



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Obtención y caracterización de plasma y albúmina de sangre
de bovino para su aplicación en una emulsión cárnica**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

RUBI AZUCENA RAMÍREZ TORRES

ASESORES:

DRA. ADRIANA LLORENTE BOUSQUETS

M. EN C. JONATHAN CORIA HERNÁNDEZ

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis.**

Obtención y caracterización de plasma y albúmina de sangre de bovino para su aplicación en una emulsión cárnica.

Que presenta la pasante: **Rubi Azucena Ramírez Torres**

Con número de cuenta: **311311969** para obtener el Título de la carrera: **Ingeniería en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 14 de Marzo de 2019.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en A. Jorge López Pérez	
VOCAL	Dra. Adriana Llorente Bousquets	
SECRETARIO	M. en C. Tais Nopal Guerrero	
1er. SUPLENTE	I.A Virginia López García	
2do. SUPLENTE	Dra. María Elena Pahua Ramos	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga*

**El presente Trabajo de Tesis de Investigación fue desarrollado en el TMIA:
Taller de Procesos Tecnológicos de Productos Cárnicos en el Laboratorio 7 de
la Unidad de Investigación Multidisciplinaria UIM de la FES Cuautitlán UNAM**

**Recibió apoyo del proyecto FESC-PIAPI 1840:
“Procesos Tecnológicos para la Conservación y Bioconservación
de la Carne y los Productos Cárnicos”**

**Se agradece al Centro de Enseñanza Agropecuaria CEA de la FES Cuautitlán,
por las muestras facilitadas para realizar este proyecto de tesis**

DEDICATORIAS

- A mis papás, Cleo y Javier, porque sin ustedes nada de esto hubiera sido posible. Gracias por el apoyo, no sólo económico sino también moral; gracias por estar conmigo día con día dándome ánimos, por su maravilloso ejemplo de luchar por lo que queremos y por darme siempre la fuerza para seguir adelante; por resolver mis dudas y tenerme paciencia en los días escolares difíciles, gracias por alentarme a luchar para llegar más alto y a no darme por vencida, gracias por siempre creer en mí. Mami, gracias por siempre esperar paciente en casa para recibirme con una sonrisa y la mejor disposición para escuchar mi día, por los consejos y las palabras de aliento que me mantuvieron de pie y no me permitieron caer. Papi, gracias porque a pesar del cansancio de un día pesado en el trabajo siempre has estado dispuesto a escucharme y a ayudarme siempre que lo necesito, gracias por llevarme de la mano a lo largo de este camino y por no permitir que deje de andar. Este logro es tan suyo como mío. Los amo con todo el corazón.
- A mis hermanas, Lupita y Gema, ustedes son un pilar muy importante en mi vida, gracias por las palabras, el apoyo, la confianza y la complicidad durante toda mi vida, por expresarme siempre las palabras correctas en el momento adecuado y por siempre estar dispuestas a escucharme, ayudarme y acompañarme en cada momento. Gracias por siempre hacer mi día mejor. Por supuesto que este logro también es suyo. Las amo infinitamente.
- A mi familia, que siempre creyó en mí, en especial a mi tía, Irenita, que aunque ya no podrás leerme ha sido gracias a tu esencia que tuve la fuerza para no rendirme y terminar este trabajo. Gracias por todo el amor, por darme el mejor ejemplo de cómo ser fuerte, valiente y guerrera. Te amo.
- A mis amigas, quienes llegaron desde el inicio de la universidad y que han permanecido a pesar de la distancia, el tiempo y las circunstancias, Mariana García y Karen Pavón, gracias por permanecer junto a mí en cada paso, por la lealtad y por el cariño, gracias por los momentos a su lado que sin duda son inolvidables, por siempre darme la mano y escucharme cuando más las necesito. También a las amigas que si bien, no llegaron desde el primer semestre, han hecho que estos años a su lado se sientan como si fueran más, Cristina Sánchez y Zatzil Robles, amigas gracias por hacer que cada aventura a su lado sea una excelente anécdota para contar, gracias por los consejos, por escucharme y por mantenerse siempre objetivas y justas ante las situaciones. A ustedes 4, amigas, gracias por acompañarme en las buenas y en las malas, en especial a ti, Cris, que has estado a mi lado y has sostenido mi mano en los peores momentos de mi vida, en las pérdidas y en los momentos en que mi corazón ha estado tan roto, gracias por no dejarme caer. Las quiero mucho, amigas, son lo mejor que me pudo regalar la universidad.

- Gracias a mis amigos, Alejandro Lomas y Alberto Carmona, que llegaron a mi vida desde hace 9 años y que siempre han estado para apoyarme y para creer en mí, gracias por quedarse a pesar de que seguimos caminos completamente diferentes, a pesar de que el tiempo y los deberes no nos han permitido vernos muy seguido y gracias por siempre mantenerse en contacto, nunca imagine que serían tan importantes en mi vida. Los quiero.
- Gracias a Cesar Alexis por llegar sin que te esperara y por mantenerte a mi lado en las buenas y en las malas, por enseñarme a ser perseverante y a luchar por lo que quiero, por creer en mí y siempre darme ánimos para seguir. Te quiero.
- Gracias a mis compañeros del taller, Karen Vargas, Carlos Herrera y Gabriela López, por hacer tan bonito ambiente de trabajo, por su apoyo, sus ánimos y por la confianza.
- A la Dra. Adriana Llorente y al Dr. Jonathan Coria, por los conocimientos impartidos, por la confianza, por siempre creer en mí y por no dejar que me diera por vencida. Gracias por estar siempre dispuestos a dedicar parte de su tiempo a leerme, a corregirme, a consolarme y a animarme, no hay manera de agradecer tanto apoyo que recibí de su parte.
- A mis sinodales, el M. en A. Jorge López, la Dra. Adriana Llorente, la M. en C. Tais Nopal, la I.A Virginia López y la Dra. María Elena Pahua por su apoyo en la revisión y corrección de este trabajo.
- Finalmente gracias a la Universidad Nacional Autónoma de México, por darme la formación y los conocimientos necesarios para desarrollarme no sólo como profesional sino también como persona, por ser mi segunda casa desde hace 9 años, por brindarme el sentimiento de compañerismo, hermandad y orgullo de pertenecer a la máxima casa de estudios, gracias porque adquirir los conocimientos, las experiencias, el prestigio y conocer a las mejores personas de mi vida entre tus muros realmente no tiene precio. Siempre POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
ABREVIATURAS	vi
RESUMEN	viii
INTRODUCCIÓN	ix
Capítulo 1 MARCO TEORICO	1
1.1. Generalidades de la sangre de bovino	1
1.1.1. Composición de la sangre	1
1.1.2. Sangre como contaminante	4
1.1.3. Normatividad mexicana relacionada con la sangre de bovino	8
1.2. Tratamiento adecuado de desechos de rastros y mataderos	12
1.3. Ingresos económicos a partir de productos elaborados con sangre de bovino	14
1.4. Rastros y mataderos	15
1.4.1. Bases jurídicas para el servicio público de rastros y mataderos	16
1.5. Plasma sanguíneo	17
1.5.1. Composición del plasma sanguíneo	18
1.6. Manejo de la sangre para la separación del paquete rojo-plasma	21
1.6.1. Centrifugación	22
1.6.2. Liofilización	22
1.7. Fraccionamiento etanólico	23
1.8. Método de Bradford para la cuantificación de proteínas	23
1.9. Electroforesis en geles de poliacrilamida (PAGE)	23
1.10. Uso de la albúmina en la industria	25
1.11. Propiedades fisicoquímicas de la carne	26
1.11.1. pH	26
1.11.2. a_w	27
1.11.3. Capacidad de retención de agua	27
1.11.4. Capacidad emulsificante	28
1.12. Definición de emulsión	29
1.12.1. Tipos de emulsiones	29
JUSTIFICACIÓN	31
OBJETIVOS	32
HIPÓTESIS	33
Capítulo 2 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	34
2.1. Técnica de extracción de sangre de bovino	34
2.2. Obtención de plasma de bovino	35
2.2.1. Obtención de albúmina de plasma de bovino por fraccionamiento etanólico	37
2.3. Liofilización	39
2.4. Cuantificación de proteínas por el método de Bradford	40

2.5. Electroforesis en geles de poliacrilamida	42
2.5.1. Preparación de muestras	42
2.5.2. Polimerización de geles	42
2.6. Elaboración de pasta cárnica tipo emulsión para elaborar salchicha de pollo	47
2.7. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos de la carne de pollo, carne de cerdo y de la pasta cárnica	50
2.7.1. a_w	50
2.7.2. pH	50
2.7.3. CRA	51
2.7.4. CE	51
Capítulo 3 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	53
3.1. Rendimiento de proteína	53
3.2. Propiedades fisicoquímicas	54
3.2.1. CRA	54
3.2.2. pH	56
3.2.3. CE	58
3.2.4. a_w	60
3.3. Concentración de proteínas por Bradford	63
3.4. Perfiles electroforéticos de las muestras de plasma y albúmina obtenidos a partir de sangre de bovino	64
CONCLUSIONES	66
RECOMENDACIONES	67
BIBLIOGRAFÍA	68

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Composición de la sangre de bovino y de cerdo	2
Cuadro 2.	Composición de la sangre, plasma líquido y paquete celular bovino (g/100mL)	3
Cuadro 3.	Rastros y/o centros de matanza, que cuentan con vigilancia o supervisión por parte de autoridades sanitarias en la entidad. Año 2018	6
Cuadro 4.	Cantidades promedio de desechos comestibles de matadero obtenidos en los centros de matanza de Colombia. (Porcentaje sobre peso vivo)	8
Cuadro 5.	Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en ríos y bienes nacionales	11
Cuadro 6.	Concentraciones promedio de contaminantes en el agua residual de plantas de sacrificio por especie	11
Cuadro 7.	Usos de la sangre entera para consumo animal mencionados por la FAO	15
Cuadro 8.	Aplicaciones del plasma sanguíneo bovino en sistemas alimentarios	18
Cuadro 9.	Propiedades físico-químicas de algunas proteínas del plasma	20
Cuadro 10.	Preparación de curva patrón	41
Cuadro 11.	Preparación de disolución problema	41
Cuadro 12.	Formulación de geles	43
Cuadro 13.	Diseño matricial	46
Cuadro 14.	Formulación de pasta cárnica para salchicha	47
Cuadro 15.	Concentración de proteínas	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Composición de la sangre	2
Figura 2	Fases de la sangre y su composición	4
Figura 3	Descarga de desechos de rastros a aguas municipales	7
Figura 4	Planta de tratamiento de aguas residuales	13
Figura 5	a) Sangre no coagulada y b) después que la muestra ha sido sometida a centrifugación	21
Figura 6	Dispersión bifásica (simple)	29
Figura 7	Dispersión múltiple	30
Figura 8	Diagrama de bloques general	34
Figura 9	Bovino hembra raza Holstein	35
Figura 10	Balanceo de tubos previo a la centrifugación	36
Figura 11	Centrífuga Centurion Scientific. K2015R	36
Figura 12	A) Sangre completa. B) plasma suspendido y paquete rojo en el fondo. C) Plasma completo	36
Figura 13	Ultracongelador REVCO Ultima II	36
Figura 14	Diagrama de bloques para fraccionamiento etanólico	37
Figura 15	Disolución de plasma y solución salina	38
Figura 16	Potenciómetro de medición directa marca Oakton	38
Figura 17	Impurezas precipitadas después de la centrifugación	38
Figura 18	Albúmina precipitada después de la centrifugación	39
Figura 19	Liofilizadora con muestras de albúmina	39
Figura 20	Plasma liofilizado	40
Figura 21	Albúmina liofilizada	40
Figura 22	Preparación de muestra de plasma y albúmina	42
Figura 23	Materiales para polimerización de geles	43
Figura 24	Polimerización de geles	44
Figura 25	Montaje de celdas y corrimiento de proteína para electroforesis	45
Figura 26	Teñido y desteñido de geles de poliacrilamida	45
Figura 27	Decoloración de geles y perfil electroforético de las muestras	46
Figura 28	Diagrama de proceso para elaboración de pasta para salchicha	48
Figura 29	Pollo en cubos de 3 centímetros	49
Figura 30	Procesador de alimentos marca Oster	49
Figura 31	Pasta de pollo para salchicha	49
Figura 32	Colocación de muestras para aw	50

Figura 33	A) Mezcla con NaCl B) Formación de la emulsión C) Rompimiento de la emulsión	52
Figura 34	Porcentaje de rendimiento según el método de separación	53
Figura 35	Resultados de análisis estadísticos de la CRA de pechuga de pollo y lomo de cerdo	55
Figura 36	Resultados de análisis estadísticos de la CRA de emulsión cárnica con diferentes concentraciones de proteína	56
Figura 37	Resultados de análisis estadísticos del pH pechuga de pollo y lomo de cerdo	57
Figura 38	Resultados de análisis estadísticos del pH emulsión cárnica con diferentes concentraciones de proteína	58
Figura 39	Resultados de análisis estadísticos de la CE pechuga de pollo y lomo cerdo	59
Figura 40	Resultados de análisis estadísticos de la CE emulsión cárnica con diferentes concentraciones de proteína	60
Figura 41	Resultados de análisis estadísticos de la aw pechuga de pollo y lomo de cerdo	61
Figura 42	Resultados de análisis estadísticos de la aw emulsión cárnica con diferentes concentraciones de proteína	62
Figura 43	Curva patrón Bradford	63
Figura 44	SDS-PAGE (10%) tinción Azul de Coomassie. Perfil electroforético de las muestras de Plasma y de fraccionamiento etanólico	65

ABREVIATURAS

%	Porcentaje
°C	Grados centígrados
APM	Alto Peso Molecular
ANOVA	Análisis de Varianza
a_w	Actividad de agua
BPM	Bajo Peso Molecular
BPPP	Buenas Prácticas de Producción Pecuaria
BSA	Seroalbúmina Bovina
Ca²⁺	Calcio
CE	Capacidad Emulsificante
CEA	Centro Enseñanza Agropecuaria
COFEPRIS	Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios
CRA	Capacidad de Retención de Agua
Da	Dalton
DBO	Demanda Biológica de Oxígeno
DQO	Demanda Química de Oxígeno
E	Potencial eléctrico
f	Coeficiente de Fricción
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
FESC	Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
g	Gramos
H₂O	Agua
HP	Caballo de Fuerza
kDa	kilodalton
kJ	kiloJoule
L	Litro
M	Mol
mg	Miligramos
mL	Mililitro
MPM	Marcador de Peso Molecular
NaCl	Cloruro de sodio
nm	Nanómetro
NOM	Norma Oficial Mexicana
pH	Potencial de hidrógeno
q	Carga Efectiva
RF	Corrimiento de la proteína o Masa molecular relativa
rpm	Revoluciones por minuto
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación

SST	Sólidos en Suspensión Totales
T	Temperatura
t	Tiempo
TIF	Tipo Inspección Federal
v	Velocidad de Migración
µm	Micrómetro

RESUMEN

La obtención de la carne de bovino lleva consigo la producción de un contaminante importante y de gran impacto ambiental que es la sangre, la cual puede ser aprovechada en la elaboración de alimento para animales o incluirla en la elaboración de productos para consumo humano, de manera que se reduzca el volumen de este desecho y se aproveche su propiedad emulsificante y su valor nutricional. Se obtuvo albúmina a partir de sangre de bovino, de animales sanos, según procedimientos establecidos en el centro de enseñanza agropecuaria de la facultad de estudios superiores Cuautitlán (CEA-FESC). Se obtuvieron los porcentajes de rendimiento de proteína mediante dos técnicas de separación, centrifugación controlada para obtención de plasma con un rendimiento de 8.02% y, fraccionamiento etanólico para obtención de albúmina con un rendimiento de 0.64%.

En el presente proyecto se determinó el porcentaje de proteínas por el método de Bradford y se realizó electroforesis en geles de poliacrilamida, con objeto de obtener el perfil electroforético de los extractos obtenidos y corroborar la presencia de albúmina sérica bovina.

Se determinó, además, el valor de las propiedades fisicoquímicas (actividad de agua, pH, capacidad de retención de agua y capacidad emulsificante) de dos diferentes productos cárnicos (pechuga de pollo y lomo de cerdo) para identificar a aquel que contara con una aptitud tecnológica pobre y emplearla en la elaboración de una emulsión cárnica, y de esta manera fuera más notorio el efecto de las proteínas empleadas en la emulsión sobre dichas propiedades.

Las emulsiones cárnicas se elaboraron con dos diferentes proteínas como emulsificantes (plasma y albúmina de sangre de bovino, a tres niveles de variación) obtenidas a partir de centrifugación y fraccionamiento etanólico respectivamente las cuales fueron caracterizadas mediante el método de Bradford y electroforesis en geles de poliacrilamida (PAGE). A dichas emulsiones se le realizaron pruebas fisicoquímicas para evaluar la capacidad emulsificante de la proteína agregada y la concentración favorable para el sistema cárnico. Se identificó a la carne de pollo como el cárnico con menor aptitud para la elaboración de una emulsión al contar con los parámetros fisicoquímicos menos favorables con respecto a la carne de cerdo. Al evaluar las emulsiones cárnicas elaboradas, se obtuvieron, en general, mejores resultados al adicionar el plasma, pues en el caso de a_w el resultado más favorable para una mayor durabilidad del producto se obtuvo con plasma al 1% ya que fue de 0.64 en comparación con las elaboradas con albúmina que van de 0.72 a 0.84. Al emplear el plasma a una concentración de 0.5%, este promueve una CRA de 49.7 mientras que los sistemas elaborados con albúmina presentan una CRA de sólo 28.15 para una concentración de 0.5% y de 32.05 al emplear una concentración de 1%.

Se fundamentó el efecto de las proteínas sobre la emulsión, a partir de la elaboración de 5 lotes de pasta cárnica con diferentes concentraciones de proteína, siendo la albúmina a una concentración de 0.5% aquella que proporcionó las mejores propiedades fisicoquímicas para la elaboración de una pasta cárnica.

INTRODUCCIÓN

Cuando se habla de la comercialización de bovino lo más común es pensar en el procesamiento de la carne y la elaboración de productos cárnicos debidos a su alto valor nutrimental pues sus componentes principales son 75% agua, 22.3% proteínas, 1.8% grasas y 485 kJ, (FAO, 2017) aunque existen subproductos obtenidos durante el sacrificio del animal que no son siempre tomados en cuenta y que también cuentan con una gran importancia nutrimental como lo son las proteínas y el hierro.

Los subproductos de la industria cárnica están compuestos de materiales *comestibles* (utilizados directa o indirectamente para consumo humano y animal) y *no comestibles*. Los subproductos incluyen además de las vísceras, el pelo, los pellejos, las pezuñas, los cuernos, las pieles y la sangre (Gracey, 2001).

La sangre es obtenida en gran cantidad y cuenta con una calidad de proteínas de alto valor nutricional, principalmente albúmina, que dentro de la industria alimentaria es empleada como espumante, gelificante y emulsificante (Ferreyra, 2007). El uso de la sangre proporciona grandes ventajas pues además de reducir la deficiencia de proteínas existente en la comunidad, reduce el impacto ambiental que tiene al ser vertida en ríos, arroyos o suelos sin antes haber tenido alguna consideración sanitaria, lo que además representa un daño a la salud de la población.

Existen distintos métodos para llevar a cabo la obtención del plasma y la albúmina de sangre de bovino, entre ellos se encuentra la aplicación de una fuerza centrífuga y el fraccionamiento etanólico, los cuales serán evaluados en este trabajo con la finalidad de identificar aquel que proporcione los más altos parámetros de rendimiento y pureza de la albúmina obtenida mediante la identificación de proteínas con electroforesis y su cuantificación, empleando el método de Bradford y de esta manera emplear la proteína con más altas aptitudes en la elaboración de una pasta para salchicha de pollo.

