



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería

**Contenido nutricional en la yema de huevo de gallina al incorporar algas vivas
en su dieta a temprana edad**

Opción de titulación

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el título de
Ingeniero Agroindustrial

Presenta:

María Guadalupe Cano Ordoñez

Dirigido por:

Dr. Juan Manuel Vera Morales

Dr. Juan Manuel Vera Morales

Presidente

Firma

Dra. Marcela Vargas Hernández

Secretario

Firma

Dra. Diana Amaya Cruz

Vocal

Firma

Dra. Araceli Romero Izquierdo

Suplente

Firma

Dra María de la Luz Pérez Rea
Director de la Facultad de Ingeniería

Dra. Marcela Vargas Hernández
Coordinadora del programa de Ingeniería
Agroindustrial

Centro Universitario. Querétaro, Qro.

Diciembre, 2024

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.

TABLA DE CONTENIDOS

1.	INTRODUCCIÓN.....	4
1.1	PROBLEMÁTICA.....	4
1.2	JUSTIFICACIÓN.....	4
2.	OBJETIVOS.....	4
2.1	HIPÓTESIS.....	4
2.2	OBJETIVO GENERAL.....	4
2.3	OBJETIVOS PARTICULARES.....	5
3.	MARCO TEÓRICO.....	5
3.1	EL HUEVO.....	5
3.1.1	Definición del huevo.....	5
3.1.2	Estructura del huevo.....	5
3.1.3	Importancia del huevo.....	7
3.1.4	Contenido nutricional del huevo.....	8
3.1.5	Composición química de la yema de huevo.....	9
3.2	LAS GALLINAS.....	9
3.2.1	Definición de gallina.....	9
3.2.2	Clasificación de las gallinas.....	9
3.2.3	Gallina Rhode island.....	10
3.2.4	Condiciones para la cría de gallinas ponedoras.....	11
3.3	MICROALGAS.....	16
3.3.1	Descripción.....	16
3.3.2	Valor nutrimental de las microalgas.....	18
3.3.3	Cultivo de microalgas.....	18
3.3.4	Descripción de <i>Nannochloropsis</i> sp.....	19
3.3.5	Descripción de <i>Chlorella</i> sp.....	19
3.3.6	Microalgas en la producción de huevo.....	20
4.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
4.1	LOCALIZACIÓN GEOGRAFICA.....	21
4.2	DURACIÓN DEL DISEÑO EXPERIMENTAL.....	21
4.3	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	22
4.4	MICROALGAS.....	23
4.4.1	Cuantificación de algas en el agua.....	25

4.4.2	<i>Análisis de carbohidratos en microalgas</i>	26
4.4.3	<i>Análisis de proteínas en microalgas</i>	29
4.4.4	<i>Análisis de lípidos en microalgas</i>	30
4.4.5	<i>Diseño y armado de mini- biorreactores alimentadores</i>	25
4.5	MANEJO DE GALLINAS	33
4.5.1	<i>Diseño y construcción de gallineros</i>	33
4.5.2	<i>Crianza de gallinas ponedoras</i>	34
4.6	CALIDAD DEL HUEVO	35
4.6.1	<i>Determinación de calidad mecánica del huevo</i>	35
4.6.2	<i>Determinación de proteínas</i>	35
4.6.3	<i>Análisis de lípidos</i>	36
4.6.4	<i>Determinación de carbohidratos</i>	38
5.	RESULTADOS	42
5.1	MICROALGAS	42
5.1.1	<i>Peso seco de microalgas</i>	42
5.1.2	<i>Carbohidratos</i>	42
5.1.3	<i>Lípidos</i>	42
5.1.4	<i>Proteínas</i>	42
5.2	CRIANZA DE GALLINAS	42
5.2.1	<i>Alimentación de gallinas</i>	¡Error! Marcador no definido.
5.2.2	<i>Peso de las gallinas</i>	42
5.2.3	<i>Desarrollo sexual de las gallinas</i>	42
5.3	CUALIDADES DEL HUEVO	43
5.3.1	<i>Cualidades físicas</i>	43
5.3.2	<i>Cualidades nutritivas</i>	43
6.	DISCUSIÓN	43
7.	CONCLUSION	45
8.	REFERENCIAS	46
9.	ANEXOS	51

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Problemática

Aunque se sabe que la adición de micro algas en la dieta de gallinas ponedoras aumenta la cantidad nutricional de huevo y de la carne, es importante reconocer que éstas, son sometidas a tratamientos de liofilizado y centrifugado para su acondicionamiento, lo cual incrementa el costo de producción y puede provocar la alteración de los nutrientes que contienen. Este incremento de costos disminuye la posibilidad de adquisición del producto final y aunque se tienen huevos con mayor cantidad nutricional y física, hay un impacto directo en relación a la economía del proceso total de producción.

1.2 Justificación

La demanda actual de alimentos requiere una respuesta que beneficie no solo al consumidor, sino al productor. El uso de micro algas vivas, es una buena opción al incluirse como complemento en la dieta de las gallinas ponedoras, con el fin de eliminar los procesos de liofilizado y centrifugado siendo que además son muy costosos en la cadena productiva.

2. OBJETIVOS

2.1 Hipótesis

El enriquecimiento de la dieta con algas *Nannochloropsis sp.* y *Chlorella sp.* Vivas en las primeras etapas del crecimiento de gallinas ponedoras *Rhode Island* tiene un efecto en el valor nutricional y propiedades físicas del huevo producido.

2.2 Objetivo General

Evaluar el efecto sobre el contenido de nutrientes en el huevo cuando se añaden microalgas *Nannochloropsis sp.* Y *Chlorella sp.* vivas en la dieta a edad temprana de gallinas ponedoras *Rhode island*.

2.3 Objetivos Particulares

- ✓ Establecer un sistema de producción de microalgas
- ✓ Evaluar el de crecimiento de las microalgas
- ✓ Establecer un criadero de gallinas ponedoras de la raza *Rhode island* en el campus Amealco de la UAQ
- ✓ Suministrar una dieta constante a las gallinas de micro algas vivas *Nannochloropsis sp.* y *Chorella sp.* y compararlas con un control
- ✓ Recolectar el huevo producido al inicio del periodo productivo y analizar sus propiedades nutritivas y físicas
- ✓ Evaluar estadísticamente el efecto de la adición de *Nannochloropsis sp.* y *Chlorella sp.* en la dieta de la gallina sobre las propiedades nutritivas y físicas del huevo.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 EL HUEVO.

3.1.1 Definición del huevo

Según la norma oficial mexicana NOM-159-SSA1-1996, la cual hace referencia al huevo, productos y sus derivados, el huevo es el producto de la ovulación de la gallina (*Gallus domesticus*) y otras especies de aves que sean aceptadas para consumo humano.

3.1.2 Estructura del huevo.

El huevo se compone de 3 partes principales: cascara, clara o albumen y la yema, cada parte principal tiene otros componentes, dando así un total de 10 partes que componen el huevo (Figura 1) separadas entre sí por medio de membranas que mantienen su integridad.

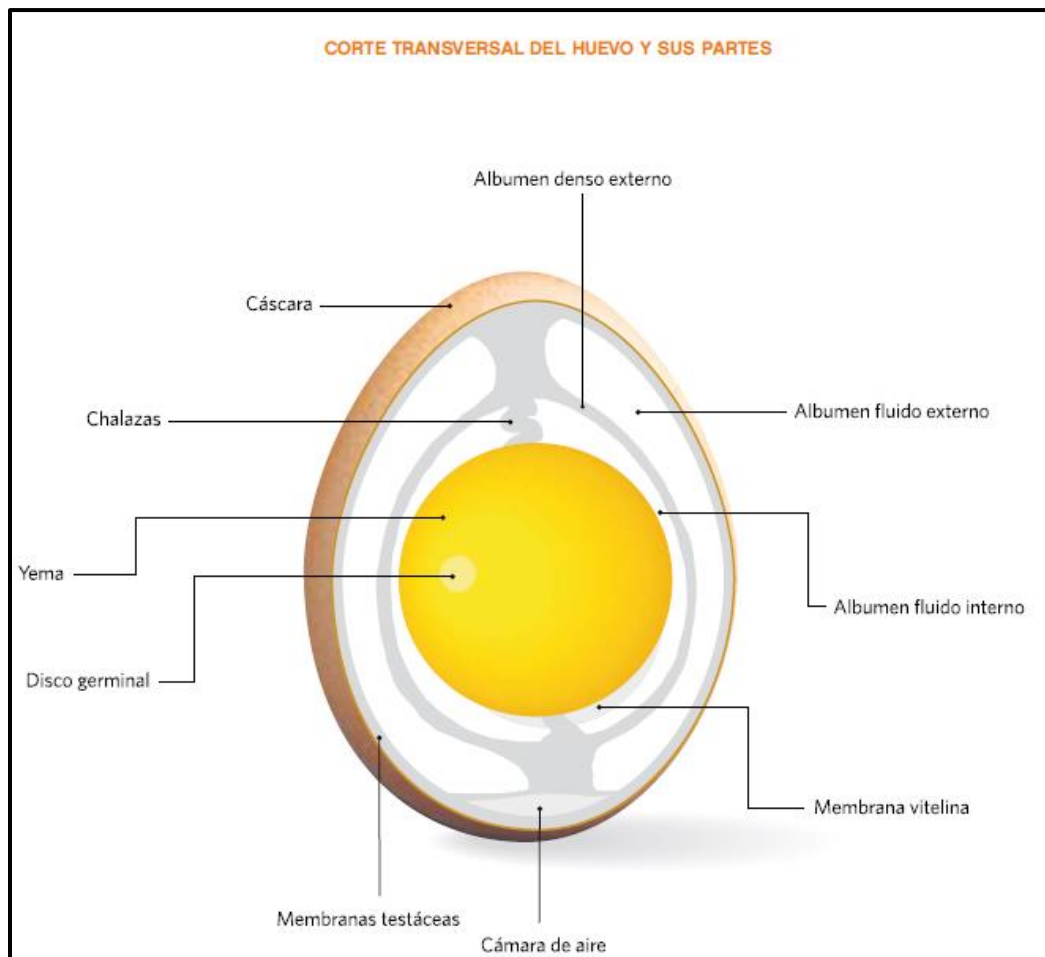


Figura 1. El huevo y sus partes (Instituto de estudios del huevo, 2009)

La cáscara es la cubierta exterior del huevo y tiene gran importancia, ya que mantiene la integridad física del huevo y actúa como barrera bacteriológica. Constituida en un 94% de carbonato de calcio, y en menores cantidades minerales como sodio, magnesio, cinc, manganeso, hierro, cobre, aluminio y boro (6%). Las membranas que recubren el interior de la cáscara son dos: membrana testácea interna y externa.

Clara o albumen, está compuesta básicamente por agua (88%) y cerca del 12% de proteínas. En el albumen se distinguen tres partes: el albumen denso, el fluido y las chalazas; El albumen denso rodea a la yema y es la principal fuente de riboflavina y de proteína del huevo (Instituto de estudios del huevo, 2009).

La yema, es la parte central y anaranjada del huevo. Está rodeada de la membrana vitelina, que le da forma y permite que ésta se mantenga separada de la clara o albumen. Su contenido en agua es de aproximadamente el 50% (Instituto de estudios del huevo, 2009) Contiene un 63% de lípidos sobre sustancia seca, de los cuales casi un 30% son fosfolípidos, y 10% de antioxidantes, responsables de su color (Aburto, 2008). El peso promedio del huevo es de 60 gr, de los cuales la clara representa el 58%, la yema 31%, la cascara y membranas 11% (Barroeta, 2011).

3.1.3 Importancia del huevo.

Nuestro país produce el 3% de la producción mundial total de huevo, ocupando el quinto lugar de producción de huevo, (figura 2) y el primer lugar a nivel mundial de países consumidores de huevo, con un consumo per cápita de 21.5 Kg, pues la dieta de los mexicanos se basa en la ingesta de proteínas muchas veces obtenidas del consumo de huevo.

A nivel general, todos los ovoproductos clásicos (clara, yema y huevo entero en cualquiera de sus presentaciones) son ampliamente empleados dentro del sector alimentario, farmacéutico, salud y belleza (FAO, 2015).

