

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA**



TESIS

**“OBTENCIÓN DEL HIERRO EN SOLUCIÓN MEDIANTE
LA HIDRÓLISIS ÁCIDA ORGÁNICA DE LOS
ERITROCITOS DE LA SANGRE DE POLLO”**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE

INGENIERO QUÍMICO

PRESENTADO POR

**FLORES BERMUDEZ AYME
RODAS ANGELES GUIDO NARCISO
HERRERA TOLENTINO MYRIAM JULIA**

ASESOR

ING° CARLOS ALEJANDRO ANCIETA DEXTRE

CALLAO – 2020

PERÚ

PRÓLOGO DEL JURADO

La presente Tesis fue Sustentada por los señores Bachilleres **FLORES BERMUDEZ AYME, HERRERA TOLENTINO MYRIAM JULIA y RODAS ANGELES GUIDO NARCISO** ante el **JURADO DE SUSTENTACIÓN DE TESIS** conformado por los siguientes Profesores Ordinarios:

ING° ÓSCAR JUAN RODRIGUEZ TARANCO	PRESIDENTE
ING° SONIA ELIZABETH HERRERA SANCHEZ	SECRETARIA
ING° RICARDO RODRIGUEZ VILCHEZ	VOCAL
ING° CARLOS ALEJANDRO ANCIETA DEXTRE	ASESOR

Tal como está asentado en el Libro de Actas N° 2 de Tesis sin Ciclo de Tesis Folio N° 135 y Acta N° 318 de fecha **DIEZ DE DICIEMBRE DE 2019**, para optar el Título Profesional de Ingeniero Químico en la Modalidad de Titulación de Tesis sin Ciclo de Tesis, de conformidad establecido por el Reglamento de Grados y Títulos aprobado con la Resolución N° 245–2018–CU de fecha 30 de octubre de 2018

DEDICATORIA

A nuestros padres por el constante esfuerzo que han hecho para que se realicen nuestros sueños.

Por su amor, enseñanza y confianza que nos cubre día a día.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional del Callao y la Facultad de Ingeniería Química por la formación brindada y los valores inculcados.

Al Ing^o Carlos Alejandro Ancieta Dextre, que, por su dedicación e interés en este tipo de proyecto, pudo brindarnos la orientación necesaria para la ejecución y desarrollo de la presente tesis de investigación.

ÍNDICE

	Pag.
RESUMEN	5
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN	7
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	8
1.1 Descripción de la realidad problemática	8
1.2. Formulación del problema	9
1.2.1 Problema general	9
1.2.2 Problemas específicos	9
1.3. Objetivos	9
1.3.1 Objetivo general	9
1.3.2 Objetivos específicos	10
1.4 Limitantes de la investigación	10
II. MARCO TEÓRICO	11
2.1 Antecedentes	11
2.1.1 Antecedentes nacionales	11
2.1.2 Antecedentes internacionales	12
2.2. Bases teóricas	16
2.3. Conceptual	27
2.4. Definición de términos básicos.	28
III. HIPÓTESIS Y VARIABLES	29
3.1. Hipótesis	29
3.1.1 Hipótesis general	29
3.1.2. Hipótesis específica	29
3.2. Definición Conceptual de Variables	29
3.2.1. Operacionalización de variables	30
IV. METODOLOGÍA	31

4.1. Tipo y diseño de investigación	31
4.2. Método de Investigación	33
4.3. Población y muestra	37
4.3.1. Población	37
4.3.2. Muestra	37
4.3.3. Tamaño de Muestra	37
4.4. Lugar de estudio y periodo de desarrollo	38
4.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	38
4.6. Análisis y procesamiento de Datos	41
V. RESULTADOS	42
5.1. Resultados descriptivos	42
5.2. Resultados Inferenciales	48
VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	51
6.1. Contrastación de la hipótesis con los resultados	51
6.2. Contrastación de resultados con otros estudios similares	52
VII. CONCLUSIONES	54
VIII. RECOMENDACIONES	55
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Efectos de la hidrolisis en los subproductos de origen animal	13
Tabla 2	Composición de la sangre	16
Tabla 3	Contenido de sangre respecto al peso vivo de diversos animales	18
Tabla 4	Tablas peruanas de composición de alimentos (sangre de pollo)	21
Tabla 5	Matriz de operacionalización de variables	30
Tabla 6	Diseño experimental de hidrolisis acida orgánica	36
Tabla 7	Diseño experimental de hidrolisis acida orgánica considerando las variables de respuesta	36
Tabla 8	Cuantificación de hierro en la sangre de pollo (volumen de 350 mL)	42
Tabla 9	Cuantificación de hierro en los eritrocitos de sangre de pollo	42
Tabla 10	Cuantificación de proteínas en los eritrocitos de pollo (20mL).	42
Tabla 11	Cuantificación de hierro en la hemoglobina	43
Tabla 12	Cuantificación de hierro en el hidrolizado de los eritrocitos de la sangre de pollo con ácido acético	44
Tabla 13	Cuantificación de hierro en el hidrolizado de los eritrocitos de la sangre de pollo con ácido cítrico	44
Tabla 14	Cuantificación del pH en la hidrólisis de eritrocitos de pollo, ácido acético y ácido cítrico	45
Tabla 15	Cuantificación de proteínas en la solución de hierro concentrado con ácido acético	45
Tabla 16	Cuantificación de proteínas en la solución de hierro concentrado con ácido cítrico.	46
Tabla 17	Cuadro resumen de recolección de datos	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Hemoglobina ($C_{2952}H_{4664}N_{812}O_{832}S_2Fe_4$)	23
Figura 2	Reacción de hidrolisis acida orgánica de una proteína	24
Figura 3	Hidrólisis acida orgánica de la hemoglobina	25
Figura 4	Obtención de hierro férrico	26
Figura 5	Diseño de Investigación.	32
Figura 6	Método de Investigación.	33
Figura 7	Gráfico de Residuales para Hierro (ppm)	48
Figura 8	Diagrama de Pareto de Efectos Estandarizados	49
Figura 9	Grafica de efectos principales para Hierro (ppm)	50

RESUMEN

Esta investigación busca establecer las condiciones operativas adecuadas para la obtención de hierro en solución mediante una hidrólisis ácida orgánica de sangre de pollo, que servirá como un estudio preliminar para futuras investigaciones sobre la producción de hierro en capsulas, pastillas, etc. Con la finalidad que las personas puedan consumir específicamente hierro de mayor pureza y no solo consuman éste en sangrecita.

Para realizar la hidrólisis ácida orgánica se utilizó sangre de pollo recolectado de un centro de faenamiento chalaco, se le adicionó anticoagulante y fue transportado siguiendo una cadena de frío. Se utilizó medios mecánicos (centrifugación) para la separación y obtención de los eritrocitos. Luego se realizó la hidrólisis ácida orgánica para lo cual se usó Ácido cítrico, Ácido orgánico a 5%, 10% y 15% de concentración cada una, seguido se centrifugó del cual se obtuvo hierro en solución. Se realizó 24 corridas experimentales con 2 niveles variando los 3 factores de la hidrólisis como tipo de ácido, porcentaje de concentración de ácido y tiempo de hidrólisis. Luego se determinó que las condiciones operativas adecuadas para la obtención de hierro en solución, que fueron las siguientes : 15% ácido cítrico con un tiempo de 10 o 20 minutos. Con ello se obtuvo un rendimiento de hierro de 99% y un porcentaje de hidrólisis ácida orgánica de 51,34%

Palabras clave : Hierro, eritrocitos, hidrólisis ácida orgánica.

ABSTRACT

This research seeks to establish the appropriate operating conditions for obtaining iron in solution through an organic acid hydrolysis of chicken blood, which will serve as a preliminary study for future research on iron production in capsules, pills, etc. With the purpose that people can specifically consume iron of greater purity and not only consume it in blood.

To perform the organic acid hydrolysis, chicken blood collected from a Chalaco slaughterhouse was used, anticoagulant was added and it was transported along a cold chain. Mechanical means (centrifugation) were used for the separation and obtaining of erythrocytes. Then the organic acid hydrolysis was performed for which citric acid, organic acid at 5%, 10% and 15% concentration each was used, followed by centrifugation of which iron was obtained in solution. 24 experimental runs were carried out with 2 levels varying the 3 factors of the hydrolysis as type of acid, % of acid concentration and hydrolysis time. Then it was determined that the appropriate operating conditions for obtaining iron in solution, which were the following : 15% citric acid with a time of 10 or 20 minutes. This resulted in an iron yield of 99% and an organic acid hydrolysis % of 51,34%

Keywords: Iron, erythrocytes, organic acid hydrolysis.

INTRODUCCIÓN

Se considera dentro de la industria alimentaria a la industria avícola, como una de las principales actividades económicas con alto potencial contaminante, caracterizado principalmente por un elevado volumen de vertimientos líquidos, emisiones gaseosas y sobrecargas de nutrientes a los suelos. (Arenas y Nuncira, 2010)

La industria avícola presenta un notable crecimiento en el país debido a la gran acogida de la población al consumir principalmente carne de pollo y huevos de forma rutinaria. Este crecimiento ha conllevado a un incremento en la generación de subproductos del faenamiento como sangre, huesos, plumas, vísceras, entre otros. Generando impactos ambientales considerables al no ser tratadas adecuadamente.

Es por ello que en el país la mayoría de centros de beneficio avícola utilizan estos residuos orgánicos (sangre, huesos, plumas, etc.), para convertirlos en harina y venderlos como suplemento para alimentos balanceado para perros y otros ganados.

Esta investigación se enfocó en la obtención de una solución de hierro a partir de la hidrólisis ácida orgánica de la sangre de pollo, el cual es utilizado en algunos países como suplemento alimenticio para consumo humano para combatir la anemia ferropénica al consumir selectivamente el hierro y no en otras formas comunes como sangrecita.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática

La industria avícola en el Perú presenta un gran crecimiento como lo evidencia la venta de pollos vivos en los centros de distribución de Lima Metropolitana y Callao que muestran un incremento de 9,8 % en diciembre del año 2017 con respecto al año anterior (Contreras, Gutierrez, y Osorio, 2017). Por consiguiente, esto ha provocado un aumento de subproductos de beneficio como plumas, huesos y sangre. Esto está conllevando a una contaminación ambiental afectando a todos los seres vivos al no ser tratados correctamente y a una afectación legal.

En el país la mayoría de los centros de beneficio avícola tienen desconocimiento de técnicas para el aprovechamiento de subproductos, principalmente de la sangre. Si bien estos centros de beneficio avícola tratan sus residuos orgánicos (sangre, huesos, plumas, etc.) convirtiéndolos en harina para ser utilizados como suplemento de alimentos balanceados para ganados. Están quintándole a la sangre un gran valor agregado, pues es la fuente principal de hierro por su alto contenido y valor nutricional para combatir la anemia ferropénica.

Acorde a ello, se conoce el alto valor alimenticio de la sangre de pollo, la cual según la cultura popular se aprovecha en la alimentación de personas en forma de sangrecita (sangre cocida) por su alto contenido de proteínas y de minerales, en específico de hierro.

La sangre de pollo en la actualidad se consume en forma de sangre cocida para combatir la anemia ferropénica debido a su alto contenido de hierro. Pero las

personas sujetas a este tratamiento tienen que consumir el hierro en la presentación mencionada, por ello las personas consumen además de hierro, proteínas, calcio, fosforo ente otros. Es decir, no hay un consumo específico de hierro.

Con esta tesis se busca obtener en solución el hierro de la sangre de pollo, para ser utilizado en futuras investigaciones como suplemento alimenticio para contrarrestar la anemia ferropénica y qué podrá ser consumido por las personas en presentaciones como píldoras o pastillas, para su fácil consumo y disposición.

1.2. Formulación del problema

1.2.1 Problema general

¿Cuáles son las condiciones operativas adecuadas para la obtención de Hierro en solución mediante la hidrolisis acida orgánica de los eritrocitos de la sangre de pollo?

1.2.2 Problemas específicos

- 1) ¿Cuáles son las características de los eritrocitos de la sangre de pollo que permitan una adecuada hidrolisis ácida orgánica?
- 2) ¿Cuáles son los factores operativos adecuados de la hidrolisis ácida orgánica de los eritrocitos de la sangre de pollo?

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Establecer las condiciones operativas adecuadas para la obtención de Hierro en solución mediante la hidrólisis ácida orgánica de los eritrocitos de la sangre de pollo.

1.3.2 Objetivos específicos

- 1)** Describir las características de los eritrocitos de la sangre de pollo que permitan una adecuada hidrólisis ácida orgánica
- 2)** Determinar los factores operativos adecuados para la hidrólisis ácida orgánica de los eritrocitos de la sangre de pollo.