Capítulo 1 MARCO TEÓRICO

1.1. Generalidades de la sangre de bovino

La NOM-253-SSA1-2012 define la sangre como:

Sangre: el tejido hemático con todos sus componentes.

Sangre total: el tejido hemático tal y como se obtiene en una sesión de extracción, suspendido en una solución anticoagulante.

Sangre fresca: el tejido hemático de reciente extracción, que se ha mantenido en condiciones adecuadas de conservación y que mantiene todas las propiedades de sus diversos componentes.

La sangre de los bovinos es un líquido generalmente de color rojo, que circula por las arterias y venas del cuerpo del animal y que tiene importantes funciones fisiológicas como distribuir oxígeno y otras sustancias a las células del organismo, así como recoger de éstas los productos de desecho (Oficina Nacional de Normalización, 2009).

Todos estos componentes de la sangre se agotan o consumen cada cierto tiempo y, por tanto, se reemplazan con la misma frecuencia. Los componentes del plasma se forman en varios órganos del cuerpo, como el hígado el cual es responsable de la síntesis de seroalbúmina y fibrinógeno y que libera sustancias tan importantes como el sodio, el potasio y el calcio. Las glándulas endocrinas producen las hormonas transportadas en el plasma. Los linfocitos y las células plasmáticas sintetizan ciertas proteínas, mientras otros componentes proceden de la absorción que tiene lugar en el tracto intestinal (Rocha, 2006).

1.1.1. Composición de la sangre

A pesar de que la sangre es un elemento constante en los organismos, su composición química cambia en función de factores como la raza del animal, su edad, estado fisiológico y alimentación, entre otros. Sin embargo, se puede hablar de

una composición media: 80% agua, 18% de proteínas y 2% de hidratos de carbono, lípidos y sales minerales (Linden y Lorient, 1997). La composición de la sangre de bovino y de cerdo se puede observar en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Composición de la sangre de bovino y de cerdo

Órgano	Humedad	Proteínas	Grasas	Carbohidratos	Valor calórico (kJ)
Sangre de bovino	80.5	17.8	0.13	0.065	335
Sangre de cerdo	79.2	18.5	0.11	0.06	319

Fuente: Belitz (1997)

La sangre se compone del plasma que es rico en proteínas y en el que se suspenden las células o los corpúsculos y, el paquete celular; este último constituido por glóbulos rojos (eritrocitos), glóbulos blancos (leucocitos) y plaquetas (trombocitos) (Figura 1).



Figura 1. Composición de la sangre

Fuente: <http://histologiaunam.mx>

En el bovino, el plasma representa del 60 al 65% del total y el paquete globular del 35 al 40% (Linden y Lorient, 1997) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Composición de la sangre, plasma líquido y paquete celular bovino (g/100mL)

Componente	Sangre	Plasma (60%)	Paquete celular (40%)
Agua	80-85	90-92	70-78
Proteínas	15-18	6-8	25-29
Lípidos	0.15	0.5-1	0.20
Hidratos de carbono	0.10	0.08-0.12	-
Sales minerales	1	0.8-0.9	Trazas
Otras sustancias	0.55	0.2-0.3	-
Materia seca	15-20	8-10	22-30

Fuente: Linden y Lorient (1997)

Los glóbulos rojos contienen hemoglobina, el pigmento sanguíneo rojo. Los glóbulos blancos contienen núcleos, aunque sin pigmento.

La sangre contiene sales (fosfato de potasio, cloruro sódico y menor cantidad de sales de hierro y calcio) y varias proteínas, como las albúminas, las globulinas y el fibrinógeno (Figura 2).

Durante la coagulación de la sangre, el fibrinógeno soluble en el plasma se convierte en fibras de fibrina insolubles que se separan como un coágulo. La coagulación es una reacción compleja catalizada por la trombina enzimática, cuyo precursor es la protrombina.

La trombina reacciona con el fibrinógeno para formar fibrina insoluble. La malla de largas fibras de fibrina atrapa y sostiene las células sanguíneas (plaquetas, eritrocitos y leucocitos). Por lo tanto, el coágulo es de color rojo. El líquido restante, que contiene albuminas y globulinas, es el suero. El plasma sanguíneo contiene 0.3-0.4% de fibrinógeno y 6.5 – 8.5% de albúmina más globulina en la proporción de 2.9:2.0.

La coagulación sanguínea requiere la presencia de iones Ca^{2+} , tales como citrato fosfato, oxalato y fluoruro, previenen la coagulación de sangre. La coagulación se retarda ocasionalmente agitando la sangre con varillas metálicas sobre las cuales se deposita la fibrina.

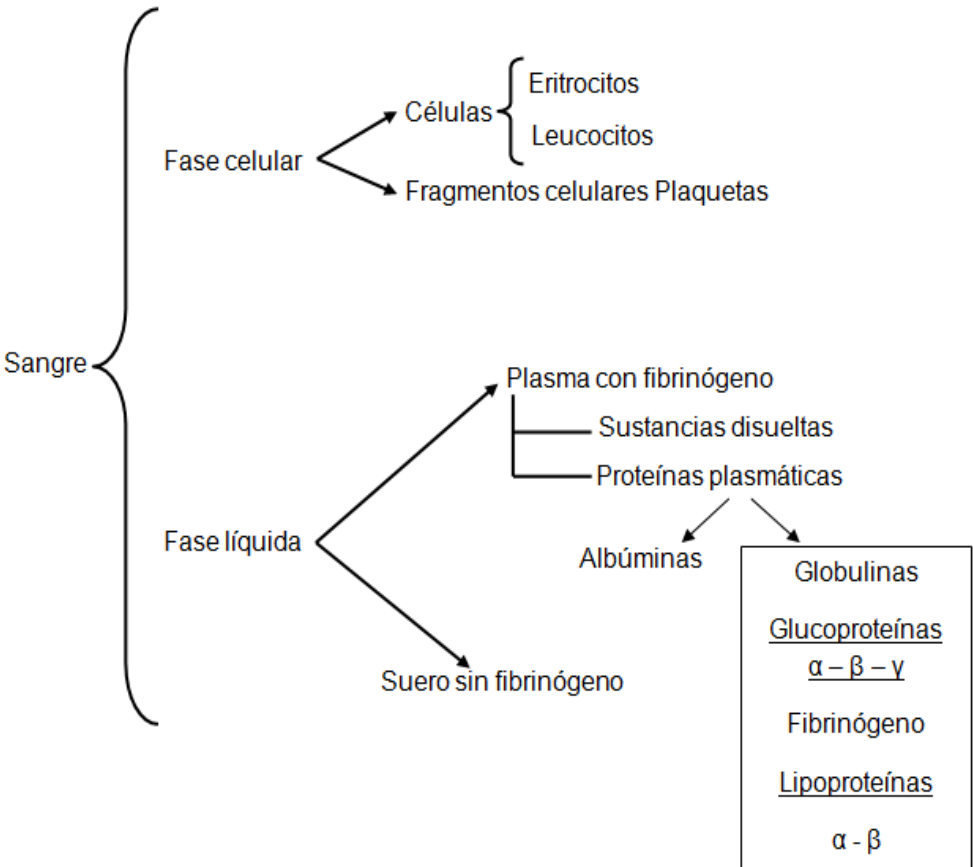


Figura 2. Fases de la sangre y su composición

Fuente: Linden y Lorient (1997)

1.1.2. Sangre como contaminante

Uno de los grandes problemas ambientales a nivel mundial es aquel provocado por los rastros debido a sus constantes descargas de efluentes de desecho con un alto contenido de materia orgánica, ya que el agua de lavado utilizada para la remoción de desechos biológicos y orgánicos durante el proceso de sacrificio y acondicionamiento de la carne para consumo humano es utilizada para remover

restos de estiércol, orina, grasas y sangre, que en muchos casos sólo es depositada en fosas para estabilización y composteo, sin existir tratamientos químicos y/o biológicos siendo una problemática con un potencial riesgo ambiental no solo porque causan daños a la salud humana sino porque también provoca daños a los ecosistemas cercanos, que en el caso de ser ríos reduce drásticamente el oxígeno disuelto, limitando la vida acuática, además de generar olor desagradable y la turbidez del agua.

Para remover el alto contenido de materia orgánica que se encuentra presente en las aguas residuales de los rastros se han experimentado diferentes tipos de tratamientos físicos como sedimentación y filtración, tratamientos químicos que se basan en el proceso de coagulación-floculación; y los biológicos que pueden ser aerobios y/o anaerobios que son otra alternativa para el tratamiento de los efluentes de rastro debido a que buscan reducir el contenido en materia orgánica y eliminar los microorganismos presentes, de las aguas residuales de los rastros, alimentándose y metabolizando la materia orgánica para degradarla en compuestos más simples (COFEPRIS, 2007).

En el Cuadro 3 se nombran los 9 rastros existentes en el Estado de México, de los cuales la Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación (SAGARPA) tiene conocimiento del arribo y sacrificio de ganado, entre los cuales 7 son de carácter particular y 2 municipales y todos ellos, son caracterizados por la escasez de tratamiento a los desechos generados (<https://www.gob.mx/senasica/documentos/directorio-de-padron-de-rastros> visitado el 20 de enero, 2018).

Cuadro 3. Rastros y/o centros de matanza, que cuentan con vigilancia o supervisión por parte de autoridades sanitarias en la entidad. Año 2018

NOMBRE DEL RASTO	MUNICIPIO	LOCALIDAD	TIPO DE RASTRO
Rastro Frigorífico Los Arcos SA de CV	La Magdalena	Los Reyes La Paz	Particular
Rastro Temamatla	Temamatla	Temamatla	Particular
Rastro Frigorífico La Paz SA de CV	La Magdalena	Los Reyes La Paz	Particular
Rastro Rancho San Luis Aculco	Tenango del Aire	Tenango del Aire	Particular
Rastro Abasto Cuautitlán	Cuautitlán	Cuautitlán de Romero Rubio	Particular
Rastro Municipal de Ecatepec	Ecatepec	Ecatepec	Municipal
Rastro de Unión de Tablajeros de Tlacotepec	Tlacotepec	Tlacotepec	Particular
Rastro de Nicolás Romero	Nicolás Romero	Nicolás Romero	Particular
Rastro Municipal de Tlalnepantla	Tlalnepantla	Tlalnepantla	Municipal

Fuente: <https://www.gob.mx/senasica/documentos/directorio-de-padron-de-rastros>

La principal fuente de contaminación producida por los rastros es la descarga de agua a ríos (Figura 3). Se necesitan aproximadamente de 500 a 1000 L de agua para llevar a cabo la limpieza de una canal de bovino y obtener algunos desechos comestibles (Cuadro 4). Estas aguas residuales obtenidas del proceso de matanza están altamente contaminadas con materia orgánica como puede ser pelo, grasa, estiércol, sangre, vísceras y trozos de carne.



Figura 3 Descarga de desechos de rastros a aguas municipales

Fuente: Hoyo (2015)

Cuadro 4. Cantidades promedio de desechos comestibles de matadero obtenidos en los centros de matanza de Colombia. (Porcentaje sobre peso vivo)

	Vacuno macho adulto	Vacuno hembra adulto	Vacuno joven
Peso vivo promedio en kg antes del faenado	430	320	50
Hueso	22.6	20.3	24
Vísceras torácicas	3.46	3.87	5.44
Sangre	2.28	2.63	3.00
Cabeza con cuernos	4.8	5.64	-
Cabeza sin cuernos	-	-	6.22
Patas con cascos	2.1	1.93	5.0
Órganos genitales	0.44	2.63	0.65
Grasa perirrenal y escrotal	4.18	4.0	0.80
Contenido ruminal y líquidos corporales	5.81	6.3	-

Fuente: Sánchez y Figueroa (1997)

1.1.3. Normatividad mexicana relacionada con la sangre de bovino

Las Normas Oficiales Mexicanas (NOM) relacionadas con los productos cárnicos y sus desechos establecen que los recipientes utilizados en la elaboración de productos a base de carne, vísceras, sangre o sus mezclas, curados o no, que son sometidos a proceso térmico deben lavarse inmediatamente después del vaciado de la sangre y mantenerse en áreas limpias y protegidas del polvo y fauna nociva (NOM-213-SSA1-2002), además se menciona que el área de desangrado de los establecimientos debe contar con instalaciones para el izado del animal y ser lo suficientemente amplias para facilitar las acciones del personal y el desangrado de los animales (NOM-194-SSA1-2004).

En cuanto a los desechos, como lo es la sangre, se establece que su eliminación debe estar separada del drenaje general ya que podría solidificarse y bloquear las

tuberías, además de ser una gran fuente de contaminación al medio ambiente al ser vertida a ríos provocando malos olores y significar un riesgo a la salud.

En algunos casos las tuberías que transportan a la sangre son separadas del drenaje principal con el fin de realizar un tratamiento a la sangre para su aprovechamiento.

En los casos en que se cumple con esta separación y la sangre sea recolectada para consumo humano, se debe asegurar que la sangre provenga de animales sanos, es importante identificar los aspectos de registro TIF y los sellos correspondientes, además de evitar que se contamine con heces, orina o cualquier otra secreción del animal. Cuando la sangre sea recolectada pero no se procese en la misma planta, debe depositarse en recipientes limpios y en caso de almacenarse, mantenerse en refrigeración (NOM-194-SSA1-2004).

La demanda biológica o bioquímica de oxígeno (DBO) se define a partir del oxígeno consumido por microorganismos para la degradación de la materia orgánica. Su incremento provoca la disminución del contenido de oxígeno disuelto en los cuerpos de agua, lo cual crea condiciones de anoxia (falta casi total de oxígeno) y produce efectos negativos en las comunidades biológicas de los ecosistemas acuáticos. La demanda química de oxígeno (DQO) estima la materia oxidable presente en el agua cualquiera que sea su origen, orgánico o inorgánico y es uno de los parámetros para evaluar la cantidad de materia orgánica removida o transformada en compuestos más simples. Los sólidos en suspensión totales (SST) miden aquellos sólidos que no se disuelven en el agua y quedan suspendidos, provienen de las aguas residuales y la erosión del suelo. El incremento de los niveles de SST en los cuerpos de agua afecta la diversidad de la vida acuática ya que causan turbiedad en el agua y reducen la penetración de la luz solar, impidiendo el desarrollo de la vegetación acuática natural.

La materia orgánica presente en el agua residual de los rastros, requiere de mucho tiempo para su oxidación o degradación y consume grandes cantidades de oxígeno para esta reacción, lo que genera disminución en el oxígeno disuelto en el lugar de

descarga, es por lo que se requiere de tratamientos para acelerar la oxidación de la materia orgánica.

Cuando el agua residual contiene una cantidad alta de materia orgánica, es propicia para el desarrollo de microorganismos patógenos normalmente presentes en dicha materia (*Salmonella* spp., *Shigella* spp.), además de contener, entre otros elementos, huevos de parásitos y quistes de amibas, así como residuos de plaguicidas (presentes en el alimento de los animales), cloro (limpieza de instalaciones), salmuera, etc.; resultando ser un contaminante potencial del suelo y el agua, en el que proliferan los malos olores por la descomposición de la materia orgánica.

Este tipo de residuos, por su humedad y capacidad de descomposición rápida, desprenden gases como el metano, involucrado en el cambio climático global, así como malos olores; atraen a moscas, cucarachas, ratas y otras especies de fauna nociva transmisora de enfermedades; provocan la formación de lixiviados que arrastran contaminantes hacia los cuerpos de agua superficiales o se infiltran hacia los acuíferos, deteriorando las fuentes de abastecimiento de agua para consumo humano e irrigación de campos agrícolas, amenazando, además, los ecosistemas acuáticos.

Estas aguas residuales, vertidas directamente en mantos de agua, generan un ambiente propicio para el desarrollo de moscas y mosquitos capaces de incubar y multiplicar en su cuerpo microorganismos que, posteriormente, podrían ser la causa de enfermedades en el humano, siendo, así, vectores reproductores. Asimismo, actúan como vectores mecánicos al transportar patógenos que se desarrollan en este medio contaminado (Signorini, 2005).

Haciendo referencia a las descargas en aguas residuales se establece que el responsable de la descarga queda obligado a realizar el monitoreo de las descargas de aguas residuales para determinar el promedio diario y mensual. La periodicidad de análisis y reportes se indican en el Cuadro 5 para descargas no municipales.

Cuadro 5. Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en ríos y bienes nacionales

Demanda bioquímica de oxígeno (toneladas/día)	Sólidos suspendidos totales (toneladas/día)	Frecuencia de muestreo y análisis	Frecuencia de reporte
Mayor de 3.0	Mayor de 3.0	Uno mensual	Uno trimestral
De 1.2 a 3.0	De 1.2 a 3.0	Uno trimestral	Uno semestral
Menor de 1.2	Menor de 1.2	Uno mensual	Uno anual

Fuente: NOM-001-SEMARNAT-1996 <http://www.dof.gob.mx/normasOficiales.php>

Las concentraciones de contaminantes en los efluentes de rastros pueden variar significativamente de una planta a otra, dependiendo de la medida de exclusión de algunos desechos del drenaje.

Cuadro 6. Concentraciones promedio de contaminantes en el agua residual de plantas de sacrificio por especie

Parámetro (unidad)	Porcino	Bovino	Aves	Mixto
pH	7.2	7.2	ND	7-8.5
DBO (mg/L)	1,250	2,000	1,550	-
DQO (mg/L)	2,500	4,000	2,500	1,000-3,000
SST (mg/L)	700	1,600	ND	400-800
Grasas y aceites (mg/L)	150	270	ND	<350
N (mg/L)	150	180	150-400	<300
P (mg/L)	25	27	16-50	<10

Fuente: COFEPRIS (2006)

En el Cuadro 6 se presentan las concentraciones promedio de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), la demanda química de oxígeno (DQO) y el total de sólidos en suspensión (SST), que son los parámetros que indican la calidad de las aguas residuales de rastros (Reyes, 2009). También se observa cómo, en todos los parámetros que se comparan, las descargas de desechos de bovino tienen un valor más alto, siendo estos desechos los que provocan una mayor afectación al

ecosistema acuático además de significar un mayor riesgo a la salud de la población y al medio ambiente.

1.2. Tratamiento adecuado de desechos de rastros y mataderos

Los rastros y mataderos tienen un gran impacto ambiental negativo en la mayoría de las localidades donde se asientan. En la mayoría de los casos, los residuos sólidos y líquidos son dispuestos de forma errónea e insalubre en el drenaje y los cuerpos de agua.

Para darle un uso y aprovechamiento a los residuos es indispensable, primeramente, recuperar y separar los residuos de manera integral para poder manejarlos de la manera más adecuada y fácil (COFEPRIS, 2007).

