.5 Porcentajes de proteínas en precipitados de granja y de “amor” .....	62
10.6 Porcentajes de proteínas claras huevos de granja y de “amor” .....	63
10.7. Tabla de Cochran .....	64
10.8. Tabla de Tukey.....	65
10.9. Tabla de Snedecor .....	66
10.10. Categorías de los huevos por tamaño.....	66
10.11. Precipitado obtenido de la separación selectiva.....	67
10.12. Complejo colorimétrico obtenido .....	67



# Agradecimiento

Este trabajo monográfico, si bien es cierto ha requerido de mucho esfuerzo y dedicación, tanto por parte de nuestro tutor como de la nuestra, no hubiese sido posible sin la solidaridad, apoyo y consideración de todas y cada una de las personas que a continuación mencionaremos, muchas de las cuales estuvieron a nuestro lado tanto en los momentos buenos, como en los no tantos, que nos tocó vivir en esta Universidad.

Antes que nada, queremos dar inicialmente gracias a **Dios nuestro señor**, por estar a nuestro lado en cada uno de los pasos que dimos en este tiempo, por fortalecer nuestro corazón, dotarnos de paciencia, ayudarnos en la resignación e iluminar nuestra mente, en todos y cada uno de los instantes de incertidumbre que pasamos hasta la culminación de esta monografía.

Agradecer hoy y siempre a nuestro tutor, quien gracias a su esfuerzo, paciencia, apoyo y solidaridad, la finalización de esta monografía fue posible, a él nuestra más sincera gratitud.

Nuestro agradecimiento a los profesores del Departamento de Química, personas sinceras y entrañables con quienes tuvimos el gusto de relacionarnos y quienes nos brindaron su experiencia y conocimiento, gracias a los cuales somos profesionales de éxito, por su respaldo y palabras de apoyo en todos los momentos que vivimos en ésta Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.

A nuestros amigos y compañeros de la carrera de Química, con los cuales estudiamos y compartimos innumerables momentos de alegría y tristeza, por sus palabras de ánimo, paciencia y confianza y por siempre estar presentes cada vez que los necesitamos, a todos ellos muchas gracias.

A todo el personal administrativo y de las dependencias del Departamento de Química de la Facultad de Ciencias y Tecnología, con quienes tuvimos algún tipo de relación y que nos facilitaron el desarrollo de las actividades relacionadas con esta Monografía y que siempre nos brindaron un trato amable y cariñoso, por ser unas excelentes personas con las que pudimos contar en todo momento.

Quisiéramos dejar patente nuestro agradecimiento a todas y cada una de las personas con las que hemos tenido algún tipo de relación durante la realización de nuestros estudios, a los profesores de otros Departamento y Facultades quienes nos transmitieron sus conocimientos y que confiaron siempre en nuestras capacidades.

Finalmente quisiéramos disculparnos si por alguna razón y sin querer hemos obviado a algunas personas con las que nos hemos relacionado en alguno de los momentos de nuestros estudios, a las que se han interesado por nuestros problemas y vicisitudes y quienes nos brindaron su inestimable apoyo, colaboración y ánimo, a todas y cada una de ellas muchísimas gracias.



## Dedicatoria 1

*A mis padres:*

*Brígida Melania Romero Zapata*

*Rodolfo Benítez Álvarez*

*A mi abuela*

*Josefa Alejandrina Zapata Gutiérrez, que en Dios me la tenga  
en su gloria eterna.*

*A mi hermano:*

*Eliseo Neftali Benítez Romero*

*A mis tíos, sobrinos y primos.*

*A mis amigos y amigas.*

## Dedicatoria 2



*A mi Madre:*

*Pabla Thelma García Altamirano*

*A mi Abuela:*

*Zoraida Altamirano Paguaga que Dios la tenga en su gloria.*

*A mi Tutor:*

*Dr. Sergio López Grío por brindar su apoyo incondicional.*

*A mi hermana:*

*Amor de María García*

*A mis tíos, sobrinos y primos*

*A mis amigos y a todos aquellos que me han acompañado en este arduo camino*

# Summary

The chicken egg is a food widely available, easily digestible and rich in nutrients such as protein and minerals. The total protein content in the egg whites is close to 11% of total egg weight and is higher than in the yolk. This monograph presents a study of the percentage content of total protein in egg whites using techniques such as UV-Vis spectrophotometry and gravimetry. Initially, the experimental conditions were optimized, finding that a mixture of NaOH 20% and 1% CuSO<sub>4</sub>, wavelength 540 nm, a range of concentrations from 500 to 3000 ppm and a solution of (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> saturated with a timeout 30 minutes are optimal for the quantification of total protein in the egg white. Subsequently total proteins were determined in egg whites from different farms, finding that the sample of "Barranca" eggs has a higher content (10.57%), followed by "Granjero" eggs (9.84%) and "Estrella" eggs (9.13%). Applying statistical comparison tools as Cochran test, one-way ANOVA and Tukey test confirmed the existence of differences found in the three study samples. Finally we determine the total protein content into the farm egg whites and "love" egg whites, finding that the farm egg whites has a higher protein content (9.46%) than the "amor" egg whites (4.61%), with almost 50% difference between both. The differences are related to the type of food, drug and vaccine application and the environment in which they develop laying hens.

# Resumen

El huevo de gallina es un alimento de amplia difusión, fácil digestión y rico en nutrientes tales como proteínas y minerales. El contenido de proteínas totales en la clara de los huevos es cercano al 11% del peso total de huevo y es más alto que en la yema de éstos. En la presente monografía se muestra un estudio del contenido porcentual de proteínas totales en muestras de huevos empleando las técnicas de espectrofotometría de UV-Vis y gravimetría. Para esto inicialmente se optimizaron las condiciones experimentales encontrando que una mezcla de NaOH 20% y CuSO<sub>4</sub> 1%, una longitud de onda 540 nm, un rango de concentraciones de 500 a 3000 ppm y una disolución de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> saturada con un tiempo de espera de 30 minutos son las optimas para la cuantificación de la proteínas totales en clara de huevos. Posteriormente se determinaron las proteínas totales en las claras de 3 muestras de huevo encontrando que los huevos Barranca tiene un mayor contenido (10.57%), seguido del Granjero (9.84%) y del Estrella (9.13%). La aplicación de herramientas de comparación tales como Test de Cochran, ANOVA de un factor y Test de Tukey, confirmó la existencia de diferencias encontradas en las 3 muestras del estudio. Finalmente se determinó el contenido de proteínas totales en claras de huevos de granja y de “amor”, encontrando que los de granja tienen mayor contenido de proteínas (9.46%) que los de “amor” (4.61%), existiendo casi un 50% de diferencia entre ambos. Las diferencias encontradas se relacionan con el tipo de alimentación, la aplicación de medicamentos y vacunas y el ambiente en el que se desarrollan las gallinas ponedoras.

# **CAPITULO 1**

## **OBJETIVOS**

### **1.1. GENERAL**

Determinar el contenido de proteínas totales en clara de huevos por métodos gravimétricos y espectrofotométricos

### **1.2. ESPECIFICOS**

1. Optimizar las condiciones experimentales para la determinación de proteínas totales en claras de huevos por el método espectrofotométrico.
2. Optimizar las condiciones experimentales para la determinación de proteínas totales en claras de huevos por el método gravimétrico.
3. Determinar y comparar el contenido de proteínas totales en claras de huevos de distintas granjas.
4. Determinar el contenido de proteínas totales en claras de huevos de granja y de "amor".





# CAPITULO 2

## MARCO TEÓRICO

### 2.1 EL HUEVO

Es el sustento y protección del embrión en los animales ovíparos. Es, un alimento habitual, muy rico en proteínas y de fácil digestión [1]. Es un cuerpo redondeado de tamaño y dureza variables, que producen las hembras de diversos grupos de animales, que sustenta y protege al embrión si el óvulo es fecundado, convirtiéndose así en cigoto. Ponen huevos los vertebrados ovíparos, con poco o ningún desarrollo dentro de la madre, así como muchos invertebrados. Esta es la forma de reproducción de muchos peces, anfibios y reptiles, todas las aves, los mamíferos monotremas y la mayoría de los insectos y arácnidos. Cuando el huevo se desarrolla dentro de la madre se habla de ovoviviparismo [2].

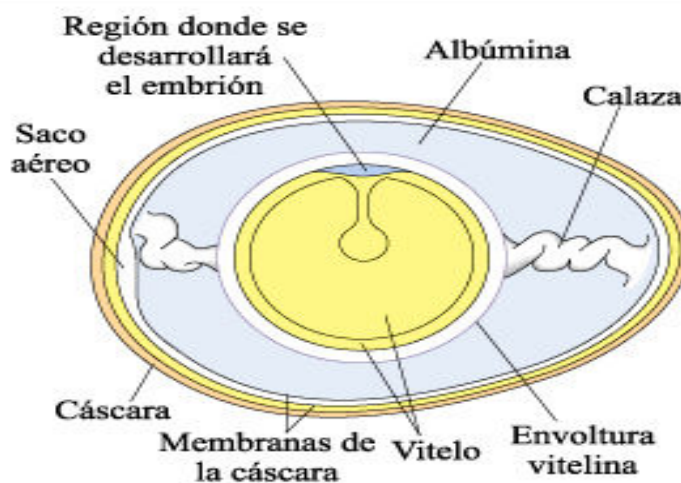
### 2.2 CARACTERÍSTICAS

Los huevos más consumidos en el mundo son los de gallina (*Gallus gallus*), seguidos por los de pato y ganso. Casi los huevos consumidos proceden de explotaciones avícolas industriales. Los huevos empleados para el consumo humano son en general y en su gran mayoría no fertilizados. A los productos obtenidos del huevo se les denomina ovoproductos. Cabe destacar que también son comestibles los huevos de algunos reptiles como las iguanas y la tortugas aunque en menor medida que los de aves.

Se considera que un huevo es “fresco” a aquellos que están destinados a un consumo en un plazo de 28 días desde la puesta de la gallina y “extra frescos” cuando lo están a tan solo un plazo de nueve días

Los huevos de gallina están constituidos básicamente por: la cáscara, la clara y la yema (ver figura 2.1).

- **LA CÁSCARA:** es un medio duro de protección que recubre a los huevos y que está constituida básicamente por carbonato de calcio. Está recubierta internamente por dos membranas que la separan y aíslan de la clara. En una de las membranas existe un saco aéreo que proporciona oxígeno para el desarrollo y subsistencia de embrión.
- **LA CLARA:** aporta las dos terceras partes del peso total del huevo. Tiene una textura casi-transparente, su composición es aproximadamente 90% agua y el resto es proteína, trazas de minerales, materiales grasos y vitaminas. Las proteínas de la clara están presentes para defender al huevo de la infección de bacterias y otros microorganismos, su función biológica es de detener agresiones bioquímicas del exterior. Las proteínas de la clara suelen referirse en general al término **albúmina**. En la clara existe la denominada **calaza**, que está constituida por proteínas y que tiene la función de mantener la yema en el centro del huevo, formando dos listones retorcidos que van de la yema a hacia los extremos. Además proporcionar agua y proteínas al embrión.
- **LA YEMA:** aporta la tercera parte del peso total del huevo y su función biológica es de aportar nutrientes, vitaminas y calorías, a los pollos que crecerán en su interior. Está aislada de la clara por una membrana o envoltura vitelina, es decir la estructura biológica que se encuentra directamente adyacente a la superficie exterior de la membrana plasmática de un óvulo. Esta contiene el vitelo que es la parte del citoplasma del cigoto que contiene elementos nutritivos tales como lípidos o gránulos de carbohidratos y que es aportado en su mayoría por el óvulo.



**Figura 2.1** Partes de un huevo de gallina.

## 2.3 CLASIFICACIÓN Y PROCEDENCIA DE LOS HUEVOS DE GALLINA [3]

Los huevos se clasifican en categorías y procedencias en:

### 2.3.1 HUEVOS DE CLASE 0: GALLINAS ECOLÓGICAS [3]

Son aquellos procedentes de instalaciones similares a las de las gallinas camperas pero son de producción ecológica.

No suelen ser tratadas con químicos (ni ellas ni sus jaulas), no están medicadas sistemáticamente y su alimentación no proviene de transgénicos, (Organismo Modificado Genéticamente, OMG), ni de agricultura intensiva, su alimentación es a base de piensos procedentes de agricultura ecológica.



Estas son criadas en espacios libres que tienen las siguientes características:

- Las condiciones del alojamiento deben responder a las necesidades biológicas y etológicas de las aves. Permiten el movimiento del animal. Acceso al aire libre.
- Espacio mínimo de 6 gallinas/m<sup>2</sup> en espacios interiores y 4 gallinas /m<sup>2</sup> en espacios exteriores.
- Luz artificial siempre activada para conseguir máxima producción. Con acceso a luz natural
- El 80% de la alimentación está compuesta por alimentos procedentes de la agricultura ecológica.
- Acceso a hierba y plantas vivas.

### 2.3.2 HUEVOS DE CLASE 1: GALLINAS CAMPERAS [3]

Son aquellos procedentes de gallinas con acceso a corrales al aire libre y entornos vivos. Estas granjas tienen además de gallinero como las ponedoras en suelo, corrales al aire libre a los que tiene acceso todo el día. Se considera una densidad máxima de 2500 gallinas por hectárea (4 m<sup>2</sup> por gallina).



Estas son criadas en galerones que tienen las siguientes características:

- Espacio mínimo de 6 gallinas/m<sup>2</sup> en espacios interiores y 4 gallinas /m<sup>2</sup> en espacios exteriores.
- Permiten el movimiento del animal.
- Luz artificial siempre activada para conseguir máxima producción.
- Tienen acceso a luz natural.
- Acceso al aire libre.
- Alimentación compuesta por cereales (62-82%) habitualmente transgénicos, (Organismo Modificado Genéticamente, OMG), proteína de pescado (12 a 19%), huevo molido (1.5-2%) y sal común (1%).
- Uso de medicamentos y antibióticos habituales mezclados con la comida.
- Acceso a hierba y plantas vivas.
- Corte de picos no recomendado.

### 2.3.3 HUEVOS DE CLASE 2: GALLINAS CRIADAS EN GALERONES [3]

Son aquellos que provienen de gallinas que viven en galerones densamente poblados y que suelen morir por asfixia de calor en verano.

No están en jaulas pero nunca salen al exterior. Las gallinas se mueven libremente dentro del gallinero en el que tienen agua, comida, ponederos y zonas de descanso. En esta se establece una densidad como máximo de 9 gallinas por m<sup>2</sup>.

Estas son criadas en galerones que tienen las siguientes características:

- Espacio mínimo de 12 gallinas por m<sup>2</sup>.
- Permiten el movimiento del animal.
- Luz artificial siempre activada para conseguir máxima producción.
- Sin acceso a luz natural. Sin acceso al aire libre.
- Sin acceso a hierba y plantas vivas.
- Alimentación compuesta por cereales (62-82%) habitualmente transgénicos, proteína de pescado (12 a 19%), huevo molido (1.5-2%) y sal común (1%).
- Son medicadas sistemáticamente con piensos que incluyen antibióticos.
- Corte de picos habitual.

#### **2.3.4 HUEVOS DE CLASE 3: GALLINAS CRIADAS EN JAULAS [3]**

Son aquellos procedentes de gallinas criadas en jaulas las 24 horas sin poder moverse. Las ponedoras viven en galerones sin ventanas, en jaulas de hasta 8 pisos, son los huevos más habituales en los supermercados, tiendas y supermercados, los animales no suelen llegar a cumplir los 18 meses de vida.

Las gallinas están dentro de jaulas diseñadas para facilitar la recogida de los huevos evitando que se ensucien con el estiércol. Estas instalaciones facilitan el control sanitario y la limpieza. Éste es el sistema más utilizado los distintos países.

Estas son criadas en galerones que tienen las siguientes características:



- Espacio mínimo de 12 gallinas por m<sup>2</sup>.
- Jaulas que no permiten el movimiento del animal.
- Luz artificial siempre activada para conseguir máxima producción.
- Sin acceso a luz natural.
- Sin acceso al aire libre. Sin acceso a hierba y plantas vivas.
- Alimentación compuesta por cereales (62-82%) habitualmente transgénicos, (Organismo Modificado Genéticamente, OMG), proteína de pescado (12 a 19%), huevo molido (1.5-2%) y sal común (1%).
- Uso de medicamentos y antibióticos diarios mezclados con la comida.
- Corte de picos habitual.

#### 2.4. PROPIEDADES DE LOS HUEVOS DE GALLINA [4]

Los huevos de gallina son un alimento rico en vitamina B<sub>7</sub> ya que 100 g. de este alimento contienen 25 µg de vitamina B<sub>7</sub>. Este alimento también tiene una alta cantidad de vitamina B<sub>5</sub>. La cantidad de vitamina B<sub>5</sub> que tiene es de 1.77 µg por cada 100 g.

Entre las propiedades nutricionales de los huevos de gallina se muestran en la siguiente tabla:

Nutriente	Cantidad/ 100g	Nutriente	Cantidad/ 100g
Hierro	2.20 mg	Vitamina B <sub>3</sub>	3.33 mg
<b>Proteínas</b>	<b>12.68 g</b>	Vitamina B <sub>6</sub>	0.12 mg
Calcio	56.20 mg	Vitamina B <sub>9</sub>	51.20 µg
Potasio	147 mg	Vitamina B <sub>12</sub>	2.10 µg
Yodo	12.70 mg	Vitamina D	1.80 µg
Zinc	2 mg	Vitamina E	1.93 mg
Carbohidratos	0.68 g	Vitamina K	8.90 µg
Magnesio	12.10 mg	Fósforo	216 mg
Sodio	144 mg	Calorías	162 kcal
Vitamina A	226.67 µg	Colesterol	410 mg
Vitamina B <sub>1</sub>	0.11 mg	Grasa	12.10 g
Vitamina B <sub>2</sub>	0.37 mg	Azúcar	0.68 g

## 2.5 BENEFICIOS DE LOS HUEVOS DE GALLINA [4]

La vitamina B<sub>5</sub> o ácido pantoténico, que se encuentra de forma abundante en los huevos de gallina hace que este alimento sea útil para combatir el estrés y las migrañas. El contenido de vitamina B<sub>5</sub> de este alimento también hace de este un alimento recomendable para reducir el exceso de colesterol. La vitamina B<sub>7</sub> o biotina, abundante en los huevos de gallina es bueno para mejorar la salud del cabello, las uñas y la piel. Los enfermos de diabetes también pueden beneficiarse tomando este alimento, ya que la vitamina B<sub>7</sub> contenida en él, puede ayudar a estabilizar los niveles de azúcar en la sangre. Por su alta cantidad en colesterol, este alimento no es recomendable para personas que tengan un nivel de colesterol alto en su sangre.

## 2.6 LAS PROTEINAS [5]

Son moléculas formadas por cadenas lineales de aminoácidos. El término *proteína* proviene de la palabra francesa protéine y esta del griego πρωτεῖος (proteios), que significa 'prominente, de primera calidad'.

Las proteínas son indispensables para la vida, sobre todo por su función plástica (constituyen el 80% del protoplasma deshidratado de toda célula), pero también por sus funciones biorreguladoras (forma parte de las enzimas) y de defensa (los anticuerpos son proteínas).

Las proteínas desempeñan un papel fundamental para la vida y son las biomoléculas más versátiles y más diversas. Son imprescindibles para el crecimiento del organismo. Realizan una enorme cantidad de funciones diferentes, entre las que destacan:

1. **Estructural.** Esta es la función más importante de una proteína (Ej: colágeno),
2. **Inmunológica** (anticuerpos),
3. **Enzimática** (Ej: sacarasa y pepsina),
4. **Contráctil** (actina y miosina).
5. **Homeostática:** colaboran en el mantenimiento del pH (ya que actúan como un tampón químico),
6. **Transducción o transporte de señales** (Ej: rodopsina)
7. **Protectora o defensiva** (Ej: trombina y fibrinógeno)

Debido muchas actividades biológicas en los organismos vivos dependen de la presencia o la actividad de este tipo de moléculas, podemos considerar como proteínas a:

- Casi todas las enzimas en los organismos vivientes.
- Muchas hormonas reguladores de actividades celulares
- La hemoglobina y otras moléculas con funciones de transporte en la sangre.
- Los anticuerpos, encargados de acciones de defensa natural contra infecciones o agentes patógenos.
- Los receptores de las células, a los cuales se fijan moléculas capaces de desencadenar una respuesta determinada.
- La actina y la miosina, responsables finales del acortamiento de los músculos durante la contracción.
- El colágeno, integrante de fibras altamente resistentes en tejidos de sostén.