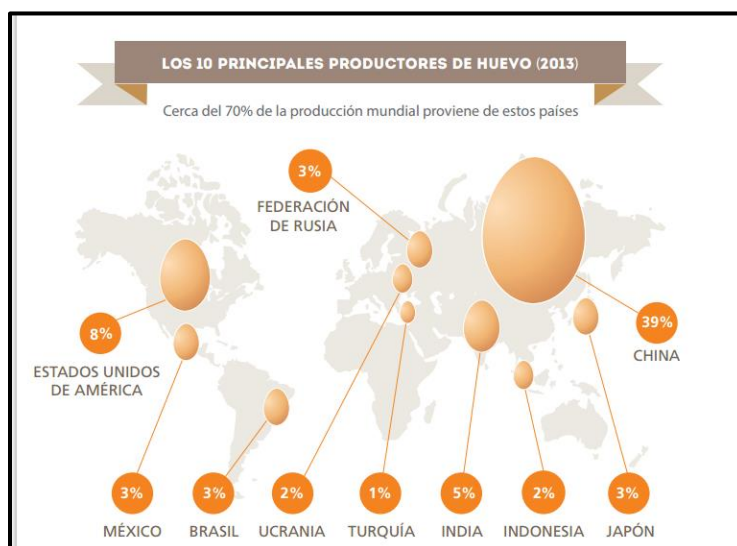


Figura2. Producción mundial de huevo (FAO, 2015)

3.1.4 Contenido nutricional del huevo

La producción de huevos de aves de corral es uno de los objetivos más atractivos para la nutrición (Wang *et al.*, 2017). El huevo tiene un contenido moderado de calorías, proteínas precursoras de aminoácidos esenciales, cuenta también con una alta proporción de ácidos grasos (AG) insaturados y es poseedor de casi todas las vitaminas y minerales esenciales a excepción de la vitamina C, es destacable su riqueza en ácido oleico (mono insaturado), presente también en el aceite de oliva y valorado porque ejerce una acción benéfica en los vasos sanguíneos reduciendo el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares y hepáticas (Barroeta, 2011). El huevo es la mejor fuente dietética de colina, un nutriente esencial ya que sus diferentes metabolitos son necesarios en diversos procesos de nuestro organismo, en la construcción de membranas y en la síntesis del neurotransmisor acetilcolina (Carbajal, 2006). La composición química de huevo dependerá de la dieta de la gallina, así como del sistema de crianza, siendo los lípidos o fracción grasa el componente más variable (Roux, 2005). En la Tabla 1, se indica la composición química promedio del huevo, incluyendo las vitaminas, minerales y otros compuestos más destacables.

Tabla 1. Propiedades químicas del huevo.

Componentes	Unidades	Huevo (100g)	1 Huevo (50g)
Energía	Kcal	143	72
Agua	G	76.2	38.1
Proteína	G	12.6	6.3
Grasa	G	9.5	4.8
Carbohidratos	G	0.7	0.4
GS	g	3.1	1.6
GMI	g	3.7	1.8
GPI	g	1.9	1
Colesterol	mg	372	186
Vitaminas	A, D, B2, Biotina, B12		
Minerales	Selenio, Yodo, Hierro y Zinc		
Fotoquímicos	Carotenoides en yema (Luteína y Zeaxantina)		

Fuente: USDA, 2014

3.1.5 Composición química de la yema de huevo

En la yema se encuentran las principales vitaminas, lípidos y minerales del huevo y por ello es la parte nutricionalmente más valiosa (Tabla 2).

Tabla 2. Valores nutritivos de la yema de huevo. (USDA, 1999; American Egg Board, 2006)

valores nutritivos de la yema de huevo				
Nutrientes por 100 gramos de huevo	Líquido/Congelada			Seco
	Yema	Yema Azucarada	Yema Salada	Yema
Proteínas (g)	15.3	13.9	14.1	33.7
Lípidos (g)	23	208	20.9	52.9
Cenizas (g)	1.4	1.1	10.4	3.3
Carbohidratos (g)	3.6	13	3.8	7.3
Calorías (cal)	282	294	259.3	640
Colesterol (mg)	991	917	912	2307
Grasas trans (g)	0.24	18	0.16	0.63

3.2 LAS GALLINAS

3.2.1 Definición de gallina

Se le llama gallina a la hembra del gallo perteneciente al orden de las Galliformes y a la familia Phasianidae. Su uso principal es para carne y huevo y algunas razas son para pelea (Mariaca Méndez, 2013).

3.2.2 Clasificación de las gallinas

Las gallinas que se manejan de manera tecnificada y comercial se dividen en tres categorías, de acuerdo a su tamaño y función zootécnica (SAGARPA, 2007):

Gallinas ligeras o livianas. Llamadas también aves de postura o ponedoras son las que se explotan para la producción de huevo para plato o consumo humano. Este tipo de aves puede llegar a producir hasta 300 huevos en un año, y su plumaje puede ser de color blanco o café rojizo. Las principales razas son Babcock, Hy-Line, Hisex Brown, Hisex White y Dekalb.

Gallinas pesadas. Las gallinas de este tipo tienen como función producir el huevo del cual, una vez incubado nacerán los pollos de engorda para la producción de carne. En estas aves el color de las plumas generalmente es blanco o café, siendo las razas más importantes Ross, Hybro, Cobb, Hubbard y Arbor Acres.

Gallinas semipesadas Llamadas también de doble propósito, porque aunque no alcanzan una producción de huevo como las aves ligeras, su producción es bastante aceptable y además las crías que producen, cuando son explotadas para la producción de carne, alcanzan pesos cercanos al de pollo de engorda producido por gallinas pesadas. El plumaje de estas aves puede ser completamente rojo o bien de color negro con puntos blancos. En esta categoría destacan las razas Rhode Island Red, Plymouth Rock Barred y cruza de las dos anteriores.

3.2.3 Gallina *Rhode island*.

Es un ave grande de cuerpo ancho, bajo y horizontal, de patas amarillas (Figura 3). Son excelentes en el trabajo como incubadoras y como madres. Son resistentes a condiciones adversas y su carne es sabrosa. Esta raza nace en 1845 en Estados Unidos de América, su nombre hace referencia al lugar donde nació, *Rhode island* es el resultado de la cruce de gallinas nativas, combate malayo y cochinchina. Tiene un periodo de crecimiento de 17 semanas con una viabilidad del 94 al 96. Su peso en cuanto a gallo maduro es de 3.3 a 4 kg. Una gallina ya madura pesa de 2.6 a 3.3 kg Con un periodo de postura hasta las 80 semanas, con un porcentaje de producción del 90%. El peso promedio de los huevos es de 62 g y su consumo de grano por día es de 120 a 125 g (Oteiza, 2004).

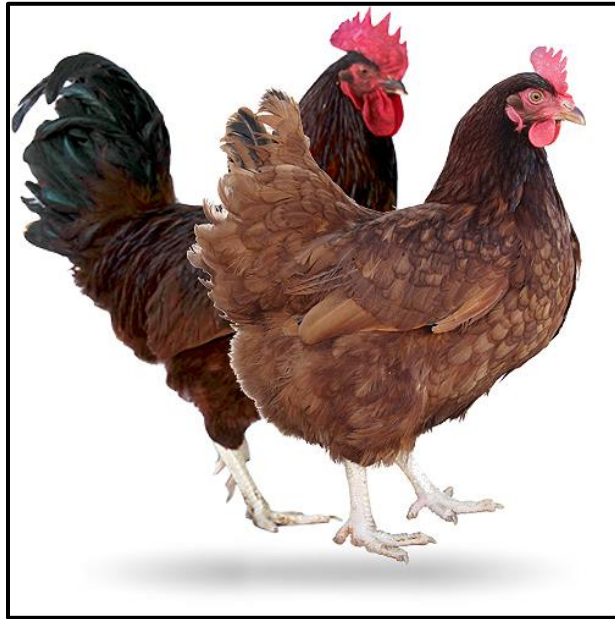


Figura 3. Gallo y Gallina Rhode Island (Granja Santa Isabel, 2018)

3.2.4 Condiciones para la cría de gallinas ponedoras

A. Gallinero

El éxito de mantener a las aves sanas, depende de dónde se construya el gallinero y los cuidados de limpieza que se tengan. Deben tenerse en consideración las regulaciones existentes sobre el terreno; relieve, capacidad de drenaje, iluminación, humedad, temperatura y las restricciones medioambientales (Morfin, 2007).

La orientación del gallinero en climas cálidos y templados debe ser de Este a Oeste, y en climas fríos, de Norte a Sur (Navarro, 2002). La dimensión de un gallinero, se determina de acuerdo a las gallinas que se quieran tener, tomando en cuenta que en un gallinero de $7m^2$ caben 20 gallinas (SAGARPA, 2007). El gallinero debe contar con bebederos, lámparas, comederos, una ventilación adecuada y con cajones de postura (nidos) de 30 a 40 cm de altura y de 30-40 cm de ancho, se pondrá un cajón por cada 5 gallinas como máximo (Navarro, 2002).

El material del cual este hecho el gallinero se determinará según el clima y el presupuesto que se tenga. En lugares cálidos, las paredes pueden ser de malla de alambre, cañas huecas y cortinas mientras que para los lugares fríos de madera, adobe, ladrillo o algún otro material que ofrezca mayor protección a las aves. El techo puede ser de teja, paja, palma, madera, láminas de cartón, asbesto u otros materiales que no causen ruido. Los cimientos deben ser contruidos con piedra y barro y los postes pueden ser troncos de madera, aislados con plástico o alquitrán en la base que se incrustará en los cimientos (SAGARPA, 2007). La limpieza y desinfección son puntos vitales en la prevención de enfermedades. La UP debe contar con un Programa de Bioseguridad escrito, el cual deberá de hacerse del conocimiento al personal que pretenda ingresar a la unidad (SAGARPA y SENASICA, 2016), de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-SSA1-2009, prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios; Las puertas y ventanas de las áreas de producción o elaboración deben estar provistas de protecciones para evitar la entrada de lluvia, fauna nociva o plagas, excepto puertas y ventanas que se encuentran en el área de atención al cliente. Debe disponerse de agua potable, así como de instalaciones apropiadas para su almacenamiento y distribución.

B. Alimentación de las gallinas

Los valores de requerimientos nutricionales y formulaciones son muy similares, pero existen factores importantes en la programación de las dietas, debido a que el consumo de alimento puede variar debido a diferentes variables como la época del año, generación de estrés en las gallinas o la raza de las mismas, por lo cual los programas de alimento tienen su base de consumo, en relación a la edad del ave y el nivel de producción de huevo (Tabla 2) (SAGARPA Y SENASICA, 2009).

Tabla 3. Requerimientos de proteínas, calcio y kilocalorías de las gallinas semi-pesadas según la etapa de vida en que se encuentran (SAGARPA Y SENASICA, 2009)

Requerimientos	Iniciación (0-6 sem)	Crecimiento (7-14 sem)	Desarrollo (15-18 sem)	Producción (18- muerte)
Proteínas	21%	17%	15%	<u>Fase I (1% prod-40 sem)</u> 18% <u>Fase II (40 sem-60 sem)</u> 17% <u>Fase III (60 sem – muerte)</u> 17%
Calcio	1%	0.9%	0.9%	<u>Fase I (1% prod-40 sem)</u> 3.2% <u>Fase II (40 sem-60 sem)</u> 3.5% <u>Fase III (60 sem – muerte)</u> 4%
Kcal EM/ Kg	2900	2875	2750-2865	<u>Fase I (1% prod-40 sem)</u> 2750 <u>Fase II (40 sem-60 sem)</u> 2750 <u>Fase III (60 sem – muerte)</u> 2750

Nunca se debe disminuir la cantidad de alimento durante el desarrollo, o se mantiene o se aumenta (Barroeta *et al.*, 2011). En la Tabla 4 se muestra el consumo de alimento en gramos que una gallina necesita de acuerdo a la etapa de vida en la que se encuentre (Navarro, 2002).