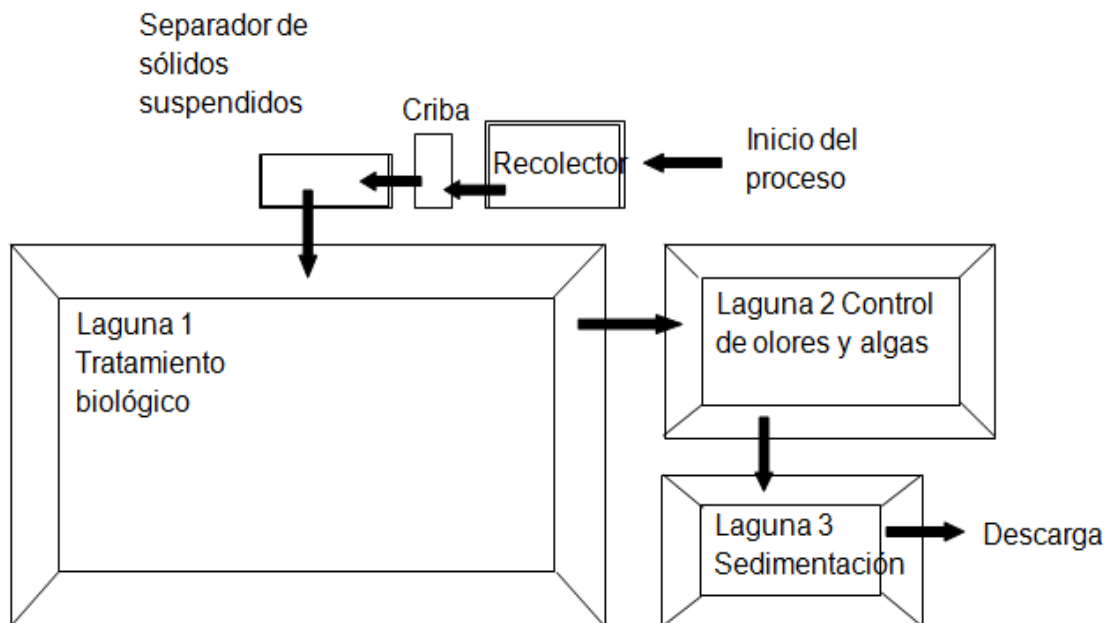
Algunos de los rastros que llevan a cabo un tratamiento de los residuos lo hacen de la manera convencional que consiste en hacer la separación del agua de los residuos sólidos, como pueden ser pelo, grasa, contenido estomacal, etc. Estos residuos sólidos se secan al ambiente mientras que el agua obtenida se envía a lagunas facultativas (pero esto trae como consecuencia emisión de olores putrefactos y gases de efecto invernadero) o bien se transporta a un tanque refrigerado donde permanecerá hasta su posterior uso como subproducto.

Un sistema de tratamiento de aguas residuales propuesto por “Frigorífico KOWI, S.A de C.V.” consiste en tres etapas, el tratamiento primario o pre tratamiento, secundario y dependiendo de la calidad del agua generada en esas etapas existe la posibilidad de utilizar un tercer tratamiento.

- Pretratamiento. Son procesos de depuración cuyos principios son netamente físicos, para acondicionar el agua para los tratamientos posteriores a través de los procesos (Sistema de limpieza, sistema de aire disuelto, bomba para sólidos, acarreadores de sólidos suspendidos, cárcamo de bombeo, bomba sumergible de 5 HP, criba de sólidos y prensa).

- Tratamiento secundario o biológico. Es el encargado de reducir la DBO de las aguas residuales. Se emplean procesos de oxidación biológica, también se denomina tratamiento biológico. Este mecanismo consiste en la asimilación de la materia orgánica degradable biológicamente por los microorganismos, en presencia de oxígeno y nutrientes.
- Tratamiento terciario. Considera un proceso de filtración a presión para eliminar aquellos posibles sólidos suspendidos que no fueron sedimentados en las etapas anteriores, de aquí pasará al proceso de desinfección con lámparas ultravioleta y poder disponer así del agua para el uso ya sea de riego de áreas verdes, lavado de corrales o bien tirarla en corrales cercanos sin ningún riesgo de contaminación (KOWI. *Pork Producer Company*, 2004).

Figura 4. Planta de tratamiento de aguas residuales



Fuente: KOWI (2004)

La sangre de animales recién sacrificados, puede ser aprovechada para alimentación animal, siendo empleada como harina de sangre, su preparación consiste en ser almacenada en recipientes limpios y mezclarla en partes iguales con salvado, cáscara de arroz, harina de yuca u otros alimentos y de esta manera suministrarla a porcinos y aves el mismo día de su preparación (COFEPRIS, 2007).

1.3. Ingresos económicos a partir de productos elaborados con sangre de bovino

En muchos países, las empresas que conforman la industria cárnica y, en especial, los mataderos, se han clasificado dentro del grupo de empresas que presentan una alternativa valiosa de recursos proteínicos para la alimentación animal por intermedio de los desechos comestibles, que en estos lugares se producen. Un uso adecuado de estos desechos no solamente redundaría en beneficio de la producción pecuaria, sino que también va a contribuir a una mejor protección del ambiente.

Al procesar adecuadamente los desechos de matanza, los rastros se ven favorecidos ampliamente en sus ingresos económicos, al poder comercializar un producto que se había constituido en un generador de mayores costos de producción. Es así como, los mataderos con sistemas de refrigeración vienen desarrollando planes especiales de implementación tecnológica en el área de los desechos de matadero, a través de la adquisición de nueva tecnología proveniente de aquellos países considerados como pioneros de la industria cárnica (FAO, 2015)

Además de emplear la sangre como constituyente de alimentos para consumo animal se suele emplear como ingrediente principal para la elaboración de embutidos para consumo humano (Mateo, 2008). En el Cuadro 7 se muestran algunos usos de la sangre entera propuestos por la FAO.

Cuadro 7. Usos de la sangre entera para consumo animal mencionados por la FAO

Alternativa de proceso	Producto final / Nombre comercial
Consumo directo sin proceso	Sangre coagulada
Mezcla con residuos agrícolas u otros desechos comestibles, con o sin cocción	Sangre mezclada
Coagulación Prensado Secado Molido	Sangre seca molida
Secado forzado en digestores, sola mezclada con otros desechos comestibles	Harina de sangre pura

Fuente: FAO (2015)

1.4. Rastros y mataderos

Un rastro es todo establecimiento dedicado al sacrificio y faenado de animales para abasto. La capacidad diaria de sacrificio depende de la especie, siendo de al menos 28 cabezas cuando se trata de ganado mayor, lo que es equivalente a 56 cabezas cuando se habla de ganado menor o a 1 000 aves domésticas; también puede ser una combinación considerando la relación de dos cabezas de ganado menor por una de ganado mayor o de 35 aves domésticas por un animal de ganado mayor (NOM-194-SSA1-2004).

El servicio de rastro o matadero municipal tiene el objetivo de proporcionar áreas e instalaciones para la matanza, faenado, conservación y distribución de carne y productos cárnicos en condiciones adecuadas de higiene.

Los rastros y mataderos constituyen un servicio público que tradicionalmente ha sido prestado por los municipios, aunque la mayoría de los casos con ciertas deficiencias y en lugares poco adecuados, sin considerar las normas de higiene necesarias para su funcionamiento.

Los rastros y mataderos deben adecuar sus procesos de forma que se minimicen los impactos ambientales adversos generados por la eliminación de la sangre, sin ningún tipo de tratamiento previo, de las aguas residuales generadas durante las diferentes operaciones del sacrificio y faenado de los animales para abasto; así como la contaminación generada por los decomisos y residuos sólidos que se produzcan.

Los establecimientos que realizan la matanza de animales de abasto generan, en las diferentes etapas del proceso de obtención de carne, un importante volumen de aguas residuales que son vertidas directamente a cuerpos de agua (ríos, arroyos, lagunas) o al drenaje municipal, recibiendo tratamiento posterior un pequeño porcentaje del total de las aguas vertidas. Estos residuos generan un grave problema ambiental y de salud pública (COFEPRIS, 2007).

1.4.1. Bases jurídicas para el servicio público de rastros y mataderos

Nivel Federal

Los rastros como establecimientos donde se procesan alimentos, deben ser verificados por la Secretaría de Salud (SSA) con la finalidad de que el establecimiento y el proceso cumplan con lo establecido en la normatividad sanitaria vigente. Asimismo, los rastros deben cumplir con lo estipulado en la Ley Federal de Sanidad Animal en su artículo 20. Las especificaciones técnicas que deben considerarse en un rastro o matadero municipal, se establecen en la NOM-194-SSA1-2004, Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio.

Nivel Estatal

Las disposiciones legales que regulan la operación de los rastros en el ámbito estatal son las Constituciones Políticas de los Estados y las Leyes Orgánicas Municipales, las cuales en su contenido retoman lo establecido en el artículo 115 constitucional, señalando al servicio público de rastros como una atribución del municipio.

En la Ley de Salud Pública de los Estados, se establece que el control de los rastros en el municipio está a cargo del ayuntamiento, facultándolo para revisar los animales en pie y en canal, y señalando la carne que puede ser destinada a la venta pública. Estas leyes prohíben la matanza de animales en casas o domicilios particulares cuando las carnes sean destinadas al consumo público. Por esta razón, es recomendable que las autoridades hagan suya esta disposición y obliguen a los particulares a realizar la matanza en el rastro municipal.

Nivel Municipal

Los instrumentos jurídicos que regulan el funcionamiento y operación de rastros en el ámbito municipal son el Bando de Policía y Buen Gobierno y el Reglamento de Rastros Municipales.

El Bando de Policía y Buen Gobierno enuncia los servicios públicos a cargo del ayuntamiento, entre ellos el de rastros, reglamentando su organización, funcionamiento, administración, conservación y explotación de los mismos, con el fin de asegurar que su prestación se realice de manera continua, equitativa y general para toda la población del municipio.

En el Reglamento para Rastros Municipales de la COFEPRIS, 2007 se regula todo lo relacionado con su operación, en él se norma lo referente a los procedimientos para el sacrificio de ganado; establece los requisitos que deberán cumplir los usuarios del rastro, así como los servicios que se prestan al interior del mismo, y determina las sanciones a que serán objeto las personas que infrinjan el reglamento.

1.5. Plasma sanguíneo

El plasma sanguíneo es el fluido extracelular de la sangre. Comprende el 55% del volumen total. Es de un color ambarino claro, con pH ligeramente alcalino entre 7.3 y 7.4 (Barragán, 2013).

El plasma bovino sanguíneo es una fuente potencial de proteínas de alto valor nutrimental, biológico e industrial. Encontrar aplicaciones de sus proteínas en más sistemas alimentarios constituye una tarea relevante para los investigadores de la

industria alimenticia. La incorporación del plasma sanguíneo bovino en alimentos contribuye al mejoramiento de su valor nutricional de una manera relativamente significativa y económica, por la alta disponibilidad de esta fuente de proteína en el mundo.

El plasma sanguíneo bovino constituye una fuente importante de proteína animal, por lo que se ha planteado su utilización para suplementar alimentos (Cuadro 8). Lo anterior, considerado que el plasma ofrece una elevada disponibilidad de una fuente de proteína animal de alta calidad nutricional y de relativo bajo costo (Barragán, 2013).

Cuadro 8. Aplicaciones del plasma sanguíneo bovino en sistemas alimentarios

Propiedad Funcional	Sistemas Alimentarios
Gelificación	Galleta –harina de yuca
Emulsificación	Salchichón de pollo, embutido de pollo, jamón cocido y mayonesa
Fijación de agua	Sistema modelo
Textura. Color. Aroma. Sabor	Masa harina galletas Producto cárnico de pollo
Sustitución de grasa	Paté
Estabilizante	Carne de res, cerdo y pollo

Fuente: Barragán (2013)

1.5.1. Composición del plasma sanguíneo

El plasma sanguíneo está constituido por sustancias inorgánicas y orgánicas.

Sustancias inorgánicas:

a) Agua, la sangre contiene 90% de agua, concentración que se mantiene en equilibrio constante entre la ingestión (aparato digestivo) y la excreción (riñones,

orina; piel, sudoración y pulmones, vapor de agua exhalado). El agua interviene en la termorregulación del cuerpo.

b) Sales minerales o electrolitos (sustancias que, al ser puestas en solución, se disocian en cationes y aniones). Proviene de los alimentos ingeridos y del producto de las reacciones químicas que se efectúan en el organismo. Ejemplos: cloruro de sodio y de potasio, bicarbonato, fosfatos y carbonatos de calcio y de magnesio, etc.

Sustancias orgánicas; se consideran dentro de ellas a:

a) *Proteínas plasmáticas.* Son generalmente elaboradas y secretadas por las células hepáticas o algunas células de la sangre. Son de tres tipos: fibrinógeno, seroalbúminas y seroglobulinas. Estas proteínas intervienen manteniendo la presión osmótica y oncótica del plasma, proporcionan la viscosidad de la sangre y participan en la regulación del equilibrio ácido básico de la misma; en la defensa inmunológica del organismo (globulinas) y en la coagulación sanguínea (fibrinógeno). En el Cuadro 9 se pueden observar las propiedades fisicoquímicas de algunas de las proteínas que están presentes en el plasma.

b) *Sustancias nutritivas.* El plasma sanguíneo contiene los productos finales del metabolismo de los alimentos: aminoácidos, glucosa, ácidos grasos y glicerol (grasas neutras), vitaminas.

c) *Gases.* El oxígeno, el dióxido de carbono y el nitrógeno, se encuentran disueltos en el plasma. El ácido carbónico proveniente de los tejidos llega a la sangre de manera constante y es transformado por los amortiguadores (bicarbonato, fosfato de sodio, proteínas, etc.) que lo neutralizan.

Cuadro 9. Propiedades físico-químicas de algunas proteínas del plasma

Proteína	Punto isoelectrico	Peso Molecular (Da)
Albúmina	-	61,000
Albúmina sérica	4.70	69,000
α - globulinas		
α - globulinas	5.06	200,000-300,000
α - glucoproteína ácida (orosomucoide)	2.7	44,100
α -lipoproteínas	-	435,000
Haptoglobina	4.1	85,000
α -2-glicoproteína	3.8	-
Plasminógeno	5.6	143,000
Ceruloplasmina	4.4	151,000
β - Globulinas		
β -Globulinas	5.12	93,000
β -lipoproteína	-	3.2×10^6
Transferrina	4.4	88,000
γ -Globulinas		
γ -Globulinas	6.85	160,000
Fibrinógeno	5.80	330,000

Fuente: Barragán (2013)

d) Productos del metabolismo proteínico. El ácido úrico, la urea, la creatinina y otros componentes, se transportan por el plasma sanguíneo para ser excretados por los riñones y otros órganos de eliminación.

e) Hormonas y anticuerpos. Las hormonas, sustancias secretadas por las glándulas endocrinas, utilizan la sangre como un medio para ser transportadas y llegar rápidamente a los órganos “blanco” donde ejercerán su acción (histologiaunam.mx).

1.6. Manejo de la sangre para la separación del paquete rojo – plasma

Para la obtención del plasma sanguíneo se debe partir de sangre de animales sanos y obtenida en condiciones higiénicas adecuadas que se encuentren en rastros TIF y el procedimiento se lleve a cabo aplicando las buenas prácticas de producción pecuaria (BPPP). Inmediatamente después la sangre debe mezclarse con anticoagulantes y transportarse a tanques de refrigeración a baja temperatura (5 °C) hasta la planta de procesamiento (López y Casp, 2004).

Los componentes de la sangre se pueden obtener mediante la aplicación de métodos físicos como la centrifugación y de métodos químicos como el fraccionamiento etanólico.

Posteriormente se somete a centrifugación para separar por un lado el plasma (60-70% de la sangre original) y por otro lado el paquete celular o paquete rojo (30-40%) como se muestra en la Figura 5.

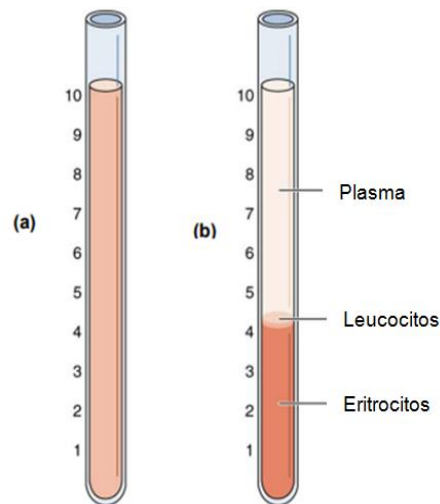


Figura 5. a) Sangre no coagulada y b) después que la muestra ha sido sometida a centrifugación

Fuente: <http://histologiaunam.mx>

Tanto el plasma como el paquete celular sanguíneo obtenido pueden conservarse en refrigeración o congelación, además pueden someterse a secado por aspersión o liofilización, lo cual permite la obtención de productos con sus proteínas intactas y completamente solubles y con una óptima calidad microbiológica y bromatológica (López y Casp, 2004).

1.6.1. Centrifugación

La centrifugación es una técnica de separación empleada para aislar o concentrar partículas suspendidas en un líquido a través de la velocidad de desplazamiento la cual depende de su forma, tamaño, densidad y/o peso al ser sometidas a una fuerza centrífuga (Wiesmann y Bider, 1982).

Al someter la sangre a un proceso de centrifugación se separa el plasma del paquete rojo, lo que da como resultado un porcentaje de plasma de 70%, aproximadamente, el cual contiene de 7 a 8% de proteínas.

1.6.2. Liofilización

La liofilización es un proceso que tiene como objetivo separar el agua de un alimento mediante congelación y posterior sublimación del hielo a -50 °C, presión en el sistema de 0.160 mBar y un tiempo de 24 h.

La liofilización es el proceso más suave para secar productos y es el mejor método para secar compuestos orgánicos o inorgánicos sin alterar su composición cualitativa o cuantitativa. Por las condiciones a las que se realiza el proceso de liofilización (presión de 0.160 mBar y baja temperatura) es posible evitar la desnaturalización de las proteínas. Los alimentos y los materiales biológicos tales como células, tejidos, bacterias y vacunas se convierten en productos secos, evitando el paso por su fase líquida, en consecuencia, también los cambios enzimáticos, biológicos y químicos (Ramírez, 2006).

En este proyecto la liofilización se propone como estrategia de concentración de los componentes de la sangre (albúmina y plasma), para su análisis de proteínas y caracterización mediante electroforesis en gel.

1.7. Fraccionamiento etanólico

En el proceso de separación de los componentes de la sangre, se pueden utilizar también métodos químicos, como la adición de disolventes orgánicos neutros miscibles con el agua, tales como el etanol.

La precipitación proteica por los solventes no solo se explica con base en la constante dieléctrica, sino que también es causada por la deshidratación de las proteínas.

La solubilidad de una proteína a un pH y fuerza iónica determinados está en función de la constante dieléctrica del medio. En el caso de utilizar etanol, este disminuye la solubilidad en agua de la mayor parte de las proteínas globulares, de tal manera que precipitan de la solución. Las moléculas del solvente no acuoso forman hidratos compitiendo por el agua con las moléculas proteicas produciéndose la precipitación por deshidratación de las proteínas.

1.8. Método de Bradford para la cuantificación de proteínas

El método de Bradford es un método colorimétrico para la cuantificación de proteínas. Se basa en el uso de un colorante hidrofóbico cuyas disoluciones acuosas en presencia de ácido fosfórico tienen un color pardo y que, al encontrarse en el entorno hidrofóbico del interior de una proteína, origina un color azul intenso que se puede medir fácilmente. Este método depende de la interacción relativamente inespecífica entre un colorante hidrofóbico y las proteínas, por lo que es sensible a la presencia de contaminantes tales como restos de detergente y líquidos orgánicos como el metanol. Su principal ventaja es que es más rápido y fácil de emplear que otros métodos alternativos.

1.9. Electroforesis en geles de poliacrilamida (PAGE)

La electroforesis es un método analítico–semipreparativo, en el que se separan biomoléculas, en dependencia entre otros factores de su carga y bajo la acción de un campo eléctrico. Sirven como método de separación de mezclas complejas de ácidos nucleicos, proteínas y otras biomoléculas, donde aportan un potente criterio de

pureza las biomoléculas migran hacia el cátodo o ánodo (electrodos - y +), en dependencia de una combinación de su carga, peso molecular y estructura tridimensional. Es de destacar que, a escala analítica, los métodos electroforéticos son de alta sensibilidad, poder de resolución y versatilidad (Pérez, H., 2000).

