

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA

GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS



DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA,
PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, TECNO-FUNCIONALES Y
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE HARINA DE GUSANO
(*Tenebrio molitor*)

TRABAJO FIN DE GRADO
Marzo 2019

Autor: Marina Gómez Tortosa
Tutor: Manuel Viuda Martos



Determinación de la composición química, propiedades físico-químicas, tecno-funcionales y actividad antioxidante de harina de gusano (*Tenebrio molitor*)

RESUMEN

Los insectos comestibles pueden ser una buena alternativa a las proteínas de la carne. Además de ser un aporte proteico importante, contribuyen a una producción sostenible con el medio ambiente, ya que tiene una alta eficiencia de conversión de alimentos, emiten niveles bajos de gases de efecto invernadero y los requerimientos de tierra, alimento y agua son mucho menores a los necesarios por parte del ganado convencional.

En el presente trabajo se determinó la composición química, propiedades físico-químicas y tecno-funcionales, así como la actividad antioxidante de la harina de gusano (*Tenebrio Molitor*) con el fin de obtener nuevos ingredientes que puedan ser útiles para la tecnología alimentaria en la innovación de alimentos.

Palabras clave: insectos, harina de gusano, proteínas, sostenibilidad.

Determination of the chemical composition, physical-chemical properties, techno-functional and antioxidant activity of worm flour (*Tenebrio molitor*)

ABSTRAC

Edible insects can be a good alternative to meat proteins. Besides being an important protein contribution, converting to a sustainable production with the environment, having a high efficiency in the conversion of food, emitting low levels of greenhouse effect and the requirements of land, food and water are much lower than those needed by part of conventional livestock.

In the present work the chemical composition, physical-chemical and techno-functional properties, as well as the antioxidant activity of the worm flour (*Tenebrio Molitor*) were determined in order to obtain new ingredients that could be useful for the food technology in the food innovation.

Keywords: insects, worm flour, proteins, sustainability.



ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	5
1.1. Definición del problema	5
1.2. Biodiversidad y eficiencia	7
1.3. Insectos	11
1.3.1. Consumo de insectos en el mundo	11
1.3.2. Composición nutricional	13
1.4 Gusano de la harina “<i>Tenebrio molitor</i>”	15
1.4.1. Características generales.	15
1.4.2. Composición nutricional de la lava del gusano de la harina.	16
1.5. Incorporación de insectos en los alimentos	18
1.5.1. Legislación	18
1.5.2. Seguridad alimentaria	19
1.5.3. Producción de insectos.	20
2. OBJETIVO	22
2.1. Objetivo general	22
2.2. Objetivos particulares	22
3. MATERIALES Y MÉTODOS	23
3.1. Materia prima	23
3.2. Métodos analíticos para la caracterización de la harina de gusano	23
3.2.1. Desgrasado	24
3.2.2. Composición química	25
3.2.3. Propiedades físico-químicas	27
3.2.4. Propiedades tecno-funcionales	28
3.2.5. Propiedades antioxidantes	34
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
4.1. Rendimiento	39
4.2. Composición química	39
4.3. Propiedades físico-químicas	40
4.4. Propiedades tecno-funcionales	41
4.5. Actividad antioxidante	45
5. CONCLUSIONES	49
6. BIBLIOGRAFÍA	50

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Definición del problema

Según el pronóstico de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la superficie destinada al ganado convencional tendría que crecer un 70 % para alimentar a la población del planeta en 2050, cuando se pronostica que alcance los 9.000 millones de personas ([de Oliveira, et al., 2017](#)), y es que, aunque el ganado proporcione hoy un 25 % de toda la proteína y el 15 % de la energía necesaria para el ser humano, su cría también supone un excesivo impacto ambiental ([Alexander, et al., 2017](#)).

La población de países desarrollados aumenta cada día, y con ello, los alimentos que consumimos en nuestra alimentación y las materias primas que empleamos para producirlos, aun así, las reservas de alimento son las más bajas en muchos años. Dentro de poco no se podrá satisfacer las necesidades de toda la población porque se consume más que se produce ([Salter, 2018](#)).