Tabla 4 requerimiento de alimento de las gallinas de postura según su estado de vida (Navarro, 2002)

Semana	Alimento	semana	Alimento	semana	Alimento	semana	Alimento	semana	Alimento
1	14 g	19	75 g	37	103 g	55	106 g	73	103 g
2	17 g	20	83 g	38	104 g	56	106 g	74	103 g
3	20 g	21	89 g	39	104 g	57	106 g	75	103 g
4	27 g	22	93 g	40	104 g	58	106 g	76	103 g
5	39 g	23	95 g	41	104 g	59	106 g	77	102 g
6	42 g	24	97 g	42	104 g	60	105 g	78	102 g
7	45 g	25	98 g	43	104 g	61	105 g	79	102 g
8	49 g	26	100 g	44	105 g	62	105 g	80	102 g
9	52 g	27	101 g	45	105 g	63	105 g		
10	54 g	28	101 g	46	105 g	64	105 g		
11	55 g	29	102 g	47	105 g	65	104 g		
12	57 g	30	102 g	48	105 g	66	104 g		
13	59 g	31	103 g	49	105 g	67	104 g		
14	60 g	32	103 g	50	105 g	68	104 g		
15	62 g	33	103 g	51	106 g	69	104 g		
16	64 g	34	103 g	52	106 g	70	103 g		
17	67 g	35	103 g	53	106 g	71	103 g		
18	68 g	36	103 g	54	106 g	72	103 g		

Los alimentos que una requiere gallina se dividen en (figura 4): Alimento de iniciación, desde el nacimiento hasta la 5ª a 6ª semana de edad. Alimento de crecimiento: desde la 6ª a 7ª semana hasta la semana 14ª o 15ª. Alimento de desarrollo o alimento de pre-postura: de la 15ª o 16ª semana de edad hasta el inicio de postura. Alimento durante la producción: de la 17ª semana hasta la muerte (SAGARPA Y SENASICA, 2009).

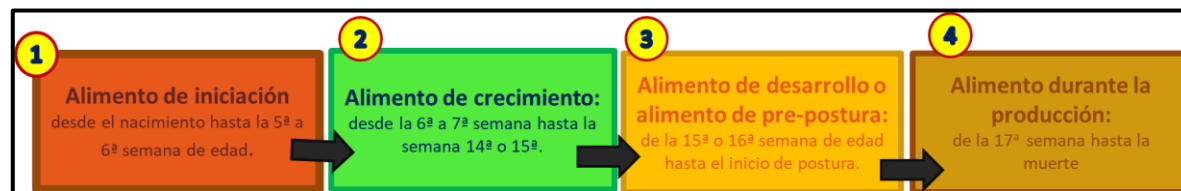


Figura4. Alimentos que una gallina requiere según su etapa de crecimiento.

C. Requerimiento de agua

Las gallinas toman el agua que requieren de tres partes: la de bebida, que es la principal, aportando el 75% de los requerimientos, la contenida en los alimentos, que aporta el 5% de las necesidades y la del metabolismo de los principios nutritivos, suministrando el 20% restante. Las aves consumen el doble de agua en relación al peso del alimento que comen (Koelkebeck, 1988). Los requerimientos de agua varían de acuerdo a la edad en que se encuentren las gallinas (Navarro 2002) y también a algunos factores como las altas temperaturas, algunos ingredientes alimenticios, exceso de sal, exceso de excreción de ácido úrico y niveles elevados de proteína; los factores mencionados provocan un incremento en el requerimiento de agua (Koelkebeck, 1988).

D. Cuidados de las gallinas

Los factores ambientales más importantes a controlar en los alojamientos de la gallina de postura, estos factores son: Ventilación, debe promoverse para controlar la temperatura de la caseta y para evitar la acumulación de gases como amoníaco, bióxido de carbono y monóxido de carbono al interior de las casetas; Temperatura, La temperatura dentro de la caseta debe mantenerse entre 15 y 25° C en parámetros productivos pues éstos afectan cuando la temperatura está fuera del rango de confort impactando directamente el consumo de alimento, conversión alimenticia, mortalidad, producción de huevo y calidad del cascarón. Mas cuando se está en recepción, las pollitas deberán contar con una temperatura de 30 a 33° C; Humedad, La humedad relativa dependerá de la temperatura en el interior de la caseta en general el rango aceptable es de 40 a 70 %; para controlar de la humedad se deben evitar fugas o derrames de agua (SAGARPA Y SENASICA, 2016). El plan de vacunación es indispensable para prevenir la mortandad. Este plan debe ajustarse a la región en la que se desarrollan las aves, Para tener una idea sobre el calendario de vacunación se puede observar en la Tabla 3 (SAGARPA, 2007).

Tabla 5. Vacunas que deberán ponerse a las gallinas ponedoras (SAGARPA, 2007)

Vacuna	Modo de aplicación	Edad de aves (días)
Newcastle	Vacuna subcutánea o gotas en ojos	10, 28, 118, 208, 298, 388
Viruela aviar	Aplicación de vacuna en ala	21
Cólera aviar	Vacuna subcutánea (traí-bac o triple aviar) en la pechuga, la base del ala. Gotas en ojos (pasteurella)	28, 118, 208, 298, 388
Parásitos externos (corucos, garrapatas)	Desinfección del gallinero con benzal conio, cal o ceniza	60,120,180,240,300,360
Parásitos internos (lombrices, tenias)	Desparasitantes panacur en agua y comida	180 y 360
Diarrea blanca (salmoelas)	Antibióticos disueltos en agua (trimetroprim)	28, 148, 260, 388
Coccidiosis	Antibióticos disueltos en agua y alimentos	21
Coriza infecciosa	Vacuna subcutánea o intramuscular	21 42

3.3 MICROALGAS

3.3.1 Descripción

A. *Definición*

Las microalgas son organismos unicelulares, eucariotas, fotosintéticos capaces de transformar la energía luminosa en energía química con una eficiencia cuatro veces superior a la de las plantas. La importancia que tienen las algas radica en su papel como productores primarios de la cadena trófica, pues son las primeras formadoras de materia orgánica. Por su tamaño reducido y variado (5–50 μm en promedio) son fáciles de obtener y digerir por multitud de organismos que se alimentan en forma directa del fitoplancton (Abalde, 2004).

B. *Fisiología de las microalgas*

Las microalgas son pequeñas células de forma elipsoidal (Figura5)

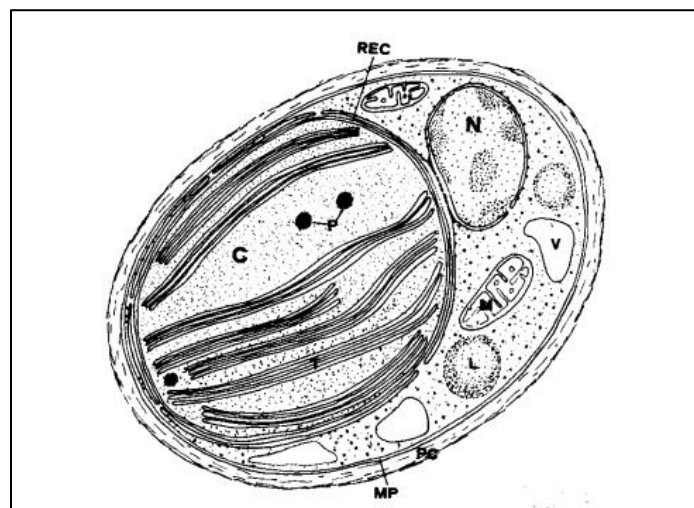


Figura 5. Esquema de las partes de una microalga. C: cloroplasto; MP: membrana plasmática; N: núcleo, M: mitocondria; REC: retículo endoplasmático asociado al cloroplasto; T: tilacoides; PC: pared celular; V: vacuolas; L: lípidos; P: glóbulos plastidiales (Lubian, 1982).

C. *Importancia de las microalgas*

Las microalgas son consideradas como organismos prometedores en la lucha contra el cambio climático, debido a la capacidad de absorber grandes cantidades de CO_2 y al potencial en la producción de energía, convirtiéndose fácilmente en diferentes tipos de biocombustible (Miao y Wu, 2004). Las microalgas juegan un rol importante en la cría de animales acuáticos, además de tener numerosas aplicaciones en las industrias alimenticia, farmacológica, cosmetológica y ambiental (Brito *et al.*, 2013)

3.3.2 Valor nutrimental de las microalgas

Las microalgas tienen un excelente valor nutritivo. Son una rica Fuente de aminoácidos esenciales, vitaminas, minerales, Carotenoides y ácidos grasos (Becker, 2007). Varios tipos de microalgas son ricos en Omega 3 y 6, especialmente EPA y DHA (Fraeye *et al.*, 2012).

3.3.3 Cultivo de microalgas

Para el desarrollo óptimo de los cultivos de microalgas, se deben considerar los siguientes factores (Tabla6) (Torrentera y Tacon, 1989):

- a) Los recipientes, estos son de materiales no tóxicos como las cajas de Petri, matraces Erlenmeyer, matraces Ferenback, carboys o garrafas, etc., adecuados para cultivos de laboratorio. Para cultivos a gran escala los recipientes de plástico, madera y concreto son los más recomendables, incluyendo los estanques rústicos en áreas rurales son los sistemas más económicos.
- b) La aeración, es un factor muy importante para la homogenización de los nutrientes y para evitar la sedimentación de las microalgas.
- c) La penetración de la luz en el cultivo. La inyección de CO₂ (0.5%) para contribuir al proceso fotosintético.
- d) La temperatura, la mayoría de las especies crecen entre 10 a 35 °C, con una temperatura óptima de 16-24 °C. La temperatura se puede ampliar o disminuir, dependiendo de la especie que se esté cultivando (González, 2015).

Tabla 6. Requerimientos de elementos físicos y nutritivos de las algas (Torrentera y Tacon, 1989).

REQUERIMIENTOS PRINCIPALES DE LOS CULTIVOS DE MICROALGAS			
	Requerimientos	Compuestos Químicos	Valores
Físicos	Luz		2000-4000 lux
	Temperatura		15-22oC

	Salinidad		0.37%
	Ph		De 7 a 9
	Redox		
Nutritivos	C	CO ₂ CO ₃ =	g/100ml
	O.H	O ₂ H ₂ O	g/100ml
	N	N ₂ NH ₄ +NO ₃	g/100ml
	P	PO ₄ =	g/100ml
	S	SO ₄ =	g/100ml
	Na, K, Ca, Mg	Sales	g/100ml
	Fe, Zn, Mn, B, Br, Si	Sales	mg/100ml
	Cu, Co, Cl, I, Sr, Rb, Al, et	Sales	µg/100ml
	Vitaminas	B12, tiamina, biotina	µg/100ml

3.3.4 Descripción de *Nannochloropsis sp.*

La microalga *Nannochloropsis sp.* es muy importante en acuicultura debido a su valor nutricional. Esta microalga pertenece a la clase Eustigmatophyceae, que agrupa a las especies que contienen la mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), especialmente ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido araquidónico (ARA), docosahexaenoico (DHA) de gran importancia en la nutrición de animales marinos, especialmente en el crecimiento y desarrollo de larvas de peces, moluscos y crustáceos (Otero et al., 1997; López y Boccanfuso, 2013).

3.3.5 Descripción de *Chlorella sp.*

En general las algas *Chlorella sp.* Son micro organismos mixotrófico (capaces de obtener energía metabólica tanto de la fotosíntesis como de seres vivos) (Liang *et al.*, 2009) Específicamente *Chlorella. sp* ha ocupado la atención de los biotecnólogos al ser una importante fuente de biomasa para la producción de biodiesel de segunda generación (non-food feedstock) (Gómez *et al.*, 2011). En producción de huevo, el alga podría servir como

una alternativa para la linaza (Lemahieu *et al.*, 2013) ya que gracias a sus propiedades se pueden transmitir los ácidos grasos que posee en la yema de los huevos.

3.3.6 Microalgas en la producción de huevo.

Con la necesidad de producir huevo de mayor calidad nutricional, se ha buscado la adición de complementos que promuevan la concentración de ácidos grasos en el huevo. Aunque algunos vegetales, como la colza y el lino, contienen cantidades notables de ácidos grasos poliinsaturados, las principales fuentes son el pescado y las algas. Dado que el pescado produce ciertos olores indeseables en los huevos, las algas se convierten en una buena opción para la deposición de ácidos grasos omega-3 en el huevo (Soler *et al.*, 2011).