Se pueden conocer también mediante estas técnicas, las características ácido-básicas de las proteínas presentes en un extracto crudo, lo que da la información necesaria si se pretende realizar posteriormente, una separación cromatográfica basada en diferencias de carga. Es útil además para determinar otros parámetros como peso molecular, punto isoelectrico y número de cadenas polipeptídicas de las proteínas. La velocidad de migración (v) de la partícula es directamente proporcional al producto de su carga efectiva (q) y al gradiente de potencial eléctrico (E) e inversamente proporcional al coeficiente de fricción (f) relativo al tamaño y forma de la molécula, o sea, a la resistencia que le ofrece el medio (Ecuación 1).

$$v = q \frac{E}{f} \quad \text{Ecuación 1}$$

La velocidad de migración electroforética depende de la densidad de carga de la molécula (relación carga / peso), del voltaje aplicado y de la porosidad del gel de electroforesis. El voltaje no se puede incrementar indiscriminadamente porque se genera un excesivo calor. En contraste, al aplicar bajo voltaje puede ocurrir una pobre separación, por causa de la difusión por tiempo muy prolongado de la corrida electroforética.

La mayoría de las biomacromoléculas (proteínas, ácidos nucleicos y polisacáridos) poseen determinada carga eléctrica con grupos aniónicos y catiónicos capaces de disociarse. La carga neta está dada por el pH del medio y puede ser modificada por la interacción con pequeñas moléculas de iones u otras macromoléculas. De lo anterior se deduce que el pH influye sobre la velocidad de migración de las moléculas. En el punto isoeléctrico de la biomolécula, pH al cual su carga neta es 0, esta no migra. Por debajo del punto isoeléctrico tiene carga neta positiva y migra hacia el cátodo, y por encima del punto isoeléctrico tienen carga neta negativa y migra hacia el ánodo (Pérez, H., 2000).

1.10. Uso de la albúmina en la industria

Las proteínas de la sangre presentes en la fracción líquida de ella o plasma sanguíneo, como la albúmina y globulina, tienen una gran importancia para la industria alimentaria por presentar propiedades funcionales como emulsificantes de grasas, capacidad de retención de agua en los sistemas alimentarios, principalmente en emulsiones cárnicas o embutidos de pasta fina. Además, dentro de los emulsificantes de origen animal, las proteínas del plasma sanguíneo bovino, presentan una menor actividad emulsificante que la caseína, aunque mejor que la de la harina de soya y que las proteínas cárnicas (Ockerman y Hansen, 1994).

Dependiendo del método empleado para su obtención las propiedades de las albúminas comerciales usadas en los laboratorios, difieren unas de otras; estas diferencias son principalmente: la naturaleza y la cantidad de impurezas presentes, la fuerza iónica, el pH y las sustancias unidas a la albúmina tales como iones, lípidos y ácidos grasos (González, Acuña, Lara, Villalobos y Peña, 1985).

La albúmina de suero bovino, como proteína de alta pureza, se encuentra dentro de las materias primas más importantes en aplicaciones industriales y de investigación, para utilizarse como medio de crecimiento para cultivos de tejidos y células, patrón de proteína, aditivo en diluyentes específicos, producción de vacunas, agente bloqueador en inmunoensayos, estabilizador de proteínas y aplicaciones en biología molecular (Barragan, 2013).

1.11. Propiedades fisicoquímicas de la carne

La capacidad emulsificante (CE), la actividad de agua (a_w), el pH y la capacidad de retención de agua (CRA), son propiedades de la carne siendo estas dos últimas las que se ven mayormente afectadas luego del sacrificio del animal; el pH desciende de 7 a un intervalo de 5.4 a 6 mientras se efectúa la glucólisis lo que da lugar a la disminución de la capacidad de retención de agua.

La adición de albúmina y plasma de sangre de bovino en una emulsión cárnica se realiza con la finalidad de mejorar las propiedades de un embutido (en caso de emplear esta pasta para elaboración de una salchicha) como lo son su capacidad para tener agua y la capacidad para formar y estabilizar la emulsión.

1.11.1. pH

El pH es un valor que determina si una sustancia es ácida, neutra o básica, calculado por el número de iones de hidrógeno presentes en una disolución. Es medido en una escala de 0 a 14, en la cual 7 significa que la sustancia es neutra. Valores de pH por debajo de 7 indican que la sustancia es ácida y valores por encima de 7 indican que la sustancia es básica. Un punto de pH significa una concentración diez veces mayor o menor que la anterior o la posterior en la escala.

El descenso del pH depende del tipo de fibras que predominan en el músculo y de la actividad muscular antes del sacrificio. Así, los músculos con predominio de fibras de contracción rápida (blancas) alcanzan valores finales de 5.5 debido a que en su mayoría son glucolíticos que propician el descenso del pH, mientras que los músculos en donde predominan las fibras de contracción lenta (rojas) el pH no baja de 6.3 pues son oxidativos y su pH es más elevado. (Ordoñez, 1998, Citado por Garrido, 2005). Los músculos del animal que presentan más contracciones en el periodo previo al sacrificio presentan un pH más elevado después (Zimmerman, 2008).

1.11.2. Actividad de agua

La actividad del agua (a_w) se define como la relación entre la presión de vapor del agua en un material (P) y la presión de vapor de agua pura (P_o) a la misma temperatura. El valor a_w depende de la composición, la temperatura y el contenido en agua del producto. Tiene incidencia sobre las características de calidad, tales como: textura, sabor, color, gusto, valor nutricional del producto y su tiempo de conservación.

La actividad de agua es uno de los factores intrínsecos que posibilitan o dificultan el crecimiento microbiano en los alimentos. Por ello su medición (Ecuación 2) es importante para controlar dicho crecimiento.

$$a_w = \frac{P}{P_o} \quad \text{Ecuación 2}$$

1.11.3. Capacidad de retención de agua

La capacidad de retención de agua (CRA) es un parámetro físico-químico importante por su contribución a la calidad de la carne (fue asociada ya por Wierbicki *et al.*, 1957; Wierbicki y Deatherage, 1958 y Hamm, 1960) y la de sus productos derivados. La CRA de la carne está relacionada con la textura, terneza y color de la carne cruda y con la jugosidad y firmeza de la carne cocinada. Dicha retención de agua se produce a nivel de las cadenas de actino-miosina.

La CRA es causada en primer lugar por una inmovilización de agua de los tejidos en el sistema miofibrilar (Hamm, 1960, 1972, 1975, 1984), más específicamente el agua permanece en el músculo o producto muscular por una acción capilar que es generada por pequeños poros o capilares, teniendo en cuenta además que las miofibrillas ocupan aproximadamente el 70% del volumen total de la masa molecular; esto significa que una notable parte del agua inmovilizada se localiza entre los filamentos gruesos y finos de las miofibrillas (Offer y Trinick, 1983, Hamm, 1986).

Por otra parte, cambios en la CRA son un indicador muy sensible de las modificaciones en la estructura de las proteínas miofibrilares (Hamm, 1972, 1975; Honikel *et al.*, 1986); así la desnaturalización de las proteínas disminuye la CRA.

1.11.4. Capacidad emulsificante

Las propiedades emulsificantes están relacionadas con la solubilidad de las proteínas en agua, que a su vez contribuyen para la disminución de la tensión interfacial entre los compuestos hidrofóbicos e hidrofílicos, existiendo una mayor disposición de las moléculas para actuar en la interfase (Ferreira, Kuskoski, Luiz, Arellano y Fett, 2007).

La capacidad emulgente o emulsificante (CE), es el volumen (mL) de aceite que puede ser emulsionado por gramo de proteína antes de que se invierta la fase (un cambio del tipo de emulsión, de aceite en agua a agua en aceite). Este método supone añadir aceite o grasa fundida, a una velocidad y a una temperatura constante, a una disolución acuosa de proteína, que se agita de modo continuo en un homogeneizador. La inversión de la fase se detecta por un brusco cambio de la viscosidad, el color (habitualmente se añade al aceite un colorante) o la resistencia eléctrica. En las emulsiones estabilizadas por proteínas, la inversión de fase suele ocurrir a un valor de CE de 0.65-0.85. La inversión no es instantánea, si no que va precedida de la formación de una emulsión doble de agua-en aceite-en agua. La capacidad emulgente disminuye al aumentar la concentración de proteína, una vez se ha alcanzado un punto en el que, en la fase acuosa, se acumula proteína no adsorbida.

La capacidad emulsificante se ve afectada por factores intrínsecos, entre los que se encuentran el pH, la temperatura, fuerza iónica, tensoactivos, azúcares, tipo de proteínas y punto de fusión de la fase grasa empleada y, factores extrínsecos, como el equipo, energía y tiempo, velocidad de cizalla.

1.12. Definición de emulsión

Las emulsiones son sistemas dispersos que están constituidos por dos líquidos inmiscibles en los que la fase dispersa se encuentra en forma de pequeñas gotas, entre 0.1-10 μ m distribuidas en la fase continua o dispersante; son inestables y si se les permite reposar por algún tiempo, las moléculas de la fase dispersa tienden a asociarse para construir una capa que puede precipitar o migrar a la superficie, según la diferencia de densidades entre las dos fases. La producción de emulsiones estables requiere necesariamente de agentes emulsionantes que reduzcan la tensión superficial entre ambas fases.

1.12.1. Tipos de emulsiones

Existen emulsiones bifásicas (simples) y múltiples, las primeras (Figura 6) corresponden a la dispersión de dos líquidos inmiscibles. Basándose en la naturaleza de la fase dispersa pueden ser aceite en agua (O/W) en la que el aceite se encuentra en forma de pequeñas gotas como fase dispersa y, el agua en la fase continua como agente dispersante; estas emulsiones se propician con compuestos más hidrosolubles como proteínas y fosfolípidos o agua en aceite (W/O) que corresponde a una dispersión de agua o de una solución acuosa en un líquido inmiscible en agua (Forrest. *et al.*, 1979; Guerrero y Arteaga, 1990).

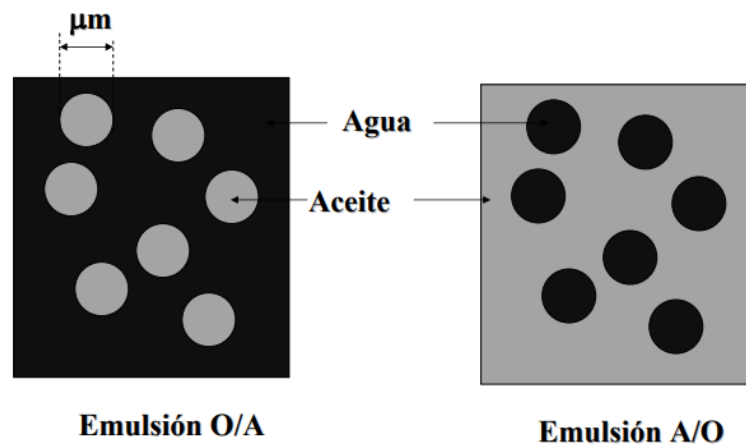


Figura 6. Dispersión bifásica (simple)

Fuente: http://personal.us.es/mfarevalo/recursos/tec_far/emulsiones.pdf

En las emulsiones múltiples (Figura 7) la fase dispersa contiene pequeñas gotas que son miscibles con la fase continua.

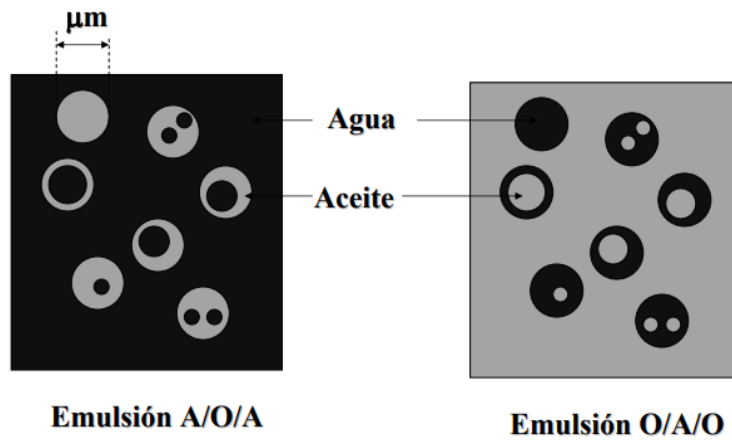


Figura 7. Dispersión múltiple

Fuente: http://personal.us.es/mfarevalo/recursos/tec_far/emulsiones.pdf

En las emulsiones cárnicas la fase dispersa está conformada por partículas de grasa sólida o líquida y la continua, por agua que contiene además sales y proteínas especialmente miofibrilares (actina y miosina) que son solubles en soluciones salinas diluidas. La estabilidad de la emulsión la proporcionan los agentes emulsificantes o estabilizantes, estos actúan reduciendo la tensión que se produce por el contacto de la grasa con el agua, formando una emulsión con menor energía interna y aumentando su estabilidad (Forrest. *et al.*,1979; Guerrero y Arteaga, 1990).

JUSTIFICACIÓN

El sacrificio de los animales para la obtención de carne representa una actividad económica importante, los patrones alimentarios de la población demandan el continuo funcionamiento de instalaciones necesarias para este proceso. Sin embargo, esta actividad conlleva un impacto ambiental importante debido a la naturaleza del proceso. Uno de los componentes ambientales con mayor afectación es el agua, ya que las descargas de aguas residuales en los establecimientos dedicados al sacrificio de animales, por su alto contenido en sólidos y su composición rica en proteínas y otros nutrientes, afectan directamente los valores de DQO y DBO del agua, además de que son un foco importante de contaminación siendo así un riesgo para la salud de la población y para el ecosistema.

El plasma tiene, por sus propiedades coagulantes, una gran capacidad de retención de agua y un nivel aceptable de aporte proteico: alrededor del 70-80 % en su presentación en polvo. Usado como plasma líquido o congelado, tiene importantes riesgos microbiológicos que exigen una muy cuidadosa manipulación del producto; este riesgo desaparece al emplearlo en polvo estéril. Las proteínas de la sangre presentes en el plasma sanguíneo, como albúmina y globulina, tienen una gran importancia para la industria alimenticia por presentar propiedades funcionales como emulsificantes de grasas y su capacidad de retención de agua en los sistemas alimentarios, principalmente en emulsiones cárnicas,

Debido a este problema ecológico y al alto valor nutricional que posee la sangre de bovino y sus componentes, se plantea la obtención de plasma y albúminas para su aplicación en un sistema cárnico tipo emulsión, utilizando materia prima cárnica de aptitud tecnológica pobre y mediante la adición de proteínas de la sangre, mejorar su capacidad de retención de agua y capacidad emulsificante.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Aplicar el método de centrifugación y fraccionamiento etanólico para la obtención de plasma y albúmina de sangre de bovino y una vez liofilizadas, cuantificarlas mediante el método de Bradford y caracterizarlas por electroforesis en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) seguido de su aplicación en un sistema cárnico cocido, tipo emulsión.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Estimar la concentración de plasma y albúmina de sangre de bovino a través de la aplicación de centrifugación controlada y fraccionamiento etanólico para su obtención como ingredientes funcionales de aplicación en productos cárnicos como emulsificante.
2. Demostrar las condiciones de manejo de la albúmina obtenida por fraccionamiento etanólico mediante liofilización, para su caracterización por SDS-PAGE y posterior aplicación en una emulsión cárnica.
3. Verificar la composición de plasma y albúmina liofilizadas de sangre de bovino, mediante el perfil proteico, aplicando electroforesis en gel para comprobar su pureza.
4. Evaluar la capacidad emulsificante de la carne de pollo y cerdo para identificar su aptitud tecnológica en el desarrollo de un sistema cárnico con mejores características funcionales, al emplear en su formulación plasma o albúmina de sangre de bovino.
5. Fundamentar el efecto de la adición de plasma y albúmina de sangre de bovino, mediante análisis fisicoquímicos de pH, a_w , CRA y CE para corroborar el desarrollo y estabilidad de un sistema cárnico tipo emulsión.

HIPÓTESIS

Al realizar una separación de plasma mediante la técnica de centrifugación a 4,000 rpm por un tiempo de 1 hora y una posterior liofilización se obtendrá un polvo con una mayor cantidad de albúmina bovina pero una menor pureza de modo que esta proteína podrá ser empleada como emulsificante en un producto cárnico.

Capítulo 2 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

2.1. Técnica de extracción de sangre de bovino

Se obtuvo sangre de un bovino hembra raza Holstein (Figura 9) del Módulo de bovinos del centro de enseñanza agropecuaria (CEA) de la FES Cuautitlán Campo 4, asegurándose que fuera un animal sano y que se encontrara en condiciones higiénicas adecuadas, en este caso una.

Diagrama de bloques general para la obtención de plasma y albúmina

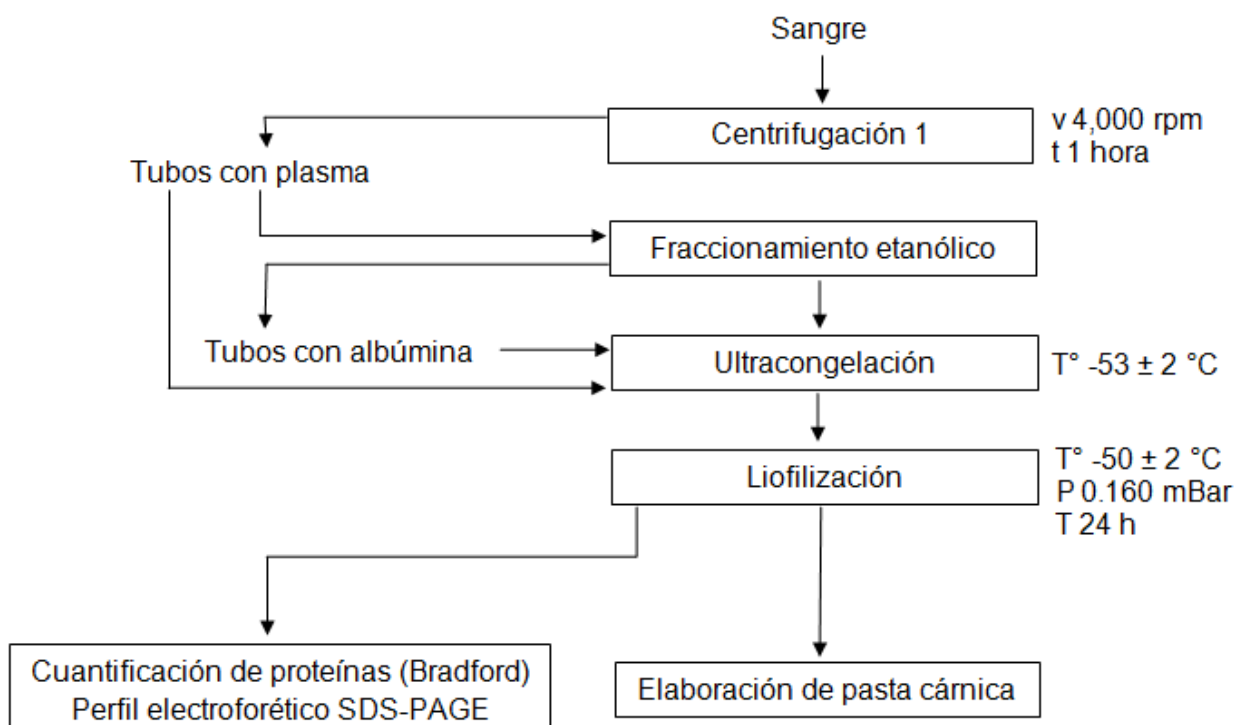


Figura 8. Diagrama de bloques general

Se tomó la muestra de la vena yugular externa de forma aséptica, sujetando la cabeza del bovino en un brete o corral con una la ayuda de cuerdas y se localizó la vena en el surco yugular. Se colocaron los guantes y se realizó antisepsia con alcohol (70%) en una zona de piel de unos 10 cm de diámetro alrededor del sitio de punción. Se colocó la aguja en la unidad para sangre y se prosiguió a insertar la aguja en la vena en ángulo de 30°, la sangre fluyó dentro de la funda y ésta se fue moviendo lentamente conforme entraba para mezclarla perfectamente con el

anticoagulante. Una vez que se obtuvieron 500 mL de sangre, se retiró la aguja y se ejerció presión sobre la zona de punción con gasa por unos segundos.