Este aumento generalizado de la población y del consumo de alimentos supone el aumento de la demanda de recursos naturales y con ello, la destrucción del medio ambiente. Destrucción influenciada por el cambio climático, la contaminación de tierras agrícolas, la sobreproducción de animales de abasto, la sobrepesca, la contaminación por fertilizantes y plaguicidas, disminución de los recursos hídricos y una serie de otros factores que significan que dicho aumento supondrá una carga desproporcionada para la ecosfera de la Tierra. ([Dossey, et al., 2016](#)). Por tanto, para satisfacer las necesidades mundiales de seguridad alimentaria y sostenibilidad, la producción de alimentos debe crecer sustancialmente, pero de forma sostenible y racional para poder minimizar la huella ambiental de la agricultura ([Van Mierlo, et al., 2017](#)).

Del otro lado está el caso contrario y es que la población de países con recursos limitados también aumenta, aunque en menor medida, pero el consumo de alimento es limitado. La FAO estima (Figura 1) que el número de personas subalimentadas en el mundo aumentó hasta los 815 millones en 2016, en comparación con los 777 millones de 2015. Además, se calcula que la prevalencia de la subalimentación aumentó hasta el 11% en 2016. El reciente

aumento es un motivo de gran preocupación, y es por eso por lo que se plantea como un punto importante dentro de los Objetivos del Desarrollo Sostenible (ODS) (FAO 2017).

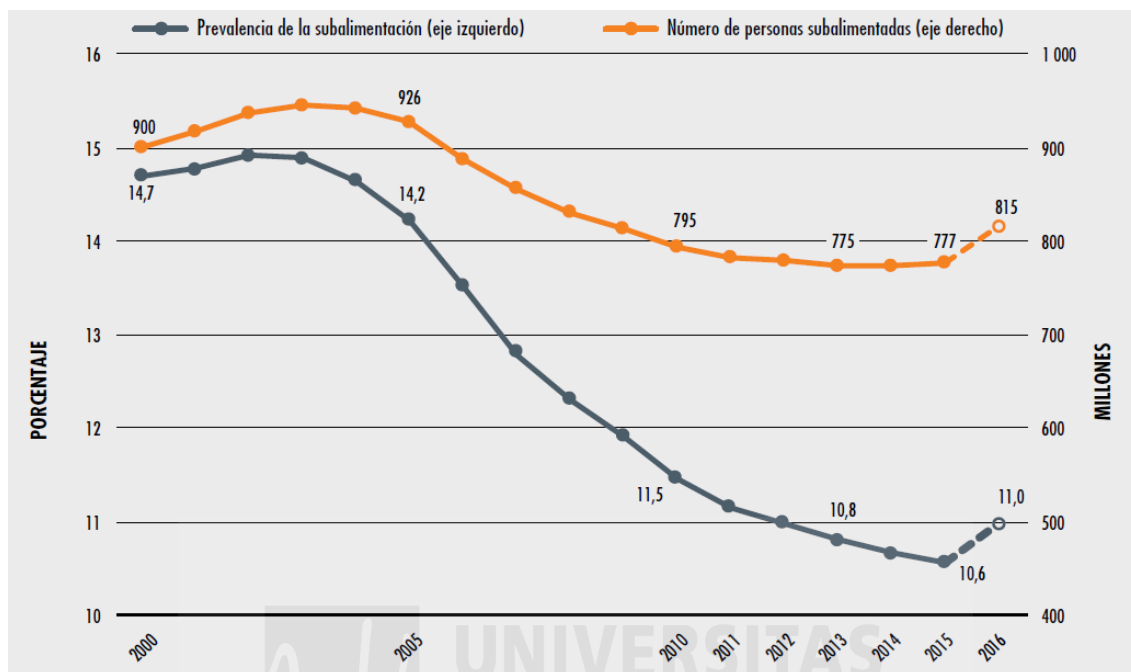


Figura 1. Prevalencia y número de personas subalimentadas en el mundo.

Fuente: FAO.

El ODS 2 insta a los países para “poner fin al hambre, lograr la seguridad alimentaria y la mejora de la nutrición y promover la agricultura sostenible” para 2030. Compuesto de ocho metas, el ODS 2 combina en el mismo objetivo el hambre, la seguridad alimentaria, la nutrición y la agricultura sostenible, y hace un llamamiento a la comunidad internacional para avanzar, con el fin de comprender cómo están relacionadas estas cuestiones entre sí y fomentar enfoques de políticas y medidas integradas (FAO, 2017).

Una alternativa es orientar a la población hacia el consumo de alimentos sostenibles con el medio ambiente mediante la incorporación de insectos como materia prima principal. Estos son una buena fuente proteica que, además de aportar nutrientes esenciales, puede contribuir en la reducción de la sobreproducción de animales y la sobrepesca (Patel, et al., 2019).