Se han realizado varios experimentos que acreditan que enriquecer la dieta de gallinas ponedoras con microalgas trae beneficios: Adicionar 4, 6, 8% del alga *Sargassum* spp. en la dieta de gallinas ponedoras reduce significativamente el contenido de colesterol en el huevo y afecta favorablemente el color de la yema (Carrillo *et al.*, 2012). El contenido de ácido docosahexaenoico (DHA) en la yema de huevo fue aumentado linealmente ($P < 0.01$) con niveles crecientes de algas (All-G-Rich™) en la dieta (Ao *et al.*, 2015). La adición de microalgas como fuente de PUFA de cadena larga n-3 a la dieta de las gallinas es una forma eficaz de aumentar el nivel de DHA en los huevos. Además, este enfoque ofrece varias ventajas en comparación con el aceite de pescado, especialmente con respecto a la estabilidad oxidativa de los lípidos (Fraeye *et al.*, 2012). Las microalgas dieron como resultado niveles de n-3 LC-PUFA altos, también dio lugar al enriquecimiento de ácido α -linolénico. Además, el color de la yema cambió de amarillo a un color rojo más intenso con la suplementación, debido a la transferencia de carotenoides de microalgas a los huevos (Lemahieu *et al.*, 2013). El uso de DHA de microalgas en la dieta de gallinas produjo un enriquecimiento máximo en la yema de huevo de ácidos grasos poliinsaturados (Neijat *et al.*, 2016). Se observó enriquecimiento hasta una dosis de 120 mg de n-3 PUFA por 100 g de alimento y en la yema un color pronunciado (Lemahieu *et al.*, 2014). *Isochrysis galbana* y *Nannochloropsis oculata*, fueron suplementadas a la dieta de las Gallinas, para examinar el efecto de la Presencia de una pared celular en el enriquecimiento de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga omega-3 (n-3 LC-PUFA) de la yema (Lemahieu *et al.*, 2016). También se ha demostrado que

el consumo de huevos enriquecidos con algas, promueven el proceso de aprendizaje en los humanos (Kaewsutas *et al.*, 2017). Se observaron efectos importantes sobre la composición de ácidos grasos en la yema de huevo al agregarle *Nannochloropsis* (Fredricsson *et al.*, 2005). Se registró un aumento de ácidos grasos en huevo de gallina y además una ganancia de peso (Kim *et al.*, 2016).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 LOCALIZACIÓN GEOGRAFICA

El experimento se realizó en las instalaciones de la universidad autónoma de Querétaro, campus Amealco, ubicado en la carretera Amealco-Tamazcaltzingo Kilómetro 1. A una altura de 2629 msnm, con las siguientes coordenadas: 20° 9' 36.94" N, 100° 6' 34.49" W (Figura6) y especificaciones: el municipio de Amealco posee un clima templado sub húmedo con una precipitación abundante en el verano; la temperatura anual promedio es de 14.4⁰ C (INEGI, 2017)



Figura 6. Localización del experimento (Google map´s, 2017)

4.2 DURACIÓN DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental tuvo una duración de 32 semanas distribuidas como se describe en la Tabla 7

Tabla 7 Cronograma de actividades del experimento

Actividad	Tiempo de duración
1. Cultivo de microalgas	2 semanas
2. Observación de crecimiento de microalgas	3 semanas
3. Crianza y alimentación de gallinas	25 semanas
4. Análisis de huevos	2semanas

4.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se realizó un diseño experimental completamente al azar con 21 Gallinas ponedoras y 3 Gallos *rhode island*, alojados en 3 habitaciones (tres tratamientos) con 7 repeticiones (7 gallinas) cada uno. El diseño es mostrado en la Tabla 8.

Tabla 8. Descripción de los tratamientos

Descripción del tratamiento	Código	Repeticiones
Gallinas alimentadas con alimento granja familiar de purina ® en sus diferente presentaciones según el estado fenológico de la gallina y agua normal	T1.NM	7
Gallinas alimentadas con algas <i>Chlorella sp.</i> una dosis de 0.250% en agua (Lemahieu et al., 2013).+ Alimento Granja familiar de purina ® en sus diferente presentaciones según el estado fenológico de la gallina	T2.CH	7

<p>Gallinas alimentadas <i>Nannochloropsis sp.</i> a una dosis de 0.250% en agua (Lemahieu et al., 2013) + alimento Alimetnto Granja familiar de purina ® en sus diferente presentaciones según el estado fenológico de la gallina</p>	<p>T3.NN</p>	<p>7</p>
--	--------------	----------

4.4 MICROALGAS.

Para este estudio se utilizaron algas de las especies *Chlorella* y *Nannochloropsis* Agregando una cantidad de 5ml: 200ml en agua potable previamente tratada con tiosulfito de sodio marca clorkill® (Figura7) , Como medio de cultivo se utilizó Bayfolan forte® de bayer (Figura8) en una solución de 10:1. Primeramente se construyó una pequeña cámara de cultivo para producir las microalgas (Figura 9), esta cámara proporciono luz en ciclos de 18 horas por 6 de oscuridad, la cámara de cultivo también proporcionó O₂ al cultivo a manera de turbulencia, con una bomba marca elite modelo 802 (Figura 10), de esta manera se logró evitar la precipitación natural de las microalgas y se benefició su crecimiento. La cámara de cultivo contó con las siguientes dimensiones: un metro de alto, por 80 cm de ancho y 30cm de base. Se ocuparon recipientes de 1 litro (para el cultivo de primer semana) y 5 litros (para el cultivo de algas a gran escala), los recipientes fueron lavados y desinfectados, posteriormente, cuando la siembra terminaba, se hacía un tapón de algodón para poner en los garrafones, esto con el fin de evitar contaminaciones de otros microorganismos; Lo antes mencionado se realizó de acuerdo al manual de “métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal” (Vega y Voltolina, 2007)



Figura 7. Tiosulfito de sodio, se le agregó una dosis de 2 gotas por litro de agua según lo



Figura 8. El Bayfolan contiene los ingredientes que destacan: Nitrógeno 11.470%, Potasio 6%, Boro 0.036%, calcio 0.25%, azufre 0.2%, fosforo 8%.



Figura 9. Cámara de cultivo para Microalgas



Figura 10. Bomba DE O₂ con dos entradas
ELITE 802

4.4.1 Diseño y armado de mini- biorreactores alimentadores

Una vez establecido el cultivo de microalgas y cuantificado su crecimiento, se procedió a modificar estos mini-biorreactores de 5L que funcionaron como alimentadores de agua para las gallinas. Los recipientes de 5L fueron modificados adicionándole un mecanismo de liberación controlada por presión hidrostática, para proporcionar a las gallinas sólo el agua que consumían, sin permitir evaporación o pérdida por derrames.

4.4.2 Observación de crecimiento de Microalgas.

Para cuantificar el crecimiento de la biomasa se tomaron muestras con una pipeta de 5 ml del cultivo de microalgas, durante 21 días, en charolas de papel aluminio con dimensiones de 40cm³ previamente pesadas, las muestras fueron tomadas todos los días entre 9 -10 am y puestas en el desecador (Figura 11), por 1 semana, Después fueron pesadas en la balanza analítica para cuantificar el aumento de microalgas por día. Finalmente se determinó el día en el que alcanzaron una densidad de entre 2 y 5 % de biomasa en el agua. El método de cuantificación fue tomado y modificado a nuestras posibilidades. Del manual de “métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal” (Vega y Voltolina, 2007)



Figura 11. Disecador solar casero

4.4.3 Cuantificación de carbohidratos en microalgas

Los análisis se realizaron en base al método de fenol-ácido sulfúrico anhidra (Vega y Voltolina, 2007) en los laboratorios de la facultad de Química de la universidad autónoma de Querétaro. La muestra de las algas se tomó cuando las gallinas tenían seis semanas de estarlas consumiendo.

A. *Curva de calibración de carbohidratos totales utilizando glucosa.*

La curva de calibración se obtuvo usando un gradiente de concentración de glucosa anhidra, preparada a partir de una solución de 120 μ g/ml (Tabla 7), se continúa la curva con los reactivos que se describen en el inciso B

Tabla7 . Curva de calibración de carbohidratos, como estándar se utilizó glucosa anhidra (Vega y Voltolina, 2007)

TUBO	SOL.GLUCOSA (120 μ g/mL) (μ L)	H ₂ O DESTILADA (μ L)	CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA (μ g/mL)	ABSORBANCIA 485nm
Blanco	0	1000	0	0
1	100	900	12	0.171
2	120	800	24	0.284
3	300	700	36	0.321
4	400	600	48	0.378

5	500	500	60	0.567
6	600	400	72	0.632
7	700	300	84	0.715
8	800	120	96	0.848
9	900	100	108	0.990
10	1000	0	120	1.009

Con los datos de la tabla se realizó una gráfica ajustando los datos por mínimos cuadrados a una ecuación lineal, obteniendo r^2 , el valor de la pendiente (m), utilizando el intercepto (b) igual a cero. El valor de r^2 fue superior 0.98, lo cual, según el manual, indica que se podía continuar con el siguiente paso: realizar la gráfica, para realizar la gráfica se tomaron los datos de absorbancia (A_{485nm}) como variable independiente y como variable dependiente la concentración de glucosa (figura 12).

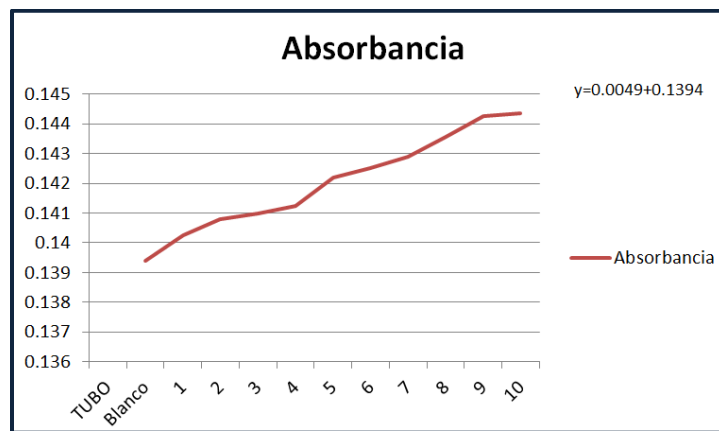


Figura 12. Curva de Absorbancia (A_{485nm})

B. Determinación de carbohidratos totales

Se lavaron bien todos los materiales con jabón y después con ácido clorhídrico al 10%, éstos fueron enjuagados con suficiente agua destilada y secados con sanitas.

1. Se pesaron de 5 a 10 mg de muestra de algas y se depositaron en tubos de vidrio de 14 ml c/u (2 para cada especie de alga) pesados previamente también.
2. Se agregaron 5mL de H_2SO_4 1.0 M, expuestos a temperatura ambiente hasta que todos los tubos, incluyendo los tubos de la curva.
3. Se taparon los tubos que contenían muestra de Microalgas con papel aluminio y se sometieron a un termo-baño a $100^{\circ}C$ durante una hora (Figura 13).



Figura 13. Muestras de microalgas preparadas con 5 ml de ácido clorhídrico al 1M, puestas en termo-baño por el lapso de una hora.

4. Al término de la hora se retiraron los tubos del termo-baño y esperamos a que los tubos alcanzaran temperatura ambiente.
5. Cuando los tubos alcanzaron la temperatura ambiente, se centrifugaron las muestras a 4000 rpm/ $10^{\circ}C$ por 15 minutos.
6. Se separa el extracto con una pipeta pasteur, teniendo cuidado de no suspender las pastillas celular adherida al fondo del tubo, se mide el volumen total y se pasa a un tubo limpio.

7. Se toma una muestra de 1 mL del extracto ácido y 1 mL de fenol al 5% y se mezcla, después se deja reposar la muestra. por 40 minutos.
8. Se agregan 5 mL de H₂SO₄ concentrado. En un espectrómetro calibrado a 485nm.

La concentración de carbohidratos totales en la muestra se calcula a partir de la ecuación de la recta obtenida de la curva de calibración. La ecuación para la cuantificación es a siguiente:

$$\% \text{ Carbohidratos} = (((m \times A_{485})/V_m)V_E) P_s \times 100$$

Dónde:

P_s= Peso seco de las algas

V_E= volumen del extracto ácido

V_m= volumen muestra

m= pendiente de la ecuación de calibración

4.4.4 Cuantificación de proteínas en Microalgas

La cuantificación de proteínas se realizó por diferencia de pesos, de la siguiente manera.

$$\text{Proteínas} = (\text{LT} + \text{Ca}+) - (\text{Cen})$$

Dónde:

LT= Lípidos Total

Ca= Carbohidratos

Cen= Cenizas*

Las cenizas fueron extraídas por el método universal de extracción de cenizas de alimentos (Nollet, 1996). En este método toda la materia orgánica se oxida en ausencia de flama a una

temperatura que fluctúa entre los 550 -600°C; el material inorgánico que no se volatiliza a esta temperatura se conoce como ceniza.

4.4.5 Cuantificación de lípidos en Microalgas

Se realizó la cuantificación de lípidos polares y no polares de acuerdo al método de Bligh y Dyer (1959) adaptado para la extracción de lípidos en Microalgas y a las condiciones que se tenían en el campus Amealco. También se realizó el desglose de lípidos no polares con el método.... Realizados en el laboratorio de posgrado, campus Amazcala.