1.4 Limitantes de la investigación

Una de las limitantes que se tuvo fue la separación de la sangre de pollo para la obtención de los eritrocitos, materia prima de la investigación, con respecto a otras fuentes de investigación. Por tal motivo, se trabajó con las máximas revoluciones de la centrífuga pero no a un tiempo prolongado (10 min) dado que el equipo tiende a sobrecalentarse, pudiendo afectar a la muestra. Esta limitación también existió cuando se trató de obtener el producto de la hidrólisis, en dicha operación se trabajó a la máxima potencia del equipo (10 000 rpm) y a dos tiempos (10 y 20 min)

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

2.1.1 Antecedentes nacionales

Según Paranco Rodríguez (2015), en su investigación *“Efecto de las práctica y consumo de hierro dietético en los niveles de hemoglobina en niños con anemia de 6 a 36 meses del puesto de Salud Villa Socca – Acora”*, la anemia es uno de los problemas de salud pública más difundidos en países como el nuestro, países en desarrollo. Los problemas de anemia afectan mayormente a la población de riesgo como son los infantes de 6 a 36 meses, mostrándose clínicamente en los bajos niveles de hemoglobina de la sangre, lo que se evidencia por la cantidad o calidad deficiente de glóbulos rojos. Que además está directamente relacionada con el hierro. Este tipo de anemia causado por la deficiencia de hierro es la que se denomina, anemia ferropénica y se toma como grupo de estudio ese rango de edad porque desde los 6 meses un infante comienza a depender del consumo exógeno de hierro, es decir de la alimentación diaria. En esta investigación se utiliza sulfato ferroso como fuente de hierro, comprobándose al final del estudio que el consumo de dicha sal, reduce significativamente la prevalencia de la anemia en niños menores de tres años. Porque que se aprecia un aumento promedio de 1,8 g/dL de hemoglobina en la sangre. Dando una significación clínica que reduce hasta un 63% la anemia (Paranco, 2015)

2.1.2 Antecedentes internacionales

Coronel y Vanegas (1982) en el estudio "*Hidrolizado de plumas y material córneo- Investigación experimental*" profundizan las reacciones de hidrólisis química, tanto ácida como básica, para el tratamiento de plumas y material córneo de aves. En este estudio se resalta el aprovechamiento de las proteínas, como un factor influyente en la composición de la materia viviente y como un requerimiento esencial en la alimentación tanto humana como animal. Aunque se enfoca más en el aprovechamiento de los subproductos generados en la industria avícola, determinando las características fisicoquímicas de las mismas para la obtención de proteínas hidrolizadas, con el principal uso en la alimentación del sector agropecuario, dado que el costo de la alimentación depende de la cantidad necesaria de proteínas necesarias por el ser viviente. En dicho estudio, también se menciona la hidrólisis de proteínas, tanto ácida como básica. Destacándose el uso de ácido orgánico, ácido acético, como el mejor agente hidrolizante para la hidrólisis de subproductos avícolas, resaltando la facilidad del control volumétrico y la poca destrucción del aminoácido triptófano. Al final esta obra investigativa recomienda el uso de los subproductos de origen avícola para la formulación de raciones alimenticias, fundamentándose en el alto contenido de proteínas y su eficiente poder energético.

Nates, Suresh y Swisher (2013) en su publicación "*Hidrolizados de coproductos de origen animal*" mencionan la problemática de la industria acuícola en su búsqueda constante de nuevas fuentes de alimentación. Dado que, en estos últimos años, hay una gran presión para la reducción del uso de la harina de

pescado como fuente de proteínas para la alimentación de peces. Por ello se enfocan en los subproductos de origen animal, porque son muy bien aceptados como ingredientes de alimentos, debido a que el contenido de proteínas de los subproductos de origen animal es mayor y su complemento de aminoácidos indispensables es superior a los que contienen los de origen vegetal. Es así, que realizan una investigación donde se muestran los efectos de la hidrólisis en los subproductos de origen animal, para cubrir necesidades nutricionales de la acuicultura. **Ver Tabla 1**

Tabla 1, *Efectos de la hidrólisis en los subproductos de origen animal*

Efecto de la Hidrólisis	Resultados beneficiosos
Digestión de proteínas	Mejoramiento de la digestibilidad, absorción y asimilación de péptidos
Incremento en la proporción de componentes de bajo peso molecular como péptidos de cadena corta, aminoácidos libres y nucleótidos	Mayor atractibilidad y palatibilidad
Producción de ácidos bioactivos	Antioxidante y actividad anti microbial

(Nates, Suresh, y Swisher, 2013)

Álvarez, Rendueles y Díaz (2014) en su invención “Procedimiento para la producción de péptidos y aminoácidos mediante hidrólisis ácida y básica en paralelo” utilizan como base hemoglobina purificada procedente de animales. Según esta metodología, al terminar la hidrólisis ácida y básica, realizada cada una por separado por un periodo de 6 horas cuando la temperatura de trabajo es de

80°C, se mezclan las disoluciones hasta alcanzar un pH de 1 y 2. Esto provoca una neutralización de los agentes hidrolizantes, que consigue el ahorro de reactivos, ya que tanto los ácidos como los álcalis son empleados como agentes hidrolizantes y neutralizantes. Además del ahorro de reactivos, tiene por objeto dar un procedimiento adecuado para subsanar la pérdida de aminoácidos, que se tiene lugar cuando se hidroliza la hemoglobina empleando únicamente ácidos o álcalis de forma independiente. (España Patente nº 2414279, 2014)

Muñoz (2014) en su trabajo de investigación "Separación por métodos mecánicos de la hemoglobina de sangre de pollos de la Avícola San Agustín mediante centrifugación y secado para disminuir el volumen de desechos líquidos en el faenamiento" estudia la separación de la hemoglobina de sangre de pollos, para así disminuir el volumen de desechos líquidos producidos durante el faenamiento. Desarrolla un análisis de los métodos mecánicos de centrifugación y secado. Además, establece como imprescindible la adición de un anticoagulante, citrato de sodio, en la sangre obtenida por desangrado. Dando también como base el tamaño de la muestra, debido a que el autor hace referencia al volumen de 10 ml de sangre por la capacidad del equipo que tiene. Este precedente se toma para la ejecución de esta investigación.

Izgaryshev et al. (2016) analizan el efecto de un agente hidrolizante orgánico, el ácido cítrico y el ácido cítrico, sobre glóbulos rojos de cerdo y ganado con el objetivo de asegurar las condiciones óptimas para la fabricación de productos que contienen hierro. En esta investigación se prueban disoluciones de 5% y 10% de

ácido acético y 10% de ácido cítrico, con una relación de eritrocitos de sangre con ácido de 10:1, una temperatura de 35°C y un tiempo de 12 horas.

Soliz (2014) elaboró mini cupcakes con alto contenido de hierro, a base de sangre de origen bovino por el método de liofilización y secador de bandejas, para aportar calidad nutricional a la alimentación de niños y mujeres en estado de gestación, que tengan deficiencia de hierro en su organismo, demostrando la calidad sanitaria mediante análisis microbiológicos, además de ser considerado un alimento con alta calidad nutricional por la cantidad de proteína, y a la vez un producto novedoso y económico.

Soto y Caballero (2012) elaboraron un chocolate fortificado con hierro hemo para consumo directo, procedente de hemoglobina bovina desecada, realizando diversas formulaciones para encontrar el porcentaje apropiado que sea microbiológicamente apto para consumo humano y que sea aceptado mediante análisis sensorial por niños en edad escolar, proporcionando así una alternativa en la ingesta de hierro para prever su deficiencia en la población de edad escolar y también para el público en general.

Los trabajos de (Soliz, 2014) y (Soto y Caballero, 2011) muestran que se pueden preparar alimentos a base de hierro que puedan combatir la anemia ferropénica.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Características de la sangre de pollo

La sangre constituye cerca de un 9% del peso de un ave adulta. La función que cumple dentro del proceso circulatorio de este animal es de llevar oxígeno a los tejidos del cuerpo, además de nutrientes y sustancias hormonales.

La sangre está compuesta principalmente de un plasma (líquido sanguíneo), de células o glóbulos rojos llamados eritrocitos, de células o glóbulos blancos llamados leucocitos y plaquetas. Con la particularidad de que los eritrocitos de las aves poseen núcleo, característica que no se presenta en los eritrocitos que componen a los seres mamíferos. (Vaca Adam, 2010)

La sangre animal principalmente está compuesta de un 80% de humedad y un 20% de sólidos. **Ver Tabla 2**

Tabla 2, *Composición de la sangre*

Composición	Porcentajes
Humedad	80,00
Glóbulos Rojos	12,00
Albumina	6,10
Fibrina	0,50
Grasa	0,20
Extractos de otras Sustancias	0,03
Cenizas	0,90

(Madrid, 1999)

Además la sangre también está compuesta por proteínas, que ayudan a mantener la homeostasis, regular la presión osmótica, actuando como un suministro de “reserva” de aminoácidos. Por ejemplo, la coagulación de la sangre se da a que proteínas como el fibrinógeno, tromboplastina y otras están presentes.

Hemoglobina

Dentro de la variedad de proteínas en la sangre, también se encuentra la proteína conjugada hemoglobina, componente principal de los eritrocitos, en el cual se encuentra a una concentración de alrededor 34 g/dL (Noriega, 2017). Es un pigmento rojo y que lleva el oxígeno en las células además de estar conjugada con moléculas de hierro (Coronel y Vanegas, 1982)

La hemoglobina está formada por una proteína propiamente dicha llamada globina y un componente mucho más pequeño, no proteínico, de carbonos, llamado hemo. Este componente hemo, que está unido a dicha proteína, se dice que es un grupo prostético. Es realmente este componente, el hemo, que contiene al hierro, el responsable del color rojo de la sangre y esencial para su función transportadora. (Fieser y Fieser, 1985). Ver la estructura en la **Figura 1 (Ver pag. N° 23)**

2.2.2 Propiedades físicas de la sangre :

- a) Color.-** La sangre es de color roja debido a la hemoglobina presente, este color variará dependiendo de la cantidad de oxígeno presente en la misma.
- b) Sabor y olor.-** De sabor salado y ligeramente metálico, esto por la presencia de sales y hierro. Su olor no es definido por la presencia de ácidos grasos.

- c) **Densidad.**- Por su alto contenido en agua su densidad se asemeja a la del agua, siendo su valor para pollos de engorda hembras, 1,0009 g/mL y para machos, 1,0115 g/mL (Morales et al. , 2010).
- d) **pH.**- Según Benítez y otros para la sangre de ave es 7,53 (Benítez et al., 1999)
- e) **Coagulación:** Una importante propiedad de la sangre es la formación de coágulos cuando ésta se extrae del cuerpo. Al extraerse la sangre del cuerpo sea por corte, desgarró o traumatismo permanente, se encuentra en forma líquida pero poco después adquiere un aspecto viscoso y más tarde en una masa gelatinosa. (Muñoz, 2014)
- a) **Porcentajes aproximados de sangre de pollo.**- La cantidad de sangre contenida en el organismo de un ave puede llegar a suponer hasta un 10% del peso vivo. Este porcentaje es superior a lo obtenido en el faenamiento de otras especies, aunque también se debe considerar el peso de éstas tal como se muestra en la **Tabla 3**

Tabla 3, *Contenido de sangre respecto al peso vivo de diversos animales*

Animales	Contenido en sangre (% respecto al peso vivo)
Aves	3 – 4
Cerdos	3 – 4
Ovejas	4 – 4,5
Vacas	9 – 10

(López y Casp, 2004)

En el proceso de sangrado, en el mejor de los casos se obtiene el 60% de la sangre que contiene en vida, mientras que, en un desangrado primario, la cantidad de sangre obtenida es tan solo del 40%. Por lo tanto, un animal en la sangría da entre el 40% a 60% del volumen total de sangre que posee en vida.

La duración del sangrado en el caso de aves viene a ser de 60 a 90 segundos en el caso de que el aturdimiento sea por el método eléctrico convencional, pero si fuera por inducción al paro cardiaco este tiempo de desangre se puede prolongar hasta los 2 – 2,5 minutos.

Para determinar la cantidad de sangre obtenida en un matadero podemos aplicar la siguiente ecuación :

$$\text{Cantidad de sangre} = N \times \%S_{vivo} \times W \times \%S_{obtenido} \times f$$

Siendo :

- N** : Número de animales faenados/ día
- $\%S_{vivo}$** : Porcentaje sangre en animal vivo (Kg sangre/100 Kg peso vivo)
- W** : Peso vivo del animal (Kg)
- $\%S_{obtenido}$** : Porcentaje de sangre obtenida en el sangrado (litros de sangre obtenida/100 Kg de sangre)
- f** : Factor de dilución por las aguas de lavado (López & Casp, 2004)

Si se quisiera calcular la cantidad de sangre que se obtendrá en un matadero de aves con una matanza de 100 pollos/día. Asumiendo que el peso promedio

de los pollos es de 2,5 Kg, la sangre referida al peso vivo del animal es de 10%, la sangre que se obtiene en el desangrado es de 60% y 15% de dilución por aguas de lavado, se tendrá :

$$\text{Cantidad de sangre} = 100 \times 0,1 \times 2,5 \times 0,60 \times 1,15 = 17 \text{ m } 25 \text{ L/día}$$

c) Valoración nutricional de la sangre de pollo.- La sangre de pollo es un fluido corporal del ave, que es muy rica en nutrientes y por lo tanto muy apta para el consumo humano. El factor que eleva su importancia nutricional es su muy elevado aporte de hierro, mineral que se encuentra en déficit en muchos grupos poblacionales como es el caso particular de menores de 5 años y mujeres gestantes (Abu Sabbah, 2013)

La sangre de pollo cuadruplica los niveles de hierro de las lentejas y los frijoles y la espinaca. Así lo aseguró la nutricionista Milagros Agurto, al sostener que el hierro en la sangre de pollo es más asimilable por el organismo humano por ser un producto de origen animal.

“La sangre de pollo contiene 27,30 miligramos de hierro, lo que cuadruplica los niveles alcanzados por las lentejas (7.60), los frijoles (7,5) y la espinaca (4,60)”, detalló. (Agencia Peruana de Noticias, 2014)

Como se muestra en la **Tabla 4 (Ver pag. Nº 21)**. Este producto es una fuente importante de minerales, entre los que destaca, lógicamente, el hierro de elevada disponibilidad, asociado a la hemoglobina, componente de la sangre.