El problema es que en este país y en el resto de Europa el consumo de insectos no es una práctica habitual, la mayoría de la población presenta neofobia, miedo a probar nuevos alimentos. La entomofagia es una práctica que no está bien aceptada en la cultura occidental, y es que, a fin de cuentas, el consumo de insectos provoca cierta repugnancia (Schnettler, et al., 2013).

1.2. Biodiversidad y eficiencia

Los insectos son el grupo de animales más grande y diverso del planeta, según la *Royal Entomological Society* de Londres, organismo dedicado al estudio de los insectos y a la difusión de información sobre los mismos, se han descubierto y descrito más de un millón de especies de insectos, y se estima que puede haber entre 6 y 10 millones de especies en la tierra. Los científicos estiman que los insectos constituyen el 90% de todas las especies de animales en el planeta y más de la mitad de todos los seres vivos (van Huis, et al., 2013). Sin embargo, es el grupo más infrautilizado por los seres humanos, ya que solo tratamos de eliminarlos en lugar de buscar la forma de utilizarlos (Dossey, et al., 2016). Y es que, tienen muchos atributos beneficiosos que los hacen un recurso alimentario altamente nutritivo y sostenible a gran escala.

Uno de los principales motivos por el que los insectos son una buena alternativa de producto sostenible es que, son muy eficientes en la biotransformación de materia orgánica en masa corporal de insecto comestible, por ejemplo, las larvas de insectos de diferentes especies criadas en cautiverio y en condiciones preestablecidas, convierten la biomasa vegetal en biomasa animal hasta 10 veces más eficientemente que el ganado convencional (Alves, et al., 2016). Esto es debido a que los insectos son poiquiloterms, es decir, utilizan menos energía para el calor corporal (Dossey, et al., 2016), por lo que, en comparación con otros animales de abasto, consumen mucho menos alimento para ganar más peso y requieren menos agua. Los insectos pueden convertir 2 kg de alimento en 1 kg de masa de insecto, mientras que el ganado requiere 8 kg de alimentos para producir 1 kg de aumento de peso corporal (Van Huis, et al., 2013). En cuanto a peso comestible, por ejemplo, del grillo se puede consumir el 80 % del animal, el 100 % en el caso de larvas de *tenebriónidos*, mientras que del ganado vacuno

se aprovecha tan solo el 40 % y del porcino y avícola el 55 % como se muestra en la Figura 2 (Pombo Losada, 2018).

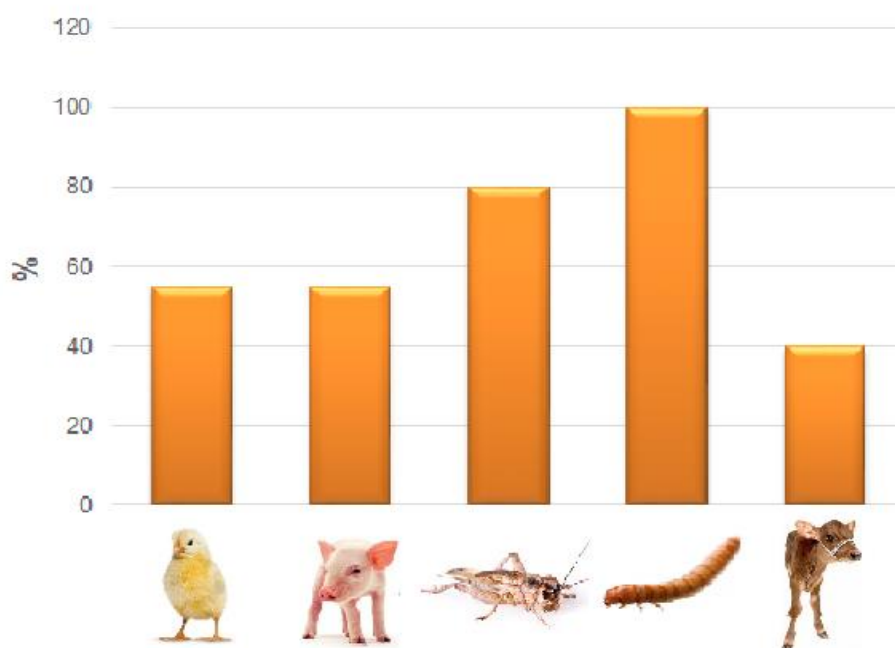


Figura 2. Porcentaje de peso comestible de diferentes especies.