A. *Cuantificación de lípidos totales y no polares*

A1. Extracción de lípidos totales.

1. Se pesaron 5 mg de Microalgas disecadas y se pusieron en tubos falcon de 15 ml, previamente pesados y lavados con jabón anti-gérmenes y secados con alcohol.
2. Se agregó una mezcla de 5 ml de una mezcla de cloroformo: metanol (1:2)
3. Los tubos se agitaron manualmente por 3 minutos y después se sonicaron a un rpm de 3000 rpm por un tiempo de 5 minutos.
4. Se centrifugaron los tubos a 3500rpm por 10 minutos
5. En tubos de vidrio de 15 ml previamente pesados y lavados, con papel filtro se filtró el líquido de la parte superior encontrado en cada tubo falcón.
6. A lo que quedó en cada tubo se le volvió a agregar 5ml de la mezcla cloroformo: metanol (1:2) repitiendo el proceso de los incisos 3,4,5, tomando en cuenta que el tubo de vidrio mencionado en el inciso 5, será el mismo, teniendo así una cantidad de 10ml de extracto por cada tubo.
7. Los tubos de vidrio con la muestra, se dejaron en un baño maría a 60 grados por 8 hrs (Figura 15).



Figura 15. Extracción de lípidos totales de microalgas en baño María

8. Al final se obtuvo un producto denso que corresponde a los lípidos totales. Los tubos fueron bien secados y pesados nuevamente al final por diferencia de pesos se obtuvo la cantidad de lípidos con la siguiente ecuación.

Lípidos totales= Peso fina del tubo- Peso inicial del tubo

A2. Extracción de lípidos no polares.

1. Se agregaron 2ml de hexano puro a los tubos que contenían la extracción de lípidos.
2. Se agitaron los tubos por 3 minutos y se centrifugaron a 3500rpm por 10 minutos.
3. En tubos de vidrio de 15 ml previamente pesados y lavados, con papel filtro se filtró el líquido de la parte superior encontrado en cada tubo proveniente de la extracción de lípidos totales.
4. Se repitió el proceso realizado en los incisos anteriores y se puso a baño maría a 60 grados por 8 hrs.
5. Se secaron bien los tubos y fueron pesados.
6. La cuantificación de lípidos se realizó de la siguiente manera.

Lípidos no polares= Peso fina del tubo- Peso inicial del tubo

B. *Desglose de lípidos no polares*

El desglose de lípidos se realizó en el laboratorio de posgrado, en el campus Amazcala.

4.4.6 Cuantificación de cenizas

La cuantificación de cenizas totales se realizó en el laboratorio de posgrado de la universidad autónoma de Querétaro, campus aeropuerto. El método utilizado fue el propuesto en base a la norma NMX-F-066-S-1978 y Nollet, 1996.

1. Se pesaron 2 crisoles de porcelana para obtener el peso constante de cada uno de ellos.
2. En cada uno se puso una muestra de 1 a 3 g aproximadamente.
3. Se precalcinó la muestra en la placa de calentamiento, posteriormente los crisoles se colocaron con la muestra en la mufla y se incrementó la temperatura, dejando a que se calcinaran a 550°C por 3 horas, hasta que se obtuvieron cenizas blanco – grisáceas (Figura 16).



Figura 16. Cenizas del alga *Nannochloropsis sp.*

4. Se apagó la mufla, se dejó enfriar el desecador y posteriormente se pesaron.
5. Se realizaron los cálculos para cuantificar las cenizas totales se realizaron de la siguiente manera:

$$\%CT = (m_{cyc} - m_{cv} / m_{cym} - m_{cv}) \times 100$$

Donde: m_{cv} = masa del crisol vacío en g

meyms=masa del crisol y la muestra seca en g

meyc= masa del crisol y la muestra calcinada en g.

4.5 MANEJO DE GALLINAS

4.5.1 Diseño y construcción de gallineros.

Se construyeron 3 gallineros rústicos (uno para cada tratamiento), con orientación de norte a sur, cada uno con la siguiente descripción: 5m de largo, 1m de ancho y 1.30m de alto. Los gallineros se equiparon adecuadamente con: bebederos, comederos, cajas de postura (Figura, 12) (SAGARPA, 2007)

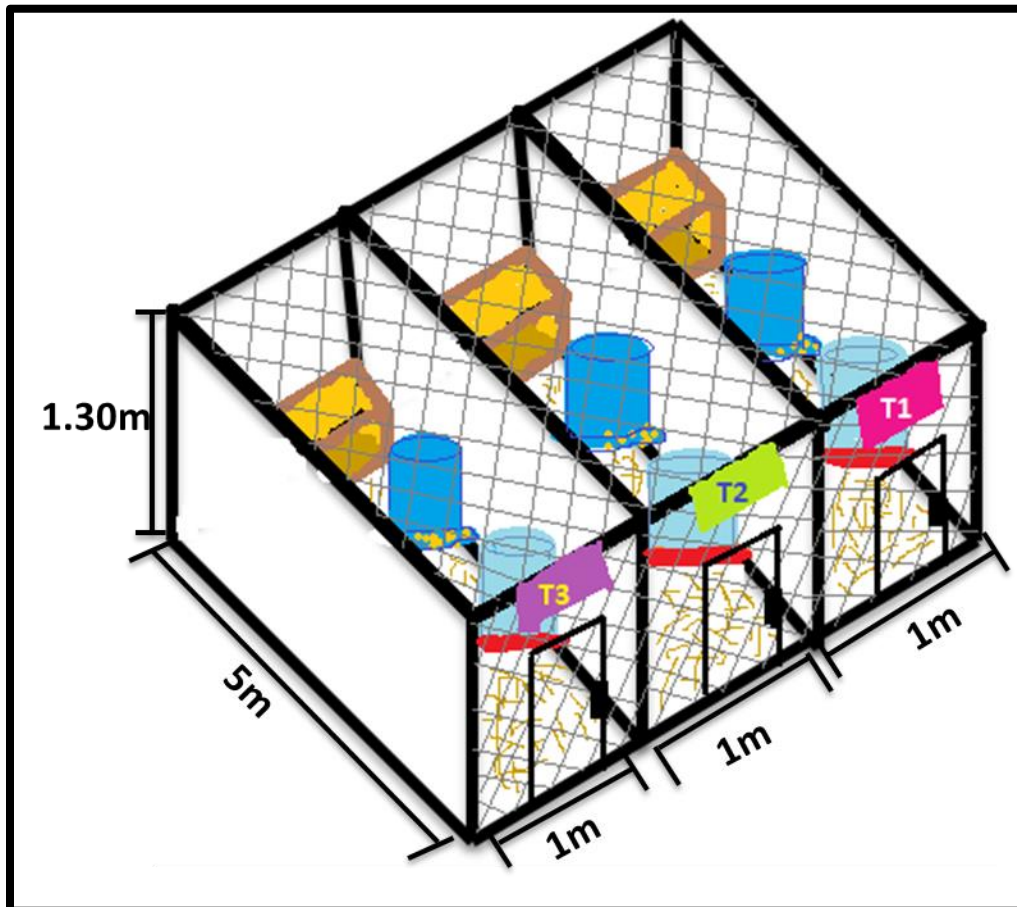


Figura 12. Plano de gallinero.

4.5.2 Crianza de gallinas ponedoras

A. *Adaptación*

Antes de comenzar con el experimento, esperamos a que las pollitas (de 1 semana de nacidas) se adaptaran al lugar y clima; antes de la recepción se desinfectaron las instalaciones. Se proporcionó una temperatura de 28 grados, los primeros días de recepción; solo por las noches y en las mañanas. Se les dio como alimento granja familiar de la marca purina para pollitas y también maíz molido, esto en una proporción de 1:1, así como agua con electrolitos para hidratar por dos días. Se realizaron visitas periódicas en la mañana en el periodo de 7 a 8 am y por las tardes de 6-7pm, durante estas visitas se realizaron labores de limpieza, revisar que coman bien, tomen agua, no haya mortandad o aplastamiento y que no haya un posible síntoma de enfermedad. Las pollitas fueron vacunadas según lo indica (SAGARPA, 2007) (Tabla 3).

B. *Semanas 2 ½ - 12*

Después de la adaptación se asignaran completamente al azar 7 pollitas para cada tratamiento y 1 gallo, se colocaron comederos de reja en los cuales se les dio una mezcla de maíz molido y alimento de inicio para ponedoras “Granja Familiar pollitas de purina ®”, en una relación de 1:2, esto según los requerimientos que propone (Navarro, 2002) (Tabla 1). Las pollitas fueron pesadas el día de recepción, en la sexta semana, en la 12 semana y En la semana 25 (ya que todas habían puesto). Para identificar cada gallina, se les marco con un código puesto en una etiqueta, en su pata izquierda (Tabla 8).

Tabla 8. Descripción de códigos utilizados para la identificación de pollitas a la hora de pesarlas

	Gallina 1	Gallina 2	Gallina 3	Gallina 4	Gallina 5	Gallina 6
Tratamiento1	T1R1	T1R2	T1R3	T1R4	T1R5	T1R6
Tratamiento2	T2R2	T2R2	T2R3	T2R4	T2R5	T2R6

Tratamiento 3	T3R3	T3R2	T3R3	T3R4	T3R5	T3R6
---------------	------	------	------	------	------	------

Se determinó un horario para proporcionarles comida: en la mañana 7.30am y en la tarde 6:30pm. En cada visita se limpiaba y se hacía revisión de que todo estuviera bien. El requerimiento de algas vivas fue de 0.250 % en relación al consumo de alimento que se le estuviera dando a la pollita, este porcentaje fue dado tomando como referencia el experimento de (Lemahieu et al, 2013) en el cual se encontraron resultados óptimos con esa cantidad de polvo de algas.

C. *Semanas 13-18*

Los cuidados siguieron siendo los mismos, lo único que cambio fue la dosis de alimentación. El alimento en la semana 17 cambio a Granja Familiar gallinas de purina ® y se siguió usando este al fin del experimento

4.6 CALIDAD DEL HUEVO.

4.6.1 Determinación de calidad mecánica del huevo

Para determinar la calidad mecánica del huevo se medieron en primer lugar las siguientes variables: Peso total de huevo, peso de la albúmina, el peso de la yema. (Lemahieu et al, 2013).

4.6.2 Determinación de proteínas del huevo

La cuantificación de proteínas se realizó por diferencia de pesos, de la siguiente manera.

$$\text{Proteínas} = (\text{LT} + \text{Ca}+) - (\text{Cen})$$

Dónde:

LT= Lípidos Total

Ca= Carbohidratos

Cen= Cenizas*

Las cenizas fueron extraídas por el método universal de extracción de cenizas de alimentos (Nollet, 1996). En este método toda la materia orgánica se oxida en ausencia de flama a una temperatura que fluctúa entre los 550 -600°C; el material inorgánico que no se volatiliza a esta temperatura se conoce como ceniza.

4.6.3 Cuantificación de cenizas

La cuantificación de cenizas totales se realizó en el laboratorio de posgrado de la universidad autónoma de Querétaro, campus aeropuerto. El método utilizado fue el propuesto en base a la norma NMX-F-066-S-1978 y Nollet, 1996.

1. Se pesaron 2 crisoles de porcelana para obtener el peso constante de cada uno de ellos.
2. En cada uno se puso una muestra de 1 a 3 g aproximadamente.
3. Se precalcinó la muestra en la placa de calentamiento, posteriormente los crisoles se colocaron con la muestra en la mufla y se incrementó la temperatura, dejando a que se calcinaran a 550°C por 3 horas, hasta que se obtuvieron cenizas blanco – grisáceas (Figura 16).



Figura 16. Cenizas del alga *Nannochloropsis sp.*

4. Se apagó la mufla, se dejó enfriar el desecador y posteriormente se pesaron.
5. Se realizaron los cálculos para cuantificar las cenizas totales se realizaron de la siguiente manera:

$$\%CT = (m_{cyc} - m_{cv} / m_{cym} - m_{cv}) \times 100$$

Donde: m_{cv} = masa del crisol vacío en g

m_{cym} = masa del crisol y la muestra seca en g

m_{cyc} = masa del crisol y la muestra calcinada en g.

4.6.4 Cuantificación de lípidos

La cuantificación de lípidos polares y no polares se realizó de acuerdo al método de Bligh y Dyer (1959); Vega y Voltolina, (2007) adaptado para la extracción de lípidos en yema de huevo y a las condiciones que se tenían en el campus Amealco. También se realizó el desglose de lípidos no polares en el laboratorio de posgrado, campus Amazcala.