Figura 9. Bovino hembra raza Holstein

Finalmente se hizo un nudo en la entrada de la unidad para evitar la salida de la sangre y se desechó la aguja, los guantes y el resto de materiales utilizados en la obtención de la sangre, en una bolsa roja, separando en otra bolsa los materiales punzocortantes (NOM-087-ECOL/SSA1-2002).

2.2. Obtención de plasma de bovino

Una vez que se obtuvo la sangre se transfirió a tubos de 50 mL, se verificó que el peso de los tubos fuera balanceado (Figura 10) y se llevaron a centrifugación a 4000 rpm, durante una hora a 4°C, en una centrífuga Centurion Scientific modelo K2015R (Figura 11). Del plasma obtenido durante la centrifugación se separaron sólo 45 mL en tubos (Figura 12) utilizando una pipeta Pasteur y se almacenaron en el ultracongelador REVCO (Figura 13) a -50 ± 2 °C para su posterior liofilización a -50 °C durante 24 horas.



Figura 10. Balanceo de tubos previo a la centrifugación



Figura 11. Centrifuga Centurion Scientific. K2015R

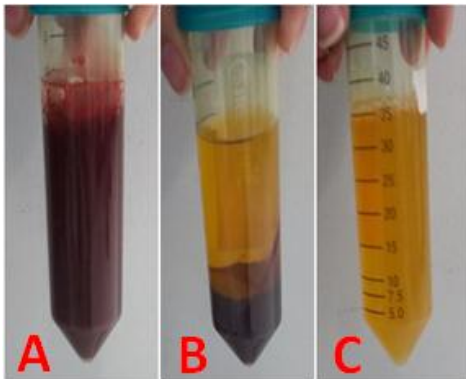


Figura 12. A) Sangre completa. B) plasma suspendido y paquete rojo en el fondo. C) Plasma completo



Figura 13. Ultracongelador REVCO Ultima II

2.2.1. Obtención de albúmina de plasma de bovino por fraccionamiento etanólico

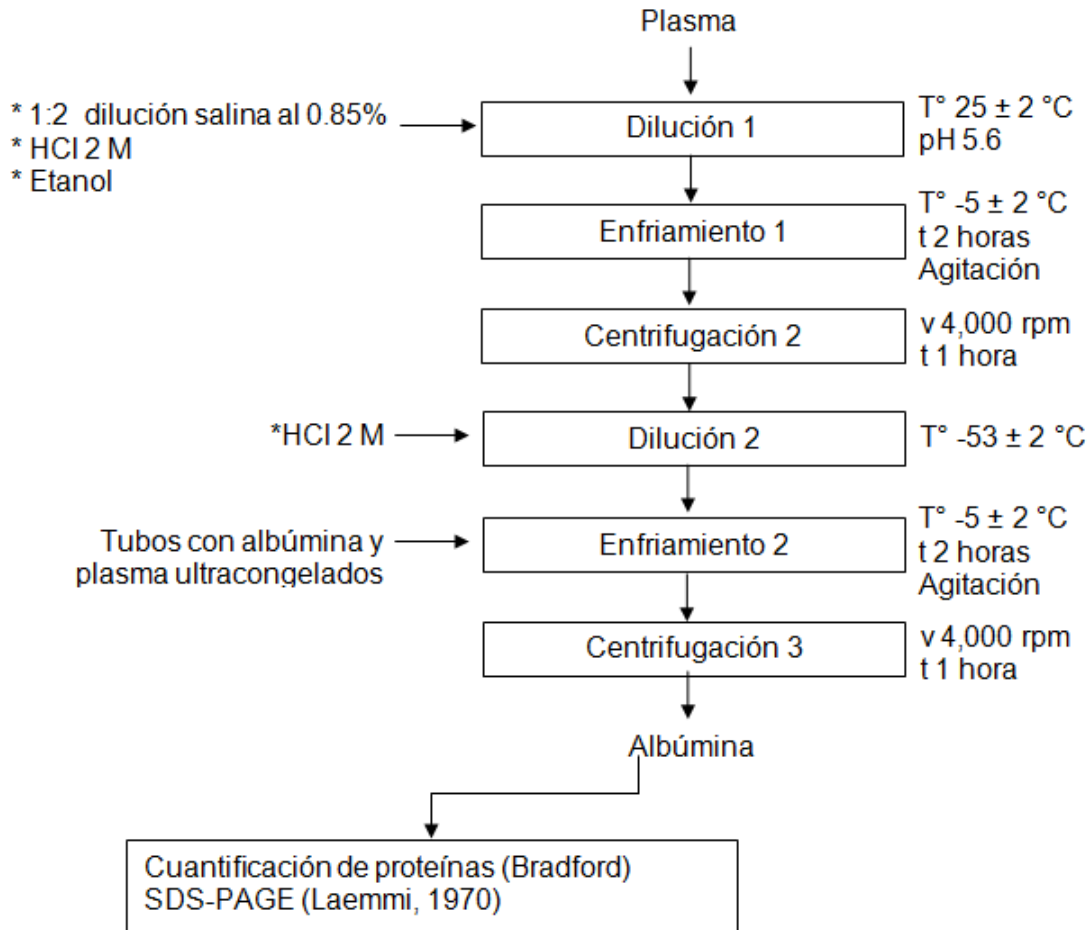


Figura 14. Diagrama de bloques para fraccionamiento etanólico

Para realizar el fraccionamiento etanólico se diluyeron 455 mL de plasma, obtenido mediante la centrifugación de la sangre, en solución salina al 85% a una relación 1:2 (Figura 15) y posteriormente se ajustó su pH a 5.6 con HCl 2 M utilizando un potenciómetro marca Oakton (Figura 16), previamente ajustado con soluciones buffer de referencia de pH 4, 7 y 10.

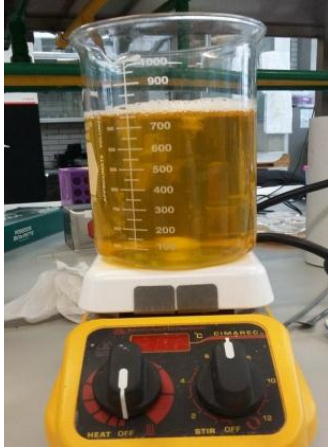


Figura 15. Disolución de plasma y solución salina



Figura 16. Potenciómetro de medición directa marca Oakton

Una vez que se ajustó el pH se procedió a agregar etanol al 42 % en una relación 1:1.3 y se dejó reposar por 2 horas a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ en congelador. Después de transcurrido este tiempo se centrifugaron los 1575mL resultantes en 45 tubos Falcon de 50mL con un volumen de llenado de 35mL, a 4000 rpm durante 1 hora a $24\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Figura 17).

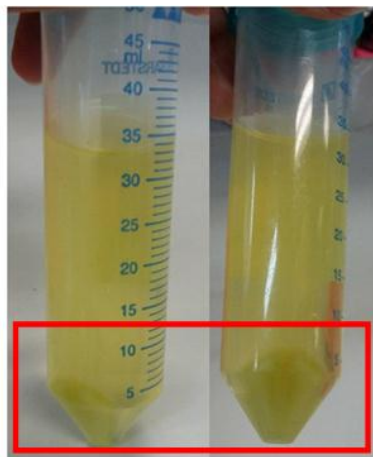


Figura 15. Impurezas precipitadas después de la centrifugación

Se recuperó el sobrenadante y se ajustó el pH a 4.8 con HCl 2 M. Nuevamente se dejó reposar por 2 horas a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y transcurrido este tiempo se realizó una segunda centrifugación a 3000 rpm durante 1 hora a $24\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se decantó el sobrenadante y se

obtuvo el precipitado (Figura 18), el cual se ultracongeló (ultracongelador REVCO Marca Thermo, Mod. Ultima II), donde permaneció durante 24 horas a temperatura de cámara de -50°C , para su liofilización.

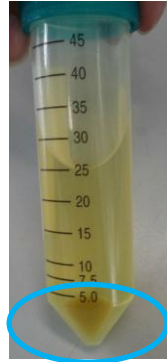


Figura 16. Albúmina precipitada después de la centrifugación

2.3. Liofilización

La liofilización de las proteínas obtenidas mediante centrifugación (plasma) y mediante el fraccionamiento etanólico (albúmina), ambas ultracongeladas se colocaron en la liofilizadora LABCONCO, modelo Freezone 4.5 a -50°C (temperatura de colector) y una presión en el sistema de 0.160 mBar durante 24 h (Figura 19).



Figura 17. Liofilizadora con muestras de albúmina



Figura 18. Plasma liofilizado

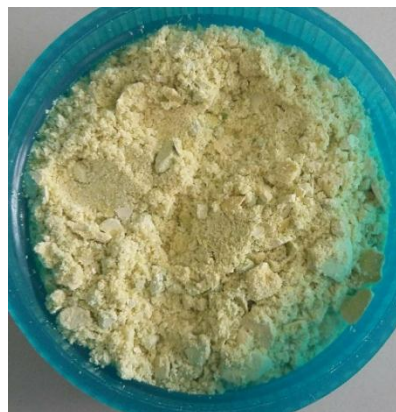


Figura 19. Albúmina liofilizada

Una vez transcurridas las 24 h se obtuvieron el plasma y la albúmina liofilizados (Figura 20 y 21). Se obtuvieron los rendimientos en gramos de proteína liofilizada, tomando en cuenta la densidad de la sangre ($1.06 \frac{g}{mL}$) y del plasma ($1.03 \frac{g}{mL}$) para el rendimiento de albúmina (Ecuación 3):

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{g de proteína obtenida}}{(\rho)(\text{mL de sangre empleados})} * 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

2.4. Cuantificación de proteínas por el método de Bradford

Se prepararon 2 mL de disolución patrón de BSA. Para ello se disolvieron 2 mg de albúmina bovina en 2 mL de agua destilada, con lo que se obtuvo una solución madre con una concentración 1 mg/mL.

Se preparó la curva patrón de albúmina sérica bovina de la cual se tomaron muestras en un intervalo de 0 hasta 800 μg ; de manera que el volumen final de cada tubo fue de 800 μL . Para ello se mezcló en 9 tubos Eppendorf de 2 mL el volumen adecuado de la disolución madre de albúmina bovina de 1 mg/mL y el correspondiente volumen necesario de agua, de acuerdo con Cuadro 10.

Cuadro 10. Preparación de curva patrón

# Tubo	µL agua destilada	µL solución madre	µg/mL
0	800	0	0
1	650	150	1.875
2	600	200	2.5
3	500	300	3.75
4	400	400	5
5	300	500	6.25
6	200	600	7.5
7	100	700	8.75
8	0	800	10

Una vez que se elaboraron las disoluciones se agregaron a cada tubo 50 µL de reactivo de Bradford y se mezclaron por inmersión en vórtex; posteriormente se tomaron alícuotas de 60 µL de cada tubo y se colocaron en celdas. Como paso final para la elaboración de la curva patrón se tomó la lectura de absorbancia a 595 nm empleando un Biophotometer plus™ marca Eppendorf.

Para la preparación de las disoluciones de muestra problema se reconstituyeron 4.2 mg de plasma en 200 µL de agua destilada y 1 mg de albúmina en 200 µL de agua destilada, dichas disoluciones se mezclaron por inmersión en vórtex durante 2 min, posteriormente se realizaron disoluciones 1:2 del plasma y de la albúmina y se hicieron las diferentes disoluciones como se muestra en el Cuadro 11.

Cuadro 11. Preparación de disolución problema

Disolución de proteína	Tubo A	Tubo B	Tubo C
V. proteína µL	20	25	30
V. agua µL	280	275	270
V. total µL	300	300	300

Finalmente se añadieron 50µL del reactivo de Bradford a todos los tubos, se agitaron en vórtex y se procedió a la lectura de la absorbancia a 595 nm en el colorímetro.

La concentración de proteína en las muestras problema se determinó a partir de la Ecuación obtenida en la curva patrón y por interpolación en el gráfico obtenido.

2.5. Electroforesis en geles de poliacrilamida

2.5.1. Preparación de muestras

En tubos Eppendorf de 2mL se reconstituyeron 5 mg de albúmina en 1 mL de agua destilada y 21 mg de plasma, se mezcló por inmersión en vórtex por 2 min, posteriormente se tomó una alícuota de cada muestra y se reconstituyeron en 50 μ L de agua destilada. Para condiciones desnaturizantes posteriormente se agregó el buffer de muestra (Laemmli marca Bio Rad #161-0737) cumpliendo la relación 1:1 de la siguiente manera:

1 mL solución proteica + 1 mL buffer.

Se colocaron los tubos en rejillas de flotación y se llevaron a un baño con agua caliente a una temperatura aproximada de 85 ± 2 °C por un tiempo de 4 min (Figura 22).

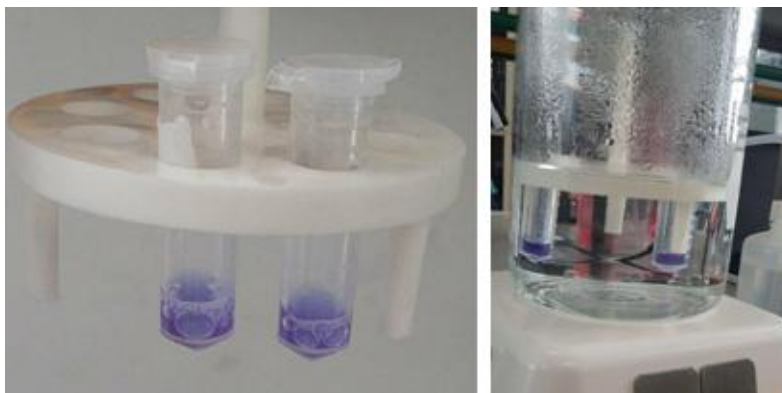


Figura 20. Preparación de muestra de plasma y albúmina

2.5.2. Polimerización de geles

Se elaboraron dos geles, el gel apilador a una concentración de 4% y el gel de resolución a una concentración de 10% (Gutiérrez, 2014). En el Cuadro 12 se muestra el orden en el que se deben agregar los reactivos y la cantidad de acuerdo con cada gel. Dichas concentraciones se basaron en el manual Mini-PROTEAN de Bio Rad.

Cuadro 12. Formulación de geles

Soluciones	Gel apilador 4% mL	Gel resolución 10% mL
A	2.5	-
B	-	2.5
DDI	6.1	4.1
SDS	100 μ L	100 μ L
Acrilamida	1.3	3.3
APS	50 μ L	50 μ L
TEMED	7 μ L	10 μ L

A: solución 0.5M Tris- HCL. **B:** solución 1.5M Tris- HCL. **DDI:** agua bidestilada. **APS:** reactivo BioRad #161-070. **TEMED:** reactivo BioRad #161-0300

Con el material limpio, seco y completo (Figura 23) se prepararon los reactivos para la polimerización de los geles.

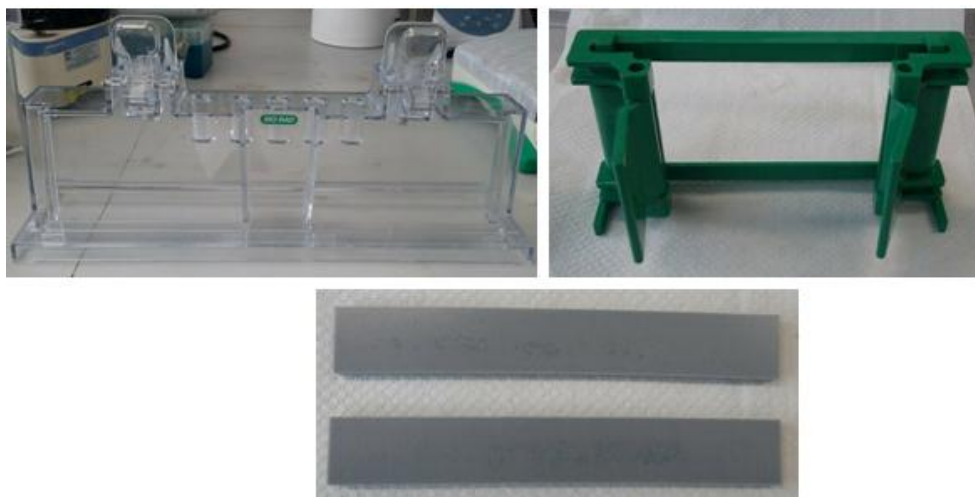


Figura 21. Materiales para polimerización de geles

Se prepararon ambas soluciones, la del gel separador y la del gel apilador, según la fórmula (Cuadro 12); en vasos de precipitado se agregaron todos los reactivos a excepción del TEMED y el APS, mezclando perfectamente para obtener una polimerización homogénea (Figura 24). Finalmente se agregaron 50 μ L de APS y 10 μ L de TEMED a la mezcla del gel de resolución y se mezcló muy bien, con una micro pipeta Eppendorf se agregó la solución hasta la marca. Con mucho cuidado se vertió

agua destilada sobre el gel para favorecer la polimerización y se dejó polimerizar durante 30 min.

Una vez transcurrido este tiempo se retiró el agua adicionada y se secó perfectamente entre los vidrios. Se adicionaron 50 μL de APS y 10 μL de TEMED a la disolución para el gel apilador, se mezclaron bien y con una micro pipeta Eppendorf se agregó la solución hasta el borde de los vidrios, con mucho cuidado, para no crear burbujas de aire; se introdujeron las peinetas de 1mm entre los vidrios. Nuevamente se dejó polimerizar durante 30 min y transcurrido este tiempo se retiraron las peinetas, se lavó con agua destilada para retirar las burbujas formadas en los pocitos.



Figura 22. Polimerización de geles

Se realizaron dos geles, para el primer gel, en el pozo 3, se colocaron 5 μL de un marcador de alto peso molecular (APM), preteñido para poder seguir el corrimiento y en el pozo 6 y 7 del mismo gel, se cargaron las muestras de proteína y albúmina. En el segundo gel, en el pozo 3, se colocaron 5 μL de un marcador de bajo peso molecular (BPM) preteñido y en el pozo 6 y 7 del mismo gel, se cargaron las muestras de proteína y (Figura 25).

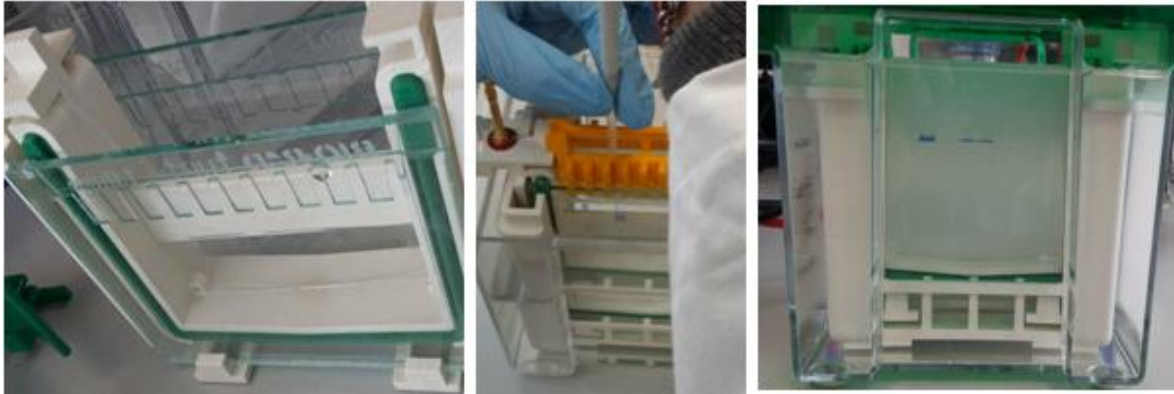


Figura 23. Montaje de celdas y corrimiento de proteína para electroforesis

Posteriormente se llevó a cabo la electroforesis en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) en condiciones desnaturizantes (SDS) utilizando el sistema Laemmli (1970), en cámara de electroforesis Min i Protean IV™ de Bio Rad, conectada a una fuente de poder Bio Rad y se llevó a cabo con un voltaje constante de 220 mA durante 20 min. Al terminar la electroforesis se apagó y desconectó la fuente de voltaje y se procedió a desmontar los geles para enjuagarlos con agua destilada.