### **2.6.1 ESTRUCTURA DE LAS PROTEINAS [5]**

La estructura de las proteínas es la forma como se organizan éstas para adquirir una determinada forma o presentar una disposición característica en condiciones fisiológicas específicas. Si se cambian estas condiciones (temperatura, pH, salinidad, etc.) las proteínas pierden su conformación estructural y su función, proceso que es denominado “desnaturalización”.

La función de las proteínas depende de la conformación estructural y ésta viene determinada por la secuencia de aminoácidos.

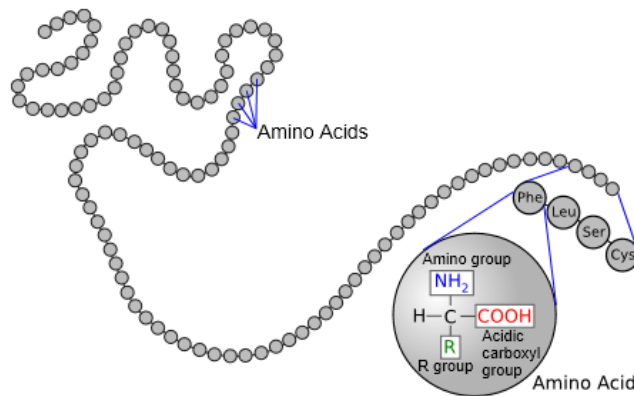
La conformación estructural de las proteínas se divide en cuatro niveles de organización, (aunque el cuarto no siempre está presente).

1. Estructura primaria.
2. Estructura secundaria.
3. Estructura terciaria.
4. Estructura cuaternaria



### 2.6.1.1 ESTRUCTURA PRIMARIA DE LAS PROTEINAS [5]

Es la forma de organización más básica de las proteínas. Está determinada por la secuencia de aminoácidos de la cadena proteica, es decir, el número de aminoácidos presentes y el orden en que están enlazados por medio de enlaces peptídicos. Las cadenas laterales de los aminoácidos se extienden a partir de una cadena principal. Por convención, el orden de escritura de este tipo de estructura es siempre desde el grupo amino-terminal hasta el carboxi-terminal.



**Figura 2.2** Estructura primaria de una proteína.

### 2.6.1.2 ESTRUCTURA SECUNDARIA DE LAS PROTEINAS [5]

Es el plegamiento regular local entre los residuos aminoacídicos cercanos de la cadena polipeptídica. Se adopta gracias a la formación de enlaces de hidrógeno entre los grupos carbonilo (-CO-) y amino (-NH-) de los carbonos involucrados en las uniones peptídicas de aminoácidos cercanos en la cadena. Estos también se los encuentra en forma de espiral aplana. Esta contiene básicamente dos conformaciones:

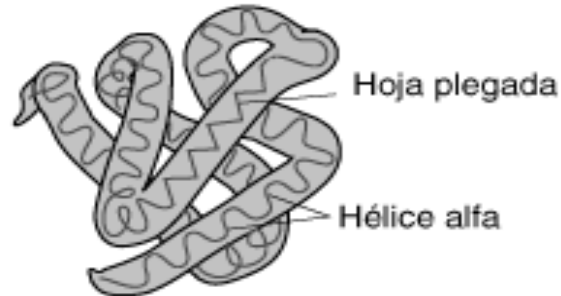
- **Hélice alfa:** En esta estructura la cadena polipeptídica se desarrolla en espiral sobre sí misma debido a los giros producidos en torno al carbono beta de cada aminoácido.
- **Hoja plegada beta:** Cuando la cadena principal se estira al máximo que permiten sus enlaces covalentes se adopta una configuración espacial denominada cadena beta. Algunas regiones de proteínas adoptan una estructura en zigzag y se asocian entre sí estableciendo uniones mediante enlaces de hidrógeno intercatenarios.



**Figura 2.3** Estructura secundaria de una proteína.

### 2.6.1.3 ESTRUCTURA TERCIARIA DE LAS PROTEINAS [5]

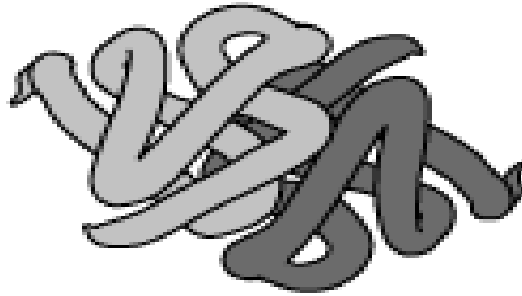
Es el modo en el que la cadena polipeptídica se pliega en el espacio. Es la disposición de los dominios protéicos en el espacio. La estructura terciaria posee cantidades variables de helices-alfa y beta y otras con una estructura flexible que puede cambiar al azar. En esta estructura, generalmente los aminoácidos apolares se sitúan hacia el interior de la proteína y los polares hacia el exterior, de manera que puedan interactuar con el agua circundante.



**Figura 2.4** Estructura terciaria de una proteína.

### 2.6.1.4 ESTRUCTURA CUATERNARIA DE LAS PROTEINAS [5]

Deriva de la conjunción de varias cadenas aminoacídicas que gracias a su unión realizan el proceso de la disjunción, dando así un resultado favorable ante las proteínas ya incrementadas. A través de la organización proteica cuaternaria se forman estructuras de gran importancia biológica como los microtúbulos, microfilamentos, capsómeros de virus y complejos enzimáticos. También las fibrillas colágenas encontradas en el espacio extracelular del tejido conjuntivo están constituidas por la agregación de cadenas polipeptídicas de tropocolágeno.



**Figura 2.5** Estructura cuaternaria de una proteína.

## 2.6.2 CLASIFICACIÓN DE LAS PROTEINAS

Las proteínas se clasifican:

### 2.6.2.1 EN BASE A SUS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Según esto las proteínas se clasifican en:

- **Proteínas simples** (holoproteidos), que por hidrólisis dan solo aminoácidos o sus derivados.
- **Proteínas conjugadas** (heteroproteidos), que por hidrólisis dan aminoácidos acompañados de sustancias diversas.
- **Proteínas derivadas**, sustancias formadas por desnaturalización y desdoblamiento de las anteriores.

### 2.6.2.2 EN BASE SU FORMA

Según esto las proteínas se clasifican en:

- **Fibrosas:** presentan cadenas polipeptídicas largas y una estructura secundaria atípica. Son insolubles en agua y en disoluciones acuosas. Algunos ejemplos de éstas son queratina, colágeno y fibrina.
- **Globulares:** se caracterizan por doblar sus cadenas en una forma esférica apretada o compacta dejando grupos hidrófobos hacia adentro de la proteína y grupos hidrófilos hacia afuera, lo que hace que sean solubles en disolventes polares como el agua. La mayoría de las enzimas, anticuerpos, algunas hormonas y proteínas de transporte, son ejemplos de proteínas globulares.
- **Mixtas:** posee una parte fibrilar (comúnmente en el centro de la proteína) y otra parte globular (en los extremos).

## 2.7 PROTEINAS PRESENTES EN LA CLARA DE HUEVO [6]

Un huevo de gallina en general contiene aproximadamente un 11.0% de proteínas totales. Entre las proteínas que podemos encontrar en la clara de un huevo tenemos:

- **OVOMUCINA:** que es el 1.5% de la albúmina proteínica existente en el huevo. Es la responsable de cuajar el huevo frito y cocido. Su misión biológica es la de ralentizar la penetración de los microbios.
- **OVOALBÚMINA:** es la más abundante del huevo. Se desnaturaliza fácilmente con el calor.
- **CONALBÚMINA:** que es aproximadamente el 14% del total de las proteínas de la clara de huevo.
- **OVOMUCOIDE:** que es aproximadamente el 11%, del total de las proteínas de la clara de huevo. Es la causante de muchas de las respuestas alérgicas al huevo.
- **LISOZIMA:** es aproximadamente el 3.5 % del total de las proteínas de la clara de huevo. Actúa como antibiótico.
- **AVIDINA:** es aproximadamente el 0.005% del total de las proteínas de la clara de huevo. Se une a la Biotina y la bloquea.
- **FLAVOPROTEINA:** es aproximadamente el 0.8% del total de las proteínas de la clara de huevo. Es precursora de vitaminas.
- **OVOINHIBIDOR:** es aproximadamente el 1.5% del total de las proteínas de la clara de huevo. Es la principal enzima antiproteinasa de la clara.

## 2.8 REACCIONES DE RECONOCIMIENTO DE LAS PROTEINAS

Son muchas las reacciones con las que se pueden reconocer las proteínas entre estas tenemos:

### 2.8.1 REACCIÓN DE BIURET

El reactivo de Biuret está formado por una disolución de sulfato de cobre en medio alcalino, este reconoce el enlace peptídico de las proteínas mediante la formación de un complejo de coordinación entre los iones  $\text{Cu}^{2+}$  y los pares de electrones no compartidos del nitrógeno que forma parte de los enlaces peptídicos, lo que produce una coloración rojo-violeta.

### 2.8.2 REACCIÓN DE LOS AMINOACIDOS AZUFRADOS

Se pone de manifiesto por la formación de un precipitado negruzco de sulfuro de plomo. Se basa esta reacción en la separación mediante un álcali, del azufre de los aminoácidos, el cual al reaccionar con una solución de acetato de plomo, forma el sulfuro de plomo.

### 2.8.3 REACCIÓN DE MILLON

Reconoce residuos fenólicos, o sea aquellas proteínas que contengan tirosina. Las proteínas se precipitan por acción de los ácidos inorgánicos fuertes del reactivo, dando un precipitado blanco que se vuelve gradualmente rojo al calentar.

### 2.8.4 REACCIÓN XANTOPROTEICA

Reconoce grupos aromáticos, o sea aquellas proteínas que contengan tirosina o fenilalanina, con las cuales el ácido nítrico forma compuestos nitrados amarillos

## 2.9 ANÁLISIS DE PROTEINAS EN LOS ALIMENTOS

El clásico ensayo para medir concentración de proteínas en alimentos es el método de Kjeldahl. Este ensayo determina el nitrógeno total en una muestra. El único componente de la mayoría de los alimentos que contiene nitrógeno son las proteínas.

Si la cantidad de nitrógeno es multiplicada por un factor dependiente del tipo de proteína esperada en el alimento, la cantidad total de proteínas puede ser determinada.



En las etiquetas de los alimentos, la proteína es expresada como el nitrógeno multiplicado por 6.25, porque el contenido de nitrógeno promedio de las proteínas es de aproximadamente 16%. El método de Kjeldahl es usado porque es el método que la AOAC (**Asociación Oficial de químicos Analíticos**) International ha adoptado y por lo tanto es usado por varias agencias alimentarias alrededor del mundo.

## 2.8 ESPECTROFOTOMETRÍA DE ULTRAVIOLETA-VISIBLE (UV/VIS)

La espectroscopia ultravioleta-visible o espectrofotometría ultravioleta-visible (UV/VIS) es una espectroscopia de fotones, que utiliza la radiación electromagnética (luz) de las regiones visible, ultravioleta cercana (UV) e infrarroja cercana (IR) del espectro electromagnético. La radiación absorbida por las moléculas desde esta región del espectro provoca transiciones electrónicas que pueden ser cuantificadas.



En este tipo de técnica se suelen utilizar las radiaciones del campo UV de 80 a 400 nm, del UV cercano de 200 a 400 nm y de la luz visible de 400 a 800 nm, por lo que es de gran utilidad para caracterizar y cuantificar las soluciones de sustancias en la región ultravioleta-visible del espectro.

La cuantificación de la concentración de una sustancia se realiza mediante la comparación de la radiación absorbida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto, respecto a la radiación absorbida por una sustancia que contiene una concentración conocida de la misma sustancia. Existe una relación proporcional lineal entre la absorbancia y la concentración de la sustancia, la que es regida por la Ley de Lambert – Beer. La concentración de la sustancia se determina empleando el método de mínimos cuadrados, esto es obteniendo la ecuación de la recta y conociendo la lectura de la sustancia problema se calcula su concentración.

Esta técnica se utiliza para identificar algunos grupos funcionales de moléculas, y además, para determinar el contenido y fuerza de una sustancia. Se usa de manera general en la determinación cuantitativa de los componentes de soluciones de iones de metales de transición y compuestos orgánicos altamente conjugados.

## 2.9 GRAVIMETRÍA

La gravimetría es una técnica que consiste en determinar la cantidad proporcionada de un elemento, radical o compuesto presente en una muestra, eliminando todas las sustancias que interfieren y convirtiendo el constituyente o componente deseado en un compuesto de composición definida, que sea susceptible de pesarse.

Es un método analítico cuantitativo, que determina la cantidad de sustancia, midiendo el peso inicial de la misma con una balanza analítica y respecto al peso final una vez llevado a cabo la volatilización del solvente empleado en el análisis.



Los cálculos se realizan con base en los pesos atómicos y moleculares, y se fundamentan en una constancia en la composición de sustancias puras y en las relaciones ponderales (estequiometría) de las reacciones químicas

### 2.9.1 METODOS USADOS EN EL ANÁLISIS GRAVIMÉTRICO

En análisis gravimétrico se emplean los siguientes métodos:

#### 2.9.1.1 MÉTODO POR PRECIPITACIÓN

Técnica analítica clásica que se basa en la precipitación de un compuesto de composición química conocida tal que su peso permita calcular mediante relaciones, generalmente estequiométricas, la cantidad original de analito en una muestra.

En este tipo de análisis suele prepararse una solución que contiene al analito ya que este está en solución madre, a la que posteriormente se agrega un agente precipitante, que es un compuesto que reacciona con el analito en la solución para formar un compuesto de muy baja solubilidad. Posteriormente se realiza la separación del precipitado de la solución madre empleando técnicas sencillas de separación tales como la decantación y/o el filtrado.

Una vez separado el sólido precipitado de la solución se procede a secarlo en un horno o estufa para eliminar el remanente de humedad, para finalmente pesarlo y relacionar de esta forma la cantidad de precipitado con la cantidad de analito en la muestra original. El analito a cuantificar se establece de acuerdo a la reacción y su relación estequiométrica con el agente precipitante.

En este método el analito es convertido en un precipitado poco soluble, luego se filtra, se purifica, es convertido en un producto de composición química conocida y se pesa.

Para que este método pueda aplicarse se requiere que el analito cumpla ciertas propiedades:

- Baja solubilidad
- Alta pureza al precipitar
- Alta filtrabilidad
- Composición química definida al precipitar

### **2.9.1.2 MÉTODO POR VOLATILIZACIÓN**

En este método se miden los componentes de la muestra que son o pueden ser volátiles. El método será directo si evaporamos el analito y lo hacemos pasar a través de una sustancia absorbente que ha sido previamente pesada así la ganancia de peso corresponderá al analito buscado; el método será indirecto si volatilizamos el analito y pesamos el residuo posterior a la volatilización así pues la pérdida de peso sufrida corresponde al analito que ha sido volatilizado.

El método por volatilización solamente puede utilizarse si el analito es la única sustancia volátil o si el absorbente es selectivo para el analito.

### **2.9.1.3 MÉTODO POR ELECTRODEPOSICIÓN**

Este método se basa en la deposición sobre un electrodo de un compuesto de relación conocida con el analito que se requiere cuantificar. La cuantificación se realiza mediante la diferencia de peso que se produce en los electrodos antes y después de realizar una reacción redox en la solución problema, que se moldea ocasionando la precipitación del analito o de un compuesto formado por el mismo.



## **2.10 TRATAMIENTO DE DATOS**

Para el tratamiento de datos obtenidos del análisis de muestras de diversos orígenes, los laboratorios de servicio o investigación, suelen usar diferentes estrategias de tratamiento estadístico, de estos datos.

En este sentido los laboratorios, pueden utilizar una gran variedad de herramientas estadísticas definidas para usos generales o concretos. Una vez que los datos han sido obtenidos como mínimo por triplicado, se deben definir qué o cual herramienta nos sirve para el propósito que nos hemos planteado.

Así si nuestra intención es expresar el error o incertidumbre de la medida objeto de nuestro estudio, debemos identificar las fuentes de incertidumbre que afecta a la medida o mensurando y luego en base a un procedimiento establecido utilizar las herramientas adecuadas para tal fin. Pero si nuestro fin es estudiar la posible relación o asociación entre muestras de un mismo material debemos utilizar otras herramientas, también ya definidas.

En muchos casos el error o incertidumbre, puede ser expresado como la desviación estándar de las medidas o como el intervalo de confianza de las medidas. Esto es aplicable cuando existan pocas fuentes que afecten a la medida.

Sin embargo cuando existan muchas fuentes que la afecten, se debe considerar la aplicación de un protocolo que considere todas las fuentes, lo que convierte a este cálculo en algo muy complejo, pero que necesariamente debe hacerse.

En algunos casos cuando se trabaje con rectas de regresión, la incertidumbre de la medida puede ser calculada usando la denominada: Incertidumbre de las predicciones, que toma en cuenta pendiente, las replicas, el número de puntos de la recta, etc. Lo cual nos da un valor de incertidumbre bastante acertado.

En el caso en que nuestro fin sea comparar, relacionar o asociar muestras, podemos emplear diversas herramientas entre las que podemos mencionar:

1. **COMPARACIÓN DE VARIANZAS:** respecto a un valor conocido, de dos conjuntos de muestras a través de los test de Fisher o de varias varianzas a través de los test de Cochran, Bartlett o Levene.
2. **COMPARACIÓN DE MEDIAS:** respecto a un valor conocido, de muestras apareadas, de muestras independientes con distintas varianzas, de muestras independientes con varianzas iguales, ANOVA de un factor o de dos o más factores, comparación de medias múltiples mediante los test de Bonferroni y Tukey.

En el caso específico de esta monografía se plantea el uso de comparación de varias varianzas y de medias, por lo que emplearemos los test de Cochran, ANOVA y de Tukey, los que pasaremos a describir brevemente.

### 2.10.1 TEST DE COCHRAN

Este se emplea cuando las muestras cuyas varianzas se van a comparar, poseen tamaños iguales y los grados de libertad por lo tanto son iguales. Para ello se calcula el estadístico, G, mediante la expresión:

$$G_{\text{cal}} = \frac{S_{i,\text{max}}^2}{S_1^2 + S_2^2 + \dots + S_r^2}$$

Donde:

$S_{i,\text{max}}^2$  es la mayor de las varianzas a ser comparada

$S_i^2$  es cada una de las varianzas muestrales

r es el número de muestras independientes

$n_1 = n_2 = \dots = n_r = n$  es el número de repeticiones de las muestras

n - 1 son los grados de libertad

En este test las hipótesis nulas y alternativas a ser planteadas son:

$$H_0 = S_1^2 = S_2^2 = S_3^2 = S_4^2 = S_5^2 = \dots S_i^2$$

$$H_1 = S_1^2 \neq S_2^2 \neq S_3^2 \neq S_4^2 \neq S_5^2 \neq \dots S_i^2$$

Una vez que se calcula el  $G_{\text{cal}}$ , este se compara con un  $G_{\text{tab}}$  que se encuentra tabulado en las tablas de G de Cochran, para un total de n-1 grados de libertad y k muestras independientes.

Si:

$G_{cal} < G_{(n-1, k)}$ , se acepta  $H_0$  y se concluye que las varianzas no difieren significativamente, esto es que hay homogeneidad de las varianzas.

$G_{cal} > G_{(n-1, k)}$ , se acepta  $H_1$  y se concluye que al menos una de las varianzas difiere significativamente de las demás es decir que hay heterogeneidad de las varianzas.

### 2.10.2 ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DE UN FACTOR

El ANOVA se emplea para comparar si las medias de un conjunto de datos numéricos son significativamente distintas a los valores de otro o más conjuntos de datos. El procedimiento para comparar estos valores está basado en la varianza global observada en los grupos de datos numéricos a comparar. Típicamente, el análisis de varianza se utiliza para asociar una probabilidad a la conclusión de que la media de un grupo de puntuaciones es distinta de la media de otro grupo de puntuaciones.