A. Cuantificación de lípidos totales y no polares

A1. Extracción de lípidos totales.

9. Se pesaron 0.007 a 0.01 gramos de yema de huevo y se pondrán en tubos falcon de 15 ml, previamente pesados y lavados con jabón anti-gérmenes y secados con alcohol.
10. Se agregará una mezcla de 5 ml de una mezcla de Hexano: Metanol (1:2)
11. Los tubos se agitaran manualmente por 3 minutos y después se sonicaran a 3000 rpm por 5 minutos. Después los tubos se centrifugarán a 3500rpm por 10 minutos
12. En tubos de vidrio de 15 ml previamente pesados y lavados, con papel filtro se filtrará el líquido de la parte superior que esté en cada tubo falcón.
13. A lo que queda en cada tubo se le vuelve a agregar 5ml de la mezcla Hexano: Metanol (1:2) repitiendo el proceso de los incisos 3,4,5, tomando en cuenta que el tubo de vidrio mencionado en el inciso 5, será el mismo, teniendo así una cantidad de 10ml de extracto por cada tubo.
14. Los tubos de vidrio con la muestra, se dejaran en baño maría a 60 grados por 8 hrs.
15. Al final se obtuvo un producto denso que corresponde a los lípidos totales. Los tubos fueron bien secados y pesados nuevamente al final por diferencia de pesos se obtuvo la cantidad de lípidos con la siguiente ecuación.

Lípidos totales= Peso fina del tubo- Peso inicial del tubo

B. Extracción de lípidos no polares.

1. Se agregarán 3ml de hexano puro a los tubos que contengan la extracción de lípidos. Se agitaran los tubos por 3 minutos y se centrifugaran a 3500rpm por 10 minutos.
2. En tubos de vidrio de 15 ml previamente pesados y lavados, con papel filtro se filtrará el líquido de la parte superior encontrado en cada tubo proveniente de la extracción de lípidos totales. Se repetirá el proceso de los incisos anteriores y se pondrá a baño maría de 60 grados por 8 hrs. Se secan bien los tubos y serán pesados.
3. La cuantificación de lípidos se realizará de la siguiente manera.

Lípidos no polares= Peso fina del tubo- Peso inicial del tubo

4.6.5 Determinación de carbohidratos

Los análisis se realizaron en el laboratorio del campus Amazcala y la facultad de química ubicada en Centro Universitario, la muestra de las algas se tomara durante el consumo. Los análisis de carbohidratos se harán en base al método de fenol-ácido sulfúrico anhidra (Vega y Voltolina, 2007), la metodología fue la siguiente:

A. *Curva de calibración de carbohidratos totales utilizando glucosa.*

La curva de calibración se obtiene usando un gradiente de concentración de glucosa anhidra, preparada a partir de una solución de 120µg/ml (Tabla 9). Todas las diluciones se hacen por triplicado y una vez que se tienen las diferentes concentraciones de glucosa, se continúa la curva con los reactivos que se describen en el inciso B

Tabla 9. Curva de calibración de carbohidratos, como estándar se utilizó glucosa anhidra (Vega y Voltolina, 2007)

TUBO	SOL.GLUCOSA (120µg/ml) (µL)	H ₂ O DESTILADA (µL)	CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA (µg/ml)	ABSORBANCIA 485nm
Blanco	0	1000	0	0
1	100	900	12	0.171
2	120	800	24	0.284
3	300	700	36	0.321
4	400	600	48	0.378
5	500	500	60	0.567
6	600	400	72	0.632

7	700	300	84	0.715
8	800	120	96	0.848
9	900	100	108	0.990
10	1000	0	120	1.009

Con los datos de la tabla se realizó una gráfica ajustado los datos por mínimos cuadrados a una ecuación lineal, obteniendo r^2 , el valor de la pendiente (m), utilizando el intercepto(b) igual a cero. El valor de r^2 fue superior 0.98, lo cual, según el manual, indica que se podía continuar con el siguiente paso: realizar la gráfica, para realizar la gráfica se tomaron los datos de absorbancia (A_{485nm}) como variable independiente y como variable independiente la concentración de glucosa (figura17).

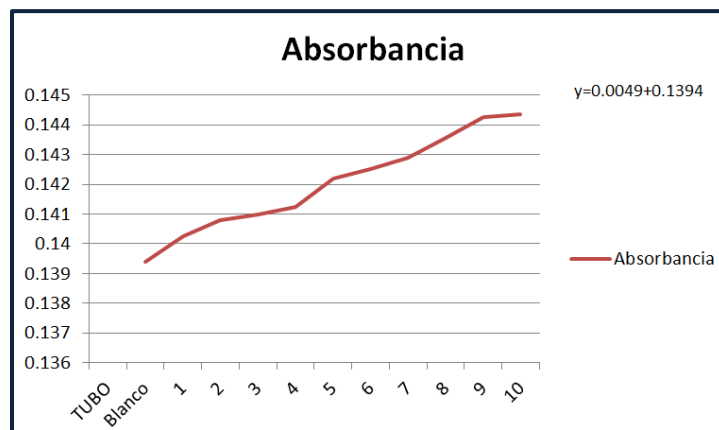


Figura 17. Curva de Absorbancia (A_{485nm})

B. *Determinación de carbohidratos totales*

Antes de proceder con el protocolo, se lavan con ácido clorhídrico al 10% todos los materiales que se utilizaran, éstos serán enjuagados con suficiente agua destilada y secados en estufa.

B.1. Se utilizaran muestras de un gramo de algas secadas previamente en el desecador lavadas con formato de amonio.

B.2. Se agregan 5mL de H₂SO₄ 1.0 M, expuestos a temperatura ambiente hasta que todos los tubos contengan el ácido.

B.3. Se tapan los tubos con papel aluminio y se someten a un termo-baño a 100oC durante una hora.

B.4. Al término de la hora se retiran los tubos del termo-baño y esperamos hasta llegara a temperatura ambiente.

B.5. Se centrifuga a 4000 rpm/10oC por 15 minutos.

B.6. Se separa el extracto con una pipeta pasteur, teniendo cuidado de no suspender las pastillas celular adherida al fondo del tubo, se mide el volumen total y se pasa a un tubo limpio.

B.7. Se toma una muestra de 1 mL del extracto ácido y 1 mL de fenol al 5% y se mezcla, después se deja reposar la muestra.por 40 minutos.

B.8. Se agregan 5 mL de H₂SO₄ concentrado. En un espectrómetro calibrado a 485nm.

La concentración de carbohidratos totales en la muestra se calcula a partir de la ecuación de la recta obtenida de la curva de calibración. La ecuación para la cuantificación es a siguiente:

$$\% \text{ Carbohidratos} = (((m \times A_{485})/V_m) P_s) \times 100$$

Dónde:

P_s= Peso seco de las algas

V_E= volumen del extracto ácido

V_m= volumen muestra

m= pendiente de la ecuación de calibración

5. RESULTADOS

5.1. Pruebas de confiabilidad realizadas

Después del análisis de varianza, y al encontrarse diferencia significativa en la medición de proteínas, los datos obtenidos fueron sometidos a pruebas estadísticas para asegurar la normalidad de estos y se obtuvieron los siguientes resultados: en la prueba de potencia un 80%, en la prueba de Bartlett $T= 2.088$, y $X^2_{t-1,0.05}= 5.99$.

5.2. Microalgas

5.2.1. Peso seco de microalgas

Las algas fueron dadas a las gallinas a partir del día 10, después de su siembra, dado que el alga *Chlorella* en el día 10 comienzan a adquirir una densidad estable y el alga *Nannochloropsis* en el día 10 continúa con estabilidad en su densidad (Anexos1 y 2).

5.2.2. Carbohidratos

El alga con mayor concentración de carbohidratos fue *Chlorella* (Anexo3)

5.2.3. Lípidos

El alga con mayor porcentaje de lípidos no polares (LPN) fue el alga *Nannochloropsis* (Anexo4).

5.2.4. Proteínas

La mayor cantidad de proteínas encontradas ocurrió en *Nannochloropsis* (Anexo5)

5.3. Crianza de gallinas

5.3.1. Peso de las gallinas

El peso de las gallinas no fue muy variable entre cada tratamiento (Anexo 6y7)

5.3.2. Desarrollo sexual de las gallinas

El primer tratamiento en poner, fue el tratamiento 3 que corresponde al tratamiento donde se utilizaron algas *Nannochloropsis.sp*, el segundo tratamiento en poner fue el tratamiento 1 (Testigo) y el ultimo tratamiento en poner, fue el tratamiento 2, que corresponde al tratamiento donde se utilizaron algas *Chlorella.sp*. Pero a pesar de que no todas pusieron al

mismo tiempo, las fechas de postura son similares, pues no hay un espacio de más de un mes entre la primer y la última puesta (Anexo 8)

5.4. Cualidades del huevo

5.4.1. Cualidades físicas

Los datos que se muestran (Anexo9 y 9.1) fueron obtenidos del promedio de todos los datos generados de cada unidad experimental medida. Los datos obtenidos de cada unidad experimental muestran que el tratamiento 2 (T2) en cual se suministró el alga *Chlorella* es quien proporcione huevos con mayor diámetro polar, ecuatorial y mayor peso.

5.4.2. Cualidades nutritivas

**Carbohidratos*

El testigo T1, presento un mayor porcentaje de carbohidratos en la yema de huevo, en comparación con los tratamientos en los cuales se usaron algas esto se puede observar en las tablas del anexo 10,11 y 12.

**Lípidos*

Los resultados obtenidos en la extracción de lípidos se dividen en dos partes: lípidos polares y lípidos no polares. El testigo (T1) presento la mayor cantidad de lípidos polares, seguido del T2y el tratamiento con menos lípidos polares fue el T3, tratamiento en al cual se le agrego algas *Nannocloropsis* (Anexos 13,14 y 15). En la obtención de lípidos no polares los datos mostraron que el tratamiento con mayor cantidad de estos fue el T2. (Anexos16,17,18)

**Proteínas*

El tratamiento con datos más altos en proteínas fue el tratamiento con algas *Chlorella* (T2),se pueden observar los datos en los anexos 19,20y 21

6. DISCUSIÓN

6.1. Pesos de gallinas.

En el anova realizado a los datos referentes al peso, las gallinas no presentan una diferencia. Lo que indica que el consumo de un cultivo de MA como alimento acuoso no tiene ningún efecto sobre el desarrollo de las gallinas.(Anexo 6y7)

6.2. Cualidades del huevo

6.2.1. Cualidades físicas

Realizando el Anova (Anexo), no se encontró una diferencia estadísticamente significativa en cuanto al peso de la yema, diámetro longitudinal y trasversal medidos en el huevo, pero sí hubo una diferencia significativa en el peso de los huevos (Tabla 16 y 17). El diámetro longitudinal y trasversal, están asociados directamente con el peso de huevo, es decir, que los huevos más pesados tienen diámetros también más grandes y viceversa. En relación con el peso del huevo (North y Bell,1998; Juárez-Caratachea, et al., 2010) señalan que éste depende principalmente de la edad del ave, del tamaño de la yema, de la variación individual entre gallinas y del medio ambiente de producción.

6.2.2. Cualidades químicas

**Carbohidratos*

De los datos obtenidos, se encontró una diferencia estadísticamente significativa al 95% de confiabilidad en los Tratamientos 2 y 3, donde se adicionaron algas (Anexo 23),

**Lípidos*

En el anova realizado a los datos obtenidos en lípidos no se encontró diferencia significativa esto puede ser debido a que la mayoría de los nutrientes (proteínas, aminoácidos, grasa total y macrominerales) muestran escasa variación al cambiar la dieta de las gallinas mientras que Microminerales, vitaminas y ácidos grasos son los más influenciados por cambios dietéticos. El efecto es más o menos pronunciado en función del nutriente en cuestión. Los lípidos de la yema no son sintetizados en el ovario sino en el hígado. De hecho, más del 95 % de la síntesis de ácidos grasos tiene lugar en este órgano. Una vez sintetizados, los triglicéridos son

incorporados a lipoproteínas de muy baja densidad que serán el vehículo de transporte de las grasas entre el hígado y tejidos extrahepáticos tal como el ovario (Escribano, 1991).

**Proteínas*

En el ANOVA realizado en proteínas, no se tuvo una diferencia significativa entre los tratamientos con respecto a la cantidad de proteínas en la yema de huevo, pero si en el peso de estos, la explicación a este resultado, Es esto podría ser debido a un incremento de proteínas en la clara del huevo.