Los geles separados de los vidrios, fueron teñidos en solución de tinción de azul de Coomassie BioRad #500-0205 durante 2 horas con agitación suave en un agitador orbital, y posteriormente desteñidos con solución de decoloración (Figura 26) para visualizar las bandas de proteínas (Figura 27).



Figura 24. Teñido y desteñido de geles de poliacrilamida

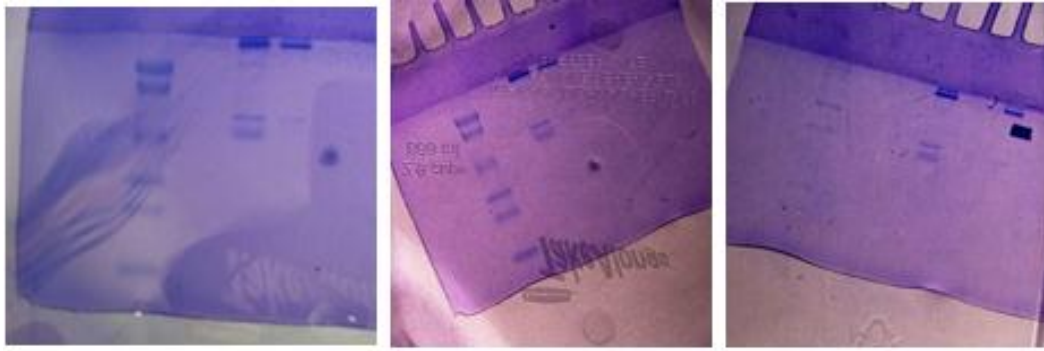


Figura 25 Decoloración de geles y perfil electroforético de las muestras

Cuadro 13. Diseño matricial

Tratamiento						
Carne de cerdo	Carne de pollo	Pasta sin proteína	Pasta al 0.5% de albúmina	Pasta al 0.5% de plasma	Pasta al 1% de albúmina	Pasta al 1% de plasma
1	2	3	4	5	6	7
Todos los tratamientos se realizaron por triplicado						

2.6. Elaboración de pasta cárnica tipo emulsión para elaborar salchicha de pollo

Cuadro 14. Formulación de pasta cárnica para salchicha

Ingrediente	Sin adición de proteína (%)	0.5 % proteína	1 % proteína
Pulpa de pechuga de pollo	53.63	53.11	52.63
Sal común	1.07	1.07	1.07
Sal cura	0.42	0.42	0.42
Tripolifosfato de sodio	0.42	0.42	0.42
Hielo picado	21.45	21.45	21.45
Lardo de cerdo	13.94	13.94	13.94
Cebolla en polvo	0.85	0.85	0.85
Ajo en polvo	0.21	0.21	0.21
Glutamato monosódico	0.53	0.53	0.53
Fécula de maíz	7.5	7.5	7.5
Proteína	0	0.5	1

Diagrama de proceso para elaboración de pasta para salchicha

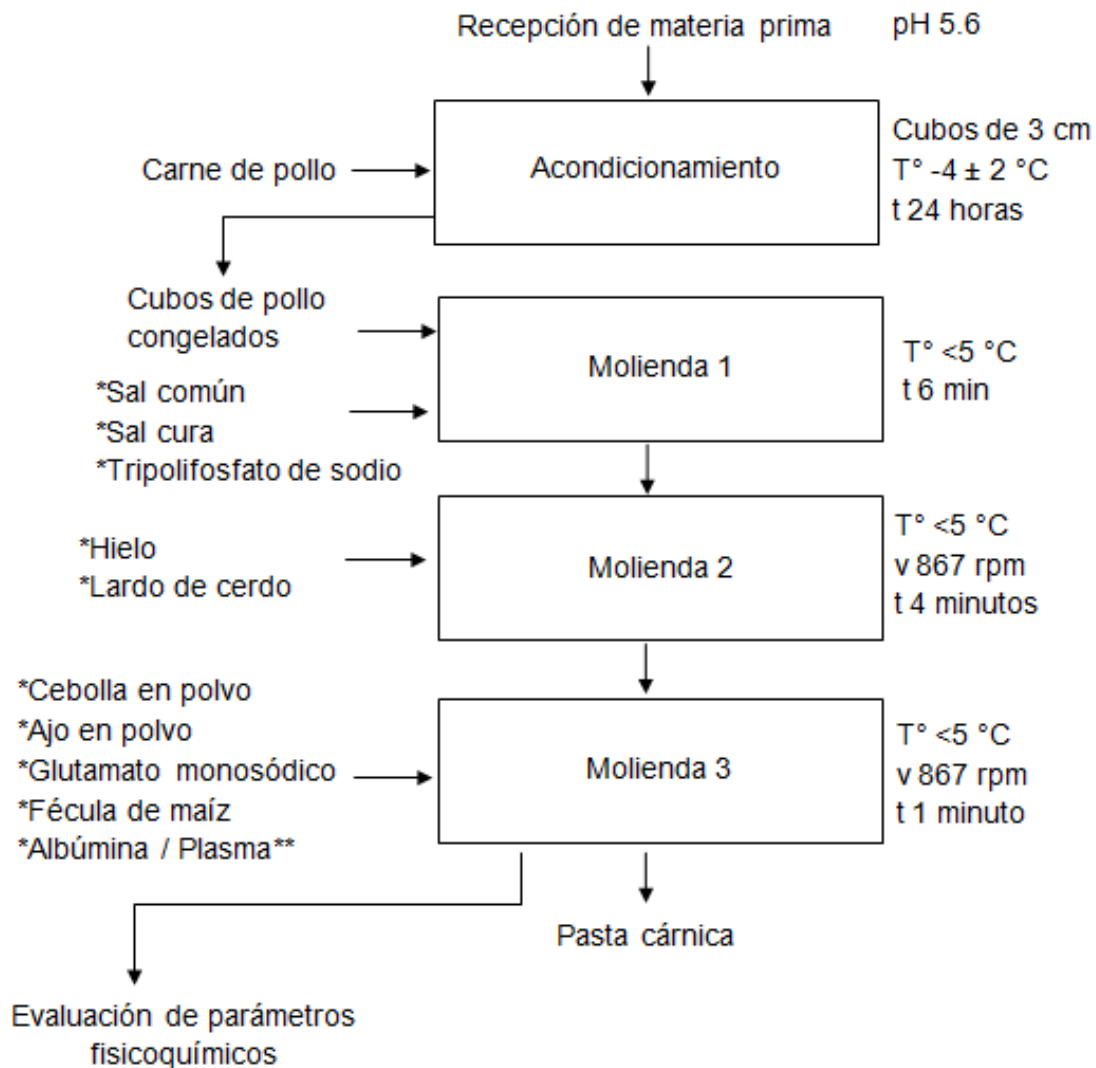


Figura 26. Diagrama de proceso para elaboración de pasta para salchicha

** Se elaboraron 5 lotes de pasta, el primero siendo el blanco al cual no se le agregó proteína, al resto se le agregó plasma o albúmina en sus dos niveles de variación cada uno (0.5% y 1%).

Se cortó la pechuga de pollo en cubos de 3 centímetros (Figura 29), se guardaron en un contenedor con tapa y se congelaron durante 24 horas a una temperatura de -4 °C, una vez transcurrido este tiempo se llevó a cabo su molienda en el procesador de

alimentos hasta su total homogeneización (Figura 30), posteriormente se procedió a agregar sal común, sal cura y tripolifosfato de sodio para la extracción de la proteína del cárnico, se integraron perfectamente y posteriormente se agregó poco a poco el hielo, una vez integrado se agregó lardo de cerdo previamente congelado (-4°C por 24 horas) hasta reducir el tamaño de partícula. Una vez que se formó una pasta fina homogénea se procedió a agregar los condimentos, se agregó poco a poco fécula de maíz y una vez que se mezcló todo se adicionó la proteína (albúmina o plasma, obtenidos previamente, a sus dos concentraciones). La pasta no excedió los 5 °C (Figura 31).



Figura 27. Pollo en cubos de 3 centímetros



Figura 28. Procesador de alimentos marca Oster



Figura 29. Pasta de pollo para salchicha

2.7. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos de la carne de pollo, carne de cerdo y de la pasta cárnica

Se evaluaron las propiedades fisicoquímicas de la carne de pollo y de cerdo para determinar cuál de los dos tipos de carne tenía mejores propiedades para realizar un embutido y de esta manera emplear en la elaboración de la pasta cárnica aquella que no contara con los mejores atributos y de esta manera observar mejor los cambios atribuidos por la proteína agregada, en caso de haberlos.

2.7.1. a_w

Se determinó la actividad de agua a todas las muestras, pollo (proveniente de la pechuga), y cerdo (proveniente del lomo del cerdo), y a las pastas cárnicas elaboradas sin proteína de sangre, con 0.5 % y 1 % de albúmina y plasma, dicha evaluación se realizó con un higrómetro de punto de rocío con espejo refrigerado (Figura 32). Cada muestra se colocó en cajas de equipo Pa_wkit Aqualab™ hasta llenar una tercera parte de la altura de la caja, según instrucciones del proveedor, se siguió el método 978.18 de la AOAC (2000). Cada muestra se evaluó por triplicado.



Figura 30. Colocación de muestras para a_w

2.7.2. pH

Se determinó el pH a todas las muestras de carne de pollo (proveniente de la pechuga), y cerdo (proveniente del lomo), y a las pastas cárnicas elaboradas sin proteína de sangre, 0.5 % y 1 % de albúmina y plasma, dicha determinación se llevó a cabo con un potenciómetro OAKTON pH 10 series y electrodo de inmersión. El potenciómetro fue ajustado con soluciones buffer de 4 y 7. Se tomaron 10 g de

muestra a evaluar para cada replica y se siguió el método 981.12 de la AOAC (2000). Por cada muestra a evaluar se realizaron tres réplicas.

2.7.3. CRA

La evaluación de la capacidad de retención de agua se realizó mediante una centrifugación controlada en una centrifuga Centurion Scientific modelo K2015R.

En tubos para centrifuga se colocaron 5 g de muestra y a cada tubo se le agregaron 8 mL de solución fría de NaCl 0.6 M, se taparon y se agitaron por un minuto, se verificó que el peso de los tubos fuera balanceado y se centrifugaron a una velocidad de 4,000 rpm por un tiempo de 30 min y a una temperatura de 4°C.

Finalmente se calculó la CRA con la siguiente Ecuación:

$$CRA = \frac{Va - Vs}{\text{gramos de muestra}} * 100 \quad \text{Ecuación 4}$$

Dónde:

Va se refiere al volumen de solución salina que se agregó (mL)

Vs se refiere al volumen del sobrenadante (mL)

2.7.4. CE

La capacidad emulsificante se le realizó a las pastas cárnicas elaboradas sin proteína de sangre, 0.5 % y 1 % de albúmina y plasma. Se comenzó por homogeneizar 25 g de muestra en 100 mL de solución fría de NaCl 1 M (Figura 33 inciso A), posteriormente se tomaron 12.5 g del homogeneizado y se agregaron 37.5 mL de solución fría de NaCl 1 M, se mezcló por 3 min a baja velocidad y sin apagar la licuadora se añadieron en forma de hilo 50 mL de aceite de maíz para formar la emulsión (Figura 33 inciso B). Se midieron 100 mL de aceite y sin detener el mezclado se fue agregando el aceite continuamente en forma de hilo hasta la ruptura de la emulsión (Figura 33 inciso C). Esta evaluación se realizó por triplicado para cada muestra.

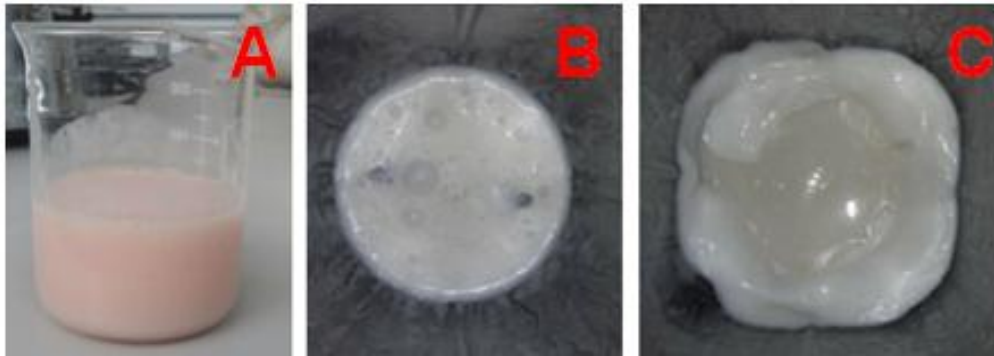


Figura 31. Emulsión cárnica

- A) Mezcla con NaCl B) Formación de la emulsión
C) Rompimiento de la emulsión

Capítulo 3 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1. Rendimiento de proteína

En la Figura 34 se reportan los resultados del porcentaje de rendimiento que se obtuvo de acuerdo con cada uno de los tipos de separación de proteína empleados. Dichos rendimientos se obtuvieron con la siguiente Ecuación:

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{g de proteína obtenida}}{(\rho)(\text{mL de sangre empleados})} * 100 \quad \text{Ecuación 5}$$

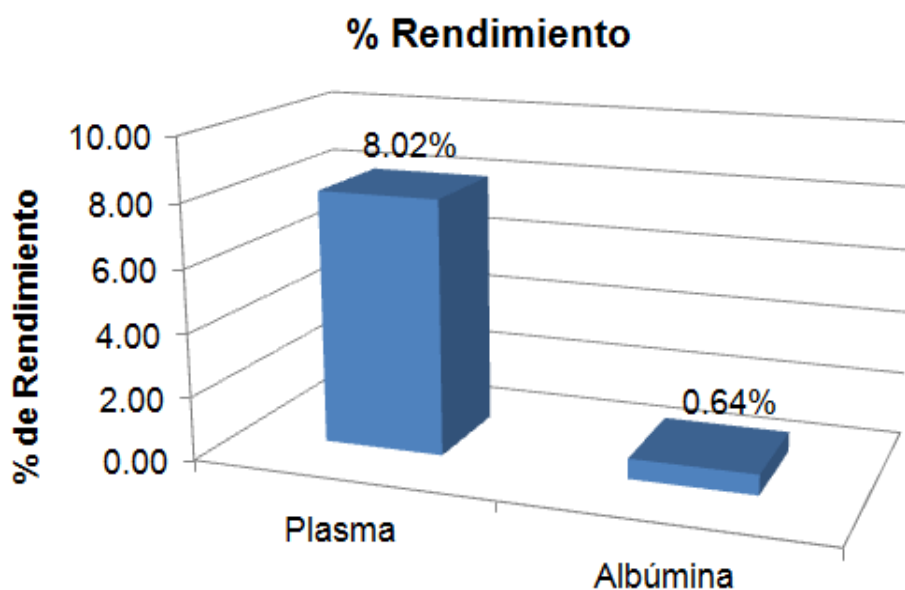


Figura 32. Porcentaje de rendimiento según el método de separación

Como se observa en la Figura 34, el rendimiento de proteína (albúmina) fue de 0.64% y el rendimiento de plasma fue de 8.02%, esto debido a que el método para obtener el plasma no proporciona una limpieza en las proteínas obtenidas, es decir, se obtiene una variedad más extensa de proteínas (que se mencionarán más adelante) y en mayor cantidad que al realizar la precipitación alcohólica, en la cual al realizarse una precipitación de impurezas se eliminan gran parte de componentes y permiten obtener un precipitado compuesto mayormente por albúmina.

3.2. Propiedades fisicoquímicas

Una vez que se realizaron los análisis de varianza de una vía a las propiedades fisicoquímicas de la pechuga de pollo, del lomo de cerdo y de las pastas elaboradas con dos diferentes proteínas (albúmina y plasma) a diferentes concentraciones se evaluaron los resultados mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía (Serrano, 2003), con el software Minitab 16.2.0.

3.2.1. CRA

Para el análisis de varianza de una vía de la CRA se consideró un nivel de significancia del 5% ($\alpha=0.05$) y donde se hizo una prueba de hipótesis que se consideró de la siguiente manera (donde el subíndice “A” se refiere a la albúmina y “P” a plasma):

$$H_0 = \mu_{\text{CRA sin proteína}} = \mu_{\text{CRA 0.5\%A}} = \mu_{\text{CRA 0.5\%P}} = \mu_{\text{CRA 1\%A}} = \mu_{\text{CRA 1\%P}}$$

$$H_1 = \text{Al menos una media es distinta}$$

En la Figura 35 se muestran los valores de la CRA que se obtuvieron al evaluar la pechuga de pollo y el lomo de cerdo realizando tres replicas por cada muestra. Se puede observar que el pollo tiene una CRA de 17.18% mientras que la CRA del cerdo es de 16.41%. No se observa una diferencia estadísticamente significativa pues se obtuvo un valor de $P > 0.05$ por lo que no hay ninguna diferencia si se emplea pechuga de pollo o lomo de cerdo para realizar la pasta cárnica.

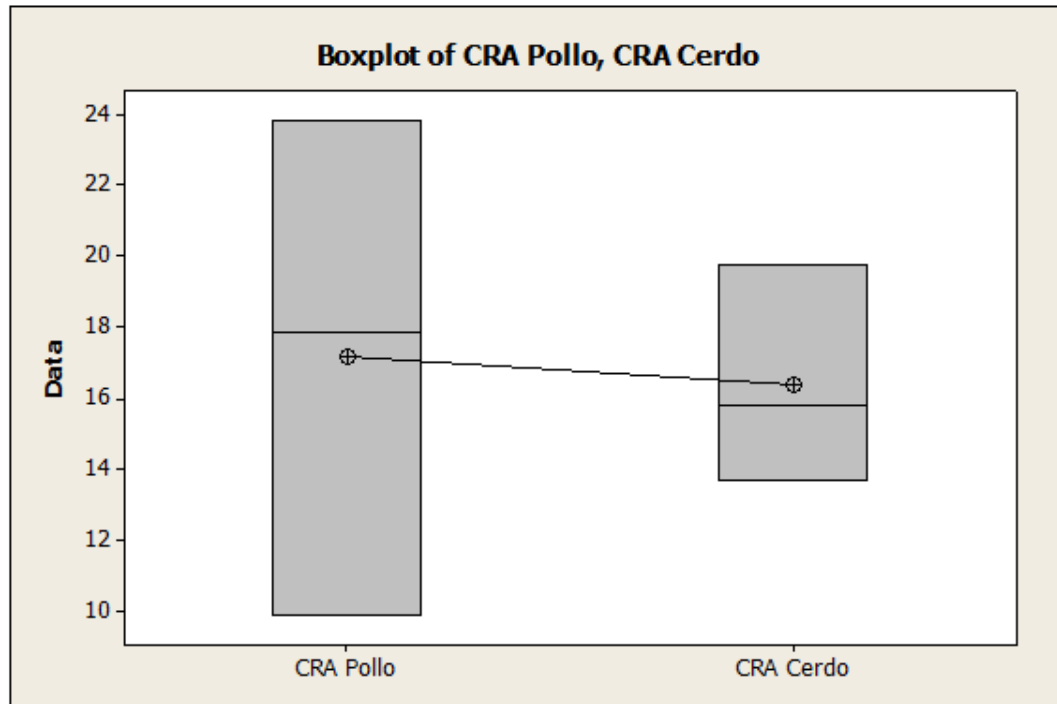


Figura 33. Resultados de análisis estadísticos de la CRA de pechuga de pollo y lomo de cerdo

La Figura 36 muestra los valores de CRA obtenidos en las emulsiones cárnicas elaboradas con plasma y albúmina a concentraciones de 0.5% y 1% y sin proteína. En las pastas donde se adicionó plasma, no se encontró diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.05$) con respecto a la concentración de proteína empleada. Al observar los valores de CRA de las pastas cárnicas con plasma y compararlas con aquellas donde se empleó albúmina, se puede observar que las primeras cuentan con valores más altos, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($P > 0.05$).