El ANOVA se basa en la descomposición de la variación total de los datos con respecto a la media global (SCT), que bajo el supuesto de que  $H_0$  es cierta con una cierta estimación obtenida a partir de toda la información muestral, en dos partes:

- Variación dentro de las muestras (SCD) o Intra grupos, cuantifica la dispersión de los valores de cada muestra con respecto a sus correspondientes medias.
- Variación entre muestras (SCE) o Inter grupos, cuantifica la dispersión de las medias de las muestras con respecto a la media global.

En esta prueba las hipótesis nula y alternativa son:

$$H_0 = \bar{X}_1 = \bar{X}_2 = \bar{X}_3 = \bar{X}_4 = \bar{X}_5 = \dots \bar{X}_i$$
$$H_1 = \bar{X}_1 \neq \bar{X}_2 \neq \bar{X}_3 \neq \bar{X}_4 \neq \bar{X}_5 \neq \dots \bar{X}_i$$

Se acepta  $H_0$  si:  $F_{cal}^2 < F_{(k-1), (N-k), 0.05}^2$  y se concluye que las medias son iguales.

Se acepta  $H_1$  si:  $F_{cal}^2 > F_{(k-1), (N-k), 0.05}^2$  y se concluye que el menos una de las media es distinta de todas las comparadas. El ANOVA, permite obtener la así denominada tabla de ANOVA en la que se refleja los resultados del análisis, esta se muestra en la figura 2.6.

Variabilidad	Suma de Cuadrados	g.l.	Cuadrados medios	F <sub>cal</sub>
<b>Entre</b>	$SC_E = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (\bar{X}_i - \bar{X})^2$ $= \sum_{i=1}^k n_i (\bar{X}_i - \bar{X})^2$	k - 1	$CM_E = \frac{SC_E}{k - 1}$	$F_{cal} = \frac{CM_E}{CM_D}$
<b>Dentro</b>	$SC_D = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (\bar{X}_{ij} - \bar{X})^2$ $= \sum_{i=1}^k (n_i - 1) X_i^2$	N - k	$CM_D = \frac{SC_D}{N - k}$	
<b>Total</b>	$SC_T = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (\bar{X}_{ij} - \bar{X}_i)^2$	N - 1		

**Figura 2.6** Estructura de la tabla de ANOVA de un factor.

En la tabla, **k** es el número de series o columnas de la matriz a ser comparadas y **N** es el número total de datos de la matriz.

Para la realización del análisis de varianza es necesario el cumplimiento de 3 condiciones:

1. **Independencia:** cada serie de datos debe ser independiente de las demás, es decir los datos de una serie no deben estar correlacionados con los de otra serie.
2. **Normalidad:** la distribución interna de cada serie de datos debe ser normal lo que conviene comprobar mediante un test de normalidad.
3. **Homogeneidad:** las varianzas de las series de datos deben ser iguales.

### 2.10.3 ANÁLISIS DE CORRELACIÓN

La correlación es una medida de la asociación entre dos variables. Cuando existe correlación; los valores a lo largo de las dos variables están ligados entre sí de algún modo, de forma que una variable proporciona información sobre la otra. La asociación de variables se estima mediante la covarianza y el coeficiente de correlación lineal de Pearson, *r*.

En el cálculo de la covarianza y del coeficiente de correlación, solo interesa el grado de asociación entre las dos variables, siendo indiferente cual de las dos es la dependiente y cual la independiente.

La covarianza se calcula mediante la expresión:

$$cov(x, y) = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{n - 1}$$

Las covarianzas son positivas cuando las variables covarían en el mismo sentido, y negativas cuando lo hacen en sentido opuesto.

Como medida de asociación entre variables la covarianza tiene el inconveniente de que depende de la escala en la que se expresan las variables. Puesto que la covarianza depende de la escala y además no es acotada, observando únicamente su valor no es posible saber si dos variables están fuertemente asociadas o si su asociación es débil.

Por ello, para medir la asociación entre variables se prefiere utilizar el coeficiente de correlación lineal, que es una medida relativa de la covarianza. Se calcula dividiendo la covarianza por las desviaciones estándar de las dos series:

$$r = \frac{cov(x, y)}{S_x S_y}$$

Este coeficiente es adimensional y por lo tanto independiente de la escala de las variables. Se considera que si:

- $r = \pm 1$  existe correlación o dependencia entre las dos variables a ser correlacionadas.
- $r \neq \pm 1$  no existes correlación o dependencia entre las dos variables a ser correlacionadas.

Cuando tenemos varia variables a ser correlacionadas, los resultados se suelen reflejar en la llamada matriz de correlación, tal y como se muestra en la figura 2.7.

	Variable 1	Variable 2	Variable 3	.....	Variable j
Variable 1	$r_{1,1}$				
Variable 2	$r_{1,2}$	$r_{2,2}$			
Variable 3	$r_{1,3}$	$r_{2,3}$	$r_{3,3}$		
⋮		⋮	⋮	.....	
Variable j	$r_{1,j}$	$r_{2,j}$	$r_{3,j}$	.....	$r_{j,j}$

**Figura 2.7** Matriz de correlación entre varias variables.

#### 2.10.4 TEST DE TUKEY

El paso siguiente al análisis de la varianza (en el caso de medias distintas) consiste en examinar las medias de cada muestra y la magnitud de las diferencias entre ellas con el objeto de estudiar a qué se debe la significación encontrada. El método más usual del análisis posterior de los datos consiste en realizar todas las posibles comparaciones de las medias por parejas. En estas circunstancias, la única cosa razonable que puede uno preguntarse es qué parejas de medias son iguales y cuales son distintas.

En esencia se debe contrastar las siguientes hipótesis:

$$H_0: \bar{X}_i = \bar{X}_j$$

$$H_1: \bar{X}_i \neq \bar{X}_j$$

Posteriormente se calcula un estadístico t, para cuando los tamaños muestrales son iguales, digamos a n, entonces  $n_i = n_j = n$  y la expresión de  $t_{cal}$  será:

$$t_{cal} = \frac{|\bar{X}_i - \bar{X}_j|}{\sqrt{\frac{2 CM_{Dentro}}{n}}}$$

Donde:

$\bar{X}_i$  y  $\bar{X}_j$  son las medias de las series i y j, respectivamente.

$CM_{Dentro}$ , es el valor del cuadrado medio dentro, obtenido en el ANOVA.

n es la cantidad de repeticiones de las series de datos.

Una vez que se calcula el  $t_{cal}$ , este se compara con un  $t_{tab}$  que se encuentra tabulado en las tablas de t Tukey, para un total de n-1 grados de libertad, k número de medias y nivel de significación ( $\alpha$ ) previamente establecido.

Si:

$t_{cal} < t_{(n-1, k) 0.05}$ , se acepta  $H_0$  y se concluye que la pareja de medias no difieren significativamente, esto es que son iguales.

$t_{cal} > t_{(n-1, k) 0.05}$ , se acepta  $H_1$  y se concluye que al menos una de las medias de la pareja comparada difiere significativamente de la otra por lo que son diferentes.

# CAPITULO 3

## MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

Para la realización de la presente monografía, se emplearon los siguientes materiales, equipos y reactivos.

### 3.1 MATERIALES

- Probeta de 100 mL (Fisher)
- Varillas de vidrio (Fisher)
- Beaker de 50 mL (Pirex)
- Beaker de 100 mL (Pirex)
- Balones de 10 mL (Kimax)
- Espátula (Fisher)
- Pizeta de 500 mL (Fisher)
- Pipeta serológica de 1 mL (Pirex)
- Dispensador para pipetas (Fisher)
- Gotero (Fisher)
- Tubos para centrifuga 30 mL (Fisher)
- Viales 10 mL (Fisher)
- Frascos de propileno 250 mL (Fisher)
- Papel filtro N° 4 (Whatman)
- Celda de cuarzo 2 mL (Spectronic)
- Filtros para calibración de espectrofotómetro (Spectronic)
- Guantes de latex, talla M: (Quinimed)
- Micropipeta de 1000 µL (Clinipec)
- Puntas para micropipetas (Fisher)
- Desecador (Fisher)

### 3.2 EQUIPOS

- Balanza (Ohaus, Ep 210)
- Balanza Analítica (Sartorius MC1 AC 210 s)
- Centrifuga Mixtasel (PSelecta)
- Espectrofotometro Uv-Vis (Shimadzu Uv-1203)
- Horno Digital (WTCbinder)

### 3.3 REACTIVOS

- Sulfato de Cobre pentahidratado (Merck)
- Hidroxido de Sodio (Fisher)
- Sulfato de Amoniol (Fisher)
- Acido Acetico Glacial (JTB Baker)
- Albumina de Huevo (Merck)



# CAPITULO 4

## SOLUCIONES

Para la realización de la presente monografía, se prepararon y emplearon las siguientes soluciones.

### **4.1 SOLUCIÓN DE SULFATO DE COBRE 1%**

Pesar un gramo de sulfato de cobre disolver en un beaker de 50 mL. Trasladar la solución resultante a un balón aforado de 100 mL y llevar a volumen con agua destilada. Guardar en frasco de color ámbar.

### **4.2 SOLUCIÓN DE HIDRÓXIDO DE SODIO 20%**

Pesar veinte gramos de hidróxido de sodio disolver en un beaker de 50 mL. Trasladar la solución resultante a un balón aforado de 100 mL y llevar a volumen con agua destilada. Guardar en un frasco de polipropileno.

### **4.3 SOLUCIÓN SATURADA DE SULFATO DE AMONIO**

Pesar cuarenta y cuatro gramos de sulfato de amonio (solubilidad: 43 g/100/mL a 20 °C) y mezclar continuamente en un beaker de 250 mL, con 100 mL de agua destilada, hasta el punto en que no se disuelva más sulfato de amonio. Trasladar la solución resultante a un frasco de polipropileno y guardar.

### **4.4 SOLUCIÓN “MADRE” DE ALBÚMINA DE HUEVO 5000 ppm**

Pesar 0.5 gramos de albúmina de huevo y disolverlos en 50 mL de agua destilada agitando con un magneto, hasta la total disolución. Trasladar la solución resultante a un matraz volumétrico de 100 mL y aforar con agua destilada. Si se formara espuma esperar hasta que todas las burbujas formadas se destruyan y hasta este momento terminar de aforar con agua destilada. Guardar en frasco de polipropileno o de vidrio de color ámbar y guardar hasta su uso.

#### 4.5 SOLUCIONES DE “TRABAJO” DE ALBÚMINA DE HUEVO

Trasladar 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 mL de la solución “madre” de albúmina de huevo a matraces aforados de 10 mL (previamente marcados con numeraciones desde el 1 al 6), con ayuda de una pipeta serológica o de una micropipeta adecuada. Aforar con agua destilada y homogeneizar cada uno de los matraces aforados. Guardar hasta su uso en la elaboración de la recta de calibración. En la tabla 4.1, se muestran los volúmenes tomados de la solución “madre” tomados y las concentraciones finales obtenidas.

**Tabla 4.1** Volúmenes de solución “madre” de albúmina de huevos empleados para la obtención de soluciones de “trabajo” para ser empleados para la elaboración de la recta de calibración.

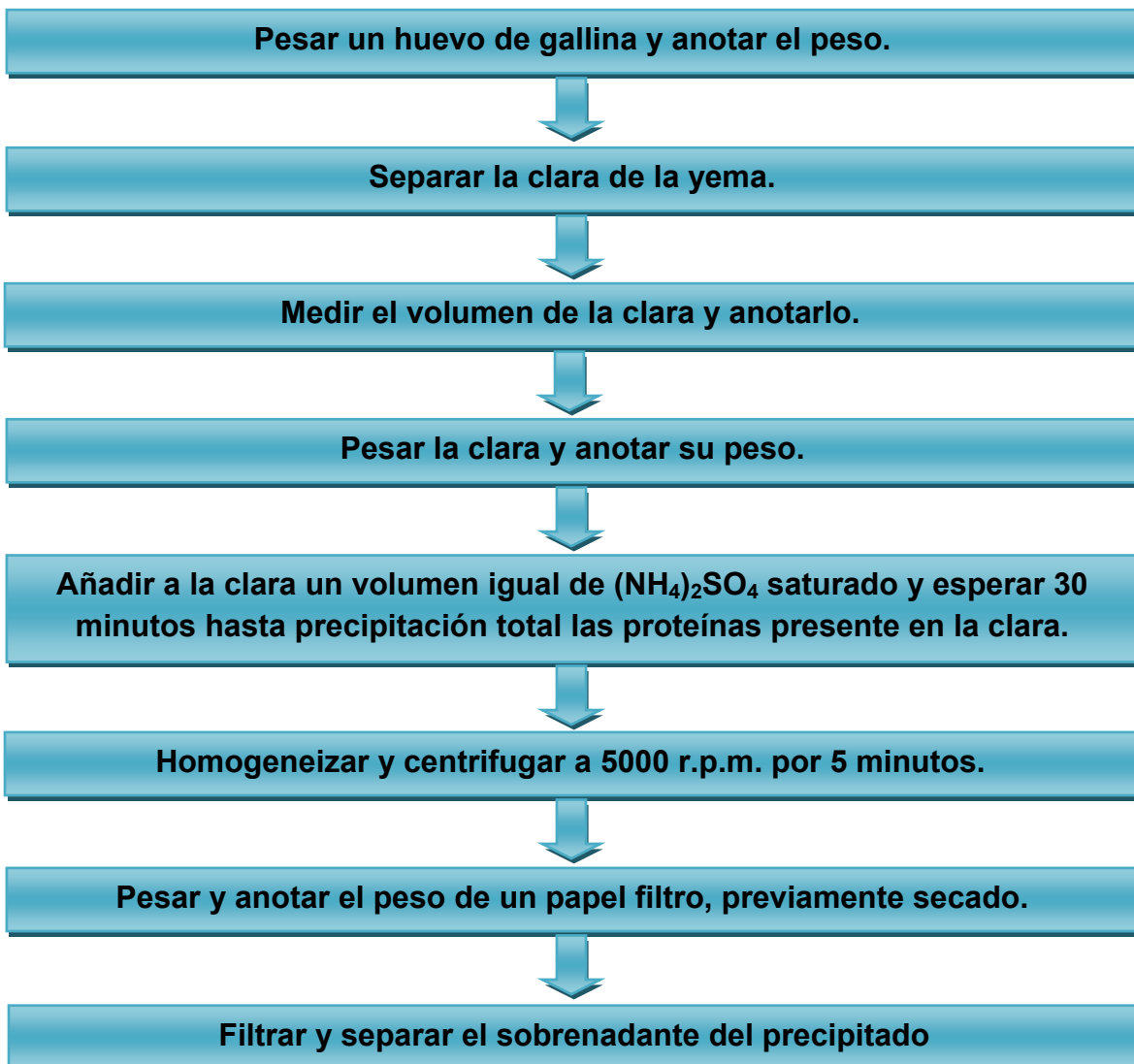
Concentración final (ppm)	Volumen de solución "madre" (mL)	Volumen de Agua (mL)	Volumen total (mL)
0	0	10	10
500	1	9	10
1000	2	8	10
1500	3	7	10
2000	4	6	10
2500	5	5	10
3000	6	4	10

# CAPITULO 5

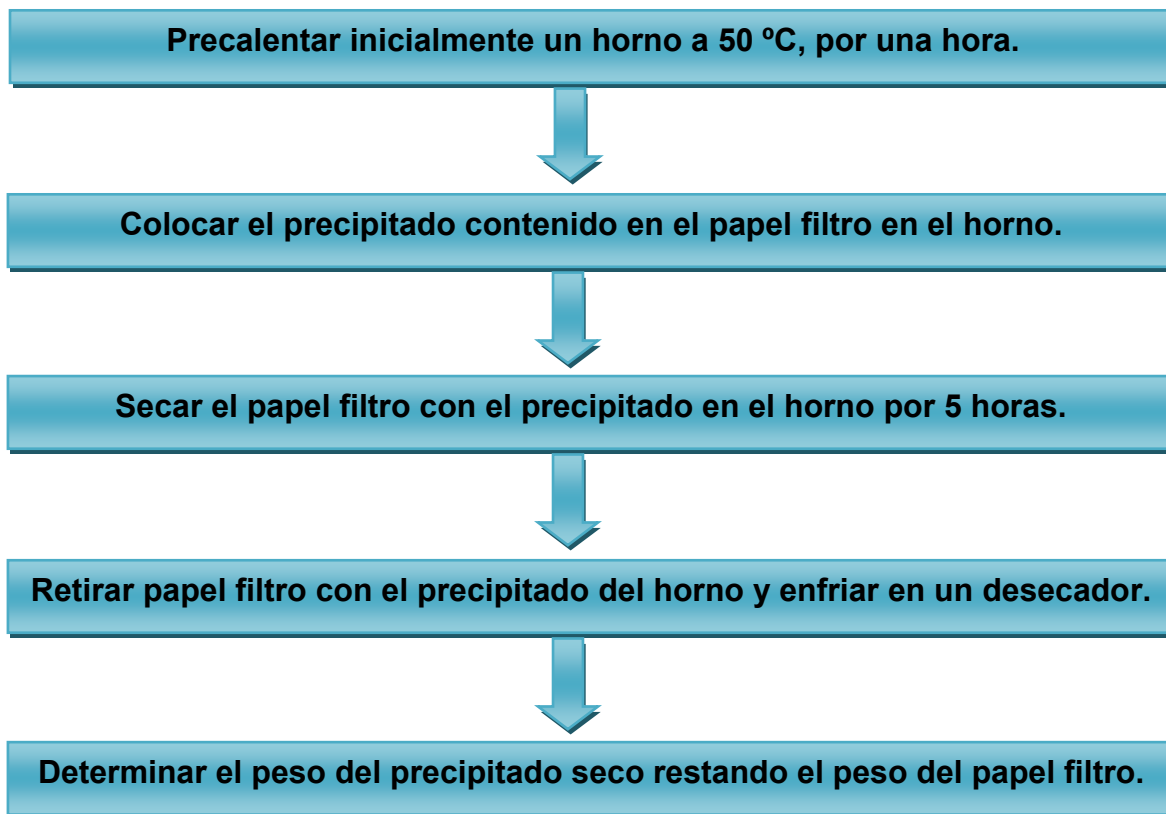
## METODOLOGIAS

Para la realización de las determinaciones de la presente monografía, se emplearon las siguientes metodologías de trabajo:

### 5.1 SEPARACION SELECTIVA DE LAS PROTEINAS EN CLARA DE HUEVO



## 5.2 DETERMINACIÓN DE LAS PROTEÍNAS TOTALES POR GRAVIMETRIA



Para la determinación del peso del precipitado seco se empleó la siguiente ecuación:

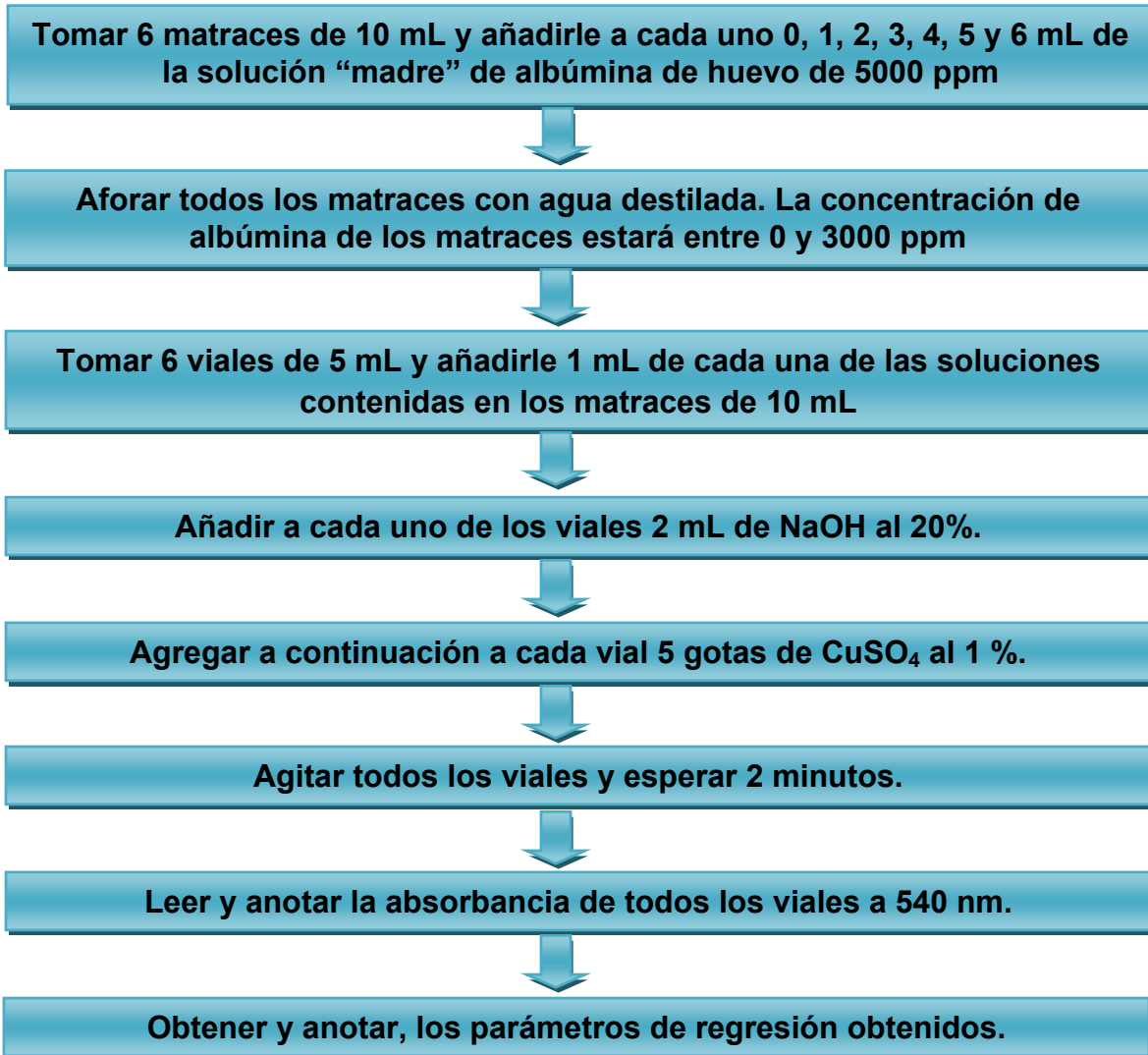
$$\text{Peso de precipitado (g)} = (\text{Peso}_{\text{Precipitado}} + \text{Peso}_{\text{Papel filtro}}) - \text{Peso}_{\text{Papel filtro}}$$

Para calcular el porcentaje de proteína total contenida en la clara y en el huevo, se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$\% \text{ Proteína total de la clara} = \left( \frac{\text{Peso del precipitado (g)}}{\text{Peso de la clara (g)}} \right) \times 100$$

$$\% \text{ Proteína total del huevo} = \left( \frac{\text{Peso del precipitado (g)}}{\text{Peso total del huevo (g)}} \right) \times 100$$

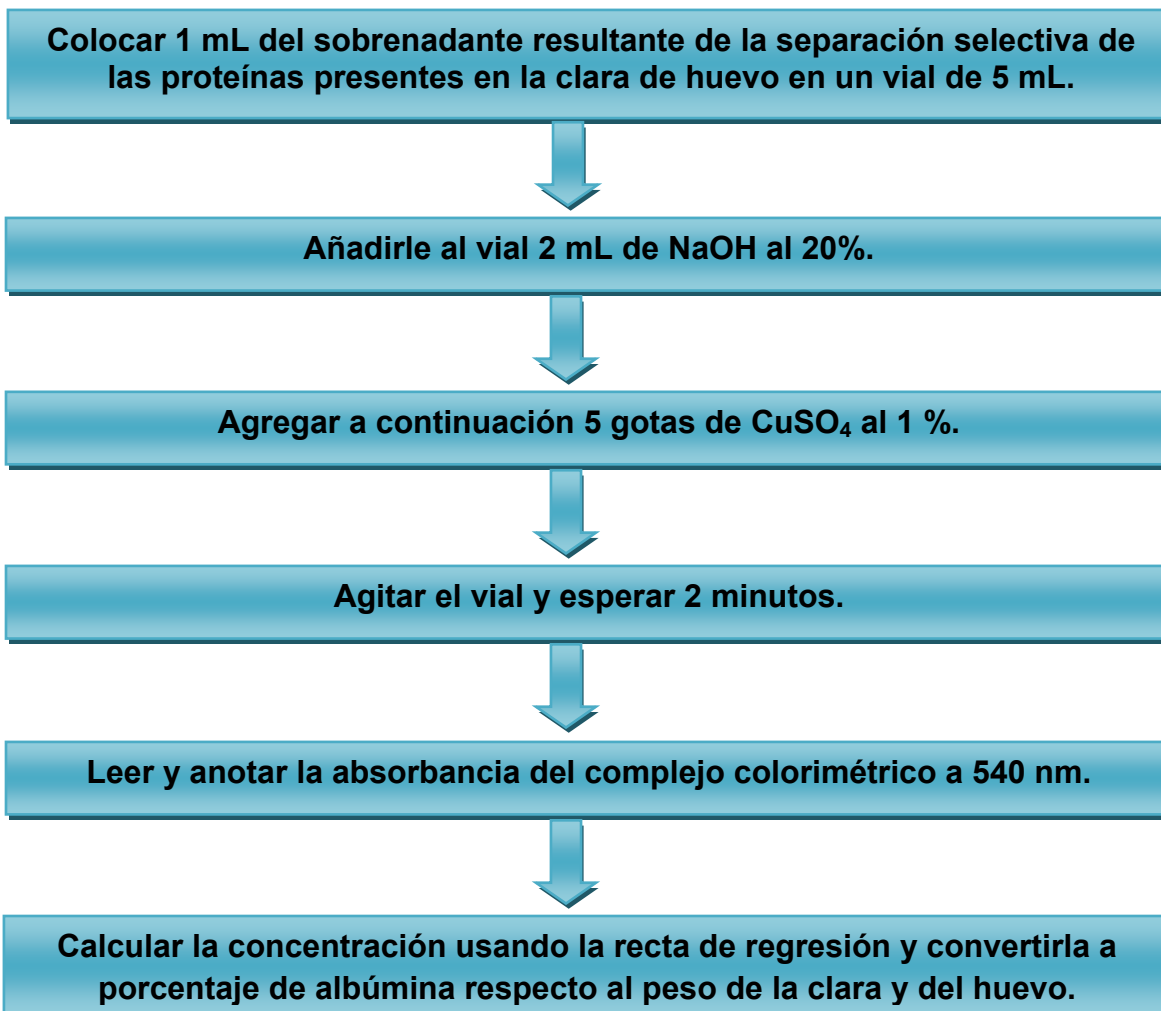
### 5.3 ELABORACION DE LA RECTA DE REGRESIÓN DE ALBÚMINA DE HUEVO Vs. ABSORBANCIA



Los parámetros de regresión obtenidos fueron los siguientes:

- El coeficiente de determinación ( $r^2$ )
- El intercepto (a)
- La pendiente (b)
- La desviación estándar de la recta ( $S_{y/x}$ )
- La desviación estándar del intercepto ( $S_a$ )
- La desviación estándar de la pendiente ( $S_b$ )
- La recta de regresión ( $Y = a + bX$ )

#### 5.4 DETERMINACIÓN DE LAS PROTEÍNAS TOTALES POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-Vis



Para la determinación de la concentración del porcentaje de proteínas totales en el sobrenadante se empleó la siguiente ecuación:

$$C(\%)_{Proteína\ Totales} = \left( \frac{A - a}{b} \right) \times (FD) \times \frac{1\text{ mg}}{1000\ \mu\text{g}} \times \frac{1\text{ g}}{1000\ \text{mg}} \times \frac{100}{m_{muestra}}$$

**Donde:**

A es la absorbancia de la muestra.

a es el intercepto.

b es la pendiente.

FD es el factor de dilución.

$1 \times 10^{-6}$  es la conversión de  $\mu\text{g}$  a g.

$m_{muestra}$  es la masa total en gramos de tanto de la clara como del huevo.

100 es el factor de conversión a porcentaje.

# CAPITULO 6

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 6.1 OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES EXPERIMENTALES PARA LA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS TOTALES EN CLARAS DE HUEVOS POR EL MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO

La determinación de las proteínas totales en las muestras de claras de huevos analizadas se realizó después de un proceso de extracción previo que involucraba una precipitación selectiva salina y una posterior separación del sobrenadante resultante, en los que se determinó el contenido de proteínas totales. El contenido de proteínas totales en el líquido sobrenadante se realizó utilizando espectrofotometría UV-Vis, por lo que previo a la determinación se optimizaron de las condiciones experimentales. La optimización de las condiciones experimentales se realizó mediante:

1. Selección del Reactivo de Biuret adecuado a las condiciones experimentales de análisis.
2. Obtención del espectro de máxima absorción del complejo colorimétrico a ser analizado.
3. Obtención de la recta de regresión del complejo colorimétrico vs concentración de albúmina de huevo.

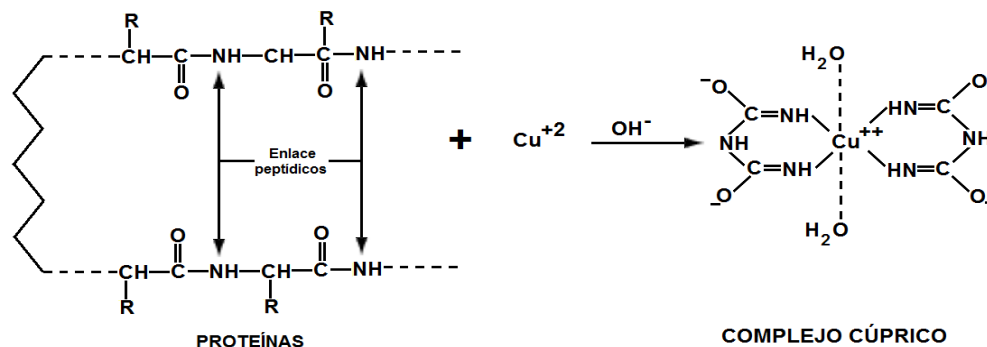
## 6.1.1 SELECCIÓN DEL REACTIVO DE BIURET ADECUADO A LAS CONDICIONES EXPERIMENTALES DE ANÁLISIS

Una revisión extensa de la bibliografía encontrada en internet (7 a 14) determinó que el denominado reactivo de Biuret utilizado en la determinación de proteínas totales en diversas matrices, es preparado a partir de diferentes mezclas de reactivos tal y como se muestra en la tabla 6.1.

**Tabla 6.1** Reactivos de Biuret encontrados en la revisión bibliográfica.

Biuret	$KNaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	EDTA	KI	NaI	NaOH
1	X	X		X		X
2		X	X			X
3	X	X				X
4		X				X
5		X	X			X
6		X				X
7	X	X		X	X	X
8		X				X
9	X	X		X		X

Una observación detallada de la tabla 6.1, permite deducir que si bien es cierto no existe una única formulación del reactivo de Biuret, en cuanto al contenido de reactivos empleados, si existe un claro criterio de incluir en todas tanto al sulfato de cobre como al hidróxido de sodio. Esto es debido a que la reacción de Biuret implica necesariamente la existencia del ión cobre para la obtención del complejo coloreado (violeta) entre las proteínas y el cobre, por un lado y por otro lado para que la reacción sea cinéticamente aceptable es necesario que ésta se realice en un medio fuertemente básico.



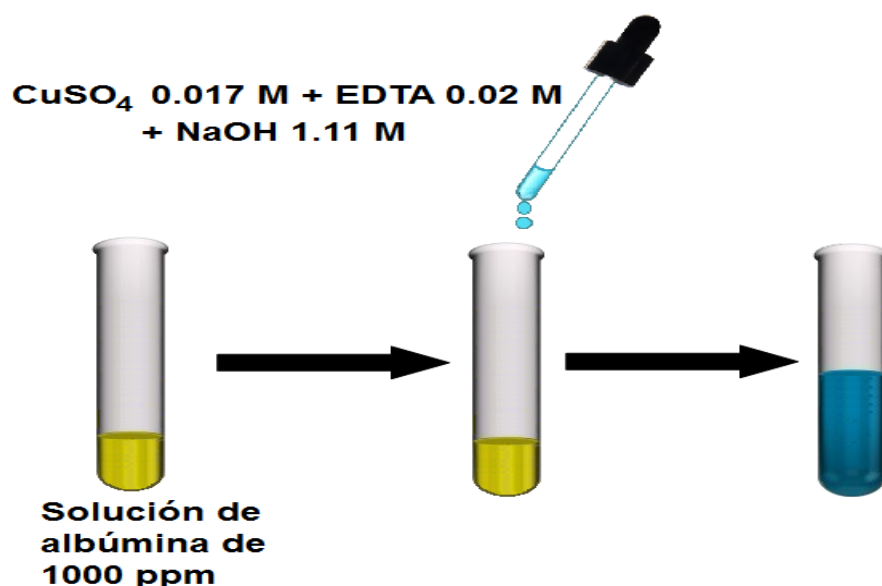
**Figura 6.1** Reacción de complejación entre el reactivo de Biuret y una proteína.



De todas las formulaciones encontradas en la revisión bibliográfica procedimos a experimentar dos de ellas, las numeradas como 2 y 8 en la tabla 6.1. Se procedió de esta manera debido entre otras cosas a problemas de existencias de los reactivos de las otras formulaciones en la bodega de reactivos del Departamento de Química de la Facultad de Ciencias y Tecnología y por la rapidez que aparentaban en su preparación.

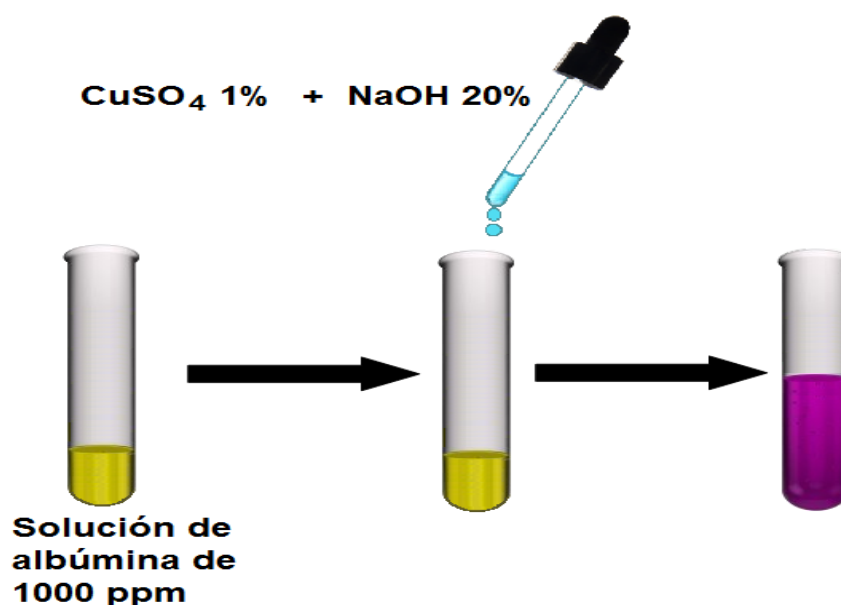
Un detallado análisis de la información encontrada en la revisión bibliográfica muestra que el color del complejo obtenido en la reacción de Biuret, debe ser violeta, por lo que tomamos como parámetro visual en los dos ensayos llevados a cabo la obtención de este color.

El ensayo realizado con la formulación 2, ( $\text{CuSO}_4$ , EDTA e NaOH) y una solución de albúmina de huevo de concentración 1000 ppm, muestra como resultado un color azul celeste (Ver figura 6.2) luego de realizado el ensayo, lo que indica que la solución de cobre de la formulación no reaccionó cuantitativamente con toda la proteína existente en la solución, y no se formó el complejo cobre-proteína que se esperaba, por lo que descartamos este reactivo, para futuras determinaciones.



**Figura 6.2** Reacción de reactivo de Biuret 2 ( $\text{CuSO}_4$  + EDTA + NaOH), con una solución de albúmina de 1000 ppm.

En el caso del ensayo realizado con la formulación 8, ( $\text{CuSO}_4$  e  $\text{NaOH}$ ), y una solución de albúmina de huevo de concentración 1000 ppm, muestra como resultado la obtención de un color violeta claramente perceptible (Ver figura 6.3) lo que indica que la reacción entre la proteína y el ión cobre fue cuantitativa, formándose exitosamente el complejo cobre-proteína esperado. Por esta razón decidimos utilizar ésta formulación para la realización de la cuantificación de las proteínas totales en las claras de huevos de nuestro estudio.

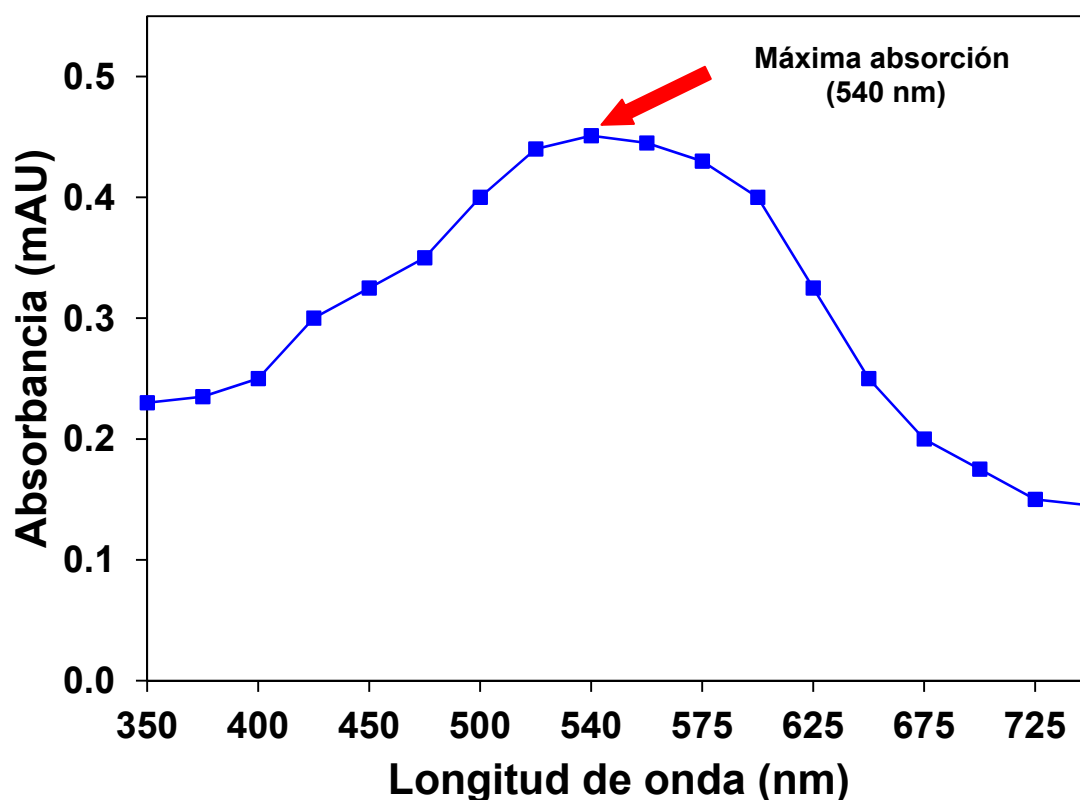


**Figura 6.3** Reacción de reactivo de Biuret 8 ( $\text{CuSO}_4$  +  $\text{NaOH}$ ), con una solución de albúmina de 1000 ppm.

### 6.1.2 OBTENCIÓN DEL ESPECTRO DE MÁXIMA ABSORCIÓN DEL COMPLEJO COLORIMÉTRICO A SER ANALIZADO

Una vez que se determinó cual de las dos formulaciones experimentadas a partir de los datos encontrados en la revisión bibliográfica era la más adecuada para la determinación de proteínas totales en una disolución, se procedió a obtener el espectro de máxima absorción del complejo cobre-proteína obtenido. En la bibliografía encontrada (7 a 14), se demuestra que la lectura del contenido de proteínas totales debe ser realizada en un rango de longitudes de ondas comprendido entre los 540 nm y los 550 nm.

