



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA
APLICADA**

**“Estandarización de las condiciones de secado de
lisozima extraída de la clara de huevo para su aplicación
en la industria farmacéutica y alimenticia”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA
EN TECNOLOGÍA AVANZADA**

PRESENTA

I.Q IVONNE MAGDALENA CARO GONZÁLEZ

Directores de Tesis

**Dra. Diana Verónica Cortés Espinosa
Dr. Ángel Eduardo Absalón Constantino**

1. RESUMEN

El huevo es uno de los principales alimentos multifuncionales, fuente baja de calorías, alto contenido de proteínas en la clara y yema, y varios nutrientes importantes como el ácido fólico, colina, hierro, selenio, vitaminas A, B, D, E, potasio, carotenoides, antioxidantes, luteína y zeaxantina. Debido a que algunas proteínas presentes en la clara de huevo, poseen importantes características se ha despertado el interés para su aplicación industrial en forma pura, tal es el caso de la ovotransferina que enlaza hierro o iones metálicos, la avidina que enlaza biotina y la lisozima que posee actividad catalítica al provocar la lisis de la pared celular bacteriana. En el caso de la lisozima, es una enzima usada como conservador en alimentos procesados y como principio activo en el área farmacéutica, en la clara de huevo se encuentra presente en un 3.4% y actualmente en México esta enzima no se produce, por ello el interés por obtenerla, ya que se favorecen los procesos de producción de la industria mexicana al disminuirse los costos de importación.

Sin embargo actualmente existe un común impedimento para la elaboración de proteínas y enzimas comerciales, por su marginal estabilidad en solución acuosa. Esto es debido, a que el agua facilita o favorece una gran variedad de vías de degradación química y física de las proteínas durante su almacenamiento, transporte y/o envío y entrega. Por consiguiente para proporcionar una aceptable vida media de las proteínas es necesario desarrollar formulaciones de proteínas con menor contenido de agua para obtenerlas más estables en estado deshidratado. Existen diferentes formas de remover el agua pero desde la antigüedad la técnica más usada para esto es la técnica del secado. Por ello es importante desarrollar límites para la estabilidad de productos usando la actividad del agua y removiendo el agua se puede reducir la actividad del agua preferentemente por debajo de un diez por ciento en peso. Sin embargo la deshidratación provoca estrés en las proteínas, y en el caso de la liofilización el congelamiento es una adicional fuente de estrés.

En este trabajo se trabajó en la purificación de la fracción de lisozima extraída de la clara de huevo y en la obtención de cloruro de lisozima pura en estado seco de acuerdo a su aplicación, se probó con dos métodos de secado, el primer método fue la liofilización y el segundo el secado por aspersión en presencia de excipientes para favorecer la estabilidad de la proteína seca. La obtención de cloruro de lisozima de la clara de huevo con altos grados de pureza y altos rendimientos es un proceso de varias fases en el que intervienen distintos pasos como la cromatografía de intercambio iónico, precipitación, filtración, diálisis, obteniéndose a la proteína en estado acuoso.



Sin embargo el mantener a la proteína bajo estas condiciones se favorece su rápida desnaturalización por cambios fisicoquímicos, debido a que en su cadena de aminoácidos existen muchos grupos funcionales susceptibles a la degradación química y la estructura tridimensional óptima sufre alteraciones irreversibles con gran facilidad por ejemplo por exposiciones prolongadas de altas temperaturas, el descongelamiento constante , los cambios de pH y la desnaturalización de la proteína por la remoción de agua durante la deshidratación de la proteína debido a la pérdida de enlaces de hidrogeno necesarios para estabilizar la estructura secundaria de la proteína.

Esto obliga a desarrollar un protocolo de purificación que permitiera eliminar las impurezas presentes y un proceso de obtención de cloruro de lisozima deshidratada para obtener una proteína más estable, y al mismo tiempo mantener la integridad de la molecula. Al obtener una proteína en forma seca se eliminan las largas cadenas en frio, se facilita su transporte, entrega, y se puede reconstituir fácilmente antes de su uso.