Fuente: elaboración propia a partir de los datos aportados por (Pombo Losada, 2018).

MH Miguel Hernández

Además, consumen alimentos vegetales no aptos para el consumo humano o subproductos agrícolas, por lo que no compiten con nuestro suministro alimentario como pasa en el caso del ganado (Dossey, et al., 2016).

Otra razón importante de sostenibilidad es que tienen un ciclo vital corto, ya que son muy prolíficos y de vida útil corta. Por ejemplo, los grillos pueden completar una generación en un par de meses y una hembra de grillo puede producir más de 1500 huevos en su vida (Dossey, et al., 2016). En general, las hembras producen cientos o incluso miles de huevos, por lo que las granjas de insectos pueden dedicar menos recursos a los animales reproductores que las granjas tradicionales (van Huis y Oonincx., 2017).

También son responsables de una huella de carbono relativamente baja, ya que emiten niveles más bajos de gases de efecto invernadero que otros animales vertebrados, como el ganado vacuno o porcino (Soares de Castro, et al., 2018). El potencial de calentamiento global de los gusanos de la harina por kg de

proteína comestible (Figura 3) es bajo en comparación con la leche, el pollo, el cerdo, y mucho más con respecto a la carne de res (Ooninx y Boer, 2012).

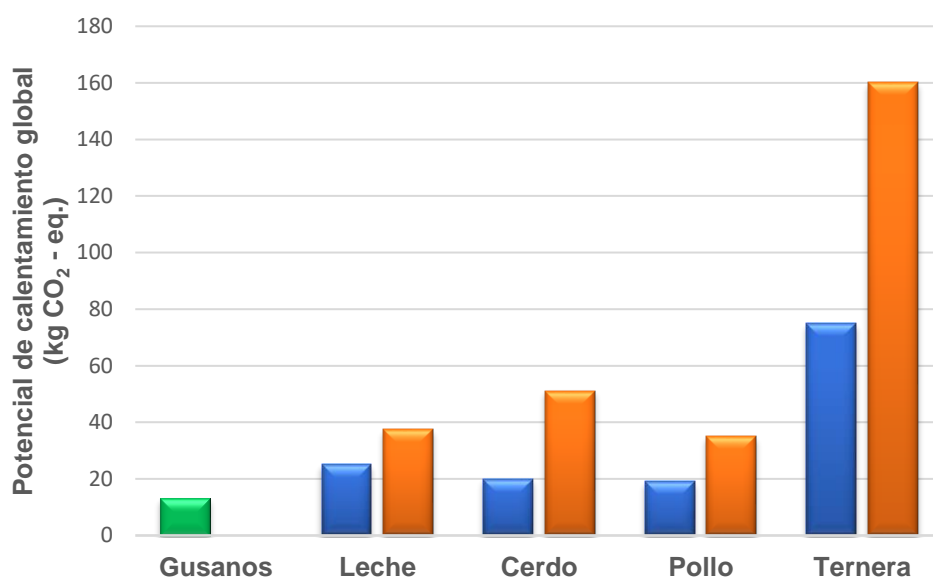


Figura 3. Potencial de calentamiento global debido a la producción de un kg de proteína comestible. Los resultados del estudio se presentan en verde (Ooninx y Boer, 2012). Los datos bibliográficos mínimos y máximos aparecen en azul y naranja, respectivamente (de Vries, et al., 2010).

Como consecuencia a todo lo comentado anteriormente la superficie dedicada a la producción es menor (Figura 4), principalmente porque no se requieren grandes espacios para su cría y dependen menos de la tierra que la actividad ganadera convencional, lo que repercute en menos superficie dedicada a cultivar su pienso y menor necesidad de riego de cultivo (Pombo Losada, 2018). Esto lleva a la conclusión de que pueden reproducirse en espacios modulares o verticalmente, por lo que esta práctica también podrá llevarse a cabo en ciudades con poco terreno cultivable (Dossey, et al., 2016).

Los insectos se encuentran en todos los ecosistemas terrestres y de agua dulce donde ocupan una gran variedad de nichos, participando en todos los procesos ecológicos (Galante, et al., 2015). Este grupo de animales presenta una alta diversidad de hábitos tróficos, pudiendo ser fitófagos, saprófagos, descomponedores, depredadores o parasitoides, siendo los principales responsables del reciclaje de más del 20% de la biomasa vegetal terrestre

(Samways, 2005), y uno de los principales degradadores de restos de origen animal (Galante y Marcos-García, 2004a).