Para confirmar esto se procedió a obtener el espectro de absorción del complejo cobre-proteína, utilizando una disolución concentrada (1000 ppm) de albúmina de huevo, la que hicimos reaccionar con una disolución de  $\text{CuSO}_4$  al 1%, en un medio altamente básico de NaOH al 20%. El espectro de absorción así obtenido se muestra en la figura 6.4.



**Figura 6.4** Espectro de absorción del complejo cobre-proteína, obtenido mediante la reacción de una disolución de 1000 ppm de albúmina de huevo y el reactivo de Biuret ( $\text{CuSO}_4$  1% + NaOH 20%).

Tal y como se muestra en la figura 6.4, la longitud de onda de máxima absorción del complejo cobre-proteína, es de 540 nm, ya que a esta longitud de onda el complejo cobre-proteína presenta la máxima absorbancia que 0.451 (ver en Anexos). La longitud de onda de máxima absorción encontrada se corresponde con el rango de longitudes encontradas en la bibliografía.

A partir del resultado obtenido, decidimos realizar las lecturas de absorbancias para la determinación de proteínas totales en clara de huevo a una longitud de onda de 540 nm.

### 6.1.3 OBTENCIÓN DE LA RECTA DE REGRESIÓN DEL COMPLEJO COLORIMÉTRICO Vs. CONCENTRACIÓN DE ALBÚMINA DE HUEVO

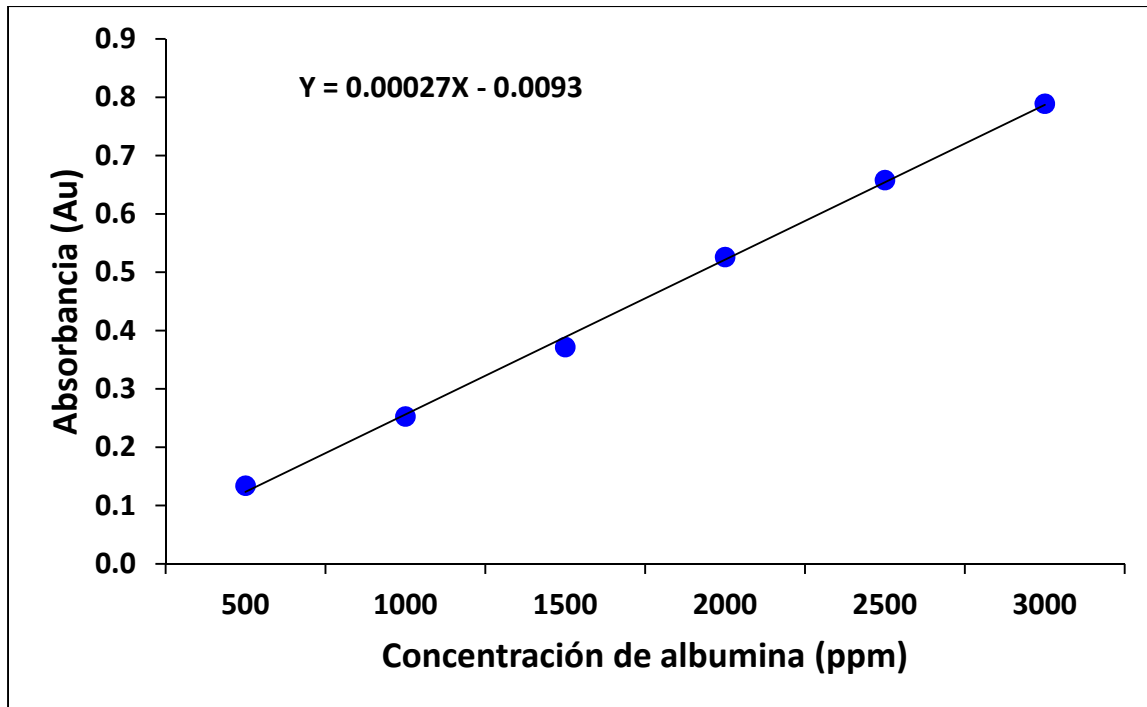
Una vez que se determinó la longitud de onda de máxima absorción, se procedió a establecer el rango lineal de concentraciones de albúmina de huevo en las que podíamos determinar las concentraciones de proteínas totales en las muestras de huevo objeto de este estudio.

En la bibliografía encontrada (7 a 14), se establecen distintos rangos lineales en los que se puede realizar la lectura de proteínas totales, variando desde el rango de 70 a 1500 ppm (7) hasta el rango de 65,000 a 80,000 ppm (14), lo cual nos da un amplio margen de lecturas en las que podemos realizar nuestro estudio. Debido a esto y que en la bibliografía se refleja que las concentraciones de proteínas totales clara de huevo es bastante alta, decidimos emplear el rango de concentraciones desde 500 hasta 3000 ppm. En la tabla 6.2 se muestran los parámetros de regresión obtenidos a partir de los datos de la media de las absorbancia obtenidas frente a las concentraciones de albúmina, restando la lectura del blanco (ver Anexos). En las figuras 6.5 y 6.6, se muestran los gráficos de la recta de regresión y de residuales obtenidos en el rango de concentraciones mencionado.

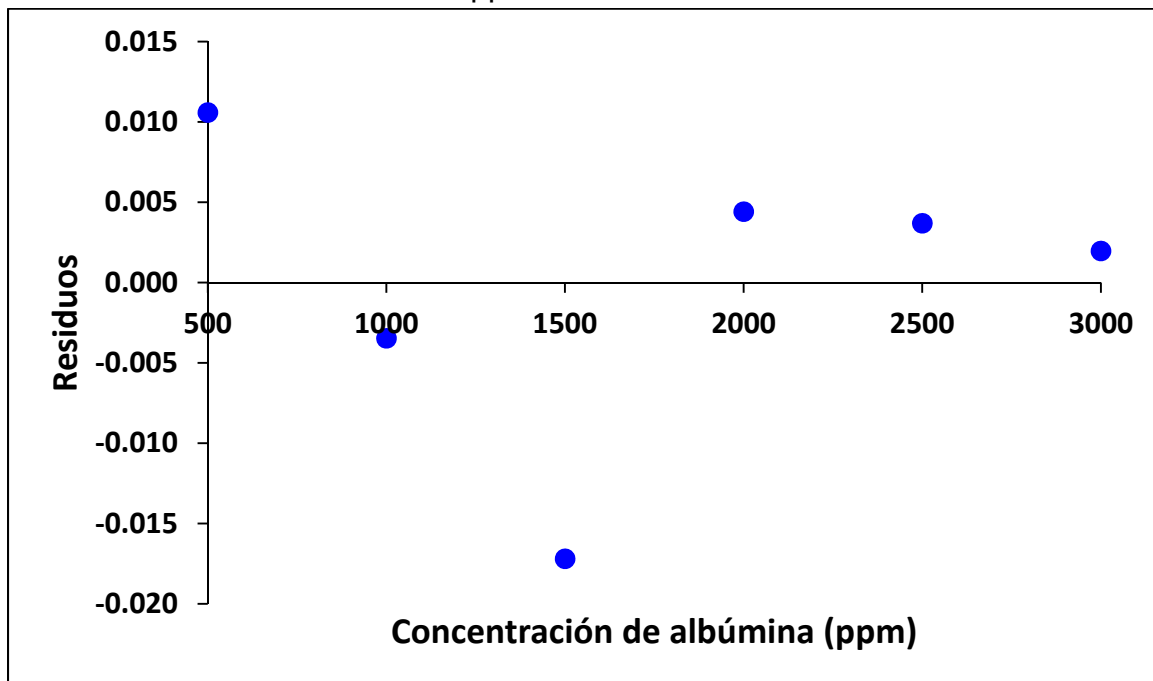
**Tabla 6.2** Parámetros de regresión de la media de las lecturas de la recta de calibración obtenida en el rango de concentraciones de albúmina de huevo de 500 a 3000 ppm.

Parámetro de la recta	Valor
$r^2$	0.998521
$S_{y/x}$	0.010686
A	-0.00931
B	0.000265
$S_a$	0.009948
$S_b$	$5.11 \times 10^{-6}$

Tal y como se muestra en la tabla 6.2, y se confirma en la figura 6.5, la recta de regresión obtenida en el rango de concentraciones empleado, presenta un buen ajuste, por lo que podemos emplear este rango en la determinación de las concentraciones de proteínas totales en las muestras a ser analizadas en este estudio.



**Figura 6.5** Grafico de recta de regresión obtenida en el rango de concentraciones de albúmina de huevo de 500 a 3000 ppm.



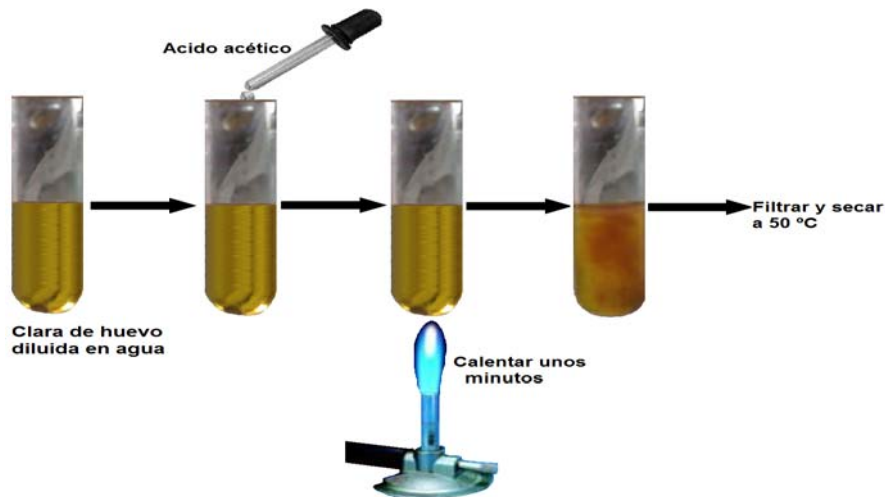
**Figura 6.6** Grafico de residuales obtenido en el rango de concentraciones de albúmina de huevo de 500 a 3000 ppm.

## 6.2 OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES EXPERIMENTALES PARA LA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS TOTALES EN CLARAS DE HUEVOS POR EL MÉTODO GRAVIMÉTRICO

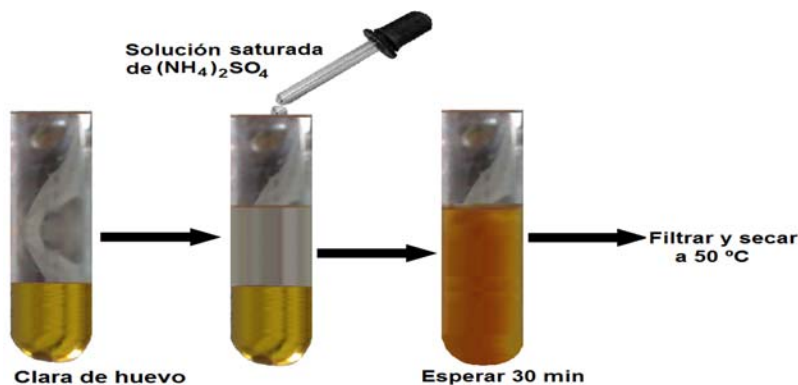
Tal y como ya indicamos en el apartado 6.1, la extracción de las proteínas totales de una muestra de clara de huevo, implica necesariamente la extracción selectiva obteniéndose tanto un precipitado como un sobrenadante en los que es necesario determinar el contenido de proteínas totales.

El contenido de proteínas totales en el sólido resultante se realizó mediante un método gravimétrico por lo que necesitamos optimizar inicialmente las condiciones de precipitación de las proteínas totales. Para esto decidimos utilizar dos procedimientos de extracción encontrados en la bibliografía (13 y 15), estos fueron:

### 1. Precipitación selectiva en un medio ácido con aplicación de calor.



### 2. Precipitación selectiva en un medio salino.



En ambos casos, se determinó el contenido porcentual de proteína total, mediante gravimetría. Para esto se determinó inicialmente el peso en gramos de una muestra de clara de huevo y posteriormente se determinó el peso en gramos de la proteína total precipitada una vez secada en un horno a 70°C durante cuatro horas. El contenido porcentual de proteína total precipitada a partir de las claras de huevo, en ambos casos se muestra en la tabla 6.3.

**Tabla 6.3** Porcentajes de proteínas totales obtenidos mediante dos procedimientos de separación selectiva.

<b>Procedimiento de separación</b>	<b>Peso clara (g)</b>	<b>Peso proteína sólida (g)</b>	<b>% R</b>
Clara de huevo diluida en agua destilada, más ácido acético y calentamiento, hasta precipitación	31.89	5.48	17.2
Clara de huevo, más disolución de sulfato de amonio saturada y espera de 30 minutos.	30.76	6.75	21.9

Tal y como se observa en la tabla 6.3, el mayor porcentaje de proteína total precipitada se obtiene con el proceso de separación selectiva empleando disolución salina de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  saturada siendo este de 21.9%, esto es, un 4.8% mayor que el porcentaje de precipitación obtenido con la separación selectiva empleando medio ácido (17.2%).

Debido a esto, y dado que el procedimiento de separación selectiva empleando medio ácido implica además un paso extra de aplicación de calor, decidimos utilizar para la determinación de proteínas totales de claras de huevos la separación selectiva empleando medio salino, dado que implica menos pasos y su porcentaje de rendimiento es mayor.

### **6.3 DETERMINACIÓN Y COMPARACIÓN DEL CONTENIDO DE PROTEÍNAS TOTALES EN CLARAS DE HUEVOS DE DISTINTAS GRANJAS**

Una vez que se determinó que las condiciones experimentales óptimas para la determinación de proteínas totales eran:

1. Reactivo de Biuret: **NaOH 20% + CuSO<sub>4</sub> 1%**
2. Longitud de onda de máxima absorción : **540 nm**
3. Rango de concentración: **500 a 3000 ppm**
4. Proceso de separación selectiva: **empleo de disolución de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> saturada y 30 minutos de espera.**

Se procedió a la determinación de proteínas totales en tres muestras de huevo procedentes de distintas granjas. Las muestras seleccionadas fueron las siguientes:

- Huevos Estrella
- Huevos Granjero
- Huevos Barranca

#### **6.3.1 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE PROTEÍNAS TOTALES EN CLARAS DE HUEVOS DE DISTINTAS GRANJAS**

Para la determinación del contenido de proteínas totales en las claras de las muestras de huevos consideradas en este estudio, se procedió como se indica en 5.1 a 5.4, y empleando las condiciones ya optimizadas desde 6.1.1 a 6.2.

Cabe destacar que debido a que la clara del huevo presenta un estado semilíquido, con apariencia coloidal, decidimos relacionar el contenido de proteínas totales encontrado en la clara de huevo, con:

- El peso de la clara
- El peso total del huevo

Esto para encontrar un punto de comparación que nos proporcionara una visión objetiva en relación a lo que se establece en la bibliografía consultada.

Por otra parte dado que contábamos con dos medios en los que era posible determinar el contenido de proteínas totales: el líquido sobrenadante y el precipitado, en los que empleamos las técnicas de espectrofotometría de UV-Vis y gravimetría, decidimos analizar por separado sus contenidos de proteínas totales.



Así en las tablas 6.4 y 6.5 y en las figuras 6.7 y 6.8, se muestran los contenidos porcentuales de proteínas totales encontrados tanto en el líquido sobrenadante como en el precipitado, en las 3 muestras objeto de este estudio.

**Tabla 6.4** Porcentajes de proteínas totales contenidos en los líquidos sobrenadantes de las 3 muestras, en relación al peso de la clara y al peso de los huevos.

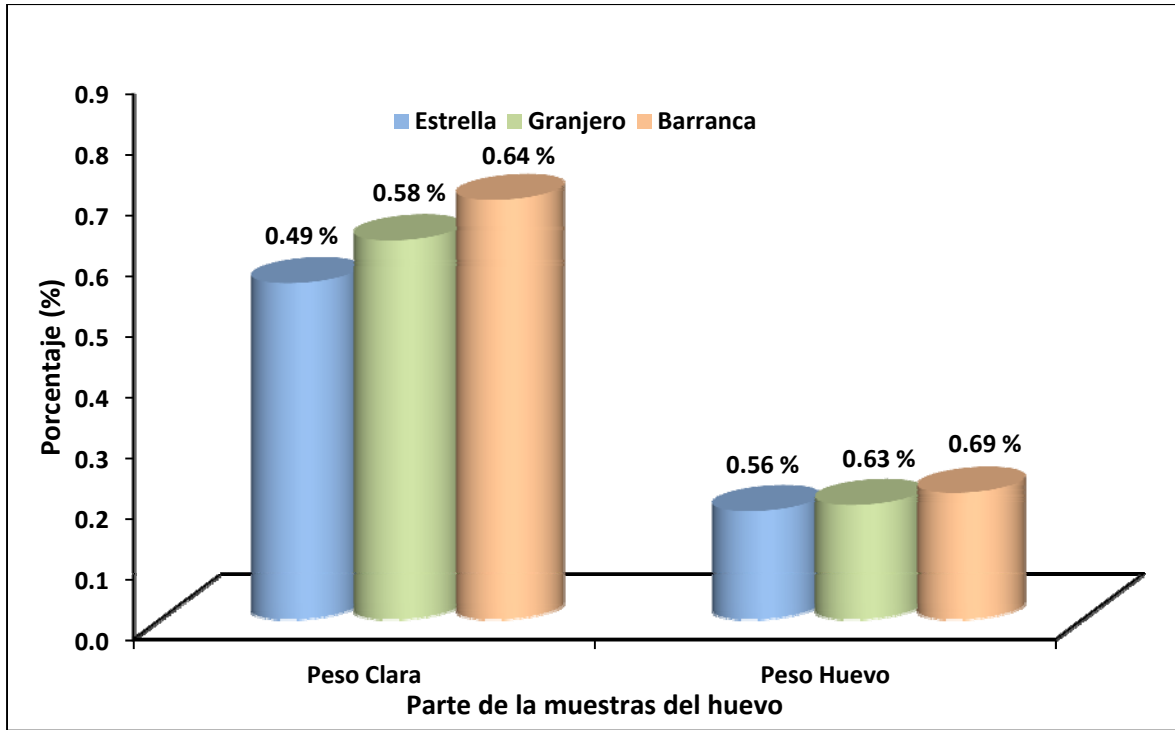
<b>Muestra</b>	<b>Huevo Estrella</b>	<b>Huevo Granjero</b>	<b>Huevo Barranca</b>
<b>Peso de Clara</b>	0.56 %	0.63 %	0.69 %
<b>Peso de Huevo</b>	0.18 %	0.19 %	0.21 %

**Tabla 6.5** Porcentajes de proteínas totales contenidos en los precipitados de las 3 muestras, en relación al peso de la clara y al peso de los huevos.