En otro artículo se menciona una pequeña variación en el contenido total de luteína en la yema agregando MA en la dieta de las gallinas (Kim y Shin, 2022). Un análisis más específico de los lípidos podría ayudar a identificar si se pueden lograr efectos positivos similares utilizando cultivos vivos como suplementos, ya que en ocasiones estos compuestos no logran llegar al huevo (Elkin & Lorenz 2009)

7. CONCLUSION

Agregar microalgas vivas a la dieta de las gallinas incrementa la cantidad de proteínas en la yema de huevo, pero no muestra un efecto considerable en el peso, carbohidratos y lípidos del huevo. la sustitución de agua con microalgas vivas en la dieta de la gallinas hace posible que la calidad nutricional de huevo aumente.

Es posible que haya un mayor efecto a nivel peptídico y molecular, sin embargo esto requeriría un estudio más profundo de estructura de proteínas. Además, el análisis de la calidad de los lípidos en yema también es un área pendiente pro estudiar al suministrar microalgas vivas en la dieta de gallinas ponedoras, dada su efectividad comprobada cuando éstas se adicionan en forma de suplemento seco.

8. REFERENCIAS

- Abalde, J. y Herrero, C. 2004. Microalgas en acuicultura: calidad nutricional. ALGAS 32. 40: 16-18.
- Aburto, A. 2008. El huevo: investigación. Revista cubana de alimentos nutritivos. 18, 58-64.
- American Egg Board. 2006. The incredible Egg: Folleto. Disponible en : https://www.aeb.org/images/website/documents/food-manufacturers/order-aeb-resources/Egg_Products_Reference_Guide.pdf.
- Ao, T., Macalintal, M. L., Paul, M. A., Pescatore, A. J., Cantor, A. H., Ford, M. J., Timmons, B., Dawson, K. A. 2015. Effects of supplementing microalgae in laying hen diets on productive performance, fatty-acid profile, and oxidative stability of eggs: Research report. Poultry Science Association Inc. 394-400
- Barroeta, A. C. 2011. El huevo como alimento funcional: investigación. Instituto de estudios del huevo. 08193, 1-11.
- Barroeta, A.C., Izquierdo, D., Pérez, J.F.2011. Manual de avicultura: publicación. Universidad Autónoma de Barcelona (UAB).
- Bekcer, E.W. 2007 . Micro-algae as a source of protein: Research review paper. Biotechnology Advances. 25, 207-210
- Brito, D., Castro, A., Colibet, J. Gómez, E., Mora, R. 2013. Cinética de crecimiento de un cultivo mixto de micro algas *Hyaloraphidium contortum* y *pseudokirchneriella subcapitata*: Artículo científico. Redalyc. 38, 604-608.
- Carbajal, A. 2006. Calidad nutricional de los huevos y relación con la salud: investigación. Revista de nutrición práctica. 10, 73-76.
- Carrillo, S., Bahena, A., Casas, M., Carranco, M. e., Calvo, C. C., Ávila, E. Pérez-Gil, F.2012. El alga *Sargassum spp.* como alternativa para reducir el contenido de colesterol en el huevo: Artículo de Investigación. Redalyc. 46, 181-185.
- Fraeye, I. Bruneel, C. Lemahieu, C. Buyse, J. Muylaert , K. Foubert, I. 2012. Dietary enrichment of eggs with Omega-3 fatty Acids: A review. Food Research International. 48, 961-969.
- Fredriksson, S., Elwinger, K., Pickova, J. 2005. Fatty acid and carotenoid composition of egg yolk as an effect of microalgae addition to feed formula for laying hens. Food chemistry. 99, 530-537
- Gómez, L. L., Álvarez, I., Rivero, R. 2011. Cultivo de *Chlorella vulgaris* sobre residual de soja con la aplicación de un campo magnético: Artículo de investigación. Revista colombiana de bioetanol. Vol:XIII. Num.2, 27-38
- Instituto de estudios del huevo. 2009. El gran libro del huevo. Instituto de estudios del huevo. Madrid, España.2da Edición.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía ... (INEGI). 2017. Anuario estadístico y geográfico del estado de Querétaro 2017. Disponible en: http://www.datatur.sectur.gob.mx/ITxEF_Docs/QRO_ANUARIO_PDF.pdf
- Kaewsutas, M., Sarikaphuti, A., Nararatwanchai, T., Sittiprapaporn, P., Patchanee, P. 2017. Electroencephalographic study of microalgae DHA omega-3 egg consumption on cognitive function. Journal Of Functional Foods. 29, 46-52.
- Koelkebeck, K.W. 1988. La calidad del agua de bebida para las ponedoras: Artículo. Illinois poultry suggestions.64, 42-43.

- Kim, J., Magnuson, A., Tao, L., Barcus, M., Lei, X. G. 2016. Potential of combining flaxseed oil and microalgal biomass in producing eggs-enriched with n – 3 fatty acids for meeting human needs. *Algal research*.17, 31-37
- Liang, Y.,Sarkany, N., Cui, Y. 2009. Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions: Original reearch papper. *Biotechnol Lett*. DOI 10.1007/s10529-009-9975-7
- Lemahieu, C. Bruneel, C. Termote-verhalle, R. Muylaert, K. Buyse, J. Foubert, I. 2013. Impact of feed supplementation with different omega-3 rich microalgae species on enrichment of eggs of laying hens. *Food chemistry*. 141, 4051-4059.
- Lemahieu, C., Bruneel, C., Termote-Verhalle, R., Muylaert, K., Buyse, J., Foubert, I. 2014. Effect of different microalgal n–3 PUFA supplementation doses on yolk color and n–3 LC-PUFA enrichment in the egg. *Algal research*. 6, 119-123.
- Lemahieu, C., Bruneel, C., Dejonghe, C., Buyse, J., Foubert I. 2016. The cellwall of autotrophic microalgae influences the enrichment of long chain omega-3 fatty acids in the egg: journal. *Algal research*.16, 209-215
- López, A. V., Boccanfuso, J. J. 2013. Cepario de microalgas marinas y produccion inical intermedia de *Nannochloropsis oculata* (Eustigmatophyceae) en condiciones controladas de laboratorio: Informe tecnico.Instituto nacional de investigacion y desarrollo pesquero (INIDEP). ISSN 0327 9642.
- Lubián, L. M. 1982. *Nannochloropsis godilana sp.* una nueva especie marina; investigación. *Lezama*, 4: 287-293
- Mariaca, M. R. 2013. El conocimiento de la gallina (*gallus gallus domesticus*) entre los tseltales y tsotsiles de los altos de Chiapas, México: investigación. Colegio de la frontera sur.
- Miao, X., Wu, Q. 2004. High yield bio-oil production from fast pyrolysis by metabolic controlling of *Chlorella protothecoides*: Research paper. *Biotechnology*. 110, 85-93.
- Min Ji Kim,Weon Sun Shin.2022. Estabilidad de la zeaxantina/luteína en aceite de yema obtenido a partir de huevo suplementado con microalgas en diversas condiciones de almacenamiento:articulo científico.elsevier.155,112829
- Morfin, L.L. 2007. Manual de producción de gallinas de postura: publicación. Universidad Autónoma de México (UNAM). Departamento de ciencias pecuarias.
- Navarro, A.C. 2002. Curso de avicultura. Editorial: Enlace. Nicaragua.
- Neijat, M., Ojekudo, O., House, J. D. 2016. Effect of flaxseed oil and microalgae DHA on the production performance fatty acids and total lipids of egg yolk and plasma in laying hens: *Journal. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*.115, 77-88
- Norma Oficial Mexicana NOM-156-SSA1-1996. “Huevo, sus productos y derivados. Disposiciones y especificaciones sanitarias.” Norma oficial mexicana. Diario oficial de la federación, 2 de diciembre de 1999.
- Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009. “Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios”. Diario oficial de la federación, 10 de octubre de 2008.
- Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO). 2015. El huevo en cifras: folleto informativo.
- Oteiza, F.J. 2004. Razas de gallinas, origen y descripción. Editorial: Trillas. México.
- Otero, A., D. García & J. Fabregas. 1997. Factors controlling eico-sapentaenoic acid production in semicontinuous cultures of marine microalgae: *Research . Appl. Phycol*. 9(5): 465-469.
- Roux, M. (2005). *Eggs*. Ed. John Wiley & Sons.

Secretaria De Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca Y Alimentación (SAGARAPA). 2007. Producción y manejo de aves de traspatio: manual. Depto: Pesa. México.

Secretaria De Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca Y Alimentación (SAGARAPA) y Secretaria Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). 2009. Manual de buenas prácticas pecuarias en la producción de huevo para plato: publicación. México. 1ra Edición.

Secretaria De Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca Y Alimentación (SAGARAPA) y Secretaria Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). 2016. Manual de buenas prácticas pecuarias en la producción de huevo para plato: publicación. México. 2da Edición.

Soler, M. D., Garcés, C. Barragán, J. I. 2011. Factores de producción como la edad, la estirpe, la muda forzada, los programas de luz, las instalaciones y el ambiente, la sanidad y, por supuesto, la alimentación de las gallinas, pueden modificar el rendimiento y la composición química del huevo y de sus propiedades funcionales. Departamento de producción animal, sanidad animal, salud pública veterinaria y ciencia y tecnología. Barcelona

Torrentera, B. L., Tacon A, G. J. 1989. La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura una diagnosis: Documento de campo. Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO). Brasil. disponible en : <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab473s/AB473S02>

USDA National Nutrient Reference Database for Standar Reference. Release 27.2014

Vega, B. O., Voltolina, D. 2007. Métodos y Herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. Centro de investigaciones Biologicas del Noreste. México. ISBN 968-5715-51-3

Wang, J., Yue, H., Wu, S., Zhang, H., Qi, J. 2017. Nutritional modulation of health, egg quality and environmental pollution of the layers: a research article. Advancing research involving science. 3; 91-96.

PAGINAS WEB CONSULTADAS

<http://www.granjasantaisabel.com/gallinas-razas-foraneas/rhode-island.php> Fecha de consulta: 24/08/2018

<https://www.ars.usda.gov/northeast-area/beltsville-md-bhnrc/beltsville-human-nutrition-research-center/nutrient-data-laboratory/docs/sr27-home-page/> Fecha de consulta: 27/08/2018

Anexos

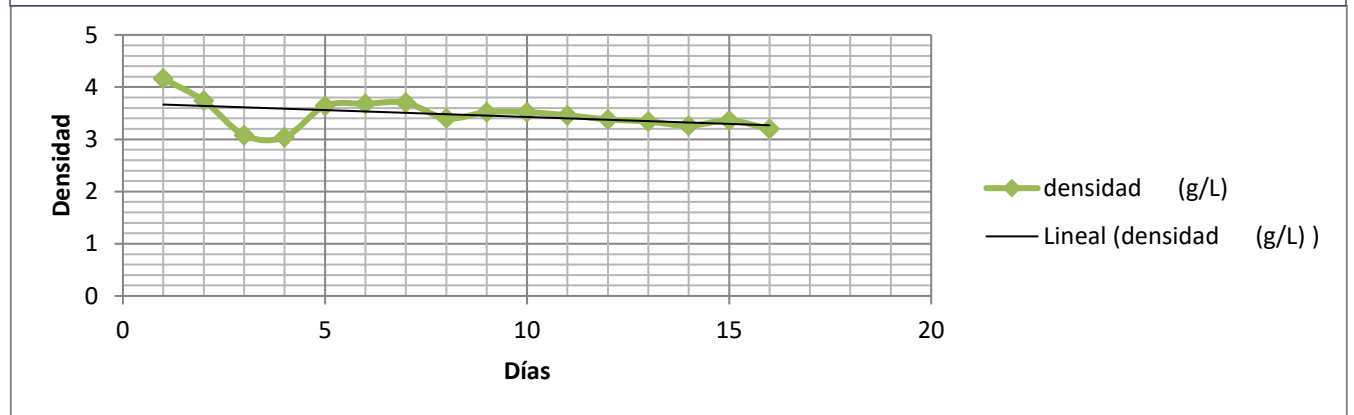
Se muestran los resultados obtenidos del proyecto de investigación