Tabla 4. *Tablas peruanas de composición de alimentos (sangre de pollo)*

Alimento	Composición por 100 g de porción Comestibles									
	Energía Kcal	Agua g	Proteína g	Grasa g	Ceniza g	Ca mg	P mg	Fe mg	Retinol mg	Tiamina mg
Sangre de pollo cruda	65	83	15	0,1	1,4	12	101	27,3	8,3	0,01

(Ministerio de Salud; Instituto Nacional de Salud; Centro Nacional de Alimentación y Nutrición, 1996)

2.2.3 Hierro Inorgánico

El hierro es un micronutriente imprescindible para el funcionamiento del cuerpo, y juega un rol importante en la producción oxidativa y la formación de hemoglobina y otras sustancias, constituyente básico de muchas moléculas con actividades de tipo funcional como la metabólica y enzimática y de almacenamiento, que son aquellas utilizadas para el depósito y transporte de hierro; adicionalmente desempeña un importante papel en la maduración del sistema nervioso y síntesis de ADN, así como transporte de oxígeno y electrones. (Bowman, 2003)

a) Absorción del hierro Inorgánico.- En el estómago parte de las sales férricas se reducen a ferrosas debido al bajo pH gástrico y a la acción de la vitamina C que favorece esta reacción. Del estómago el hierro ingerido pasa al duodeno donde las sales férricas restantes son transformadas en sales ferrosas por las enzimas DcytB, que son ferorreductasas. (Forrellat, Gautier y Fernández, 2000)

La absorción de hierro tiene lugar en el duodeno y el yeyuno superior del intestino delgado, dependiendo del contenido del metal en la dieta, su biodisponibilidad, la cantidad almacenada y la velocidad de formación de eritrocitos. Cuando estas condiciones son normales, el porcentaje absorbido se

acerca al 10%, y se sitúa al alrededor del 20% en condiciones de déficit de hierro. (Bowman, 2003)

- b) Deficiencia de Fe.-** La anemia tiene como origen diversas causas. Existen anemias ferropénicas, por bajo consumo de hierro; anemias por enfermedades crónicas que producen mala absorción intestinal, entre otras.

Existen numerosos medicamentos por vía oral, para combatir las anemias ferropénicas a base de hierro iónico y hemínico; éste último tiene mayor biodisponibilidad que el hierro iónico (Forrellat & Fernandez, 2002)

2.2.4 Etapas de obtención de Hierro Inorgánico

- a) Centrifugación por sedimentación.-** La centrifugación puede ser definida como una operación física para separar sistemas de multicomponentes, con al menos una de las fases líquidas, por la aplicación de la fuerza centrífuga (Huerta , 2010)

Además, una partícula que se sedimenta por la acción de la gravedad a velocidad constante puede incrementarse la velocidad de sedimentación mediante la sustitución de la fuerza centrífuga (Muñoz, 2014)

La centrifugación diferencial es un método que consiste en que el tubo se llena con muestra y se centrifuga. El comportamiento de cada componente de la muestra depende de su forma, tamaño, densidad y de las condiciones de centrifugación. Se obtiene sólo dos fracciones: Sedimento y sobrenadante (Fundamentos de bioquímica y biología molecular, 2012)

- 1) Fraccionamiento de la sangre.-** La sangre de pollo se separa en dos fases: El sedimento que contempla a los glóbulos rojos o eritrocitos y el

sobrenadante que constituye el plasma. La fracción globular de la sangre de pollo está formada principalmente por glóbulos rojos, elementos formados por una membrana plasmática que contiene en su interior a la proteína principal que es la hemoglobina. (Del Hoyo Gonzalez, 2012)

Según (López y Casp, 2004) Al centrifugar la sangre para separarla se obtiene por un lado el plasma (60% – 70% de la sangre original) y por otro lado los glóbulos rojos (30% – 40%) tal como se muestra en la **Figura 1**

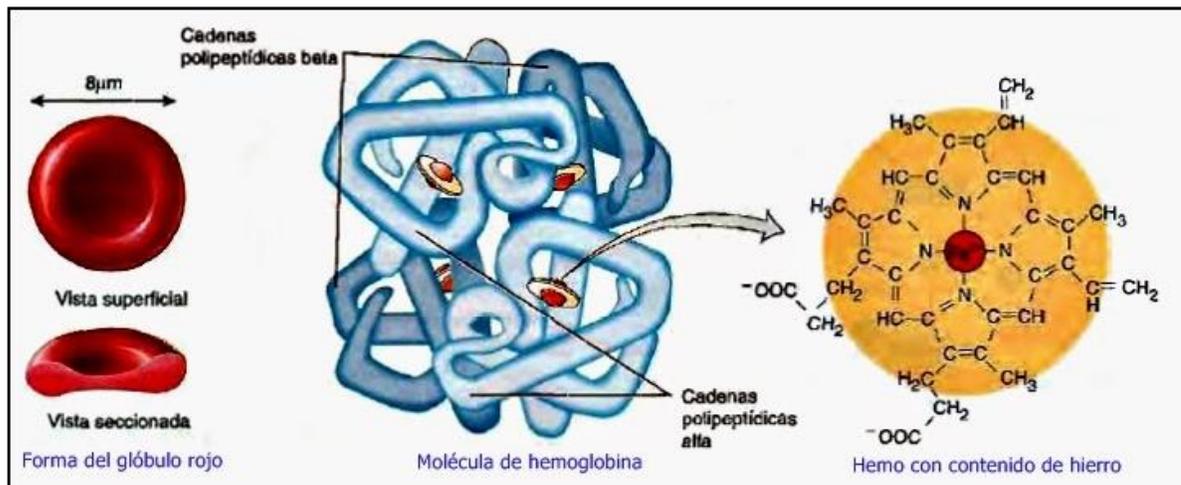


Figura 1. Hemoglobina ($C_{2952}H_{4664}N_{812}O_{832}S_2Fe_4$), (Castaños, 2015)

Además, según (Madrid, 1999) La sangre entera contiene 18% de sólidos. Esta sangre entera separada, da 60% de plasma con 8% de sólidos y 40% de hemoglobina con 35% de sólidos. Mediante la operación de separación por centrifugación se logra fraccionar la sangre obteniendo a la Hemoglobina (proteína)

b) Hidrolisis ácida orgánica.- Todas las proteínas se pueden hidrolizar por una solución acuosa de ácidos orgánicos a una temperatura de ebullición, dando como productos mezclas de α -aminoácidos del tipo $RCH(NH_2)CO_2H$. Según los resultados analíticos, indican que ni el grupo carboxilo ni el grupo amino, existen como tales, sino que están unidos por un enlace especial denominado enlace peptídico. Entendiéndose a una proteína como una cadena polipeptídica, la hidrolisis de esta se puede representar como la ruptura de esta cadena tal como se muestra en la **Figura 2** (Fieser y Fieser, 1985)

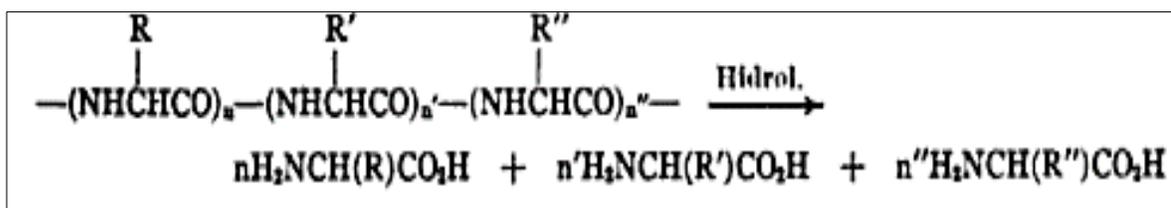


Figura 2. Reacción de hidrolisis ácida orgánica de una proteína, (Fieser & Fieser, 1985)

1) Desnaturalización de la hemoglobina.- La hemoglobina tiene cuatro cadenas polipeptídicas cada una con un grupo prostético, el hierro hemo que les proporciona el color rojo a los eritrocitos. Un grupo prostético es una porción no polipeptídica que forma parte de una proteína en su estado funcional. El átomo de hierro se encuentra en estado de oxidación ferroso (+2). (Brandan, Aguirre & Giménez, 2008)

Además, la hidrolisis ácida orgánica de la hemoglobina provoca una desnaturalización es decir se oxida por efecto de la disminución del pH (ácido), un incremento de oxígeno, incremento de H^+ , aumento de

temperatura. La hidrólisis ácida orgánica se realiza con el ácido acético (5% – 10%) (Brandan, Aguirre & Giménez, 2008)

(Hemoglobina.net, 2018) El Fe^{+2} de la Hemoglobina (Hb) sufre normalmente procesos de oxidación a Fe^{+3} y produce la desnaturalización de la hemoglobina llamada Metahemoglobina que no transporta O_2 afectando diariamente a un 3% del total de la Hemoglobina.

La oxidación de la Hb es escalonada. Los compuestos intermedios se denominan híbridos de valencia y son el resultado de la liberación de O_2 molecular por parte de la metahemoglobina que termina generando aniones superóxido o peróxido que oxidan entonces el hierro Fe^{+2} a Fe^{+3} Normalmente se genera 0,5% a 3% de metHb al día (Peñuela, 2005) como se muestra en la **Figura 3**

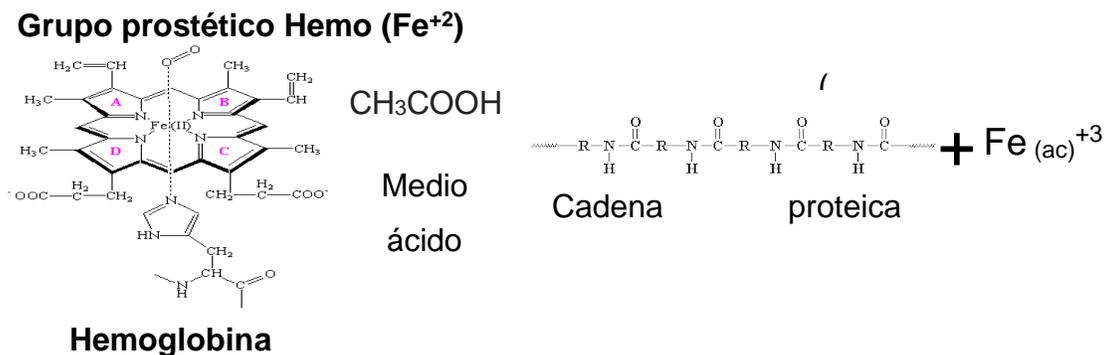


Figura 3, Hidrólisis ácida orgánica de la hemoglobina, (Peñuela, 2005)

c) Obtención de Hierro inorgánico.- Según (Nollas, 2006) La metahemoglobina se refiere a la oxidación del ión ferroso (Fe^{+2}) a ión férrico (Fe^{+3}) dentro de la molécula de hemoglobina. Esta reacción altera la capacidad de la hemoglobina

para transportar oxígeno. La metahemoglobina es la hemoglobina oxidada y desnaturizada por efecto de exposición a agentes químicos (Ácidos Orgánicos) con una marcada acción oxidante. Por esta razón se obtiene una solución de Fe^{+3} inorgánico por efecto del ácido orgánico como el ácido acético tal como se muestra en la **Figura 4**

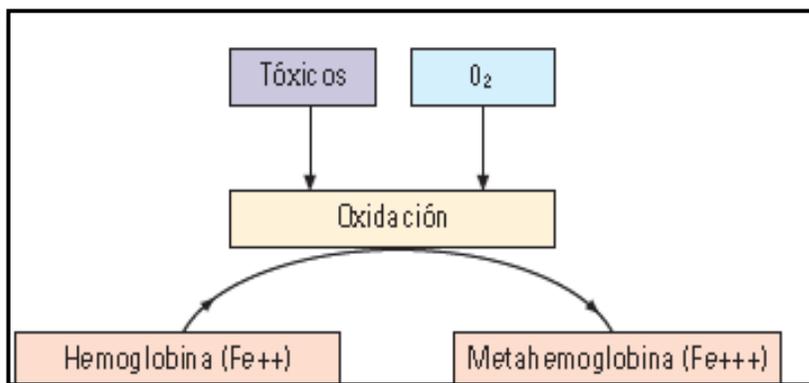


Figura 4, Obtención de hierro férrico, (Nollas, 2006)

Según (González, Gómez, Otero, & Revilla, 2016) La desnaturización de la Hemoglobina por una hidrólisis ácida orgánica provoca una precipitación de proteínas por acidificación estas deben ser centrifugadas para poder obtener un sobrenadante que constituye a una solución de Fe^{+3} inorgánico y un sedimento que contempla a todas las proteínas desnaturizadas.

Como objeto de investigación es obtener hierro férrico en solución que puedan consumir las personas para combatir deficiencias de hierro en la sangre (anemia ferropénica). Esto servirá como un estudio preliminar para futuras investigaciones sobre la producción hierro en capsulas, pastillas, etc.