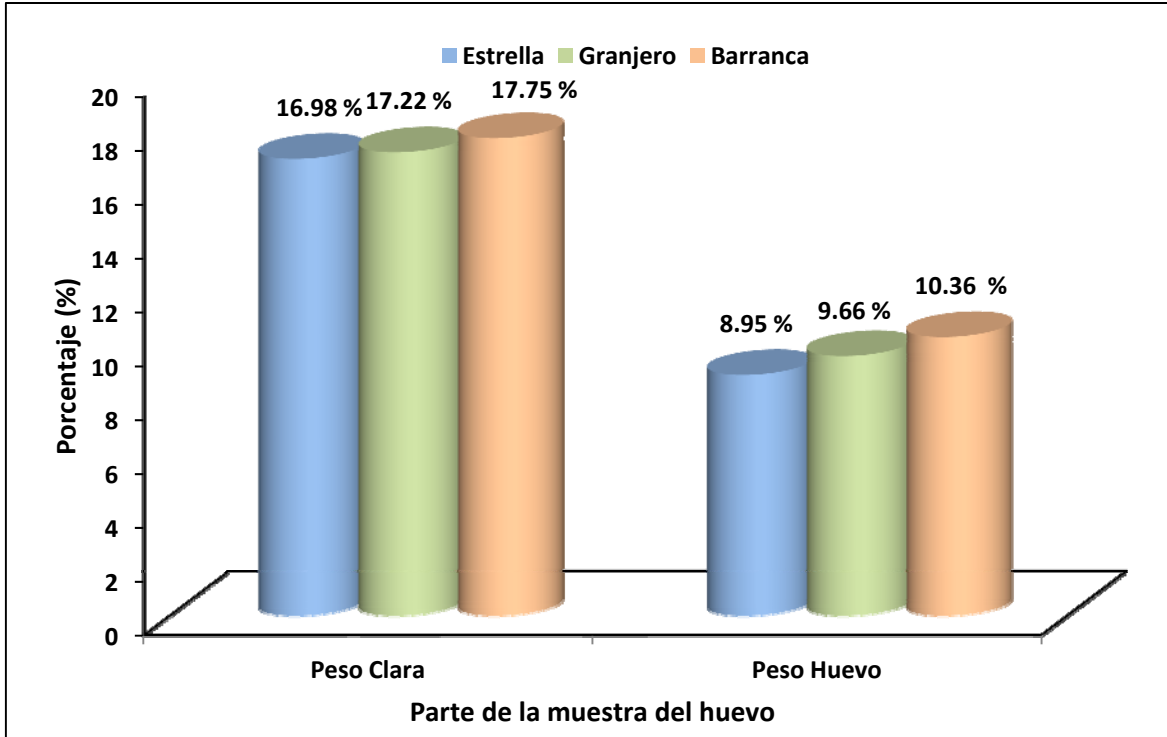
<b>Muestra</b>	<b>Huevo Estrella</b>	<b>Huevo Granjero</b>	<b>Huevo Barranca</b>
<b>Peso de Clara</b>	16.98 %	17.22 %	17.75 %
<b>Peso de Huevo</b>	8.95 %	9.66 %	10.36 %

Tal y como se muestra en la tabla 6.4, el contenido porcentual de proteínas totales en relación al peso de las claras varía entre los 0.56% para el huevo Estrella a los 0.69% del huevo Barranca, siendo el contenido del huevo Granjero intermedio (0.6%). Por otra parte el contenido en relación al peso total del huevo sigue una tendencia similar siendo menor para el huevo estrella (0.18%) y mayor para el huevo Barranca (0.21%).

Por otra parte en la tabla 6.5, podemos observar tendencias similares en cuanto al contenido de proteínas totales en los precipitados siendo siempre menores para el huevo Estrella (16.98% y 8.95%) y mayores en el huevo Barranca (17.75% y 10.36%), tanto en relación al peso de la clara como al peso total del huevo. Esto lo podemos observar mejor en las figura 6.7 y 6.8.



**Figura 6.7** Grafico de barras de porcentajes de proteínas totales encontradas en los sobrenadantes de la extracción de las proteínas en las claras de huevo.



**Figura 6.8** Grafico de barras de porcentajes de proteínas totales encontradas en los precipitados de la extracción de las proteínas en las claras de huevo.

Debido a que lo reflejado en las tablas 6.4 y 6.5, únicamente correspondían al contenido de proteínas totales en el sobrenadante y el precipitado de las extracciones realizadas a las 3 muestras de huevo, consideramos necesario realizar la suma de los contenidos de estas dos tablas, con el fin de expresar el contenido proteína total real, contenido tanto en la clara como en el huevo propiamente dicho, esto se muestra en la tabla 6.6.

**Tabla 6.6** Porcentajes de proteínas totales reales contenidos en las 3 muestras de este estudio, en relación al peso de la clara y al peso de los huevos..

Muestra	Huevo Estrella	Huevo Granjero	Huevo Barranca
<b>Peso de Clara</b>	17.53 %	17.85 %	18.44 %
<b>Peso de Huevo</b>	9.13 %	9.84 %	10.57 %

Tal y como se muestra en la tabla 6.6, el contenido porcentual de proteínas totales reales, en relación al peso de las claras de huevo, varía entre los 17.53% para el huevo Estrella hasta los 18.44% del huevo Barranca, siendo el contenido del huevo Granjero intermedio (17.85%). Si nos atenemos a estos resultados podemos decir que el contenido porcentual de proteínas totales reales respecto al peso de la clara del huevo Barranca es un 0.91% mayor que el contenido porcentual del huevo Estrella y 0.59% mayor que el del huevo Granjero.

Por otra parte el contenido porcentual de proteínas totales reales respecto al peso total de huevo, del huevo Barranca es un 1.44% mayor que el contenido porcentual del huevo Estrella y 0.73% mayor que el del huevo Granjero.

La bibliografía consultada (16) refleja que el contenido de proteínas totales en la clara de huevo debe ser cercana al 11.0% respecto al peso total del huevo fresco entero. Tal y como se observa en la tabla 6.6, únicamente la muestra de huevo Barranca, se aproxima al contenido encontrado en la bibliografía, siendo la muestra de huevo Estrella la que más se aleja del contenido requerido casi en un 2%.

Cabe destacar que no tenemos información precisa sobre la raza de las gallinas ponedoras, ni del tipo de alimentación a las que eran sometidas las gallinas ponedoras, ni de las condiciones ambientales en las que estas se encontraban, por lo que no podemos decir con absoluta certeza, el porqué de las diferencias encontradas en el contenido de proteínas totales en las 3 muestras de éste estudio. Salvo el indicar que posiblemente el tipo de alimentación al que eran sometidas las gallinas podría haber influido en las diferencias encontradas.

### 6.3.2 COMPARACIÓN DEL CONTENIDO DE PROTEÍNAS TOTALES EN CLARAS DE HUEVOS DE DISTINTAS GRANJAS

Para la comparación de los contenidos de proteínas totales en las claras de huevo en relación al peso total de los huevos enteros, empleamos:

1. El test de Cochran para la comparación de varianzas múltiples.
2. El Análisis de varianza de un factor, para la comparación de medias múltiples.
3. El método de Tukey, para la comparación de medias múltiples.

#### 6.3.2.1 APLICACIÓN DE TEST DE COCHRAN (17)

Para la comparación de varias varianzas independientes se aplican dos test.

1. **El Test de Bartlett**, se emplea cuando, la mayoría de los grados de libertad de las varianzas a ser comparadas son mayores que 5.
2. **El test de Cochran**, se emplea cuando las muestras cuyas varianzas se van a comparar, poseen tamaños iguales y los grados de libertad por lo tanto son iguales. Para ello se calcula el estadístico, G, mediante la expresión:

$$G_{\text{cal}} = \frac{S_{i,\text{max}}^2}{S_1^2 + S_2^2 + \dots + S_r^2}$$

Donde:

$S_{i,\text{max}}^2$  es la mayor de las varianzas a ser comparada

$S_i^2$  es cada una de las varianzas muestrales

r es el número de muestras independientes

$n_1 = n_2 = \dots = n_r = n$  es el número de repeticiones de las muestras

n - 1 son los grados de libertad

Este valor se compara con una  $G_{exp}$  con  $(n-1)$  g.l. y  $k$  muestras independientes. Si  $G_{cal} < G_{(n-1, k)}$ , se acepta  $H_0$  y se concluye que las varianzas no difieren significativamente, esto es que son homogéneas.

Dado que el contenido de proteínas totales reales en las claras de huevo fue realizado por triplicado y que los grados de libertad son menores que 5, decidimos aplicar el test de Cochran para comparar las varianzas de las muestras de huevo estudiadas.

En las tablas 6.7, se muestra el contenido por triplicado de los porcentajes de proteínas totales reales, encontradas en los pesos totales de los huevos, que fueron empleados para el cálculo del parámetro  $G_{cal}$  de Cochran.

**Tabla 6.7** Porcentajes de proteínas totales reales contenidas en los pesos totales de los huevos de las 3 muestras de este estudio.

Porcentajes	Estrella	Granjero	Barranca
1	9.835 %	9.141 %	10.567 %
2	9.825 %	9.151 %	10.577 %
3	9.842 %	9.134 %	10.569 %
Media =	0.178	0.188	0.208
S =	$8.72 \times 10^{-3}$	$8.49 \times 10^{-3}$	$5.36 \times 10^{-3}$
S <sup>2</sup> =	$7.61 \times 10^{-5}$	$7.21 \times 10^{-5}$	$2.88 \times 10^{-5}$

El valor del parámetro  $G_{cal}$  de Cochran, calculado a partir de los datos de la tabla 6.7, fue de  $4.30 \times 10^{-1}$  y el valor de  $G$  para  $n-1$  grados de libertad (2) y  $k$  series de datos (3) fue de 0.871, dado que:

$G_{cal} < G_{(n-1, k)}$ , esto es  $4.30 \times 10^{-1} < 0.871$ , se acepta la  $H_0$  y se concluye que las varianzas no difieren significativamente y por lo tanto son homogéneas.

### 6.3.2.2 APLICACIÓN DE ANÁLISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR (18)

Como es conocido para aplicar el análisis de varianza se necesitan 3 condiciones:

1. **Independencia:** cada serie de datos debe ser independiente de las demás, es decir los datos de una serie no deben estar correlacionados con los de otra serie.
2. **Normalidad:** la distribución interna de cada serie de datos debe ser normal lo que conviene comprobar mediante un test de normalidad.
3. **Homogeneidad:** las varianzas de las series de datos deben ser iguales.

Previo a la aplicación del análisis de varianza de un factor a los datos contenidos en la tabla 6.7, consideramos necesario determinar las condiciones previas a su aplicación.

Para esto determinamos inicialmente la independencia de las series de datos mediante la obtención de la matriz de correlación de los datos contenidos en 6.7. La existencia de correlación entre una serie de datos implica que el coeficiente de correlación ( $r$ ) sea igual a  $\pm 1$ , cuanto más se aleje de  $\pm 1$  menor es la correlación entre las series de datos y mayor es la independencia de éstas. Los datos de la matriz de correlación obtenida se muestran en la tabla 6.8.

**Tabla 6.8** Matriz de correlación de los datos contenidos en la tabla 6.7.

	<b>Estrella</b>	<b>Granjero</b>	<b>Barranca</b>
<b>Estrella</b>	1		
<b>Granjero</b>	-0.9997	1	
<b>Barranca</b>	0.8335	-0.8468	1

Tal y como se muestra en la tabla 6.8, los valores de los coeficientes de correlación varían entre -0.9997 para la pareja de series Estrella/Granjero hasta 0.8335 para la pareja de series Estrella/Barranca. De estos resultados podemos decir que existe una correlación negativa entre Estrella/Granjero (-0.9997), pero que sin embargo no existe correlación entre Estrella/Barranca (0.8335) ni entre Granjero/Barranca (-0.8468), esto es que existe un 67% de no correlación entre todas las series de datos, por lo que asumimos la existencia de independencia entre las series de datos contenidos en la tabla 6.7.

Posteriormente determinamos la normalidad de los datos, para esto consideramos aplicar el test de normalidad de D'Agostino, sin embargo para serie de datos inferiores a 10 este test, no puede y se asume la normalidad a falta de otra evidencia en contra (17). Por esta razón decidimos asumir que la serie de datos contenidos en la tabla 6.7, siguen un comportamiento normal.

Finalmente determinamos la homogeneidad de la serie de datos, para esto aplicamos el test de Cochran, dado que la serie de datos eran iguales. Los resultados de este test se muestran en 6.3.2.1, por lo que asumimos que los datos presentan homogeneidad, es decir que las varianzas son iguales.

Una vez que asumimos que los datos eran, independientes, normales y homogéneos, aplicamos análisis de varianza de un factor a los datos de la tabla 6.7. Considerando las siguientes hipótesis:

$$H_0: \bar{X}_{\text{Estrella}} = \bar{X}_{\text{Granjero}} = \bar{X}_{\text{Barranca}}$$

$$H_1: \bar{X}_{\text{Estrella}} \neq \bar{X}_{\text{Granjero}} \neq \bar{X}_{\text{Barranca}}$$

Se acepta  $H_0$  si  $F_{\text{cal}} < F_{(r-1),(N-r), 0.05}$ , y las medias de las series de datos son iguales, en caso contrario se acepta la  $H_1$  y al menos una de las medias difiere significativamente de las otras. Los resultados de la aplicación del ANOVA se muestran en la tabla 6.9.

**Tabla 6.9** Tabla de ANOVA aplicado a los datos contenidos en la tabla 6.7.

Origen de las variaciones	SC	GL	CM	Fcal	Ftab
Entre grupos	3.0642	2	1.5321	<b>25982.64</b>	<b>5.14</b>
Dentro de los grupos	0.0004	6	$5.90 \times 10^{-5}$		
Total	3.0646	8			

Tal y como se muestra en la tabla 6.9, el  $F_{\text{cal}} > F_{\text{tab}}$ , esto es  $25982.64 > 5.14$ , por lo que rechazamos la  $H_0$  y aceptamos la  $H_1$  y concluimos que al menos una de las medias es distinta de las otras.

### 6.3.2.3 APLICACIÓN DE TEST DE TUKEY (17)

El paso siguiente al análisis de la varianza (en el caso de medias distintas) consiste en examinar las medias de cada muestra y la magnitud de las diferencias entre ellas con el objeto de estudiar a qué se debe la significación encontrada. El método más usual del análisis posterior de los datos consiste en realizar todas las posibles comparaciones de las medias por parejas. En estas circunstancias, la única cosa razonable que puede uno preguntarse es qué parejas de medias son iguales y cuales son distintas. En esencia se debe contrastar las siguientes hipótesis:

$$H_0: \bar{X}_i = \bar{X}_j ; H_1: \bar{X}_i \neq \bar{X}_j$$

Posteriormente se calcula un estadístico t, para cuando los tamaños muestrales son iguales, digamos a n, entonces  $n_i = n_j = n$  y la expresión de  $t_{cal}$  será:

$$t_{cal} = \frac{|\bar{X}_i - \bar{X}_j|}{\sqrt{\frac{2 CM_{Dentro}}{n}}}$$

Donde:

$\bar{X}_i$  y  $\bar{X}_j$  son las medias de las series i y j, respectivamente.

$CM_{Dentro}$  es el valor del cuadrado medio dentro, obtenido en el ANOVA.

n es la cantidad de repeticiones de las series de datos.

Se acepta  $H_0$ , si  $t_{cal}$  es menor que el valor de  $t_{tab}$ , obtenido a partir de la tabla de Tukey que da los valores  $t_{(n-1; K), 0.05}$ , donde K es el número de medias a ser comparadas y n-1 los grados de libertad. En la tabla 6.10, se muestran los resultados del test de Tukey aplicado a los datos de la tabla 6.7 y con el valor de  $CM_{Dentro}$  obtenido de la tabla 6.9.

**Tabla 6.10** Resultados del test de Tukey.

Comparación	$t_{cal}$	$t_{tab}$
$\bar{X}_{Estrella}$ vs $\bar{X}_{Granjero}$	15.00	5.89
$\bar{X}_{Estrella}$ vs $\bar{X}_{Barranca}$	72.67	
$\bar{X}_{Granjero}$ vs $\bar{X}_{Barranca}$	57.68	



Tal y como se muestra en la tabla 6.10, todos los valores de  $t_{cal}$  para las diferentes combinaciones de medias son mayores que el valor de  $t_{tab}$ , 5.89, obtenido a partir de la tabla de Tukey, por lo que rechazamos en todos los casos la  $H_0$  y aceptamos la  $H_1$  y concluimos que ninguna de las combinaciones de parejas de medias son iguales.

Todo lo anterior nos ayuda a confirmar lo ya establecido en 6.3.1 en cuanto a las diferencias encontradas en los contenidos de proteínas totales en las claras de los huevos de las muestras estudiadas.

Cabe mencionar que aunque todas las muestras son del mismo tipo, existen claras diferencias entre éstas, las que son debidas a diferentes factores tales como raza de las gallinas ponedoras, tipo de alimentación, condiciones ambientales en las que se encuentran, zona geográfica en la que se encuentran las granjas, etc. Estas diferencias las confirmamos tanto en la parte de determinación de proteínas totales como en durante el desarrollo de las comparaciones realizadas.

Por otra parte dado que la presente monografía es un estudio inicial que intenta dilucidar el aporte proteico de los huevos y las diferencias que existen entre las diferentes granjas de gallinas ponedoras en la región del occidente, convendría en un trabajo posterior realizar un estudio a mayor profundidad y de mayor alcance que incida no solo en aporte proteico real de los huevos, sino que también en otros parámetros establecieran la calidad de los huevo y que debería ser un aporte informativo a los consumidores finales.

## 6.4 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE PROTEÍNAS TOTALES EN CLARAS DE HUEVOS DE GRANJA Y DE “AMOR”

Una vez que determinamos y comparamos el contenido de proteínas totales en las claras de los huevos de las 3 granjas mencionadas, consideramos interesante determinar el contenido de proteínas totales en 2 muestras de huevos de distinta procedencia:

1. Huevos de gallinas de granjas ponedoras y que se venden comúnmente en los comercios.
2. Huevos de gallinas de fincas rurales y que se conocen popularmente como “huevos de amor”.

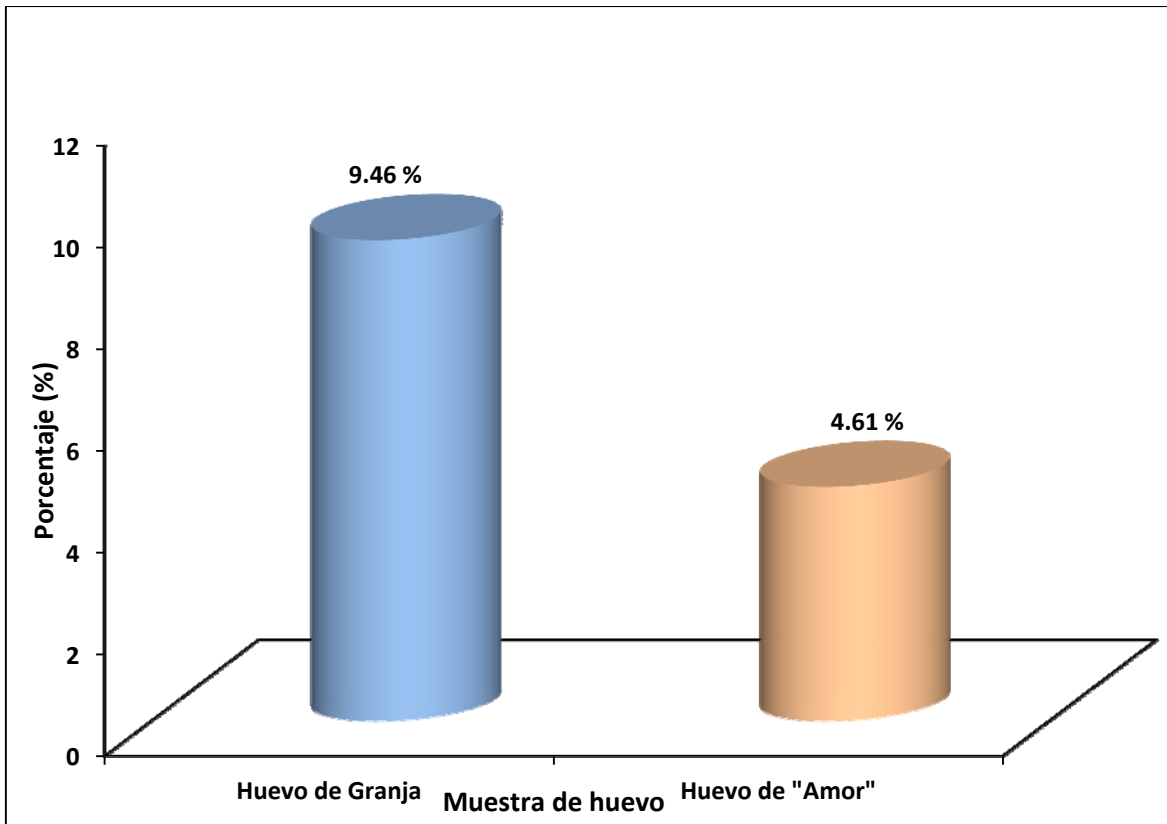
Esto lo hicimos porque existe la creencia arraigada y popular de que los “huevos de amor”, son más sanos y alimenticios que los huevos de granjas, por lo que se cree que tienen una mayor cantidad de proteínas, por lo que creímos que con esto podíamos ayudar a dilucidar esta creencia popular.