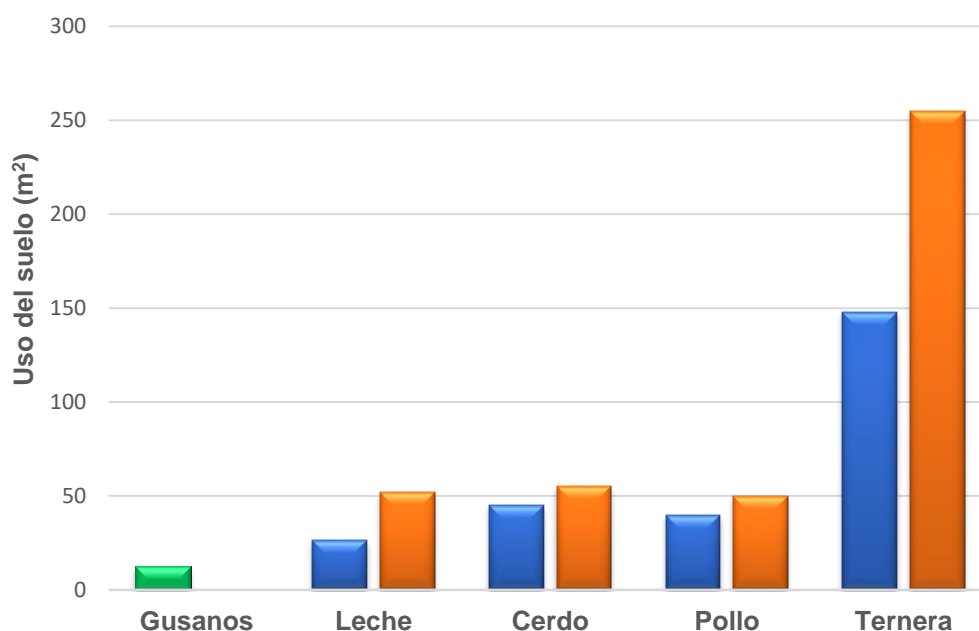


Figura 4. Uso del suelo debido a la producción de un kg de proteína comestible.

Los resultados del estudio se presentan en verde (Oonincx y Boer, 2012). Los datos bibliográficos mínimos y máximos aparecen en azul y naranja, respectivamente (de Vries, et al., 2010).

A pesar de su gran diversidad, del impacto ambiental favorable en comparación con el de otros productos de origen animal y del papel que los insectos tienen en el funcionamiento de los ecosistemas, generalmente no son tenidos en cuenta en las políticas de conservación de la biodiversidad (Cardoso, et al., 2011).

Actualmente en España se observa un declive generalizado de las poblaciones de numerosos grupos de animales no vertebrados, y en particular de insectos (Figura 5), siendo este proceso la manifestación del impacto causado por las drásticas alteraciones y transformaciones de los hábitats, ligadas principalmente a la expansión urbanística, la contaminación y la intensificación agrícola (Galante, et al., 2015).