Además, la absorción del Fe^{+3} inorgánico es un proceso natural que consiste en solubilizar y reducir del estado férrico (Fe^{+3}) a ferroso (Fe^{+2}) que comienza en el medio ácido gástrico, debido a que el hierro en estado férrico es muy poco absorbible. Esta absorción es facilitada por que en el estómago parte de las sales férricas se reducen a ferrosas debido al bajo pH gástrico y a la acción de la vitamina C que favorece esta reacción. (Gloria, Acevedo & Arredondo, 2017)

2.3 Conceptual

- a) **La sangre.**- Es un líquido viscoso consistente en una suspensión de elementos formes, también conocido como fracción globular (leucocitos, hematíes y plaquetas) en un medio coloidal (plasma). La sangre es de color rojo a causa de la hemoglobina que portan los eritrocitos. (Farreas, 1992)
- b) **Proteínas.**- Las proteínas son las macromoléculas más versátiles de los seres vivos y desempeñan funciones cruciales en prácticamente todos los procesos biológicos. Funcionan como catalizadores, transportan y almacenan otras moléculas como el oxígeno. (Berg, Tymoczko, & Stryer, 2008)
- c) **Eritrocitos.**- También denominados hematíes o conocidos comúnmente como glóbulos rojos, son las células más importantes de la sangre, cuyo principal trabajo es transmitir oxígeno a todo el cuerpo. (Hematíes, 2018)
- d) **DCYTB.**- Son enzimas ferroreductasas, es decir enzimas que reducen el Fe inorgánico en $\text{Fe}^{(+2)}$ Se encuentran a la entrada del duodeno. (Forrellat, Gautier & Fernández, 2000)
- e) **Metahemoglobina.**- Es un trastorno sanguíneo en el cual el cuerpo no puede reutilizar la hemoglobina porque está dañada. En este caso la hemoglobina es

incapaz de transportar suficiente oxígeno a los tejidos del cuerpo. Es causada por la exposición a ciertos fármacos, químicos o alimentos. (Tango, 2016)

- f) **Grupo prostético.**- Es es una porción no polipeptídica que forma parte de una proteína en su estado funcional. (Brandan, Aguirre & Giménez, 2008)

2.4 Definición de términos básicos

- a) **Hidrolisis.**- Ruptura de enlaces peptídicos. Generación de pequeños péptidos y aminoácidos libres. (Agbogbo, Coward, & Hotzapple, 2006)
- b) **Hemoglobina.**- Es la proteína presente en el torrente sanguíneo que permite que el oxígeno sea llevado desde los órganos del sistema respiratorio a todo el cuerpo. (Pérez Porto & Gardey, 2011)
- c) **Centrifugación.**- Es un método por el cual se pueden separar sólidos de líquidos de diferente densidad por medio de una fuerza giratoria.
- d) **pH.**- Coeficiente que indica el grado de acidez o basicidad de una solución acuosa.
- e) **Hierro.**- El hierro es el micro mineral más abundante en el cuerpo humano y su contenido medio es de 3,8 mg en los varones y 2,3 mg en las mujeres. Este micro mineral aparece ligado a proteínas y está presente en distintos compartimientos del organismo (Rodríguez & Simón, 2008)

III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1. Hipótesis

3.1.1 Hipótesis general

Las condiciones operativas adecuadas para la obtención de hierro en solución a partir de los eritrocitos de la sangre de pollo se obtienen mediante la hidrólisis ácida orgánica con ácido acético (5%, 10% y 15%) y con ácido cítrico (5%, 10% y 15%) a un tiempo determinado (10 y 20 minutos).

3.1.2 Hipótesis específica

- 1)** Las características de los eritrocitos de la sangre de pollo como hierro y proteínas favorecen una adecuada hidrólisis ácida orgánica para la obtención de hierro.
- 2)** Los factores operativos adecuados de la hidrólisis ácida orgánica son la concentración de ácido acético, el tipo de ácido orgánico y el tiempo de centrifugación.

3.2 Definición Conceptual de Variable

a) Variables de Investigación Independientes :

F(X1) = Características de los eritrocitos de la sangre de pollo

X1.1 : Volumen de los eritrocitos

X1.2 : Proteínas

X1.3 : Concentración de Hierro

G(X2) : Factores de la hidrólisis ácida orgánica de los eritrocitos del pollo.

X2.1 : Concentración de ácido orgánico

X2.2 : Tipo de Acido Orgánica

X2.3 : Tiempo

b) Variables de Investigación Dependientes :

I(Y) = Obtención del hierro en solución

Y1.1 : Concentración de Hierro

Y1.2 : Rendimiento de Hierro

Y1.3 : Rendimiento de Hidrolisis ácida orgánica

3.2.1 Operacionalización de variables

A continuación, se muestra la operacionalización de variables identificadas.

Tabla 5, Matriz de operacionalización de variables

Variable Dependiente	Dimensiones	Indicador	Método
I(Y) = Obtención del hierro en solución.	Y1.1 = Concentración de hierro. Y1.2 = Rendimiento de Hierro. Y1.3 = Rendimiento de Hidrolisis ácida orgánica.	– Hierro (ppm) – (m/m)% – (m/m)%	Ensayo experimental usando la hidrolisis ácida orgánica.
Variables Independientes F(X1) = Características de los eritrocitos de la Sangre de pollo	Dimensiones X1.1 = volumen X1.2 = Proteínas X1.3 = Concentración de Hierro	Indicador – MI – G – Hierro (ppm)	Método Caracterización según el método de Biuret y fenantrolina 315 B
G(X2) = Factores de la Hidrolisis Acida orgánica de los eritrocitos de la sangre de pollo.	X2.1 = Concentración de ácido orgánico X2.2 = Tipo de ácido orgánico X2.3 = tiempo	– Hierro (ppm) – % – minutos	Hidrolisis ácida orgánica.

Elaboración propia

IV. METODOLOGÍA

4.1 Tipo y diseño de investigación

La presente investigación se tipifica por su naturaleza como científica y aplicada, porque tiene como objetivo encontrar las condiciones operativas adecuadas para la obtención de hierro en solución mediante la hidrólisis ácida orgánica de los eritrocitos de la sangre de pollo; por el nivel de investigación es experimental porque usamos inferencias, analogías (comparando resultados) sobre los datos o información que se toma mediante la observación y medición durante el desarrollo de la investigación; por el análisis de las variables estas son cuantitativas porque son medibles y de razón; por el espacio temporal el trabajo de investigación es longitudinal porque el proceso llevado a cabo es consecutivo, por lo cual no se pueden obviar operaciones durante el proceso.

Para el diseño de la investigación se determinó primero las variables independientes $F(X_1)$, $G(X_2)$ mediante sus respectivos métodos; después se identificó la variable dependiente $I(Y)$ Tal como se muestra en la **Figura 5 (Ver pag. N° 32)**

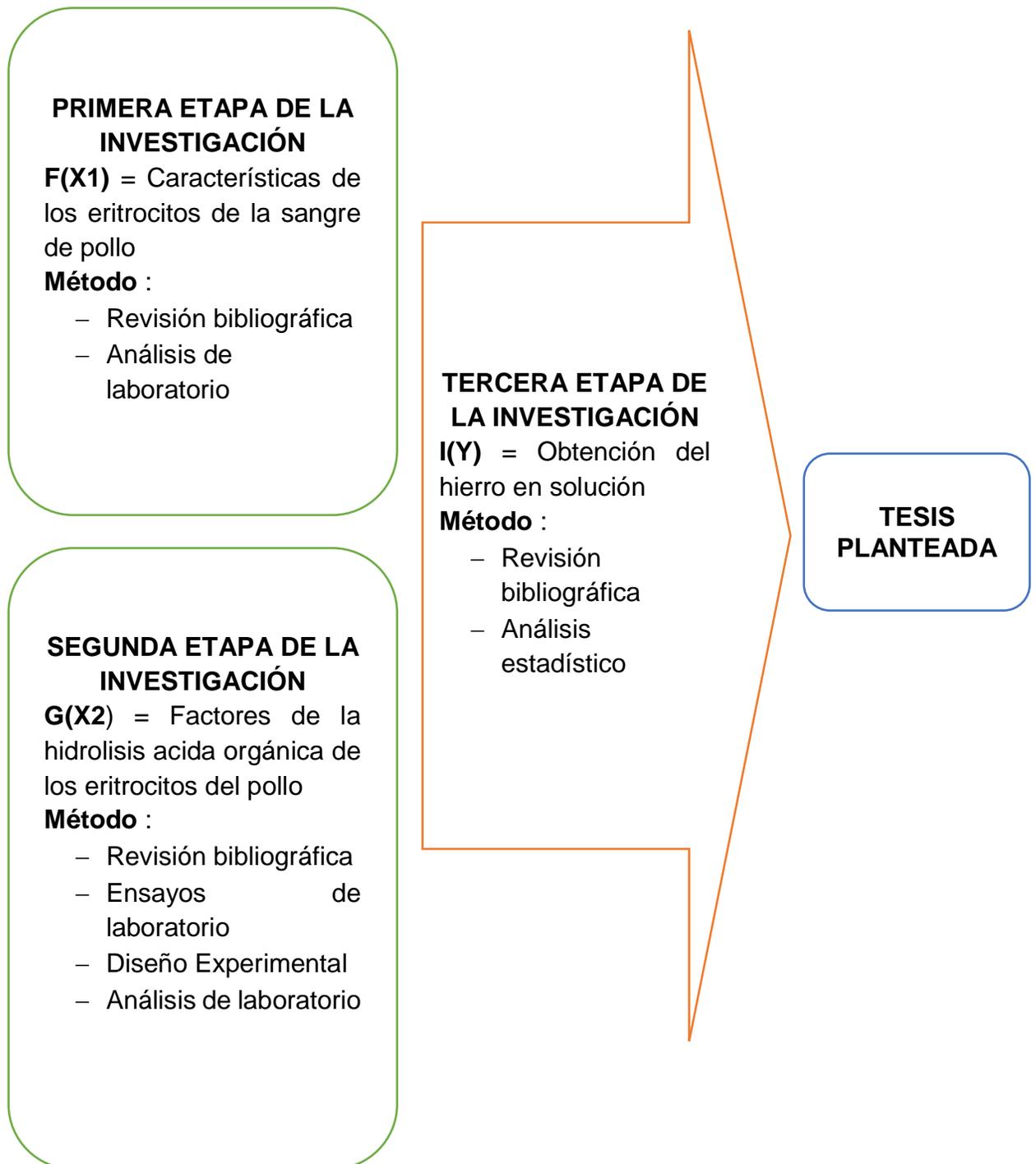


Figura 5, Diseño de Investigación, elaboración propia

4.2 Método de Investigación

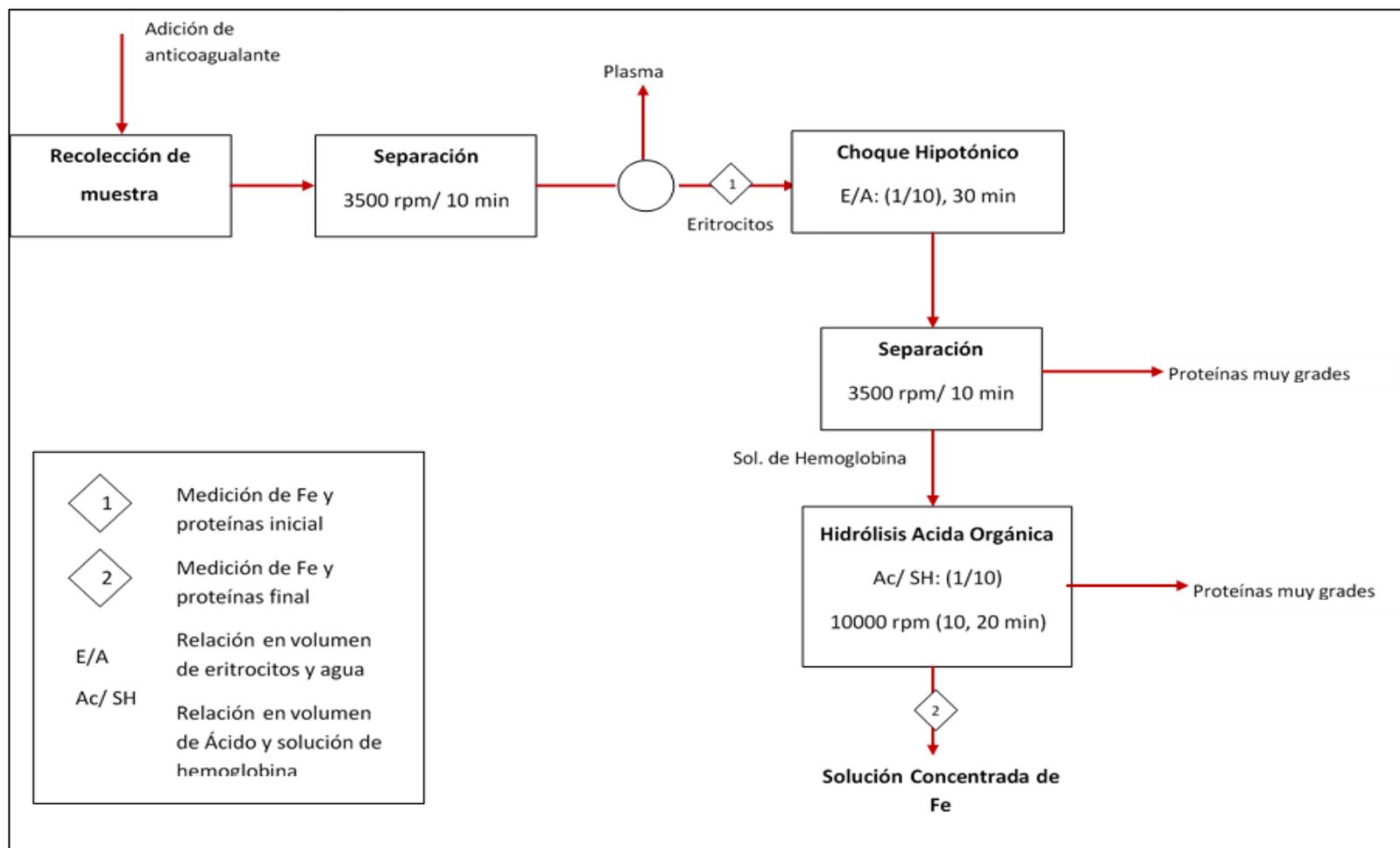


Figura 6, Método de Investigación, elaboración propia

a) Metodológico :