Para esto determinamos el contenido de proteínas totales en 2 muestras de huevo y obtenidas en un mercado de la ciudad de León, adquiridas y analizadas en el mismo día para evitar posibles sesgos en las cantidades encontradas. El análisis de las 2 muestras fue realizado según 5.1 a 5.4. Los resultados se muestran en la tabla 6.11 y en la figura 6.9.

**Tabla 6.11** Porcentajes de proteínas totales reales contenidas en los pesos totales de los huevos de granja y de “amor”.

Peso de Huevo	Huevo de Granja	Huevo de "Amor"
	9.46 %	4.61 %

Tal y como se observa en la tabla 6.11, el contenido porcentual de proteínas totales en las claras de huevo es mayor en el huevo de granja con un 9.46%, mientras que el “huevo de amor”, contiene menor cantidad porcentual con un 4.61%, existiendo casi un 50% de diferencia entre las dos muestras de huevos.



**Figura 6.9** Gráfico de barras de porcentajes de proteínas totales encontradas en las claras de los huevos de granja y de “amor”.

Las diferencias encontradas consideramos que se deben entre otras cosas al tipo de alimentación que se les proporciona a las gallinas, por una parte las gallinas ponedoras de granjas, llevan una dieta más controlada a base en algunos casos de hormonas para que produzcan específicamente huevos cada cierto tiempo, por el contrario las gallinas que producen los así llamados “huevos de amor”, no llevan una dieta controlada en la mayoría de los casos, ya que ellas se alimentan de lo que les dan sus dueños y/o en algunos casos de lo que encuentran en el campo, esto podría incidir en el contenido proteico de las claras de los huevos.

Por otro lado las gallinas ponedoras de granjas, son mas controladas por medico veterinarios mientras que las de fincas no son controladas, y finalmente las razas de gallinas son diferentes por una parte de las de granjas todas son de la misma raza mientras que las de finca son las así llamadas “indias”, provenientes de distintos cruces de razas y que no específicamente están destinadas a la producción de huevos.

Las diferencias encontradas por lo tanto ponen en duda la creencia popular de que los “huevos de amor”, son mejores que los huevos de granja, ya que claramente se demuestra en esta monografía que el contenido porcentual proteico de los huevos de granja es mayor que el de los “huevos de amor”.

Faltaría realizar otros estudios a mayor profundidad y extensión que tomen otros factores tales zona geográfica, raza de gallina, condiciones ambientales, tipo de alimentación, tratamiento veterinario, tiempo de recolección y expendio de los huevos, etc, para poder confirmar claramente los hallazgos iniciales de este trabajo monográfico.

# CAPITULO 7

## CONCLUSIONES

Una vez realizado los análisis de los resultados de la presente monografía, creemos pertinente plantear las siguientes conclusiones:

1. Se optimizaron las condiciones experimentales espectrofotométricas necesarias para la determinación de proteínas totales en clara de huevo. Siendo las condiciones optimas para la obtención del complejo colorimétrico proteína-cobre, mezcla de reactivos: NaOH 20% y CuSO<sub>4</sub> 1%; longitud de onda de máxima absorción: 540 nm; y rango de concentraciones de albumina de huevo: 500 a 3000 ppm.
2. Se optimizaron las condiciones experimentales gravimétricas necesarias para la determinación de proteínas totales en clara de huevo. Siendo las condiciones optimas para la precipitación selectiva de las proteínas totales el empleo de una disolución de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> saturada con un tiempo de espera de 30 minutos.
3. Se determinaron y compararon los contenidos porcentuales de proteínas totales en muestras de claras de huevos de distintas granjas. Se determinó que la clara de los huevos Barranca (10.57%) tiene un mayor contenido porcentual de proteína totales que, las claras de los huevos Granjero (9.84%) y Estrella (9.13%), esto en relación al peso total de los huevos. La aplicación de herramientas de comparación estadística (test de Cochran, ANOVA de un factor y Test de Tukey), confirmó la existencia de las diferencias observadas en la determinación. Sin embargo estas diferencias a falta de mayor información no pudieron ser relacionadas con una causa específica.
4. Se determinaron los contenidos porcentuales de proteínas totales en muestras de claras de huevos de granja y de "amor", encontrando que las claras de huevos de granja tienen un mayor contenido porcentual de proteínas totales (9.46%) que las claras de los huevos de "amor" (4.61%), casi un 50% de diferencia entre los dos contenidos. Esto lo relacionamos a falta de mayor información con el tipo de alimentación, los cuidados veterinarios y el ambiente en el que se desarrollan las gallinas ponedoras.



## **CAPITULO 8**

# **RECOMENDACIONES**

Una vez finalizada la presente monografía y considerando los resultados, dificultades y logros obtenidos durante su ejecución, creemos necesario realizar las siguientes recomendaciones:

1. Complementar el estudio de optimización incluyendo otras variables como temperatura, tiempo de mezcla y precipitación, cantidades y tipos de reactivos.
2. Establecer una correlación entre los parámetros tipo de alimentación y raza de gallinas ponedoras, frente a la cantidad porcentual de proteínas totales, para intentar determinar el efecto de la alimentación y la raza en el contenido porcentual total en las claras de huevos.
3. Ampliar el estudio a otros parámetros tales como humedad, ceniza, vitaminas, y minerales contenidos en las claras de huevos.
4. Incluir una mayor cantidad de muestras de huevos inclusive a otras provenientes de distintas regiones del país.
5. Realizar un estudio de mayor alcance del contenido porcentual de proteínas totales en claras de huevos de “amor”, para confirmar con mayores elementos los resultados iniciales obtenidos en ésta monografía.
6. Incluir la determinación del contenido porcentual de proteínas totales en las yemas de los huevos para tener una mayor visión del contenido total de proteínas totales existentes en una muestra de huevo.





## CAPITULO 9

# BIBLIOGRAFÍA

En el presente capítulo, se listan las referencias bibliográficas revisadas, consultadas, y empleadas tanto para la elaboración del marco teórico como para justificar los resultados y análisis de la presente monografía.

1. Huevo, <http://es.wikipedia.org/wiki/Huevo>
2. Huevo (biología), [http://es.wikipedia.org/wiki/Huevo\\_\(biolog%C3%ADa\)](http://es.wikipedia.org/wiki/Huevo_(biolog%C3%ADa)).
3. Clasificación y procedencia de los huevos de gallina, Categoría, <http://xananatura.blogspot.com/2011/11/clasificacion-y-procedencia-de-los.html>.
4. Huevos de gallina, <http://alimentos.org.es/huevos-gallina>
5. Proteína, <http://es.wikipedia.org/wiki/Prote%C3%ADna>
6. Clara o albumen, Ciencia con buen gusto, Fisico-química de la cocina, <http://www.telefonica.net/web2/cienciaconbuengusto/Teoria/HUEVO/clara.htm>
7. S. E. Molina Ortiz, Técnicas de Análisis de Alimentos, Universidad Nacional de la Plata, Argentina.
8. Fernández Reyes y A. Galván Cejudo, Métodos para la cuantificación de proteínas, Universidad de Córdoba, Argentina
9. T. Plummer, Introducción a la Bioquímica Práctica, <http://www.bioquimica.dogsleep.net/Laboratorio/Plummer/>
10. Laboratorio N° 5 Determinación cualitativa de algunos componentes del protoplasma celular, Universidad de Cartagena, Colombia.
11. C. Guzmán Verri, Manual de prácticas de laboratorio de Bioquímica, Práctica 4, Universidad Nacional, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Medicina Veterinaria, Costa Rica. [http://www.medvet.una.ac.cr/carrera/mva505\\_IntroduccionPracticas.pdf](http://www.medvet.una.ac.cr/carrera/mva505_IntroduccionPracticas.pdf).

12. Manual de Bioquímica, Práctica 4, Universidad Nacional Autónoma de México, México, <http://bq.unam.mx/Practicas1er.doc>.
13. S. Camacho Garrido, Practicas de Biotecnología, Instituto Mateo Alemán, Alcalá de Henares, Madrid, España, [http://www.educa.madrid.org/web/ies.mateoaleman.alcala/PRACTICAS\\_EB\\_alumnos.pdf](http://www.educa.madrid.org/web/ies.mateoaleman.alcala/PRACTICAS_EB_alumnos.pdf)
14. Necochea, Proteinas totales y albuminas, GT Lab., [www.gtlab.com.ar](http://www.gtlab.com.ar)
15. Practicas de Biotecnología, Determinación de proteínas, Universidad Autónoma Metropolitana, México, México, <http://docencia.izt.uam.mx/lyanez/analisis/>
16. Huevo (alimento), Wikipedia, [http://es.wikipedia.org/wiki/Huevo\\_\(alimento\)](http://es.wikipedia.org/wiki/Huevo_(alimento))
17. González Casado, A. M. García Campaña, L. Gámiz Gracia y L. Cuadros Rodríguez, Estadística: Análisis de la Varianza y Regresión, Universidad Internacional de Andalucía, 2004.
18. Ramis Ramos y M.C. García Álvarez-Coque, Quimiometria, Editorial Síntesis, Madrid, España, 2001

# CAPITULO 10

## ANEXOS

En el presente capítulo, se muestran, tablas de resultados que fueron empeladas para realizar los distintos cálculos que dieron origen a la presente monografía.

### 10.1 PORCENTAJES DE PROTEÍNAS CONTENIDOS EN LOS SOBRENADANTES DE LA EXTRACCIÓN DE CLARAS DE 3 GRANJAS

**10.1.1** Porcentajes de proteínas totales contenidas en el volumen de clara de huevo de 3 granjas, respecto al sobrenadante de la extracción.

<b>Muestra</b>	<b>Vol Clara (mL)</b>	<b>(% 1)</b>	<b>(% 2)</b>	<b>(% 3)</b>	<b>Media</b>
Estrella	41 mL	0.497 %	0.501 %	0.501 %	0.499 %
Granjero	39 mL	0.577 %	0.578 %	0.577 %	0.578 %
Barranca	39 mL	0.638 %	0.640 %	0.641 %	0.639 %

**10.1.2** Porcentajes de proteínas totales contenidas en el peso de clara de huevo de 3 granjas, respecto al sobrenadante de la extracción.

<b>Muestra</b>	<b>Peso Clara (g)</b>	<b>(% 1)</b>	<b>(% 2)</b>	<b>(% 3)</b>	<b>Media</b>
Estrella	36.89 g	0.552 %	0.556 %	0.556 %	0.555 %
Granjero	36.01 g	0.625 %	0.626 %	0.625 %	0.626 %
Barranca	37.4 g	0.691 %	0.693 %	0.694 %	0.692 %

**10.1.3** Porcentajes de proteínas totales contenidas en el huevo de 3 granjas, respecto al sobrenadante de la extracción.

<b>Muestra</b>	<b>Peso Huevo (g)</b>	<b>(% 1)</b>	<b>(% 2)</b>	<b>(% 3)</b>	<b>Media</b>
Estrella	115.17 g	0.177 %	0.178 %	0.178 %	0.178 %
Granjero	119.83 g	0.188 %	0.188 %	0.188 %	0.188 %
Barranca	114.38 g	0.208 %	0.208 %	0.209 %	0.208 %

## 10.2 PORCENTAJES DE PROTEÍNAS CONTENIDOS EN LOS PRECIPITADOS DE LA EXTRACCIÓN DE CLARAS DE 3 GRANJAS

**10.2.1** Porcentajes de proteínas totales contenidas en el volumen de clara de huevo de 3 granjas, respecto al precipitado de la extracción.

Muestra	Vol Clara (mL)	(% 1)	(% 2)	(% 3)	Media
Estrella	70.0 mL	15.89 %	15.87 %	15.90 %	15.89 %
Granjero	69.0 mL	15.55 %	15.57 %	15.54 %	15.55 %
Barranca	74.0 mL	16.01 %	16.03 %	16.01 %	16.02 %

**10.2.2** Porcentajes de proteínas totales contenidas en el peso de clara de huevo de 3 granjas, respecto al precipitado de la extracción.

Muestra	Peso Clara (g)	(% 1)	(% 2)	(% 3)	Media
Estrella	64.57 g	17.23 %	17.21 %	17.24 %	17.22 %
Granjero	63.19 g	16.98 %	17.00 %	16.96 %	16.98 %
Barranca	66.78 g	17.74 %	17.76 %	17.74 %	17.75 %

**10.2.3** Porcentajes de proteínas totales contenidas en el huevo de 3 granjas, respecto al precipitado de la extracción.

Muestra	Peso Huevo( g)	(% 1)	(% 2)	(% 3)	Media
Estrella	115.17 g	9.66 %	9.65 %	9.66 %	9.22 %
Granjero	119.83 g	8.95 %	8.96 %	8.95 %	4.45 %
Barranca	114.38 g	10.36 %	10.37 %	10.36 %	4.45 %

## 10.3 PORCENTAJES TOTALES DE PROTEÍNAS CONTENIDOS EN LAS CLARAS DE HUEVOS DE 3 GRANJAS

**10.3.1** Porcentajes de proteínas totales contenidas las claras de huevo de 3 granjas.

	Huevo Estrella	Huevo Granjero	Huevo Barranca
Volumen de Clara(ml)	16.05 %	16.46 %	16.66 %
Peso de Clara(g)	17.53 %	17.85 %	18.44 %
Peso de Huevo(g)	9.13 %	9.84 %	10.57 %

## 10.4 PORCENTAJES DE PROTEÍNAS CONTENIDOS EN LOS SOBRENADANTES DE LA EXTRACCIÓN DE CLARAS DE HUEVOS DE GRANJA Y DE “AMOR”

**10.4.1** Contenido porcentual de proteínas totales contenidas en el volumen de la clara de huevo de granja y de “amor”, respecto al sobrenadante de la extracción.

Muestra	Vol Clara (mL)	1%	(% 2)	(% 3)	Media
Huevo de granja	37 mL	0.392779 %	0.398053 %	0.40182 %	0.398 %
Huevo “amor”	22 mL	0.327983 %	0.33175 %	0.337024 %	0.332 %

**10.4.2** Contenido porcentual de proteínas totales contenidas en el peso de la clara de huevo de granja y de “amor”, respecto al sobrenadante de la extracción.

Muestra	Peso Clara (g)	(% 1)	(% 2)	(% 3)	Media
Huevo de granja	32.31 g	0.449793 %	0.455833 %	0.460147 %	0.455 %
Huevo “amor”	23.18 g	0.311286 %	0.314862 %	0.319867 %	0.315 %

**10.4.3** Contenido porcentual de proteínas totales contenidas en el peso total del huevo de granja y de “amor”, respecto al sobrenadante de la extracción.

Muestra	Peso Huevo (g)	(% 1)	(% 2)	(% 3)	Media
Huevo de granja	60.64 g	0.239657 %	0.242875 %	0.245174 %	0.243 %
Huevo “amor”	48.27 g	0.149485 %	0.151202 %	0.153605 %	0.151 %

## 10.5 PORCENTAJES DE PROTEÍNAS CONTENIDOS EN LOS PRECIPITADOS DE LA EXTRACCIÓN DE CLARAS DE HUEVOS DE GRANJA Y DE “AMOR”

**10.5.1** Contenido porcentual de proteínas totales contenidas en el volumen de la clara de huevo de granja y de “amor”, respecto precipitado de la extracción.

Muestra	Vol Clara (mL)	1%	(% 2)	(% 3)	Media
Huevo de granja	37 mL	15.11 %	15.14 %	15.08 %	15.11 %
Huevo “amor”	22 mL	9.77 %	9.73 %	9.82 %	9.77 %

**10.5.2** Contenido porcentual de proteínas totales contenidas en el peso de la clara de huevo de granja y de “amor”, respecto precipitado de la extracción.

<b>Muestra</b>	<b>Peso Clara (g)</b>	<b>(% 1)</b>	<b>(% 2)</b>	<b>(% 3)</b>	<b>Media</b>
Huevo de granja	32.31 g	17.30 %	17.33 %	17.27 %	17.30 %
Huevo “amor”	23.18 g	9.28 %	9.23 %	9.32 %	9.28 %

**10.5.3** Contenido porcentual de proteínas totales contenidas en el peso total del huevo de granja y de “amor”, respecto precipitado de la extracción.

<b>Muestra</b>	<b>Peso Huevo (g)</b>	<b>(% 1)</b>	<b>(% 2)</b>	<b>(% 3)</b>	<b>Media</b>
Huevo de granja	60.64 g	9.22 %	9.23 %	9.20 %	9.22 %
Huevo “amor”	48.27 g	4.45 %	4.43 %	4.47 %	4.45 %

## **10.6 PORCENTAJES TOTALES DE PROTEÍNAS CONTENIDOS EN LAS CLARAS DE HUEVOS DE GRANJA Y DE “AMOR”**

**10.6.1** Contenido porcentual de proteínas totales contenidas en las claras respecto a los pesos totales de los huevos de granja y de “amor”.

	<b>Huevo de Granja</b>	<b>Huevo de "Amor"</b>
<b>Volumen de Clara (mL)</b>	15.51 %	10.10 %
<b>Peso de Clara (g)</b>	17.76 %	9.59 %
<b>Peso de Huevo (g)</b>	9.46 %	4.61 %