1. Propiedades de las Microalgas

1.1 Peso seco de microalgas

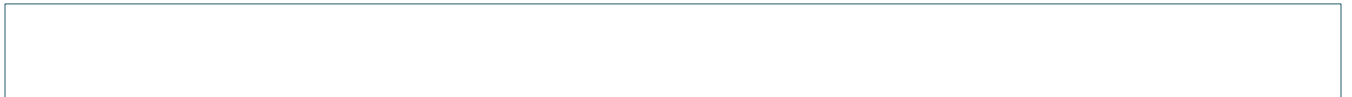
Anexo1

Curva decrecimiento de alga Chlorella

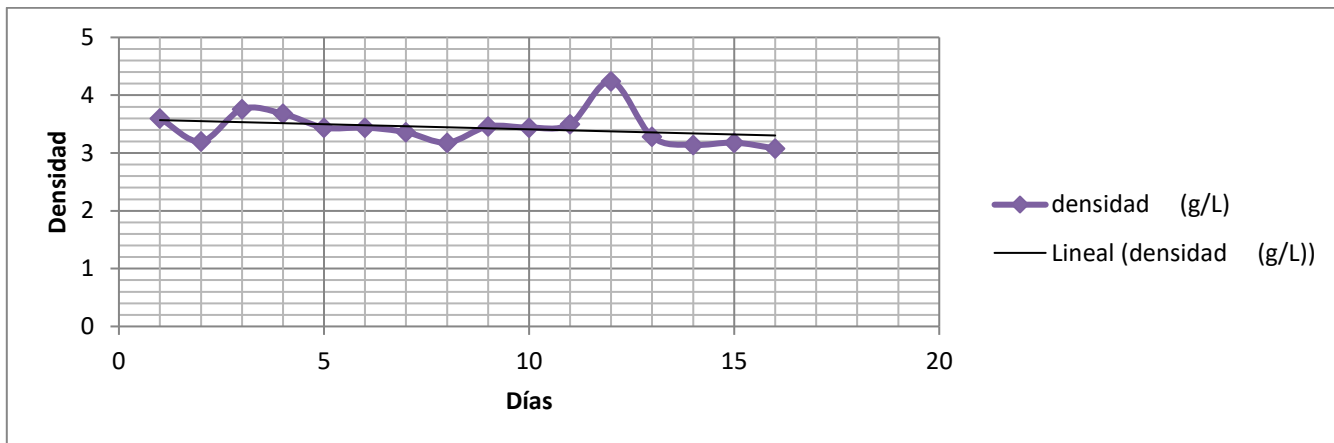


Vemos como el alga Chlorella sp., en el día 10 comienzan a adquirir una densidad estable.

Anexo2



Crecimiento de alga *Nannochloropsis*



Observamos que el alga *Nannochloropsis* en el día 10 continúa con estabilidad.

1.2 Carbohidratos

Anexo 3. Concentración de carbohidratos encontrados en las algas

Cálculo de carbohidratos	
Alga	Carbohidratos mg/g
<i>chlorella.SP</i>	153.08
<i>nannochloropsis.SP</i>	102.46

1.3 Lípidos en algas

Anexo 4. Concentración de lípidos en algas

Alga	peso de la muestra	peso lípidos totales	%de lípidos totales	peso de Lnp	% de Lnp
<i>chlorella.SP</i>	0.044	0.0298	67.72727273	0.0168	56.37583893
<i>nannochloropsis.SP</i>	0.0314	0.0165	52.5477707	0.0138	83.63636364

2. Crianza de las gallinas

2.1.1 Peso de las gallinas

Anexo 6. Peso promedio por semana de las gallinas

peso promedio			
semana	T1	T2	T3
1	171.25	165	166.875
2	248.125	236.875	231.25
3	314.375	299.875	279.375
4	366.875	302.5	348.75
5	425	450.625	452.5
6	506.25	513.75	521.25
7	689.375	670	648.125
8	773.75	772.5	741.875
9	1198.75	1151.25	1133.75
16	1370.625	1250	1165.625
25	2783.75	2807.5	2705

Anexo7. Evolución de pesos por cada tratamiento



2.1.2 Desarrollo sexual de las gallinas

Anexo 8. Desarrollo sexual de las gallinas según la fecha de primer puesta

Tratamiento	Fecha de primera puesta	Intervalos de diferencia en puestas
T1 (Testigo)	24/01/18	
T2 (Chlorella)	2/02/18	T1 Y T3= 3días T1Y T2= 8 días
T3 (Nannochloropsis)	21/01/18	T2 Y T3= 11 días

3. Cualidades del huevo

3.1 Cualidades físicas

Las cualidades que presentaron los huevos obtenidos se presentan en la tabla siguiente

Anexo9. Promedio obtenido de los primeros huevos de las gallinas.

tratamiento	Diámetro polar (mm)	Diámetro ecuatorial(mm)	Peso en (g)
T1	54.83105263	40.8631579	50.5263158
T2	56.4726316	41.8042105	54.9473684
T3	54.0852632	41.1042105	49.2105263

Anexo 9.1. Promedio obtenido de los primeros 19 huevos de las gallinas.

Tratamiento	Peso en de la yema (g)
T1	33.46934
T2	34.2131
T3	34.24618

3.2 Cualidades nutritivas

*Carbohidratos

Anexo 10. Cantidad de carbohidratos en mg/g obtenidos del Tratamiento1 (Testigo).

Tratamiento 1 (testigo)			
Clave	Peso de la muestra (g)	Absorbancia de Lectura a 485nm	carbohidratos (mg/g de yema)
h1	0.0645	----	
h2	0.0517	1.262	155.0980934
h3	0.0506	1.379	174.9858837
h4	0.0568	0.825	86.21730382

h5	0.0507	0.911	108.7066779
-----------	--------	-------	-------------

Anexo 11. mg/g de carbohidratos obtenidos del Tratamiento2

Tratamiento 2 (<i>Chlorella.SP</i>)			
Clave	peso de la muestra(g)	Absorbancia de Lectura a 485nm	carbohidratos (mg/g de yema)
h1	0.0637	1.31	131.2626149
h2	0.0847	0.943	67.76859504
h3	0.0552	0.609	60.76604555
h4	0.0714	0.568	42.87715086
h5	0.0691	1.005	89.47694852

Anexo 12. Carbohidratos (mg/g) que se obtuvieron del Tratamiento3

Tratamiento 3 (<i>Nannochloropsis.SP</i>)			
Clave	peso de la muestra(g)	lectura a 485nm	carbohidratos (mg/g de yema)
h1	0.0806	0.595	40.37575328
h2	0.0582	0.504	44.74717722
h3	0.0682	0.71	59.76120654
h4	0.0619	0.69	63.53565659
h5	0.0584	0.682	66.36497065

**Lípidos*

Los resultados obtenidos en la extracción de lípidos se dividen en dos partes: lípidos polares y lípidos no polares.

1. Lípidos polares.

Anexo 13. Lípidos Totales (%) obtenidos del tratamiento1

Tratamiento 1(testigo)	
peso de la yema(g)	% de lípidos totales
0.2021	57.69421079
0.3108	59.16988417
0.322	74.47204969
0.2127	36.10719323
0.254	59.21259843

Anexo14. Lípidos Totales (%) obtenidos del tratamiento2

Tratamiento 2 (<i>Chlorella.SP</i>)	
peso de la yema(g)	% de lípidos otales
0.2694	56.8671121
0.3275	72.9465649
0.3158	71.7859405
0.2722	54.2248347
0.2846	39.5643008

Anexo 15. Lípidos Totales (%) obtenidos del tratamiento3

Tratamiento 3 (<i>Nannochloropsis.SP</i>)	
peso de la yema(g)	% de lípidos totales
0.3131	84.637496
0.2207	40.6887177
0.1765	79.490085
0.2216	59.2509025
0.2368	16.9341216

2. Lípidos no polares se muestran en las tablas

Anexo16. Lípidos no polares (%) obtenidos del tratamiento1

Tratamiento 1(testigo)	
peso de la yema(g)	%de lípidos no polares
0.1881	24.4550771
0.0993	25.2769386
0.1136	24.8239437
0.1743	17.6133104
0.1161	27.0456503

Anexo17. Lípidos no polares (%) obtenidos del tratamiento2

Tratamiento 2 (<i>Chlorella.SP</i>)	
peso de la yema(g)	%de lípidos no polares
0.0946	29.5983087
0.1448	18.6464088
0.1143	28.4339458
0.0942	30.5732484
0.1105	28.7782805

Anexo18. Lípidos no polares (%) obtenidos del tratamiento3

Tratamiento 3 (<i>Nannochloropsis.SP</i>)	
peso de la yema(g)	%de lípidos no polares
0.1582	24.7155499
0.1026	12.08577
0.1641	23.6441194
0.1231	32.3314379

0.1732	27.7136259
--------	------------

*Proteínas

Anexo19. Proteínas (%) obtenidos del tratamiento1

Tratamiento 1(testigo)	
peso de la yema(g)	%de proteínas
0.1881	39.31
0.0993	29.82
0.1136	13.68
0.1743	56.01
0.1161	32.28

Anexo20. Proteínas (%) obtenidos del tratamiento2

Tratamiento 2 (<i>Chlorella.SP</i>)	
peso de la yema(g)	%de proteínas
0.0946	31.89
0.1448	18.41
0.1143	22.03
0.0942	39.96
0.1105	54.06

Anexo21. Proteínas (%) obtenidos del tratamiento3

Tratamiento 3 (<i>Nannochloropsis.SP</i>)	
peso de la yema(g)	%de proteínas
0.1582	9.12
0.1026	53.72
0.1641	13.44

0.1231	33.82
0.1732	17.19

4. DISCUSIÓN

4.1 Cualidades del huevo

4.1.1 Cualidades físicas

Anexo22

Tabla1. ANOVA para Peso de la yema por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1.92959	2	0.964795	1.55	0.2518
Intra grupos	7.46752	12	0.622293		
Total (Corr.)	9.39711	14			

La razón-F, que en este caso es igual a 1.55039, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla2 . ANOVA para Ancho de huevo por TRATAMINETO

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	9.08001	2	4.54001	1.68	0.1952
Intra grupos	145.557	54	2.6955		
Total (Corr.)	154.637	56			

La razón-F, que en este caso es igual a 1.68429, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla3. ANOVA para Largo por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>de Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	2.55792	2	1.27896	0.38	0.6895
Intra grupos	40.0213	12	3.33511		
Total (Corr.)	42.5792	14			

La razón-F, que en este caso es igual a 0.383484, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla 4. ANOVA para Peso de huevo por TRATAMINETO

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>de Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	343.193	2	171.596	3.61	0.0339
Intra grupos	2568.84	54	47.5712		
Total (Corr.)	2912.04	56			

La razón-F, que en este caso es igual a 3.60715, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla 5. Pruebas de Múltiple Rangos para Peso por TRATAMINETO

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T1 - T2		-4.42105	4.48641
T1 - T3		1.31579	4.48641
T2 - T3	*	5.73684	4.48641

* indica una diferencia significativa.

4.1.2 Cualidades nutritivas Anexo23

**Carbohidratos*

Tabla 6 ANOVA para Carbohidratos por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>de Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	13285.4	2	6642.72	7.19	0.0101

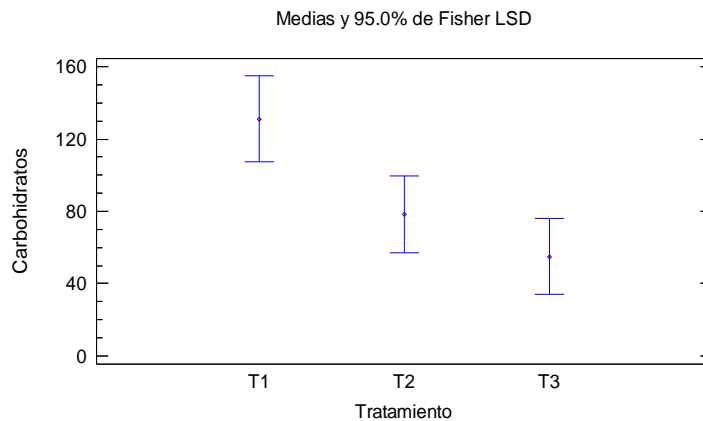
Intra grupos	10164.4	11	924.034		
Total (Corr.)	23449.8	13			

La razón-F, que en este caso es igual a 7.18883, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla 7. Tabla de comparación múltiple de medias que determina cuales son diferentes estadísticamente.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
T1 - T2	*	52.8217	44.8816
T1 - T3	*	76.295	44.8816
T2 - T3		23.4733	42.3148

* indica una diferencia significativa.



Gráfica 1. Gráfica de medias en la que se puede observar la diferencia que hay entre los tratamientos