- 1) Recolección.-** Se recolectó 350 ml de sangre producto del beneficio de pollos en el mercado Virgen del Carmen, Callao, en un frasco de vidrio esterilizado de 500 ml, inmediatamente se añadió la solución de anticoagulante 0,10 g de anticoagulante/100 ml de sangre y se transportó en un cooler a 4°C
- 2) Separación.-** La sangre fue centrifugada a 3 500 rpm por 10 minutos para separar el plasma de los eritrocitos. Se reservó el precipitado (eritrocitos) obtenido.
- 3) Choque hipotónico.-** El precipitado fue diluido con agua pura en una relación de 1: 10 (ml/ml). Se homogenizó por 30 min a una temperatura de 4 °C. Luego se procedió a centrifugar a 3 500 rpm por 10 min. Obteniéndose un sobrenadante que es la base para la hidrólisis.
- 4) Hidrólisis :**
 - Se midió 10 mL de los eritrocitos de la sangre de pollo obtenida en la etapa anterior, por condiciones operativas del equipo (centrífuga) y se añadió 1 ml del agente hidrolizante (ácido acético/ ácido cítrico).
 - Se escogió tres niveles de concentración para cada ácido orgánico entre (5% – 10% – 15%), a 10 000 RPM y dos niveles de tiempo de 10 – 20 minutos para liberar el hierro y desnaturalizar las proteínas. Se midió el pH de la solución, así como la cantidad de hierro y proteínas, antes y después de la hidrólisis ácida orgánica.

b) Diseño experimental.- Se aplica la ecuación que está debajo para determinar el número de tratamiento para hallar las condiciones operativas adecuadas para la hidrólisis ácida orgánica de los eritrocitos de la sangre de pollo.

$$NT = 2 * qN!$$

Dónde :

2 : Tratamiento por duplicado

q : Rango de valores que toma cada variable

N : Número de variables

$$NT = 2 * 3^1 * 2^1 * 2^1$$

$$NT = 24$$

NT : Número de tratamientos a trabajar para determinar las condiciones operativas adecuadas para la hidrólisis ácida orgánica de los eritrocitos de la sangre de pollo tal como se muestran en las **Tabla 6 y 7 (Ver pag. N° 36)**

Tabla 6, *Diseño experimental de hidrolisis acida orgánica*

		Tipo de ácido			
		Ácido acético		Ácido cítrico	
		Tiempo		Tiempo	
Concentración de ácido		10 min	20 min	10 min	20 min
		5%	C1	C3	C13
10%		C2	C4	C14	C16
		C5	C7	C17	C19
15%		C6	C8	C18	C20
		C9	C11	C21	C23
		C10	C12	C22	C24

Elaboración Propia

Tabla 7, *Diseño experimental de hidrolisis acida orgánica considerando las variables de respuesta*

Nº	[Acido] %	Tipos de Ac. Orgánico	Tiempo (min)	[Hierro] (ppm)	Rendimiento de Hierro (%)	Rendimiento de Hidrolisis (%)
1	5	Ac. Acético	10			
2	5	Ac. Acético	10			
3	5	Ac. Acético	20			
4	5	Ac. Acético	20			
5	10	Ac. Acético	10			
6	10	Ac. Acético	10			
7	10	Ac. Acético	20			
8	10	Ac. Acético	20			
9	15	Ac. Acético	10			
10	15	Ac. Acético	10			
11	15	Ac. Acético	20			
12	15	Ac. Acético	20			
13	5	Ac. Cítrico	10			
14	5	Ac. Cítrico	10			
15	5	Ac. Cítrico	20			
16	5	Ac. Cítrico	20			
17	10	Ac. Cítrico	10			
18	10	Ac. Cítrico	10			
19	10	Ac. Cítrico	20			
20	10	Ac. Cítrico	20			
21	15	Ac. Cítrico	10			
22	15	Ac. Cítrico	10			
23	15	Ac. Cítrico	20			
24	15	Ac. Cítrico	20			

Elaboración Propia

4.3 Población y muestra

4.3.1 Población

La población para el tema de estudio son los centros de distribución de pollos de la región Callao donde se tomó la muestra de sangre de pollo.

Según SIEA – Minagri en Pollo: Comercialización en Lima Metropolitana y Callao, (febrero, 2018) La cantidad de pollos comercializados en el centro de distribución del Callao es de 37 490 toneladas. Por lo que nos muestra la disponibilidad de sangre de pollo que se genera en el Callao que es objeto de estudio en esta investigación.

4.3.2 Muestra

La muestra es una fracción de la población y se recolectó periódicamente para las pruebas de investigación, del mercado “Virgen del Carmen” - Av. Bocanegra Mza. R Lote. 19 Asoc. Sta Rosa, Callao.

4.3.3 Tamaño de Muestra

Se tomó de referencia la tesis “Separación Por Métodos Mecánicos de la Hemoglobina de la Sangre de Pollos de la Avícola San Agustín Mediante Centrifugación Y Secado para disminuir el volumen de desechos líquidos de la sangre en el faenamiento de Pollos de la Avícola San Agustín”. Publicada por (Muñoz, 2014) Para seleccionar el tamaño de muestra (Volumen de sangre de pollo – 90 ml) Debido a características mecánicas de la centrífuga y diseño experimental propuesto.

4.4 Lugar de estudio y periodo de desarrollo

En cuanto al lugar de estudio de las etapas presentes de la investigación se desarrolló en las instalaciones del laboratorio de análisis química cuantitativa de la facultad de ingeniería química de la Universidad Nacional del Callao.

En cuanto a periodo de etapas de la presente investigación se desarrolló de enero a Julio del año 2019

4.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

4.5.1 Métodos o técnicas de recolección de datos

a) Medición de la temperatura de la muestra de sangre de pollo.- Se midió introduciendo el termómetro en la muestra de sangre para controlar que se encuentre en un rango cercano a 4°C y mantener la cadena de frío mediante el uso de un gel pack.

b) Medición de pH en la hidrolisis de eritrocitos de pollo.- Se introduce el pH metro en la muestra a hidrolizar, antes y después de esta. Dejando estabilizar el equipo para luego tomar nota del valor obtenido.

Se lava con agua ultra pura y secamos con papel tissue después de cada medición.

c) Determinación de la concentración de hierro por Método de la Fenantrolina.- Este método utiliza la adaptación del método de fenantrolina 315 B recomendado por EPA (Environmental Protection Agency) Usando el equipo medidor de Hierro “rango alto” HI 721

Se hizo diluciones (1:50 mL:mL) de las muestras obtenidas de la hidrolisis por acido orgánico. Luego, se tomaron dos alícuotas de 10 mL, la primera

para realizar el CERO del equipo y la segunda, se añade el reactivo de fenantrolina, se agita suavemente y se procede a medir en el equipo.

La lectura en el equipo se realiza a 525 nm, debido a la coloración naranja obtenida de la reacción entre la muestra y el reactivo. El resultado está en ppm (mg/L) de Fe

d) Método para determinación de proteínas totales Biuret.- Para este análisis se siguió el procedimiento de Métodos de cuantificación de proteínas totales de QCA (Química Clínica Aplicada SA) Para lo cual se utilizó el reactivo de Biuret, un estándar de proteínas y un espectrofotómetro UV

En este método las proteínas forman con los iones cobre II (del reactivo de Biuret) un complejo coloreado, cuantificable a 540 nm en espectrofotómetro.

1) Medición del blanco.- Se prepara con 3 mL del reactivo de biuret y se procede a su lectura en el espectrofotómetro.

2) Medición del Estándar.- Se toma 3 mL de reactivo y se añade 0,06 mL de estándar, se agita y se deja reaccionar durante 10 min y se procede a su lectura en el espectrofotómetro.

3) Medición de Muestras.- Se toma una alícuota de 0,06 mL de muestra en tubo de ensayo y se diluye con 3 mL de reactivo de Biuret, se agita y se deja reaccionar por 10 min. Luego se mide en el espectrofotómetro. Los resultados obtenidos se encuentran en ppm (mg/ L) Esto se aplica para cada muestra obtenida.

4.5.2 Instrumentos de Recolección de Datos

- a) Termómetro (4°C)
- b) PHmetro HANA
- c) Equipo medidor de hierro
- d) Espectrofotómetro
- e) Cubeta de cuarzo
- f) Balanza analítica
- g) Pipeta de 1 mL
- h) Fiolas de 50 mL
- i) Tubos de ensayo
- j) Cooler, gel pack (cadena de frío)

4.5.3 Plan de análisis estadístico

La recolección de datos de la investigación: Obtención de hierro en solución mediante la hidrolisis ácida orgánica de los eritrocitos de la sangre de pollo se obtuvo a partir del diseño factorial de los 3 factores operativos de la hidrolisis ácida orgánica que se mencionan a continuación. Concentración de ácido orgánico (X2.1) Tipo de ácido orgánico (X2.2) y tiempo de centrifugación de la hidrolisis ácida orgánica (X2,3)

4.5.4 Recolección de datos

Según (González, Gómez, Otero, & Revilla, 2016) en la hidrolisis ácida orgánica de los eritrocitos de la sangre de pollo. Se midió 10 mL de disolución de hemoglobina obtenidas a partir del choque hipotónico de la sangre de pollo. Luego por condiciones operativas del equipo (centrífuga) y se añadió 1ml. del agente hidrolizante (ácido acético/ ácido cítrico)

Se escogió tres niveles de concentración para cada ácido orgánico entre (5% – 10% – 15 %), a 10 000 RPM y dos niveles de tiempo de 10 – 20 minutos para liberar el hierro y desnaturalizar las proteínas. Se midió el pH de la solución después de la hidrólisis.

El análisis de datos se dará mediante el diseño factorial tal como se muestra en la **Tabla 7 (Ver pag. N° 36)**

Los datos fueron obtenidos a partir de los estudios de las variaciones de concentración de ácido orgánico, tipo de ácido orgánico y tiempo de centrifugación de la hidrólisis ácida orgánica.

- a) La concentración del ácido orgánico en valores de 5%, 10% y 15 %
- b) Tipo de ácido orgánico son: ácido acético y ácido cítrico.
- c) Tiempo de centrifugación de hidrólisis ácida orgánica : 10 y 20 minutos.

4.6 Análisis y procesamiento de Datos

Para realizar el procesamiento estadístico y análisis de datos se calculó la concentración de hierro en solución obtenido por la hidrólisis ácida orgánica y el valor de rendimiento de hierro. De esta manera se hizo el estudio de los 3 factores operativos de la hidrólisis ácida orgánica que se mencionan a continuación: concentración de ácido acético y cítrico (X2.1), Tipo de ácido orgánico (X2.2) y tiempo de centrifugación (X2.3)

Para evaluar la significancia de los efectos (principal y de interacción) de cada variable, análisis de residuales y análisis de hipótesis. Se utilizará el tratamiento estadístico de Análisis de Varianza (ANOVA)

Los análisis estadísticos correspondientes al método de Análisis de Varianza (ANOVA) se realizarán utilizando el programa estadística Minitab 18

V. RESULTADOS

5.1. Resultados descriptivos

a) Cuantificación de Hierro en sangre de pollo :

Tabla 8 , *Cuantificación de hierro en la sangre de pollo (volumen de 350 mL)*

Muestra	[Hierro], ppm
Sangre de Pollo	210

Elaboración Propia

A la muestra representativa de 90 mL se le realizó a una centrifugación a 3 500 rpm por 10 minutos para separar los eritrocitos de la fracción plasmática.

b) Cuantificación de Hierro en los eritrocitos de pollo :

Tabla 9 , *Cuantificación de hierro en los eritrocitos de sangre de pollo*

Muestra	Volumen (mL)	Plasma (mL)	Eritrocitos (mL)	Fe (ppm)	Fe (mg)
Eritrocitos	90	70,00	20,00	946	18,91

Elaboración Propia

c) Cuantificación de Proteínas en los eritrocitos de pollo :

Tabla 10 , *Cuantificación de proteínas en los eritrocitos de pollo (20 mL)*

Muestra	[Proteínas] ppm	Masa, mg
Sangre de Pollo	66 0402,35	13 280,047

Elaboración Propia

d) Cuantificación de Hierro en la hemoglobina.- Los eritrocitos son sometidos a un choque hipotónico con agua destilada en una relación de 1 : 10 (mL/mL) con el objetivo de liberar la hemoglobina contenida en los

eritrocitos. Después se homogenizó por 30 min a una temperatura de 4°C y se procedió a centrifugar a 3 500 rpm por 10 min. El sobrenadante obtenido resulta ser la hemoglobina.

Tabla 11, Cuantificación de hierro en la hemoglobina

Muestra	Volumen T (mL)	Hemoglobina (mL)	Precipitado (mL)	Fe (ppm)	Fe (mg)
Eritrocitos en choque hipotónico	219,78	136,22	83,56	138,47	18,90

Elaboración Propia

e) Cuantificación de hierro en el hidrolizado de los eritrocitos de la sangre de pollo.- La solución de hemoglobina 136,33 mL (Valor Promedio) obtenida en la etapa anterior se le realizó una hidrolisis ácida orgánica en una proporción de 1 mL de ácido orgánico/ 10 mL de hemoglobina. Por ello se obtuvo un volumen final de 149,84 mL aprox. Esta solución fue hidrolizada en tres niveles de concentración para cada ácido orgánico (ácido y Cítrico) entre (5% – 10% – 15 %), a 10 000 RPM y dos niveles de tiempo de 10 – 20 minutos para obtener el hierro hidrolizado.

Después de la centrifugación de la hidrolisis ácida orgánica se obtuvo un volumen promedio de hierro hidrolizado de 134,85 mL y un precipitado de proteínas desnaturalizados de 14,98 mL

Para cuantificar el hierro se diluyó la muestra en fioles de 50 mL.