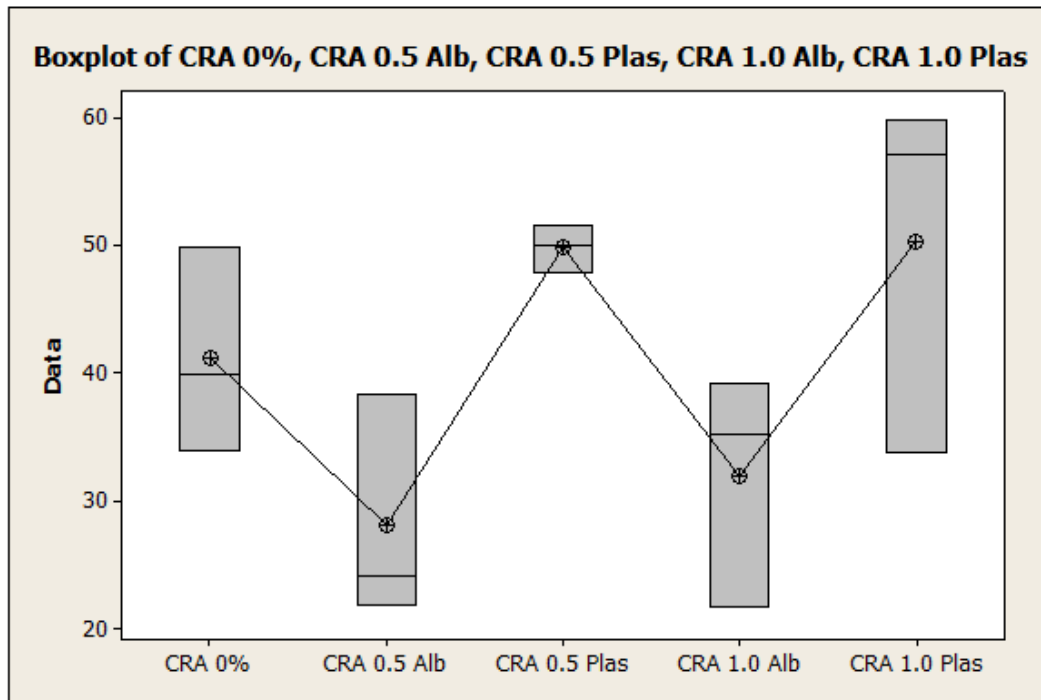


Figura 34. Resultados de análisis estadísticos de la CRA de emulsión cárnica con diferentes concentraciones de proteína

3.2.2. pH

Para el análisis de varianza de una vía del pH se consideró un nivel de significancia del 5% ($\alpha=0.05$) y dónde se hizo la siguiente prueba de hipótesis:

$$H_0 = \mu_{\text{pH sin proteína}} = \mu_{\text{pH 0.5\%A}} = \mu_{\text{pH 0.5\%P}} = \mu_{\text{pH 1\%A}} = \mu_{\text{pH 1\%P}}$$

$$H_1 = \text{Al menos una media es distinta}$$

Al observar la Figura 37 se puede observar que la pechuga de pollo tiene un pH de 6.32, el cual se encuentra alejado del valor recomendado por Colmenero & Santaolalla (1989) que es de 5.85 para pechuga de pollo mientras que el pH de la carne de cerdo se encuentra en un valor de 6.18, lo que indica que el lomo de cerdo es más adecuado para la elaboración de embutidos.

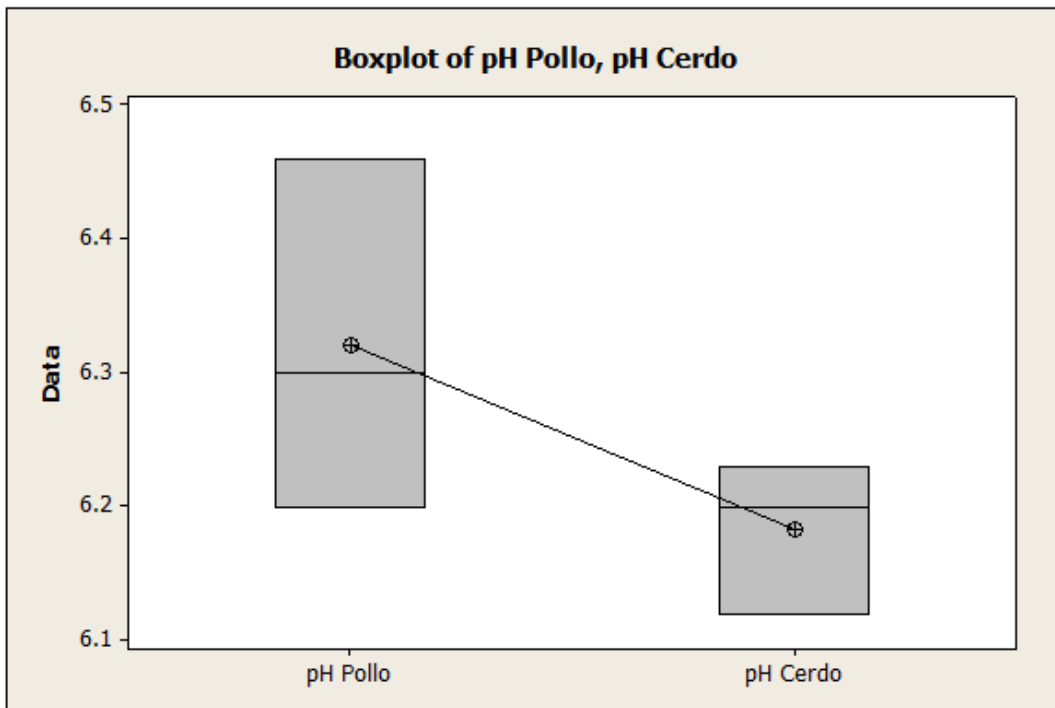


Figura 35. Resultados de análisis estadísticos del pH pechuga de pollo y lomo de cerdo

En la Figura 38, se observa que los valores más altos de pH se obtuvieron al emplear plasma, la más alta con una concentración de 1% seguida por la elaborada con 0.5% y el pH más bajo se obtuvo con 0.5 % de albúmina.

Se observa una diferencia significativa ($P < 0.05$) entre los valores de pH obtenidos en las diferentes pastas cárnicas elaboradas con las dos diferentes proteínas a distintas concentraciones, por lo que se rechaza H_0 , los valores de pH son un factor fundamental que afectan las propiedades fisicoquímicas de la carne (Kim *et al.*, 2011).

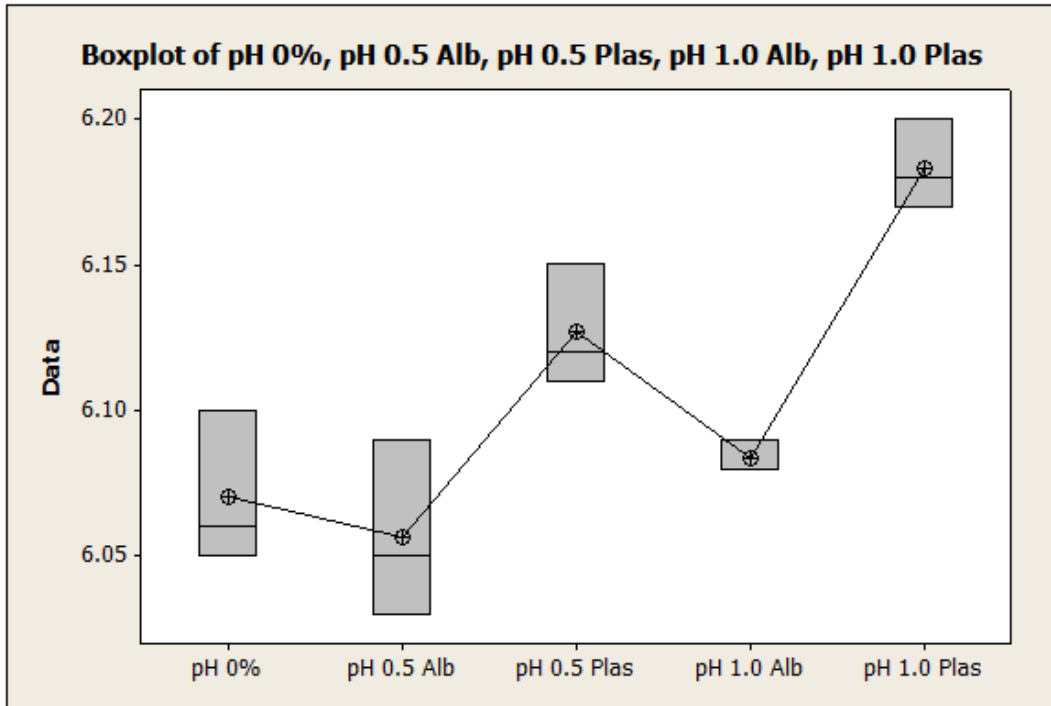


Figura 36. Resultados de análisis estadísticos del pH emulsión cárnica con diferentes concentraciones de proteína

3.2.3. CE

Para el análisis de varianza del pH se consideró un nivel de significancia del 5% ($\alpha=0.05$). Se hizo una prueba de hipótesis de la siguiente manera:

$$H_0 = \mu_{CE \text{ sin proteína}} = \mu_{CE \text{ 0.5\%A}} = \mu_{CE \text{ 0.5\%P}} = \mu_{CE \text{ 1\%A}} = \mu_{CE \text{ 1\%P}}$$

$$H_1 = \text{Al menos una media es distinta}$$

En la Figura 39 se puede ver que se obtuvieron valores de CE en cerdo de $3.09 \frac{\text{mL de aceite emulsionado}}{\text{g de muestra}}$ y de $2.88 \frac{\text{mL de aceite emulsionado}}{\text{g de muestra}}$ en pechuga de pollo. Se obtuvo una $P > 0.05$ por lo que no existió una diferencia estadísticamente significativa en cuanto al tipo de carne empleado, (pollo o cerdo).

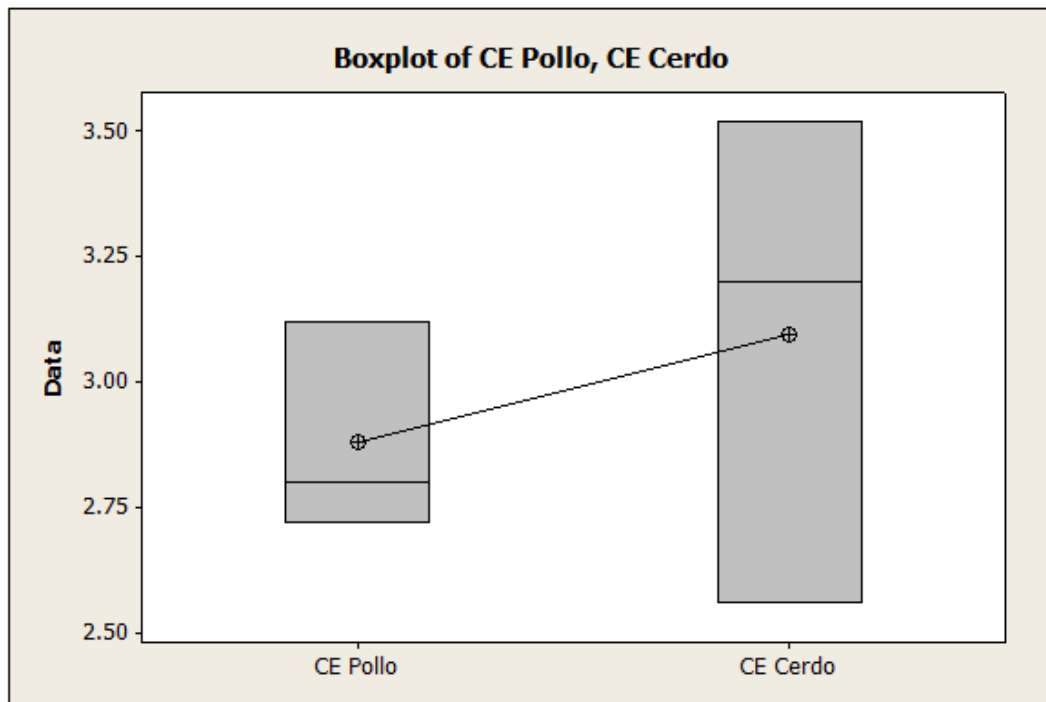


Figura 37. Resultados de análisis estadísticos de la CE pechuga de pollo y lomo cerdo

En cuanto a la elaboración de las pastas cárnicas, se obtuvo una $P < 0.05$ por lo que sí existe una diferencia estadísticamente significativa y se rechaza H_0 . La mayor capacidad emulsificante se obtuvo en la pasta elaborada con 1% de albúmina (Figura 40) teniendo una desviación estándar de 0.1222.

Hleap y Molina (2008) explican que en una emulsión cárnica las gotas de grasa están recubiertas de proteína que le dan estabilidad a la emulsión, ya que se unen a los dipolos de agua, formando la interfase. Algunos factores que influyen en la CE son el pH, la temperatura y la cantidad de grasa presente.

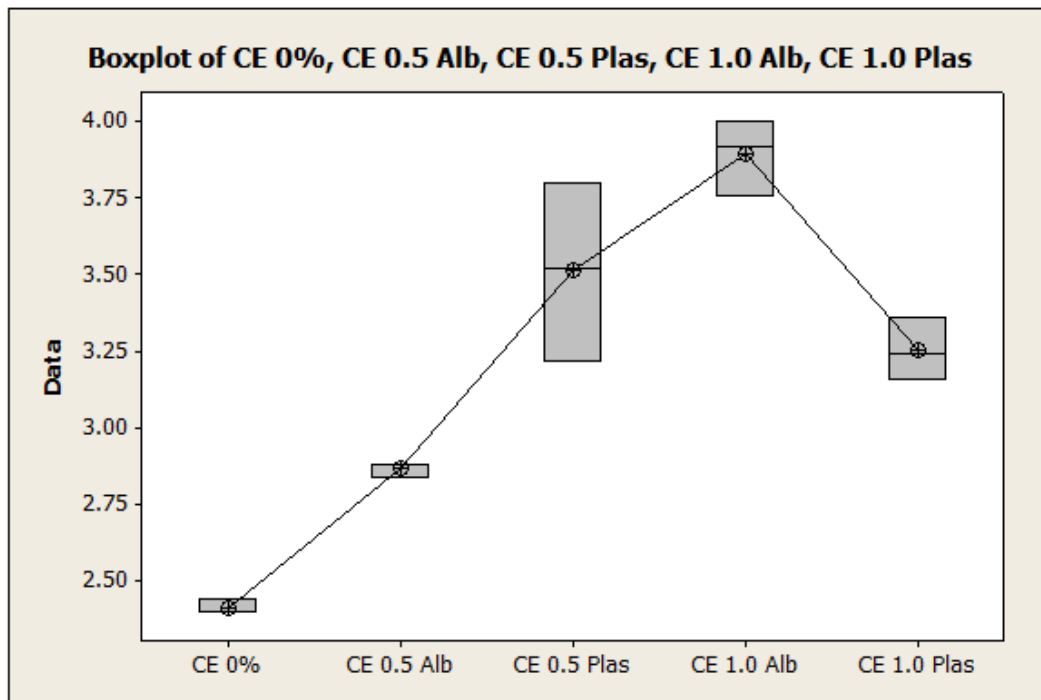


Figura 38. Resultados de análisis estadísticos de la CE emulsión cárnica con diferentes concentraciones de proteína

3.2.4. a_w

La actividad de agua (a_w) es la cantidad de agua libre en el alimento, es decir, el agua disponible para el crecimiento de microorganismos y para que se puedan llevar a cabo diferentes reacciones químicas.

La actividad de agua está relacionada con la textura de los alimentos: a una mayor actividad, la textura es mucho más jugosa y tierna; sin embargo, el producto se altera de forma más rápida debido a que proporciona un ambiente óptimo para el desarrollo y crecimiento de microorganismos.

Para el análisis de varianza de a_w , en las Figuras 41 y 42, se consideró un nivel de significancia del 5% ($\alpha=0.05$) y donde se hizo una prueba de hipótesis de la siguiente manera:

$$H_0 = \mu a_w \text{ sin proteína} = \mu a_w 0.5\%A = \mu a_w 0.5\%P = \mu a_w 1\%A = \mu a_w 1\%P$$

$$H_1 = \text{Al menos una media es distinta}$$

En la Figura 41 se muestra que la a_w del pollo es mayor que la del cerdo, teniendo valores de 0.73 y 0.65 respectivamente, se obtuvo una $p > 0.05$ lo que significa que no hubo diferencia estadísticamente significativa y se acepta H_0 .

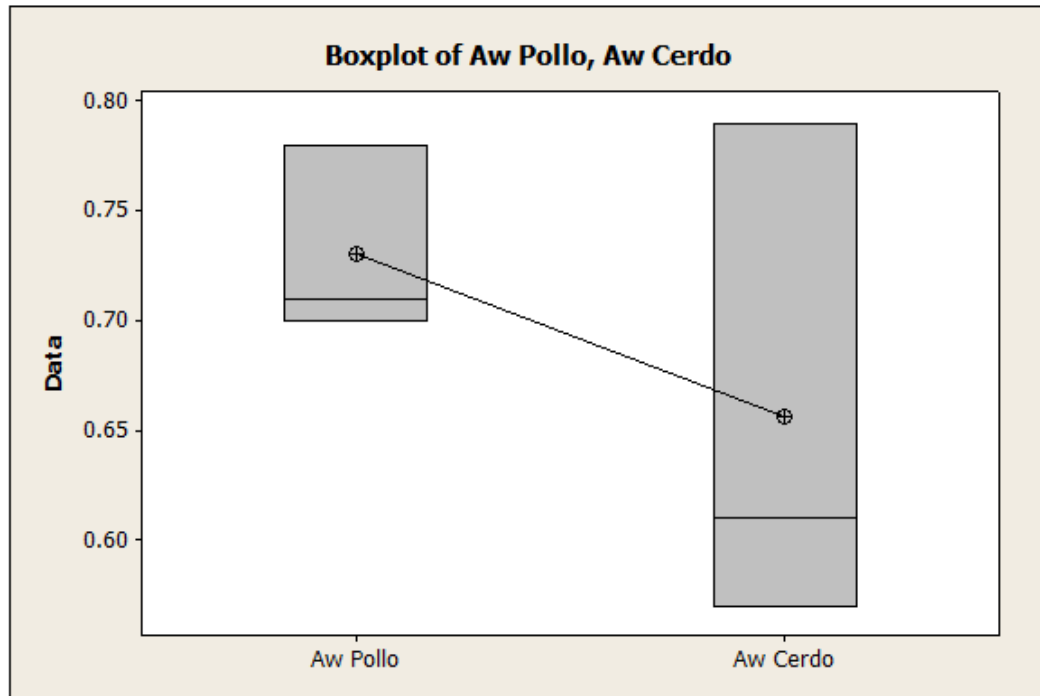


Figura 39. Resultados de análisis estadísticos de la a_w pechuga de pollo y lomo de cerdo

Al realizar el análisis del gráfico de a_w en las diferentes emulsiones cárnicas, presente en la Figura 42, se obtiene una $P < 0.05$ por lo que se rechaza H_0 , esta diferencia se presenta entre la pasta elaborada con albúmina al 1% con respecto al resto de las pastas.