## 10.7. TABLA DE COCHRAN

Tabla 7 Tabla G de Cochran

$v \backslash k$	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	30
1	0.9985 <i>0.9999</i>	0.9669 <i>0.9933</i>	0.9065 <i>0.9676</i>	0.8412 <i>0.9279</i>	0.7808 <i>0.8828</i>	0.7271 <i>0.8376</i>	0.6798 <i>0.7945</i>	0.6385 <i>0.7544</i>	0.6020 <i>0.7175</i>	0.5410 <i>0.6588</i>	0.4709 <i>0.5747</i>	0.3894 <i>0.4799</i>	0.2929 <i>0.3632</i>
2	0.9750 <i>0.9950</i>	0.8709 <i>0.9423</i>	0.7679 <i>0.8643</i>	0.6838 <i>0.7885</i>	0.6161 <i>0.7218</i>	0.5612 <i>0.6644</i>	0.5157 <i>0.6152</i>	0.4775 <i>0.5727</i>	0.4450 <i>0.5358</i>	0.3924 <i>0.4751</i>	0.3346 <i>0.4069</i>	0.2705 <i>0.3287</i>	0.1980 <i>0.2412</i>
3	0.9392 <i>0.9794</i>	0.7977 <i>0.8831</i>	0.6841 <i>0.7814</i>	0.5981 <i>0.6957</i>	0.5321 <i>0.6258</i>	0.4800 <i>0.5685</i>	0.4377 <i>0.5209</i>	0.4027 <i>0.4810</i>	0.3733 <i>0.4469</i>	0.3264 <i>0.3919</i>	0.2758 <i>0.3317</i>	0.2205 <i>0.2654</i>	0.1593 <i>0.1913</i>
4	0.9057 <i>0.9586</i>	0.7457 <i>0.8335</i>	0.6287 <i>0.7212</i>	0.5441 <i>0.6329</i>	0.4803 <i>0.5635</i>	0.4307 <i>0.5080</i>	0.3910 <i>0.4627</i>	0.3584 <i>0.4251</i>	0.3311 <i>0.3934</i>	0.2880 <i>0.3428</i>	0.2419 <i>0.2882</i>	0.1921 <i>0.2288</i>	0.1377 <i>0.1635</i>
5	0.8772 <i>0.9378</i>	0.7071 <i>0.7933</i>	0.5895 <i>0.6761</i>	0.5065 <i>0.5875</i>	0.4447 <i>0.5195</i>	0.3974 <i>0.4659</i>	0.3595 <i>0.4226</i>	0.3286 <i>0.3870</i>	0.3029 <i>0.3572</i>	0.2624 <i>0.3099</i>	0.2195 <i>0.2593</i>	0.1735 <i>0.2048</i>	0.1237 <i>0.1454</i>
6	0.8534 <i>0.9172</i>	0.6771 <i>0.7606</i>	0.5598 <i>0.6410</i>	0.4783 <i>0.5537</i>	0.4184 <i>0.4866</i>	0.3726 <i>0.4347</i>	0.3362 <i>0.3932</i>	0.3067 <i>0.3592</i>	0.2823 <i>0.3308</i>	0.2439 <i>0.2881</i>	0.2034 <i>0.2386</i>	0.1602 <i>0.1877</i>	0.1137 <i>0.1327</i>
7	0.8332 <i>0.8988</i>	0.6530 <i>0.7335</i>	0.5365 <i>0.6189</i>	0.4564 <i>0.5369</i>	0.3980 <i>0.4608</i>	0.3535 <i>0.4105</i>	0.3185 <i>0.3704</i>	0.2901 <i>0.3378</i>	0.2666 <i>0.3100</i>	0.2299 <i>0.2690</i>	0.1911 <i>0.2288</i>	0.1501 <i>0.1748</i>	0.1061 <i>0.1232</i>
8	0.8159 <i>0.8823</i>	0.6333 <i>0.7107</i>	0.5175 <i>0.5987</i>	0.4387 <i>0.5037</i>	0.3817 <i>0.4401</i>	0.3384 <i>0.3911</i>	0.3043 <i>0.3522</i>	0.2768 <i>0.3207</i>	0.2541 <i>0.2945</i>	0.2187 <i>0.2535</i>	0.1815 <i>0.2104</i>	0.1422 <i>0.1646</i>	0.1002 <i>0.1157</i>
9	0.8010 <i>0.8674</i>	0.6167 <i>0.6912</i>	0.5017 <i>0.5782</i>	0.4241 <i>0.4859</i>	0.3682 <i>0.4229</i>	0.3259 <i>0.3757</i>	0.2926 <i>0.3373</i>	0.2659 <i>0.3067</i>	0.2439 <i>0.2813</i>	0.2098 <i>0.2419</i>	0.1736 <i>0.2002</i>	0.1357 <i>0.1567</i>	0.0958 <i>0.1100</i>
10	0.7880 <i>0.8539</i>	0.6025 <i>0.6743</i>	0.4884 <i>0.5536</i>	0.4118 <i>0.4697</i>	0.3568 <i>0.4084</i>	0.3154 <i>0.3616</i>	0.2829 <i>0.3248</i>	0.2568 <i>0.2950</i>	0.2353 <i>0.2704</i>	0.2020 <i>0.2320</i>	0.1671 <i>0.1918</i>	0.1303 <i>0.1501</i>	0.0921 <i>0.1054</i>
16	0.7341 <i>0.7949</i>	0.5466 <i>0.6059</i>	0.4366 <i>0.4884</i>	0.3645 <i>0.4094</i>	0.3135 <i>0.3529</i>	0.2756 <i>0.3105</i>	0.2462 <i>0.2779</i>	0.2226 <i>0.2514</i>	0.2032 <i>0.2297</i>	0.1737 <i>0.1961</i>	0.1429 <i>0.1612</i>	0.1108 <i>0.1248</i>	0.0771 <i>0.0867</i>
36	0.6602 <i>0.7067</i>	0.4748 <i>0.5153</i>	0.3720 <i>0.4057</i>	0.3066 <i>0.3351</i>	0.2612 <i>0.2858</i>	0.2278 <i>0.2494</i>	0.2022 <i>0.2214</i>	0.1820 <i>0.1992</i>	0.1655 <i>0.1811</i>	0.1403 <i>0.1535</i>	0.1144 <i>0.1251</i>	0.0879 <i>0.0960</i>	0.0604 <i>0.0658</i>
144	0.5813 <i>0.6062</i>	0.4031 <i>0.4230</i>	0.3093 <i>0.3261</i>	0.2513 <i>0.2644</i>	0.2119 <i>0.2229</i>	0.1833 <i>0.1929</i>	0.1616 <i>0.1700</i>	0.1446 <i>0.1521</i>	0.1308 <i>0.1370</i>	0.1100 <i>0.1157</i>	0.0889 <i>0.0934</i>	0.0675 <i>0.0709</i>	0.0457 <i>0.0480</i>
$\infty$	0.5000 <i>0.5000</i>	0.3333 <i>0.3333</i>	0.2500 <i>0.2500</i>	0.2000 <i>0.2000</i>	0.1667 <i>0.1667</i>	0.1429 <i>0.1429</i>	0.1250 <i>0.1250</i>	0.1111 <i>0.1111</i>	0.1000 <i>0.1000</i>	0.0833 <i>0.0833</i>	0.0667 <i>0.0667</i>	0.0500 <i>0.0500</i>	0.0333 <i>0.0333</i>

$\alpha = 0.05$  (redonda) primer valor de las filas  $\alpha = 0.01$  (cursiva) segundo valor de las filas

## 10.8. TABLA DE TUKEY

**Tabla 10 Distribución de Tukey (Todas las comparaciones por pareja)**

$\frac{K}{f}$	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
1	12,7	19,1	23,2	26,2	28,6	30,5	32,1	33,5	34,7	35,8	36,7	37,6	38,4	39,2	$\alpha=5\%$
2	4,30	5,89	6,93	7,69	8,30	8,80	9,21	9,57	9,89	10,2	10,4	10,7	10,9	11,1	
3	3,18	4,18	4,82	5,30	5,69	6,00	6,26	6,49	6,69	6,87	7,04	7,18	7,32	7,44	
4	2,78	3,56	4,07	4,45	4,74	4,99	5,20	5,37	5,54	5,68	5,81	5,92	6,02	6,12	
5	2,57	3,25	3,69	4,01	4,26	4,48	4,65	4,81	4,94	5,07	5,18	5,28	5,37	5,46	
6	2,45	3,07	3,46	3,75	3,98	4,17	4,33	4,47	4,59	4,70	4,80	4,89	4,97	5,05	
7	2,36	2,94	3,31	3,58	3,79	3,97	4,12	4,24	4,36	4,45	4,55	4,63	4,71	4,78	
8	2,31	2,86	3,20	3,46	3,66	3,82	3,96	4,08	4,19	4,28	4,37	4,45	4,52	4,58	
9	2,26	2,79	3,12	3,37	3,55	3,71	3,84	3,95	4,06	4,15	4,23	4,31	4,38	4,44	
10	2,23	2,74	3,06	3,29	3,47	3,62	3,75	3,86	3,96	4,04	4,12	4,19	4,26	4,32	
11	2,20	2,70	3,01	3,23	3,41	3,56	3,68	3,78	3,88	3,97	4,04	4,11	4,17	4,23	
12	2,18	2,67	2,97	3,19	3,36	3,50	3,62	3,73	3,81	3,90	3,97	4,04	4,10	4,16	
13	2,16	2,64	2,93	3,15	3,32	3,45	3,57	3,67	3,76	3,84	3,91	3,98	4,04	4,09	
14	2,14	2,62	2,91	3,12	3,28	3,42	3,53	3,63	3,71	3,79	3,86	3,92	3,99	4,04	
15	2,13	2,60	2,88	3,09	3,25	3,38	3,49	3,59	3,68	3,75	3,82	3,88	3,94	4,00	
16	2,12	2,58	2,86	3,06	3,22	3,35	3,46	3,56	3,64	3,72	3,78	3,85	3,90	3,95	
17	2,11	2,57	2,84	3,04	3,20	3,32	3,44	3,53	3,61	3,68	3,75	3,81	3,87	3,92	
18	2,10	2,55	2,83	3,03	3,17	3,30	3,41	3,51	3,59	3,66	3,73	3,78	3,84	3,89	
19	2,09	2,54	2,81	3,01	3,16	3,29	3,39	3,48	3,56	3,63	3,70	3,75	3,81	3,86	
20	2,09	2,53	2,80	2,99	3,15	3,27	3,37	3,46	3,54	3,61	3,68	3,73	3,79	3,84	
24	2,06	2,50	2,76	2,95	3,09	3,21	3,31	3,40	3,48	3,54	3,61	3,66	3,71	3,76	
30	2,04	2,47	2,72	2,90	3,04	3,15	3,25	3,34	3,41	3,48	3,54	3,59	3,64	3,68	
40	2,02	2,43	2,68	2,86	2,99	3,10	3,20	3,27	3,34	3,41	3,46	3,52	3,56	3,61	
60	2,00	2,40	2,64	2,81	2,94	3,05	3,14	3,22	3,29	3,34	3,40	3,45	3,49	3,54	
120	1,98	2,38	2,60	2,77	2,90	3,00	3,06	3,16	3,22	3,28	3,33	3,38	3,42	3,44	
$\infty$	1,96	2,34	2,57	2,73	2,85	2,95	3,03	3,10	3,16	3,22	3,27	3,31	3,35	3,39	

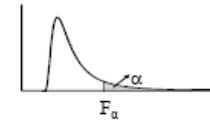
$\frac{K}{f}$	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
1	63,7	95,5	116,2	131,2	143,0	152,6	160,7	167,6	173,7	179,0	183,9	188,2	192,2	195,9	$\alpha=1\%$
2	9,93	13,45	15,76	17,48	18,83	19,94	20,88	21,69	22,41	23,04	23,62	24,13	24,61	25,05	
3	5,84	7,51	8,61	9,43	10,07	10,61	11,06	11,46	11,80	12,11	12,40	12,65	12,88	13,10	
4	4,60	5,74	6,48	7,04	7,48	7,85	8,17	8,44	8,68	8,89	9,08	9,26	9,42	9,57	
5	4,03	4,94	5,52	5,95	6,30	6,59	6,84	7,05	7,24	7,41	7,57	7,70	7,83	7,95	
6	3,71	4,48	4,97	5,35	5,64	5,88	6,09	6,27	6,43	6,58	6,70	6,82	6,94	7,04	
7	3,50	4,19	4,62	4,96	5,21	5,43	5,61	5,78	5,92	6,05	6,16	6,26	6,36	6,45	
8	3,36	3,99	4,38	4,68	4,92	5,12	5,28	5,43	5,56	5,68	5,78	5,88	5,97	6,05	
9	3,25	3,84	4,21	4,49	4,71	4,89	5,04	5,18	5,30	5,41	5,50	5,59	5,68	5,75	
10	3,17	3,73	4,08	4,34	4,55	4,72	4,86	4,99	5,10	5,20	5,30	5,37	5,45	5,52	
11	3,10	3,64	3,97	4,22	4,42	4,58	4,72	4,84	4,94	5,04	5,13	5,20	5,28	5,35	
12	3,05	3,57	3,89	4,13	4,31	4,47	4,60	4,72	4,82	4,91	4,99	5,07	5,13	5,20	
13	3,01	3,51	3,82	4,05	4,23	4,38	4,50	4,62	4,72	4,80	4,88	4,96	5,02	5,08	
14	2,98	3,46	3,76	3,98	4,16	4,30	4,43	4,53	4,62	4,71	4,79	4,86	4,92	4,99	
15	2,95	3,42	3,71	3,93	4,10	4,24	4,36	4,46	4,55	4,63	4,71	4,78	4,84	4,90	
16	2,92	3,39	3,67	3,88	4,04	4,19	4,30	4,40	4,49	4,57	4,64	4,71	4,77	4,82	
17	2,90	3,35	3,63	3,84	4,00	4,14	4,25	4,35	4,43	4,51	4,58	4,65	4,71	4,76	
18	2,88	3,32	3,60	3,80	3,96	4,09	4,20	4,30	4,38	4,46	4,53	4,60	4,65	4,70	
19	2,86	3,30	3,57	3,77	3,92	4,05	4,16	4,26	4,34	4,42	4,48	4,55	4,60	4,65	
20	2,84	3,28	3,55	3,74	3,90	4,02	4,13	4,22	4,31	4,38	4,44	4,50	4,56	4,61	
24	2,80	3,22	3,47	3,66	3,80	3,92	4,02	4,11	4,19	4,26	4,32	4,38	4,43	4,48	
30	2,75	3,15	3,39	3,57	3,71	3,82	3,92	4,00	4,07	4,14	4,19	4,25	4,30	4,34	
40	2,70	3,09	3,32	3,49	3,61	3,72	3,81	3,89	3,96	4,02	4,07	4,12	4,17	4,21	
60	2,66	3,03	3,25	3,41	3,53	3,63	3,71	3,79	3,85	3,91	3,96	4,01	4,05	4,09	
120	2,62	2,97	3,18	3,33	3,44	3,54	3,62	3,68	3,75	3,80	3,85	3,89	3,93	3,97	
$\infty$	2,57	2,91	3,11	3,25	3,37	3,45	3,53	3,59	3,65	3,70	3,74	3,78	3,82	3,85	

**Nota:** Para cada nivel de significación  $\alpha$  (a la derecha de cada tabla), los grados de libertad  $f$  (primera columna) y del número  $K$  de tratamientos a comparar (primera fila), en el interior de la tabla se da el valor  $t_{\alpha}(f, K)$  que deja a su derecha un área de  $\alpha$ .



## 10.9. TABLA F DE SNEDECOR

Tabla de distribución F de Snedecor ( $\alpha = 5\%$ )



$v_1 \backslash v_2$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120	$\infty$
1	161,4	199,5	215,7	224,6	230,2	234,0	236,8	238,9	240,5	241,9	243,9	245,9	248,0	249,1	250,1	251,1	252,2	253,3	254,3
2	18,51	19,00	19,16	19,25	19,30	19,33	19,35	19,37	19,38	19,40	19,41	19,43	19,45	19,45	19,46	19,47	19,48	19,49	19,50
3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,89	8,85	8,81	8,79	8,74	8,70	8,66	8,64	8,62	8,59	8,57	8,55	8,53
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,09	6,04	6,00	5,97	5,91	5,86	5,80	5,77	5,74	5,72	5,69	5,66	5,63
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,77	4,73	4,68	4,62	4,56	4,53	4,50	4,46	4,43	4,40	4,36
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,10	4,06	4,00	3,94	3,87	3,84	3,81	3,77	3,74	3,70	3,67
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,68	3,64	3,57	3,51	3,44	3,41	3,38	3,34	3,31	3,27	3,23
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,50	3,44	3,39	3,35	3,28	3,22	3,15	3,12	3,08	3,04	3,00	2,97	2,93
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,29	3,23	3,18	3,14	3,07	3,01	2,94	2,90	2,86	2,83	2,79	2,75	2,71
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,14	3,07	3,02	2,98	2,91	2,85	2,77	2,74	2,70	2,66	2,62	2,58	2,54
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	3,01	2,95	2,90	2,85	2,79	2,72	2,65	2,61	2,57	2,53	2,49	2,45	2,40
12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11	3,00	2,91	2,85	2,80	2,75	2,69	2,62	2,54	2,51	2,47	2,43	2,38	2,34	2,30
13	4,67	3,81	3,41	3,18	3,03	2,92	2,83	2,77	2,71	2,67	2,60	2,53	2,46	2,42	2,38	2,34	2,30	2,25	2,21
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,76	2,70	2,65	2,60	2,53	2,46	2,39	2,35	2,31	2,27	2,22	2,18	2,13
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,71	2,64	2,59	2,54	2,48	2,40	2,33	2,29	2,25	2,20	2,16	2,11	2,07
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,66	2,59	2,54	2,49	2,42	2,35	2,28	2,24	2,19	2,15	2,11	2,06	2,01
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,61	2,55	2,49	2,45	2,38	2,31	2,23	2,19	2,15	2,10	2,06	2,01	1,96
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,58	2,51	2,46	2,41	2,34	2,27	2,19	2,15	2,11	2,06	2,02	1,97	1,92
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,54	2,48	2,42	2,38	2,31	2,23	2,16	2,11	2,07	2,03	1,98	1,93	1,88
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,51	2,45	2,39	2,35	2,28	2,20	2,12	2,08	2,04	1,99	1,95	1,90	1,84
21	4,32	3,47	3,07	2,84	2,68	2,57	2,49	2,42	2,37	2,32	2,25	2,18	2,10	2,05	2,01	1,96	1,92	1,87	1,81
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,46	2,40	2,34	2,30	2,23	2,15	2,07	2,03	1,98	1,94	1,89	1,84	1,78
23	4,28	3,42	3,03	2,80	2,64	2,53	2,44	2,37	2,32	2,27	2,20	2,13	2,05	2,00	1,96	1,91	1,86	1,81	1,76
24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62	2,51	2,42	2,36	2,30	2,25	2,18	2,11	2,03	1,98	1,94	1,89	1,84	1,79	1,73
25	4,24	3,39	2,99	2,76	2,60	2,49	2,40	2,34	2,28	2,24	2,16	2,09	2,01	1,96	1,92	1,87	1,82	1,77	1,71
26	4,23	3,37	2,98	2,74	2,59	2,47	2,39	2,32	2,27	2,22	2,15	2,07	1,99	1,95	1,90	1,85	1,80	1,75	1,69
27	4,21	3,35	2,96	2,73	2,57	2,46	2,37	2,31	2,25	2,20	2,13	2,06	1,97	1,93	1,88	1,84	1,79	1,73	1,67
28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56	2,45	2,36	2,29	2,24	2,19	2,12	2,04	1,96	1,91	1,87	1,82	1,77	1,71	1,65
29	4,18	3,33	2,93	2,70	2,55	2,43	2,35	2,28	2,22	2,18	2,10	2,03	1,94	1,90	1,85	1,81	1,75	1,70	1,64
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,33	2,27	2,21	2,16	2,09	2,01	1,93	1,89	1,84	1,79	1,74	1,68	1,62
40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,25	2,18	2,12	2,08	2,00	1,92	1,84	1,79	1,74	1,69	1,64	1,58	1,51
60	4,00	3,15	2,76	2,53	2,37	2,25	2,17	2,10	2,04	1,99	1,92	1,84	1,75	1,70	1,65	1,59	1,53	1,47	1,39
120	3,92	3,07	2,68	2,45	2,29	2,18	2,09	2,02	1,96	1,91	1,83	1,75	1,66	1,61	1,55	1,50	1,43	1,35	1,25
$\infty$	3,84	3,00	2,60	2,37	2,21	2,10	2,01	1,94	1,88	1,83	1,75	1,67	1,57	1,52	1,46	1,39	1,32	1,22	1,00

Nota: Para cada valor de los primeros ( $v_1$  en la primera fila) y de los segundos ( $v_2$  en la primera columna) g.l., en el interior de la tabla se da el valor  $F_\alpha$  que deja a su derecha un área de  $\alpha$ .

## 10.10. CATEGORÍAS DE LOS HUEVOS POR TAMAÑO AL EMPACAR EN ORIGEN

Categoría	Tamaño	Peso mínimo por unidad (g)	Contenido neto mínimo por docena (g)	Contenido neto mínimo por caja (kg)
1	Extra grande	Mayor de 64	768	15.3 caja de 240 piezas
2	Grande Mayor	de 60 hasta 64	720	21.6 caja de 360 piezas
3	Mediano Mayor	de 55 hasta 60	660	19.8 caja de 360 piezas
4	Chico Mayor	de 50 hasta 55	600	18.0 caja de 360 piezas
5	Canica	Menor o igual a 50	---	---

### 10.11. PRECIPITADO OBTENIDO DE LA SEPARACIÓN SELECTIVA



### 10.12. COMPLEJO COLORIMÉTRICO OBTENIDO ENTRE EL REACTIVO DE BIURET Y LA SUSPENSIÓN DE LA SEPARACIÓN SELECTIVA



**10.13. LECTURAS DE ABSORBANCIA A DIFERENTES LONGITUDES DE ONDA EMPLEADAS PARA ELABORAR EL ESPECTRO DE ABSORCIÓN COBRE-PROTEINA, MOSTRADO EN LA FIGURA 6.4.**

Longitud de onda	Absorbancia	Longitud de onda	Absorbancia
350	0.230	550	0.445
375	0.235	575	0.430
400	0.250	600	0.400
425	0.300	625	0.325
450	0.325	650	0.250
475	0.350	675	0.200
500	0.400	700	0.175
525	0.440	725	0.150
540	0.451	750	0.145

**10.14. DATOS DE ABSORBANCIAS UTILIZADOS PARA OBTENER LOS PARÁMETROS DE REGRESIÓN MOSTRADOS EN LA TABLA 6.2.**

Nº	Concentración (ppm).	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Media
1	500	0.135	0.133	0.134	0.134
2	1000	0.256	0.253	0.249	0.253
3	1500	0.377	0.371	0.367	0.372
4	2000	0.527	0.525	0.526	0.526
5	2500	0.659	0.657	0.658	0.658
6	3000	0.790	0.788	0.789	0.789

**Nota:** a estas absorbancias se les resto el valor de la absorbancia de los blancos respectivos.



*A LA LIBERTAD POR LA UNIVERSIDAD*