Tabla 12. *Cuantificación de hierro en el hidrolizado de los eritrocitos de la sangre de pollo con ácido acético*

[Acido Acético] %	Tiempo (min)	Fe1 en Vol. 50 mL ppm	Fe (Fe1 x 50) ppm	Fe mg
5	10	1,23	61,5	8,29
5	20	1,31	65,5	8,83
10	10	1,56	78,0	10,52
10	20	1,36	68,0	9,17
15	10	2,70	135,0	18,20
15	20	2,38	119,0	16,05
5	10	1,30	65,0	8,76
5	20	1,42	71,0	9,57
10	10	1,43	71,5	9,64
10	20	1,41	70,5	9,51
15	10	2,71	135,5	18,27
15	20	2,55	127,5	17,19

Elaboración Propia

Tabla 13. *Cuantificación de hierro en el hidrolizado de los eritrocitos de la sangre de pollo con ácido cítrico*

[Ácido Cítrico] %	Tiempo (min)	Fe1 en Vol. 50 mL ppm	Fe (Fe1 x 50) ppm	Fe mg
5	10	1,25	62,5	8,43
5	20	1,24	62,0	8,36
10	10	1,72	86,0	11,6
10	20	2,20	110,0	14,83
15	10	2,63	131,5	17,73
15	20	2,40	120,0	16,18
5	10	1,32	66,0	8,9
5	20	1,19	59,5	8,02
10	10	1,83	91,5	12,34
10	20	2,61	115,0	15,51
15	10	2,83	141,5	19,08
15	20	2,48	124,0	16,72

Elaboración Propia

f) Cuantificación de proteínas en la solución de hierro concentrado.-

Luego de la centrifugación de la hidrolisis ácida orgánica de los eritrocitos de la sangre de pollo se obtuvo un volumen promedio de hierro concentrado de

134,85 mL y un precipitado de proteínas desnaturizados de 14,98 mL. Las proteínas fueron cuantificadas en la solución de hierro concentrado (sobrenadante)

Tabla 14, *Cuantificación del pH en la hidrólisis de eritrocitos de pollo, ácido acético y ácido cítrico*

[Acido] %	Ácido Acético (pH)	Ácido Cítrico (pH)
5	4,0	3,8
10	3,8	3,3
15	3,6	3,1

Elaboración Propia

Tabla 15, *Cuantificación de proteínas en la solución de hierro concentrado con ácido acético*

[Acido Acético] %	Tiempo (min)	Proteínas, ppm	Proteínas (mg)
5	10	37709	5053
5	20	38385	5144
10	10	33877	4539
10	20	34611	4638
15	10	38722	5189
15	20	42452	5689
5	10	37680	5049
5	20	38399	5146
10	10	33847	4536
10	20	34655	4644
15	10	38752	5193
15	20	42423	5685

Elaboración Propia

Tabla 16, Cuantificación de proteínas en la solución de hierro concentrado con ácido cítrico

N°	[Acido Cítrico] %	Tiempo (min)	Proteínas, ppm	Proteínas (mg)
1	5	10	37651	5045
2	5	20	41219	5523
3	10	10	42511	5696
4	10	20	40514	5429
5	15	10	48223	6462
6	15	20	40631	5445
7	5	10	37636	5043
8	5	20	41219	5523
9	10	10	42496	5695
10	10	20	40485	5425
11	15	10	48194	6458
12	15	20	40617	5443

Elaboración Propia

g) Cálculo de cuadro resumen de datos experimentales.- Para el cálculo del porcentaje de Hidrólisis se utilizará la siguiente formula presentada a continuación.

PSS : Proteínas presentes en la solución concentrada de hierro (mg)

PR : Proteínas iniciales en los eritrocitos sangre de pollo (mg)

$$\text{Rendimiento} = \frac{PR - PSS}{PR} \times 100$$

A continuación, se precedió a utilizar los datos de las **Tablas 10, 15 y Tabla 16 (Ver pag. N° 42, 45 y 46)** para el cálculo de la hidrólisis ácida orgánica que se resumen en la **Tabla 17 (Ver pag. N° 47)**

Para el cálculo del % rendimiento de Hierro se utilizará la siguiente formula presentada a continuación.

Masa de hierro inicial en los eritrocitos = 18,91 mg

Fe (mg) : Fe (ppm) x volumen de hierro hidrolizado promedio de 134,85 ml

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{Fe (mg)}}{18,91} \times 100$$

A continuación, se precedió a utilizar los datos de las **Tablas 9, 12 y 13** (Ver pag. N° 42 y 44) para el cálculo de la hidrólisis ácida orgánica que se resumen en la **Tabla 17**

Tabla 17, Cuadro resumen de recolección de datos

N°	Orden aleatorio de corridas	Acido (%)	Tipo de acido	Tiempo (min)	Hierro (ppm)	Hierro (mg)	Rendimiento Hierro	% De Hidrolisis
1	8	10	Cítrico	20	115,0	15,51	82,00	59,12
2	11	15	Cítrico	10	141,5	18,72	99,00	51,34
3	5	10	Acético	10	78,0	10,52	55,62	65,82
4	13	5	Acético	10	61,5	8,29	43,85	61,95
5	12	15	Cítrico	20	120,0	16,18	85,57	59,02
6	23	15	Cítrico	10	131,5	17,73	93,77	51,37
7	15	5	Cítrico	10	66,0	8,90	47,06	62,01
8	9	15	Acético	10	135,5	18,27	96,62	60,93
9	2	5	Acético	20	71,0	9,57	50,63	61,25
10	1	5	Acético	10	65,0	08,76	46,35	61,98
11	16	5	Cítrico	20	62,0	8,36	44,21	58,41
12	21	15	Acético	10	135,0	18,21	96,27	60,90
13	6	10	Acético	20	68,0	9,17	48,49	65,03
14	14	5	Acético	20	65,5	8,83	46,70	61,27
15	19	10	Cítrico	10	91,5	12,38	65,25	57,12
16	22	15	Acético	20	119,0	16,04	84,86	57,19
17	7	10	Cítrico	10	86,0	11,59	61,33	57,11
18	10	15	Acético	20	127,5	17,19	90,92	57,16
19	24	15	Cítrico	20	124,0	16,72	88,42	59,00
20	3	5	Cítrico	10	62,5	8,42	44,57	62,02
21	4	5	Cítrico	20	59,5	8,02	42,43	58,41
22	18	10	Acético	20	70,5	9,51	50,27	65,08
23	20	10	Cítrico	20	110,0	14,83	78,44	59,15
24	17	10	Acético	10	71,5	9,64	50,98	65,85

Elaboración Propia

5.2. Resultados Inferenciales

Análisis de varianza de resultados con Minitab 18,0

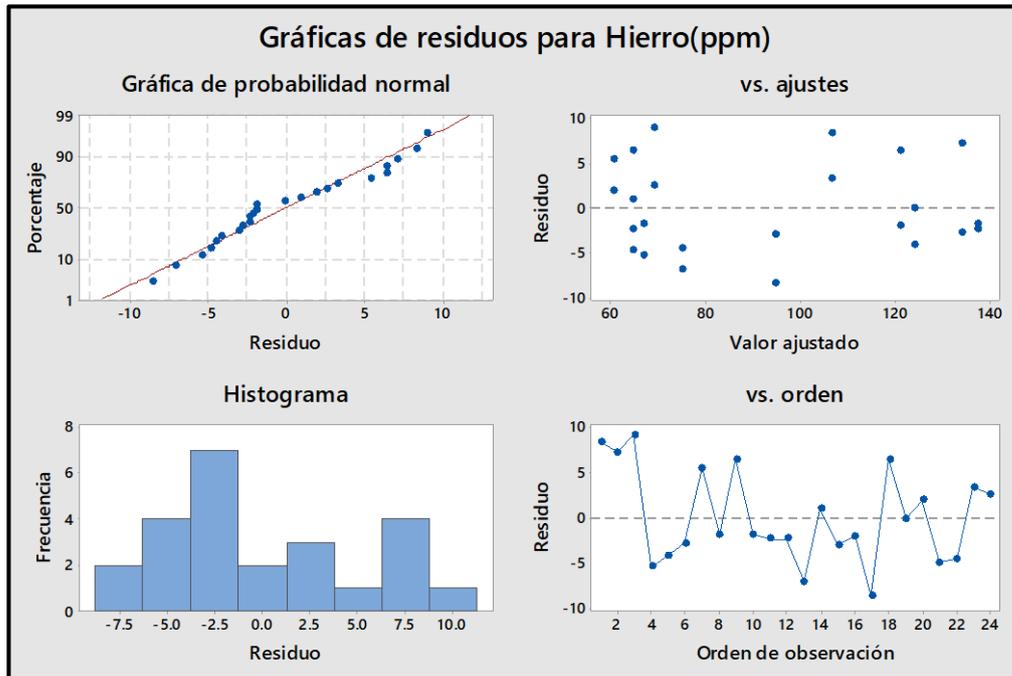


Figura 7, Gráfico de Residuales para Hierro (ppm), elaboración Propia

- a) Con la gráfica de probabilidad normal de los residuos se verificó que estos están distribuidos normalmente, porque estos tienen una tendencia lineal. Demostrándose que los intervalos de confianza y los valores p resultaron exactos.
- b) Con la gráfica de residuos vs. Ajustes se verificó que los residuos están distribuidos aleatoriamente y tienen una varianza constante. Lo ideal es que los puntos se ubiquen aleatoriamente a ambos lados del 0, con patrones no detectables en puntos.

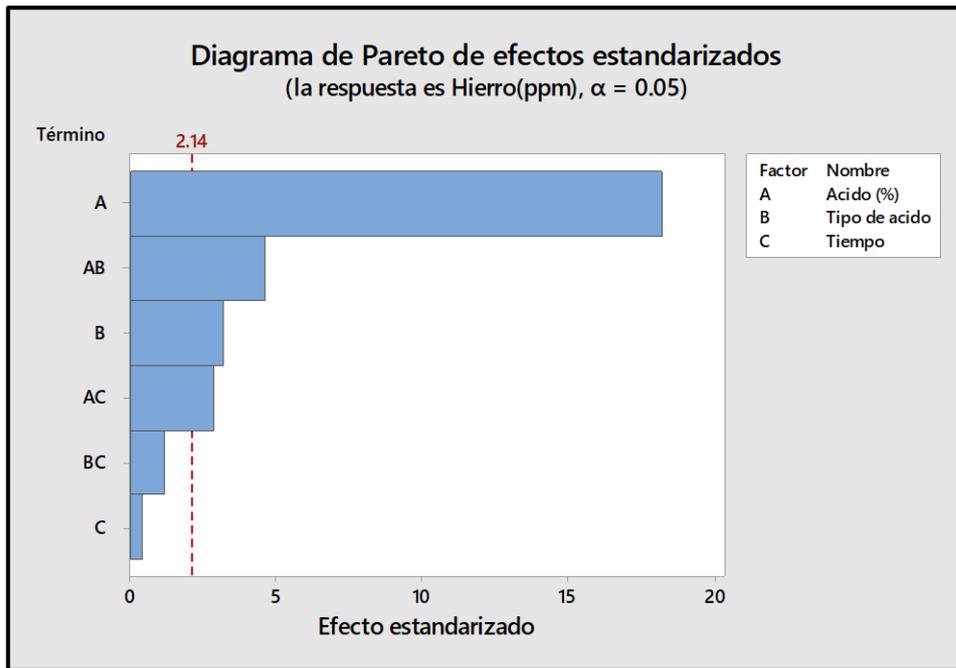


Figura 8, Diagrama de Pareto de Efectos Estandarizados, elaboración Propia

Con la **Figura 7 (Ver pag. Nº 48)**, se concluye la significancia de los factores independientes (% acido, tipo de ácido y tiempo) en función a la variable dependiente (Hierro en ppm)

Se determinó que los factores significativos para la obtención de hierro hidrolizado fueron porcentajes ácidos (A), tipo de ácido (B) y la interacción de estos dos factores (AB). Además, se interpreta que el factor tiempo del proceso de la hidrolisis no presenta ningún efecto de significancia en el resultado.

Con la gráfica de la **Figura 9 (Ver pag. Nº 50)** de efectos principales se concluye que se obtuvo un porcentaje de rendimiento de 99 y una mayor concentración de hierro (141,5 ppm equivalente a 18,75 mg) con las siguientes condiciones operativas de la hidrolisis acida orgánica que fueron

una concentración de 15 % de ácido cítrico con un tiempo de 10 o 20 minutos de hidrólisis ácida orgánica.