Al observar el gráfico se puede observar que el valor más alto de a_w corresponde a la pasta elaborada con 1% de albúmina y el más pequeño a aquella que se elaboró con 1% de plasma.

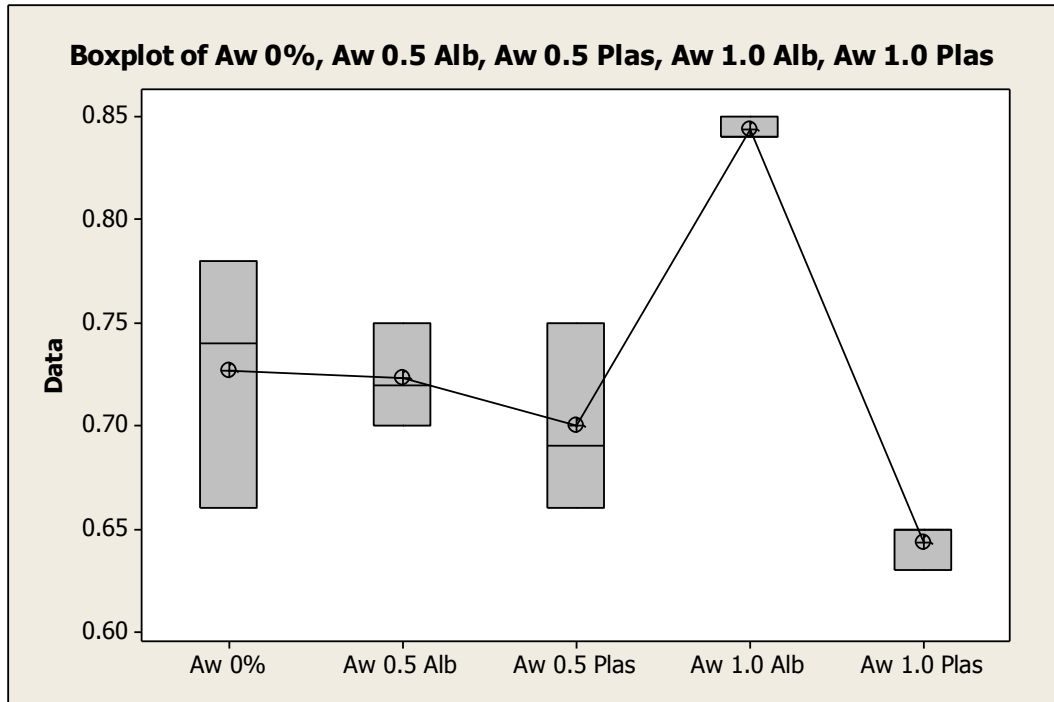


Figura 40. Resultados de análisis estadísticos de la a_w emulsión cárnica con diferentes concentraciones de proteína

3.3. Concentración de proteínas por Bradford

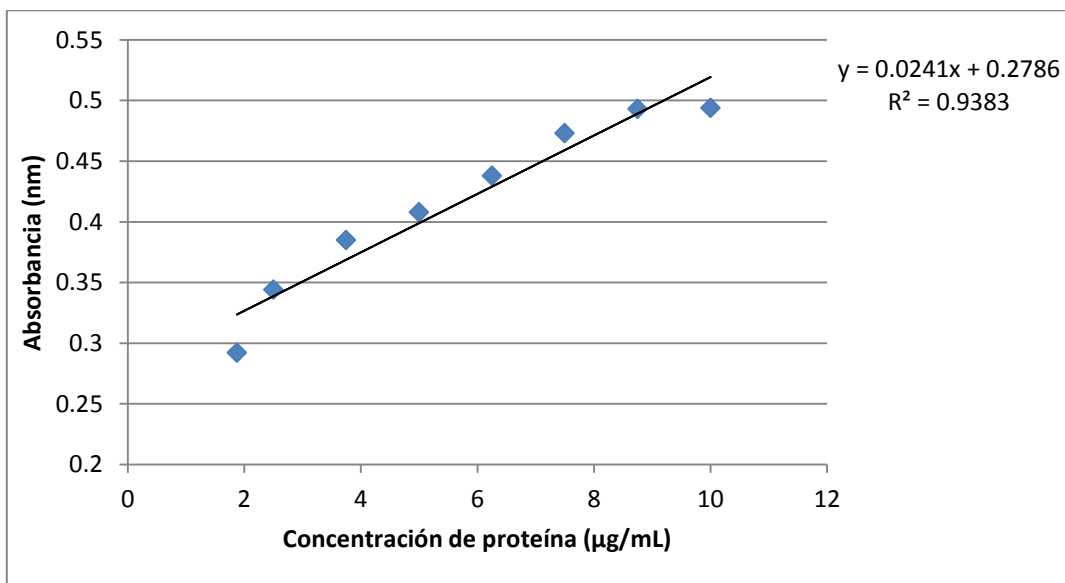


Figura 41. Curva patrón Bradford

Los promedios de los resultados de la cuantificación de proteínas obtenidos para el plasma y la albúmina, utilizando el método de Bradford se encuentran en el Cuadro 15. Los valores se obtuvieron interpolando en la curva patrón (Figura 43), cuya Ecuación de regresión fue $y=0.0241x+0.2786$, donde “y” es la absorbancia y “x” la concentración”.

Se determinó la concentración de proteínas para lograr su mejor resolución en la electroforesis. A partir de los datos anteriores se puede observar que la cantidad de proteína presente en el plasma obtenido por centrifugación, es mayor que la que se obtuvo mediante la precipitación alcohólica, lo que puede deberse a que en el plasma se pueden encontrar otras proteínas.

Cuadro 15. Concentración de proteínas

	Concentración de proteína µg/mL	
	Albúmina	Plasma
Concentración 1	3.461	5.950
Concentración 2	5.480	6.905
Concentración 3	5.508	7.402
promedio	4.816	6.752

3.4. Perfiles electroforéticos de las muestras de plasma y albúmina obtenidos a partir de sangre de bovino

En la Figura 44 se observan los perfiles electroforéticos obtenidos de las muestras de plasma y albúmina a partir de sangre de bovino y los marcadores de peso molecular, (MPM) All precision blue standards™ de Bio Rad.

Se puede observar mayor cantidad de albúmina de suero bovino en el carril 3) donde se colocó la muestra de plasma, comparado con aquel de la proteína obtenida mediante fraccionamiento etanólico, carril 4), atribuyendo esto al método de obtención de la proteína, y que la centrifugación controlada permite obtener una mayor cantidad de sólidos precipitados en comparación con el fraccionamiento etanólico.

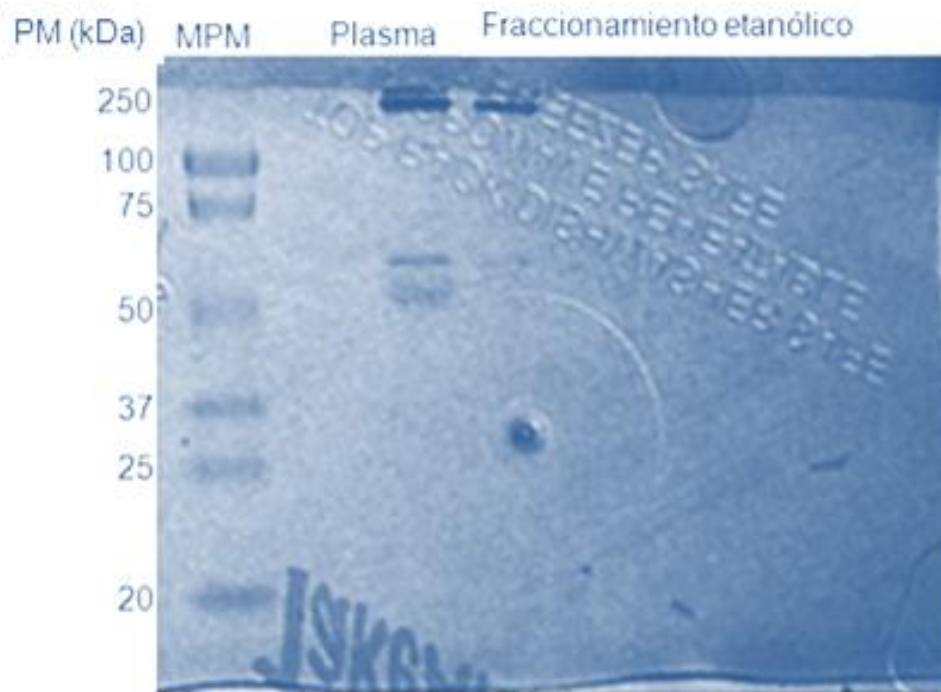


Figura 42. SDS-PAGE (10%) tinción Azul de Coomassie. Perfil electroforético de las muestras de Plasma y de fraccionamiento etanólico

Carril 1) MPM All precision blue standards™ de Bio Rad (kDa): 250 Miosina, 150 β -galactosidasa, 100 fosforilasa, 75 albúmina de suero bovina, 50 Ovoalbúmina, 37 anhidrasa carbónica, 25 inhibidor de tripsina y 20 lisozima.
Carril 3) Proteínas de plasma de bovino: α globulinas (250 kDa), Albúmina sérica bovina (ASB) (62.5 y 52.5 kDa).
Carril 4) Precipitación etanólica Albúmina sérica bovina (ASB) (62.5 kDa)

CONCLUSIONES

Se implementaron a nivel laboratorio los métodos de centrifugación controlada y fraccionamiento etanólico para llevar a cabo la separación de proteínas de sangre de bovino (plasma y albúmina), mismas que se liofilizaron y de las cuáles se obtuvieron sus rendimientos.

Los rendimientos obtenidos fueron de 8.5 g /100mL de sangre de bovino y de 0.24g/100mL de plasma de bovino.

La concentración de proteínas presente en los liofilizados fue de 6.752 mg de proteínas/mL y de 4.816 mg de proteínas/mL.

El perfil electroforético de proteínas del plasma de sangre de bovino y del fraccionamiento etanólico en geles desnaturalizantes demostraron la presencia de bandas de proteínas con una masa molecular relativa de alrededor de 250 kDa, correspondientes a α -Globulinas y 62.5 kDa y 52.5 kDa que corresponden a la albúmina sérica bovina. Tras el fraccionamiento etanólico se obtuvo una banda de alrededor de 60 kDa, que corresponde a la albúmina. El valor de RF para la albúmina sérica bovina fue el mismo al aplicar dos métodos de obtención diferentes.

Al evaluar la CRA de la carne de pechuga de pollo se determinó un valor de 17.18 y de 16.41 la del lomo de cerdo. La CE de la carne de pollo fue de 2.88 y de 3.09 para el lomo de cerdo. Con base en estos resultados se empleó carne de pollo en la elaboración de una emulsión cárnica, debido a que posee menor aptitud tecnológica para la formación de una emulsión cárnica.

La adición de plasma o albúmina de sangre de bovino liofilizados, con objeto de mejorar los parámetros fisicoquímicos de la pasta cárnica tipo emulsión, permitieron obtener una CE de 2.41 en el lote control sin adición de subproductos de sangre de bovino; sin embargo en el lote al que se adicionó plasma al 5%, fue de 3.53, en el lote con 1% de plasma, de 3.25, en el lote adicionado con albúmina al 0.5%, de 2.86% y finalmente en el lote con 1% de albúmina, de 3.89. Aún cuando en todos los casos se incrementó la CE, el mejor lote fue el adicionado con 1% de albúmina al tener una desviación estándar de 0.1222.

Finalmente se propone este proyecto como una alternativa para obtener y utilizar los subproductos de sangre de bovino, residuos que son desechados en las descargas a las aguas municipales, del proceso de matanza de bovinos. El uso de estos subproductos el plasma y la albúmina, como posibles ingredientes funcionales en la elaboración de emulsiones cárnicas.

RECOMENDACIONES

Se recomienda continuar con un estudio de factibilidad económica para fundamentar esta propuesta y ofrecer alternativas técnico económicas y entonces desarrollar su posible implementación en la industria cárnica.

BIBLIOGRAFIA

- A.O.A.C. 2000. *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Washington, D.C, USA; Association of Official Analytical Chemists.
- Barragán P. (2013). *Estudio del plasma sanguíneo bovino para fermentación sumergida y sistemas alimentarios* (tesis doctoral). Universidad de Caldas, Manizales.
- Belitz, H.D., & Grosch, W. (1997). *Química de los alimentos*. Zaragoza, España. 2^a edición, editorial acribia.
- Beltrán C., Perdomo, W. (2007). *Aprovechamiento de la sangre de bovino para la obtención de harina de sangre y plasma sanguíneo en el matadero Santa Cruz de Malambo Atlántico* (trabajo de grado). Universidad de la Salle, Bogotá.
- Cervantes, I. C., Luna, A. V., & Sobac, R. D. BIORREMOCIÓN DE DQO EN AGUA RESIDUAL DE RASTRO, 3.
- COFEPRIS (2007). *Guía para la administración de rastros y mataderos municipales*. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. México. D.F. 24 p.
- COFEPRIS (2006). *Evaluación de riesgos de los rastros y mataderos municipales*. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. México. D.F. 32 p.
- FAO (1994). *Desechos de matadero como alimento animal en Colombia. Tratamiento y utilización de desechos de origen animal y otros desperdicios en la ganadería*. Obtenido de <http://www.fao.org>
- FAO (2015). *Cantidades promedio de desechos comestibles de matadero obtenidos en los centros de matanza de Colombia. (En porcentaje sobre el peso vivo)*. Obtenido de <http://www.fao.org>
- FAO (2017). *Composición de la carne*. Obtenido de <http://www.fao.org>

- Ferreyra, J. C., Kuskoski, E. M., Bordignon, M. T., Barrera, A. D., & Fett, R. (2007). Propiedades emulsificantes y espumantes de las proteínas de harina de cacahuate (*Arachis hypogaea* Lineau). *Grasas Aceites*, 58(3), 264-269 In Hutton CW, Campbell AM. 1977. Functional properties of a soy concentrate and a soy isolate in simple systems. *J. Food Sci.*
- Freixanet, L. (2010). Aditivos e ingredientes en la fabricación de productos cárnicos cocidos de músculo entero. *Metalquimia SA Artículos tecnológicos. Editado por Metalquimia SA Girona, España.*
- González, L. F., Acuña, M. T., Lara, J., Villalobos, D., & Peña, I. (1985). Producción de albúmina bovina evaluación de dos métodos. *Rev Costarric Cienc Med*, 6(2), 105-114.
- Gracey, J. F. (2001). *Mataderos Industriales: Tecnología y funcionamiento*. Zaragoza, España: Editorial Acribia.
- Gutiérrez, I. (2014). *Evaluación de los efectos de los ciclos de congelación – descongelación en carne de res mediante técnicas histológicas y electroforéticas* (tesis de Ingeniería en Alimentos). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, México.
- Hoyo, M. (2015). *Análisis de la calidad del agua de la descarga del rastro municipal de la Villa Victoria, Estado de México* (Tesis de Especialista en Ingeniería Sanitaria y Ambiental). Facultad de Ingeniería, UNAM, México.
- Isaza, J. M., Londoño, L. M., Restrepo, D. A., Cortes, M., Suárez H. (2010). Producción y propiedades funcionales de plasma bovino hidratado en embutido tipo salchichón. *Revista colombiana de Ciencias Pecuarias*, 23(2).
- Jiménez, F., Carballo, J. (1989) Principios básicos de elaboración de embutidos. *Ministerio de Agricultura pesca y alimentación, Secretaría General de Estructuras Agrarias, Hojas Divulgadoras*, 89(4), 1-19.

KOWI. Pork Producer Company (2004). Sistema de tratamiento de aguas residuales del rastro TIF 74, 17.

Linden, G., Lorient D. (1997). *Bioquímica agroindustrial: Revalorización alimentaria de la producción agrícola*. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A.

Márquez, E. (1995). 7. Efecto de la adición de plasma sanguíneo de bovino sobre la estabilidad de la emulsión y contenido proteico de productos cárnicos emulsificados. *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia*, 12(4), 2-4.

Mateo, J. (2008). Embutidos de sangre en diversos países del mundo. *Nacameh*, 2(1), 42-52. Recuperado de http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/v2n1/Nacameh_v2n1_042Mateo.pdf

Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996. Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.

Norma Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-1997. Límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público.

Norma Oficial Mexicana. NOM-008-ZOO-1994. Especificaciones zoonosanitarias para la construcción y equipamiento de establecimientos para el sacrificio de animales y los dedicados a la industrialización de productos cárnicos.

Norma oficial mexicana. NOM-194-SSA1-2004. Productos y servicios. Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio. Especificaciones sanitarias de productos prefacio.

Norma Oficial Mexicana. NOM-213-SSA1-2002. Productos y servicios. Productos cárnicos procesados. Especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

Ockerman, H. W., & Hansen, C. L. (1994). *Industrialización de subproductos de origen animal* (No. TS 1960. O2418 1994). Zaragoza: Acribia.

Oficina Nacional de Normalización, 2009 obtenido de <https://doctoradoagrarias.files.wordpress.com/2016/04/pedro-barragc3a1n.pdf>

Pérez, H. (2000). Electroforesis en geles de poliacrilamida: fundamentos, actualidad e importancia. *Universo Diagnóstico*, 1(2), 31-4.

Ramírez-Navas, J. S. (2006). *Liofilización de alimentos*. Revista ReCiTelA. In Alvarado, J de D. (1979). *Ensayos de almacenamiento y estudio de un mecanismo de secado a temperaturas bajas en papa (solanum tuberosum) (Tesis de maestría)*. Universidad de San Carlos, Guatemala. In Alvarado, J de D. (1996). *Principios de ingeniería aplicados a alimentos*. Ed Radio comunaciones OEA, Quito, Ecuador. In Krokida MK, Karathanos VT, Maroulis ZB. (1998). *Effect of freeze-drying conditions on shrinkage and porosity of dehydrated agricultural products*. Journal of food engineering 35: 369-11.

Reyes, M. D. (2009). *Tratamiento de aguas residuales provenientes de rastro mediante un sistema de biodegradación anaerobia-aerobia* (Tesis de maestría). Facultad de Ingeniería, UNAM, México.

Ríos, T. E. (2014). *Efecto de la adición de proteína aislada de soya en la estabilidad de una emulsión cárnica* (Tesis de Ingeniería en Alimentos). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, México.

Rocha, B. (2006). *Alternativas de utilización del plasma y la globina de la sangre de bovino* (Tesis de Química en Alimentos). Facultad de Química, UNAM, México.

Rozas, V. (2015). *Efecto de la adición de albúmina de huevo en las propiedades tecnológicas de salchichas tipo Frankfurt durante su almacenamiento a 4°C* (Tesis de pregrado). Facultad de Industrias Alimentarias, UNALM, Perú.

SENASICA (2018) Directorio de rastros y/o centros de matanza, que cuentan con vigilancia o supervisión por parte de autoridades sanitarias en la entidad, año

2018. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, Dirección General de Inspección Fitozoosanitaria, 1-8. Disponible en <https://www.gob.mx/senasica/documentos/directorio-de-padron-de-rastros>

Signorini, M. P., Civit, S. G., Bonilla, M. P., Cervantes, M. (2005). Guía para la administración de rastros y mataderos municipales. *Comisión Federal para la Protección de Riesgos Sanitarios*, 8, 9,17.

Wiesmann, U., & Binder, H. (1982). Biomass separation from liquids by sedimentation and centrifugation. In Blakebrough, N., Ghose, T. K., & Fiechter, A. (Eds.). (1972). *Advances in biochemical engineering*. Springer-Verlag.

Zimerman, M. (2008). pH de la carne y factores que lo afectan. En Sañudo, C., González, C. (1°) *Aspectos estratégicos para obtener carne de ovino de calidad en el cono sur americano* (141-153). Buenos Aires, Argentina: Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.