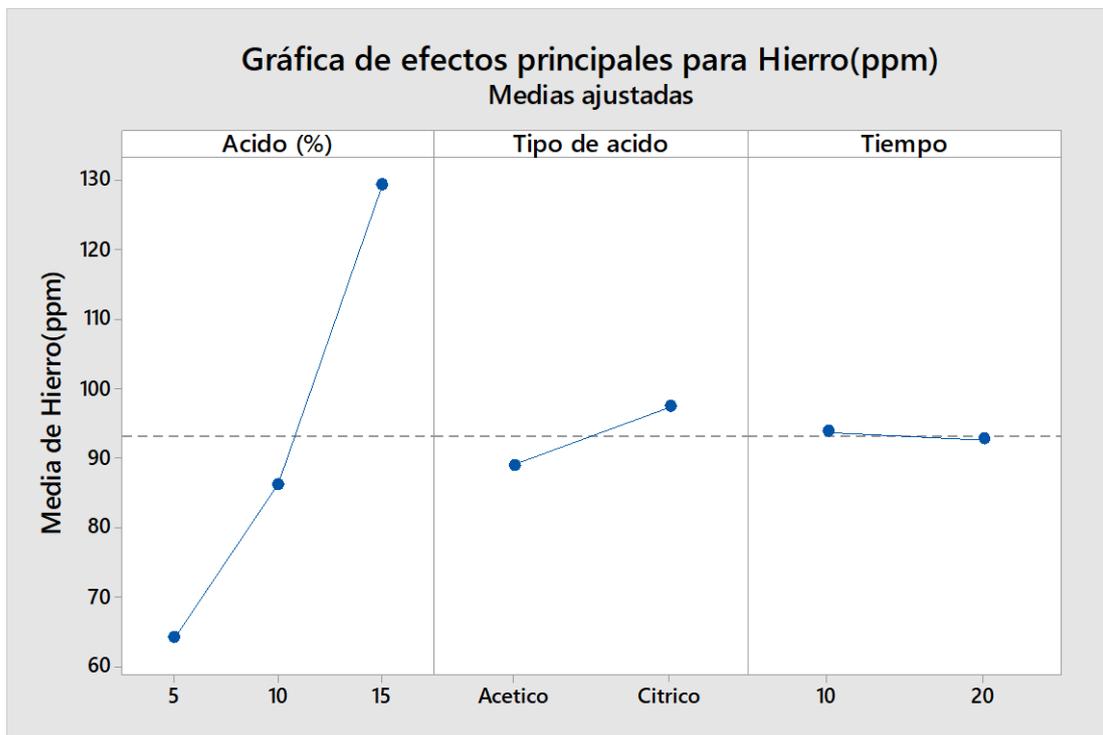


Figura 9, Grafica de efectos principales para Hierro (ppm), Elaboración Propia

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 Contrastación de la hipótesis con los resultados

- a)** De acuerdo con la hipótesis general fue variando los parámetros de la hidrólisis ácida orgánica como porcentaje (V/v) 5%, 10% y 15%, tipo de ácido orgánico (Acético y Cítrico) y tiempo (10 y 20 min) hasta alcanzar la mayor concentración de hierro en ppm. En corrida experimental N°2 se obtuvo la mayor concentración de hierro 141,5 ppm con un rendimiento de hierro de 99%, esto fue obtenido con las siguientes condiciones operativas: Ácido cítrico a una concentración de 15% y tiempo de centrifugación de 10 minutos. El agente hidrolizante (ácido cítrico) ha reaccionado con la hemoglobina presente en los eritrocitos de la sangre de pollo para desnaturalizar las proteínas y liberar el hierro presente como resultado se obtuvo un porcentaje de hidrólisis de 51,34 El porcentaje de hidrólisis de la corrida N° 2 resulta menor en comparación con la corrida N° 24 donde se obtuvo el mayor porcentaje de hidrólisis de 65,82 Esto se debe porque la concentración y tipo de ácido para la corrida N° 24 no fue la suficiente para desnaturalizar toda la proteína y por ende, al centrifugar una parte de la hemoglobina precipitó junto con el hierro presente en su composición, por ello se obtuvo una menor concentración de hierro al 50,98%
- b)** Los eritrocitos de sangre de pollo usado para la investigación fueron obtenidos después de la centrifugación de la sangre recolectada del beneficio de pollos en el mercado Virgen del Carmen, Callao. Los eritrocitos antes de usarlo en el desarrollo experimental se le hizo un análisis químico cuantitativo de hierro y proteínas obteniendo los siguientes resultados :

660 402,35 ppm de proteínas y 946 ppm de hierro como se muestra en las tablas 8 y 10 respectivamente. Lo cual favoreció la hidrólisis ácida orgánica de los eritrocitos de la sangre de pollo.

- c) De los datos recogidos experimentalmente se realizó la gráfica de los residuales, diagrama de Pareto de efectos estandarizados, y figura de efectos principales de hierro. Se determinó que los factores significativos para la obtención de hierro hidrolizado fueron porcentaje ácido (A), tipo de ácido (B) y la interacción de estos 2 factores (AB). Además, se interpretó que el factor tiempo del proceso de la hidrólisis no presenta ningún efecto de significancia en el resultado tal como se muestra en las **Figuras 7 y 8 (Ver Pag. Nº 48 y 49)**

6.2 Contrastación de resultados con otros estudios similares

De acuerdo con las investigaciones realizadas por Alexander Viktorovich y otros (2016), sobre la hidrólisis ácida orgánica de la sangre de ganado vacuno y porcino para la obtención de los parámetros óptimos para la fabricación de productos que contienen hierro, obtuvieron como uno de los parámetros óptimos la hidrólisis con ácido cítrico al 10% (V/v) en una relación de 1:10 con el volumen de los eritrocitos de la sangre. Mientras en esta investigación el agente hidrolizante adecuado es también el ácido cítrico pero a una concentración del 15%, resultando un % de hidrólisis al nivel de 51,34%

Mientras que en la investigación realizada por González y otros (2016), sobre el diseño de un procedimiento para la obtención de disoluciones hierro hemo purificadas, se observó que se obtienen altos porcentajes de hierro (82%) cuando el pH se encuentra alrededor de 4,4 Lo cual también se aprecia en los

resultados obtenidos en esta investigación, donde se obtiene una buena hidrólisis a un pH de 3,1.

VII. CONCLUSIONES

- 1)** Las condiciones operativas adecuadas de la hidrolisis acida orgánica de los eritrocitos de sangre de pollo, que permitieron obtener un mayor rendimiento en la obtención de hierro en solución fueron 15% de Ácido Cítrico a 10 o 20 minutos de operación.
- 2)** El análisis químico de los eritrocitos de la sangre de pollo, que garantizaron una adecuada hidrolisis ácida orgánica para la obtención de hierro en solución fueron 946 ppm de Hierro y 660 402,35 ppm de proteínas.
- 3)** Los factores operativos adecuados para la hidrolisis acida orgánica de los eritrocitos de la sangre de pollo fueron la concentración de ácido, el tipo de ácido orgánico y tiempo de centrifugación.
- 4)** Los factores significativos para la hidrólisis ácida orgánica de la sangre de pollo, según el análisis estadístico fueron la concentración de ácido y el tipo de ácido.

VIII. RECOMENDACIONES

- 1) Seguir incentivando la investigación de la obtención de un concentrado de Hierro a partir de la hidrólisis de la sangre de pollo, dado que el producto es muy útil como suplemento alimenticio admisible.
- 2) Implementar un equipo frigorífico que ayude a mantener la cadena de frío de las muestras, durante el choque hipotónico y la hidrólisis.
- 3) Adaptar un mecanismo de agitación durante el choque hipotónico y la hidrólisis.
- 4) Para una mejor lectura de la concentración de Hierro, se recomienda diluir hasta que la solución esté casi incolora.
- 5) Se recomienda preparar las muestras con el reactivo de Biuret con una anticipación no mayor a 1 hora, para evitar la degradación y posterior afectación en el resultado.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abu Sabbah, S. (20 de Septiembre de 2013) Sangrecita de pollo: rica en hierro y combate la anemia. *RPP noticias*. Obtenido de <http://rpp.pe/lima/actualidad/sangrecita-de-pollo-rica-en-hierro-y-combate-la-anemia-noticia-632944>
- Agbogbo, Coward, K., & Hotzapple, M. (2006) Lime treatment of keratinous materials for the generation of highly digestible animal feed. *Bioresource Technology* 97, 1337 - 1343
- Agencia Peruana de Noticias. (22 de Junio de 2014) *Sangre de pollo es el alimento con más hierro para combatir la anemia*. (E. Perú, Ed.) Obtenido de Andina: <http://andina.pe/agencia/noticia.aspx?id=511310>
- Álvarez, C., Rendueles, M., & Díaz, M. (2014) *España Patente nº 2414279*. Obtenido de <https://patentados.com/2013/la-produccion-de-peptidos-y-aminoacidos>
- Arenas, S., & Nuncira, A. (2010) *Evaluación de humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales del sector industrial avícola*. Universidad Industrial Santander, Colombia
- Benítez, B., Barboza, Y., Bracho, M., Izquierdo, P., Archile, A., Rangel, L., & Marquéz, E. (1999) Efecto del pH y concentración de las proteínas sobre la propiedad de gelación de la sangre animal. *Revista Científica Facultad de Ciencias Veterinarias*, IX(3), 190 - 195
- Berg, J., Tymoczko, J., & Stryer, L. (2008) *Bioquímica* (Sexta ed.). Barcelona, España: Reverté S. A.
- Bowman, R. (2003) Conocimientos actuales sobre nutrición. *Publicación Científica* 592, 8. EEUU: OPS/ OMS.
- Brandan, Aguirre & Giménez. (2008) *HEMOGLOBINA*. Argentina: Cátedra de Bioquímica – Facultad de Medicina
- Castaños. (2015) LAS PROTEÍNAS GLOBULARES. *LIDIA CON LA QUÍMICA*, 1.
- Contreras, S., Gutierrez, N., & Osorio, L. (Diciembre de 2017) Boletín estadístico mensual de la producción y comercialización avícola. *Ministerio de Agricultura y Riego*. Lima, Perú: Sistema Integrado de Estadísticas Agrarias
- Coronel, H., & Vanegas, M. (1982) Hidrolizado de plumas y material córneo- Investigación experimental. *Tesis de pregrado*. Loja, Ecuador: Universidad Técnica Particular de Loja. Obtenido de <http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/18244/1/1036465.pdf>
- Del Hoyo Gonzalez, P. (2012) Valorización de sangre de mataderos mediante el desarrollo de nuevos materiales y productos.
- Farreas, P. (1992) Medicina interna. *Ed. Doyma S.A.*, 1571 - 1581
- Fieser, L., & Fieser, M. (1985) *Química orgánica fundamental*. Barcelona, España: Reverté S.A.
- Forrellat, Gautier & Fernández. (2000) Metabolismo del hierro. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* , 6
- Forrellat, M., & Fernandez, N. (Septiembre de 2002) Anemia de los procesos crónicos. Aspectos clínicos y de laboratorio. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*

- Fundamentos de bioquímica y biología molecular. (2012) *Centrifugación*. Madrid: Licenciatura en biología.
- Gloria, Acevedo & Arredondo. (2017) Biomarcadores del metabolismo y nutrición de hierro. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 5.
- González, M., Gómez, J., Otero, Y., & Revilla, Y. (2016) Diseño de un procedimiento para la obtención y caracterización de disoluciones de Hemo puricadas. *Revista CENIC*, 47(3), 129 - 137
- HANNA Instruments. (s.f.) HI 721 Hierro rango alto. Recuperado el 25 de noviembre de 2018, de <https://www.pce-iberica.es/manuales/manual-hi-721.pdf>
- Hematíes. (2018) *Hematíes - Eritrocitos - Glóbulos rojos. Función y valores*. Obtenido de Hematies: <https://www.hematies.net/>
- Huerta . (2010) *Planta Piloto de Fermentaciones Departamento de Biotecnología*. Madrid: UAM-Iztapalapa.
- Izgaryshev, A., Babich, O., Karchin, K., & Bezyukov, J. (2016) Hydrolysis of the Red Blood Cells of Pig and Cattle to Ensure Optimum Conditions for the Manufacturing of Iron-Containing Products Having Maximum Heme Iron. *Biol Med (Aligarh)*, 8(330). doi:10.4172/0974-8369.1000330
- López, R., & Casp, A. (2004) *Tecnología de mataderos*. Madrid: MundiPrensa.
- Madrid, A. (1999). *Aprovechamiento de subproductos cárnicos* (Primera ed.). Madrid, España: Mundi Prensa.
- Ministerio de Salud; Instituto Nacional de Salud; Centro Nacional de Alimentación y Nutrición. (1996) Tablas peruanas de composición de alimentos. En *Tablas peruanas de composición de alimentos* (pág. 25). Lima: Ministerio de Salud. Obtenido de <http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/1652.pdf>
- Morales, E., Figueroa, J. M., Montaña, S., Pérez, A., Pablo, E., & Prado, O. (2010) Densidad de la sangre en pollos de engorda con y sin síndrome ascítico. *Sociedades rurales, producción y medio ambiente*, 10(20), 70. Obtenido de <http://132.248.9.34/hevila/Sociedadesruralesproduccionymedioambiente/2010/vol10/no20/3.pdf>
- Muñoz, Á. (2014) Separación por métodos mecánicos de la hemoglobina de sangre de pollos de la Avícola San Agustín mediante centrifugación y secado para disminuir el volumen de desechos líquidos en el faenamiento. *Tesis de pregrado*. Ambato, Ecuador: Universida Técnica de Ambato.
- Nates, S., Suresh, V., & Swisher, K. (27 de Noviembre de 2013) *Hidrolizados de coproductos de origen animal*. Recuperado el 5 de Abril de 2018, de International Aquafeed: <http://www.aquafeed.co/hidrolizados-de-coproductos-de-origen-animal/>
- Nollas. (2006) Metahemoglobinemias adquiridas. *Servicio de Medicina Intensiva. Hospital del Mar.*, 4
- Noriega, J. (12 de Junio de 2017) *Tema 2 Glóbulos rojos, eritrocitos o hematíes*. Obtenido de OCW Universidad de Cantabria web site: <https://ocw.unican.es/mod/page/view.php?id=545>
- Paranco, C. (2015) Efecto de las prácticas de la suplementación del sulfato ferroso y consumo de hierro detético en los niveles de hemoglobina en niños con anemia de 6 a 36 meses del puesto de salud Villa Socca - Acora, Dic. 2014 - May. 2015 *Tesis de pregrado*. Puno, Perú: Universidad

- Nacional del Altiplano. Recuperado el 10 de Abril de 2018, de http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/2457/Paranco_Rodriguez_Cyntia.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Peñuela. (2005) *Hemoglobina: una molécula modelo para el investigador*. Colombia: Colombia Médica.
- Pérez Porto , J., & Gardey, A. (2011) *Definicion de Hemoglobina*. Obtenido de <https://definicion.de/hemoglobina/>
- Química Clínica Aplicada SA. (noviembre de 2017) Proteínas totales. Amposta, España.
- Rodríguez, V., & Simón, E. (2008) *Bases de la alimentación humana*. La Coruña, España: Netbiblo. Obtenido de https://books.google.com.pe/books?id=c_f5eJ77PnwC&pg=PR15&dq=hierro+grado+alimenticio+definici%C3%B3n&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjz4KS2h7XaAhXHtVMKHycDD6YQ6AEIJzAA#v=onepage&q=hierro%20grado%20alimenticio%20definici%C3%B3n&f=false
- Soliz, F. (2014) Elaboración y Evaluación de un Producto Alimenticio Fortificado con Hierro a Base de Sangre de origen bovino deshidratada por el Método de Liofilización y Secador de Bandejas. Chimborazo, Ecuador. Obtenido de http://www.agroalimentando.com/nota.php?id_nota=1526
- Soto, A., & Caballero, L. (2011) Adición de hierro hemo, proveniente de hemoglobina bovina a un chocolate de consumo directo. *Revista de la Facultad de Ciencias Básica*, 9 (1), 21 - 31 Obtenido de <http://www.redalyc.org/pdf/903/90322640004.pdf>
- Tango. (2 de Enero de 2016) *Medline Plus*. Obtenido de Metahemoglobina adquirida: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000561.htm>
- Vaca Adam, L. (2010) Producción avícola. San José, Costa Rica: EUNED. Obtenido de https://books.google.com.pe/books?id=Jqz772zO6uwC&pg=PA58&lpg=PA58&dq=sangre+av%C3%ADcola&source=bl&ots=xZgWjrwYlt&sig=j6mfpWk1F4oE5Wuna2HZU0F_tl8&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwi33JPrp-TZAhUG2FMKHS9LAKkQ6AEIggEwCQ#v=onepage&q=sangre%20av%C3%ADcola&f=false

ANEXOS

ANEXO N° 1

MATRIZ DE CONSISTENCIA

“OBTENCION DE HIERRO EN SOLUCION MEDIANTE LA HIDROLISIS ACIDA ORGANICA DE LOS ERITROCITOS DE LA SANGRE DE POLLO”

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES DEPENDIENTES	DIMENSIONES	UNIDADES
¿Cuáles son las condiciones operativas adecuadas para la obtención de Hierro en solución mediante la hidrólisis acida orgánica de los eritrocitos de la sangre de pollo?	Establecer las condiciones operativas adecuadas para la obtención de Hierro en solución mediante la hidrólisis ácida orgánica de los eritrocitos de la sangre de pollo.	Las condiciones operativas adecuadas para la obtención de hierro en solución a partir de los eritrocitos de la sangre de pollo se obtienen mediante la hidrólisis acida orgánica con ácido acético (5, 10, 15 %) y con ácido cítrico (5, 10, 15 %) a un tiempo determinado (10 y 20 minutos).	(Y) = Obtención del Hierro en solución.	Y1.1 = concentración de hierro Y1.2 = Rendimiento de Hierro Y1.3 = Rendimiento de Hidrólisis ácida orgánica.	– Hierro (ppm) – (m/m) % Rendimiento de Hierro – (m/m) % Rendimiento de Hidrólisis ácida orgánica.
PROBLEMA ESPECÍFICOS	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES INDEPENDIENTES	DIMENSIONES	UNIDADES
¿Cuáles son las características de los eritrocitos de la sangre de pollo que permitan una adecuada hidrólisis ácida orgánica?	Describir las características de los eritrocitos de la sangre de pollo que permitan una adecuada hidrólisis ácida orgánica.	Las características de los eritrocitos de la sangre de pollo como hierro y proteínas favorecen una adecuada hidrólisis ácida orgánica para la obtención de hierro.	F (X1) = Características de los eritrocitos de la sangre de pollo.	X1.1 = volumen de los eritrocitos X1.2 = Proteínas X1.3 = Concentración de Hierro	– MI – G – Hierro (ppm).
¿Cuáles son los factores operativos adecuados de la hidrólisis ácida orgánica de los eritrocitos de la sangre de pollo?	Determinar los factores operativos adecuados para la hidrólisis ácida orgánica de los eritrocitos de la sangre de pollo	Los factores operativos adecuados de la hidrólisis ácida orgánica son la concentración de ácido acético, el tipo de ácido orgánico y el tiempo de centrifugación.	G (X2) = Factores de la hidrólisis acida orgánica de los eritrocitos del pollo.	X2.1 = concentración de ácido orgánico X2.2 = Tipo de ácido orgánico X2.3 = tiempo	– % – Ácido acético, ácido cítrico – minutos.

Elaboración propia

ANEXO N° 2

INFORME ANÁLISIS CONCENTRACIÓN

Hora Informe 21/05/2019 12:58:31
Método
Nombre de Lote C:\Documents and Settings\Administrador\Escritorio\PERCY\PROTEINAS_

HIERRO.BCN

Aplicación Concentración 3,00 (339)
Operador PROTEÍNAS

Condiciones del Instrumento :

Instrumento Cary 50
Nº Versión Instrumento 3,00
Long. Onda (nm) 540,0
Modo Ordenadas Abs
T. Med. (sec) 0,1000
Replicados 3
Media Patrón/Muestra Apag.
Correcciones de peso y Volumen Apag.
Tipo Ajuste Lineal
Mín R² 0,95000
Unidades Concentración mg/L
Cambiador Celdas Encen.

Comentarios :

Informe Cero

Leer	Abs.	nm
Cero	0,1887	540,0

Calibración

Tiempo Colección

21/05/2019 13:00:14

Patrón	Concentración F mg/L	Media	SD	% RSD	Lecturas
Patrón 2	100,0	- 0,0039	- 0,0001	- 2,4	- 0,0040 - 0,0038 - 0,0039 - 0,0043
Patrón 3	250,0	- 0,0043	- 0,0001	- 1,6	- 0,0043 - 0,0044 - 0,0028
Patrón 4	500,0	- 0,0027	- 0,0001	- 2,6	- 0,0027 - 0,0026 - 0,0014
Patrón 5	1 000,0	- 0,0014	- 0,0001	- 3,8	- 0,0014 - 0,0015 - 0,3408
Patrón 6	50 000,0	- 0,3405	- 0,0003	- 0,09	- 0,3406 - 0,3402

Ecuación Calib. Abs = 6,9354E – 6* Conc – 0,00629
 Coef. Correlación 0,99992
 Hora Calibración 21/05/2019 13:07:12

Análisis
 Tiempo Colección 21/05/2019 13:07:12

Muestra	Concentración F mg/L	Media	SD	% RSD	Lecturas
Muestra 1	37 913,9	0,2567	0,0001	0,05	0,2568 0,2566 0,2566 0,2614
Muestra 2	38 603,9	0,2614	0,0001	0,02	0,2615 0,2615 0,2307
Muestra 3	34 157,9	0,2306	0,0001	0,03	0,2305 0,2306 0,2357
Muestra 4	34 909,0	0,2358	0,0001	0,06	0,2360 0,2358 0,2637
Muestra 5	34 932,5	0,2637	0,0001	0,05	0,2639 0,2636 0,2891
Muestra 6	42 583,7	0,2890	0,0001	0,03	0,2889 0,2891 0,2564
Muestra 7	37 874,9	0,2564	0,0001	0,03	0,2563 0,2564 0,2807
Muestra 8	41 375,0	0,2807	0,0000	0,00	0,2807 0,2807 0,2895
Muestra 9	42 645,0	0,2895	0,0001	0,02	0,2895 0,2894 0,2759
Muestra 10	40 679,5	0,2758	0,0001	0,04	0,2757 0,2759 0,3284
Muestra 11	48 248,4	0,3283	0,0001	0,03	0,3282 0,3284 0,2767
Muestra 12	40 792,5	0,2766	0,0001	0,03	0,2766 0,2765 0,2767
Muestra 13	40 792,5	0,2766	0,0001	0,03	0,2766 0,2765

Leyenda Marcas Resultados

U : Sin calibrar

O : Fuera de rango

N : No usado en calibración

R : Lectura repetida

ANEXO N° 3

IMÁGENES DE LABORATORIO

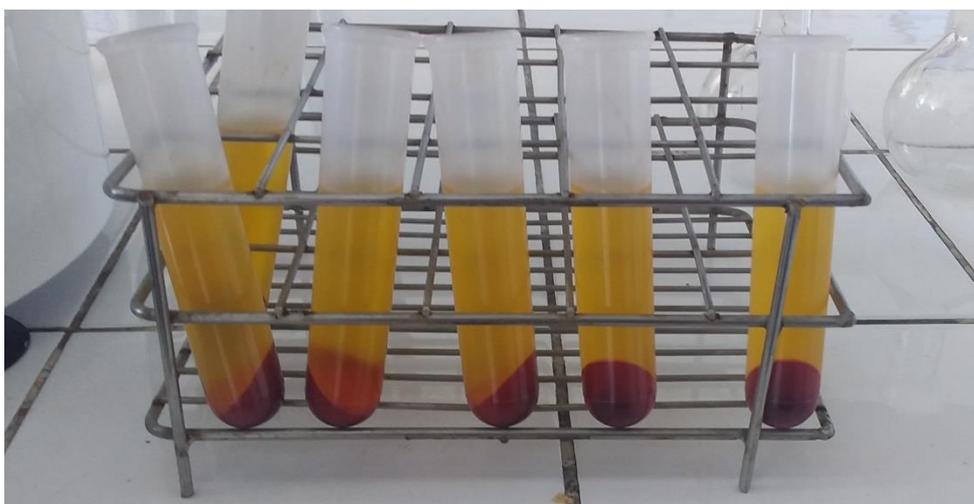


Figura 10, Muestras después de la separación, elaboración propia. Se observa dos fases: plasma y eritrocitos.

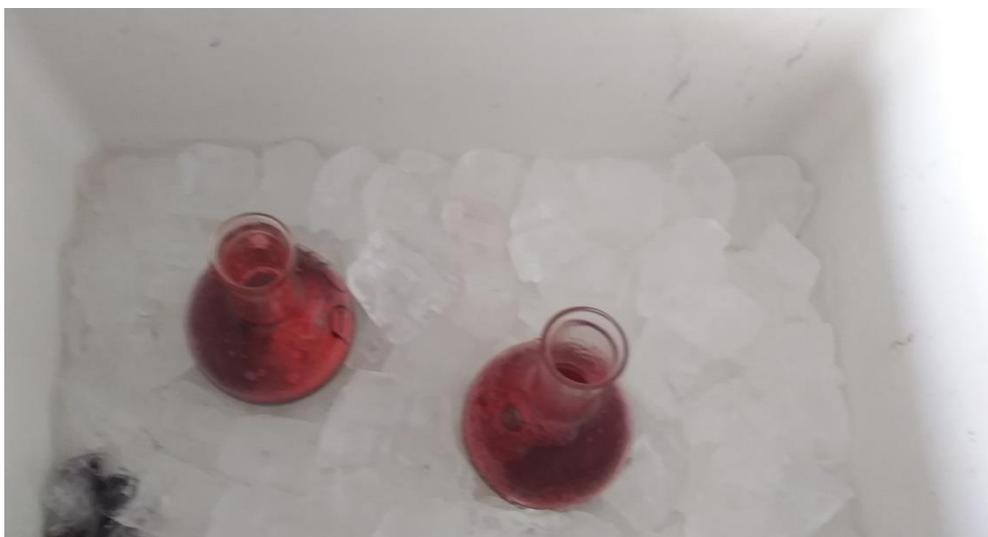


Figura 11, Choque hipotónico, elaboración propia. En frío, con agitación manual y por 30 minutos.

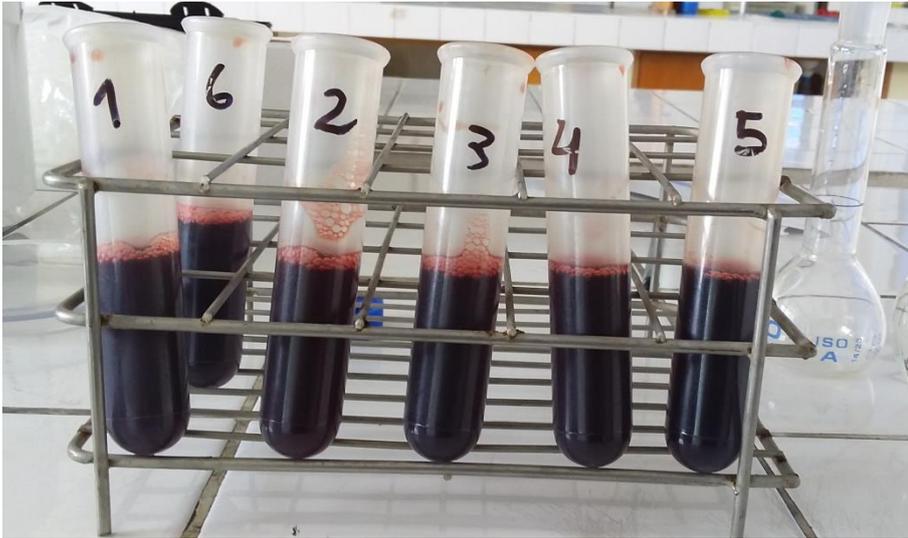


Figura 12, Hidrólisis ácida, elaboración propia. Relación de ácido y solución de hemoglobina: 1/10 (v/V).



Figura 13, Preparación de muestras para medir Hierro, elaboración propia. Preparación de diluciones. F=50.



Figura 14, Medición de Hierro, elaboración propia. Lectura en equipo de Hierro rango alto.



Figura 15, Medición de Proteínas, elaboración propia. Lectura en espectrofotómetro UV mediante el método de Biuret.