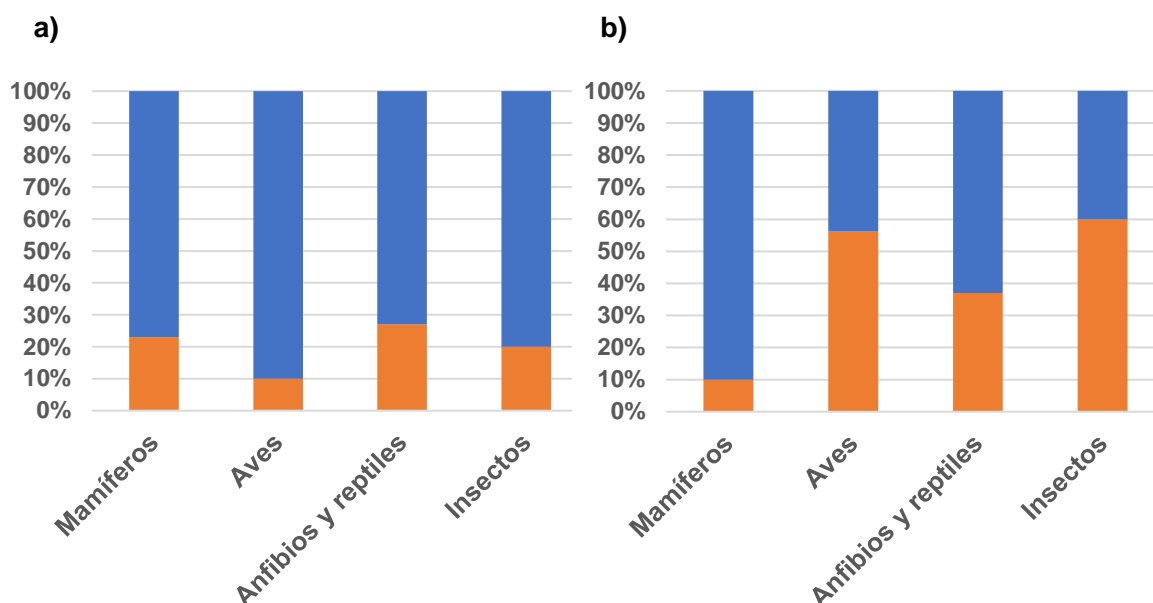


Figura 5. Porcentaje de especies evaluadas con categoría de amenaza: a) Lista Roja de la UICN (UICN 2015) a nivel mundial; b) Lista Roja de España (MAGRAMA 2015). Especies amenazadas (naranja), especies no amenazadas o con datos deficientes (azul) (Galante, et al., 2015).



1.3. Insectos

1.3.1. Consumo de insectos en el mundo

Entomofagia es el término utilizado para describir el proceso de ingerir insectos como alimento (Gahukar, 2011), no es una práctica rara o marginal, ya que es una fuente importante de proteínas para muchas culturas como los tribales de Sudamérica, África, Asia y Oceanía y también para poblaciones urbanas como las de Pekín, Tokio y el Distrito Federal de México (Pijoan, 2001). La entomofagia se practica tradicionalmente en 113 países (Mac Evilly, 2000), se han consumido 2100 especies diferentes de insectos (Jongema, 2017) en varios países del mundo y forman parte integral de la dieta de más de 2 mil millones de personas (Figura 6) (van Huis, et al., 2013). Esta cifra sigue aumentando conforme se llevan a cabo más estudios sobre este tema. La mayoría de estas especies conocidas se recogen directamente del medio natural, por lo que datos disponibles sobre las cantidades de insectos consumidos en todo el mundo son escasos (FAO, 2013)

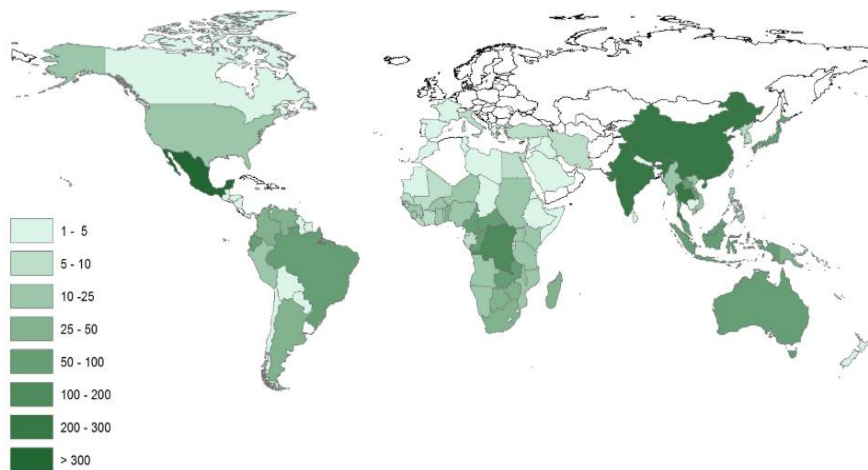


Figura 6. Especies de insectos consumidas por países. Fuente: [Jongema, \(2017\)](#).

Según los datos publicados en la bibliografía, los insectos más consumidos son el grupo de los coleópteros representado con un 31%, seguido de los lepidópteros con un 18% y de los himenópteros y ortópteros, con un 14 y 13% respectivamente. Les siguen los hemípteros con un 10%, y a la cola están los isópteros y los odonatos, ambos representados por un 3% y los dípteros con un 2%. Otros órdenes están representados por el 5% restante (Figura 7) ([van Huis, et al., 2013](#)).

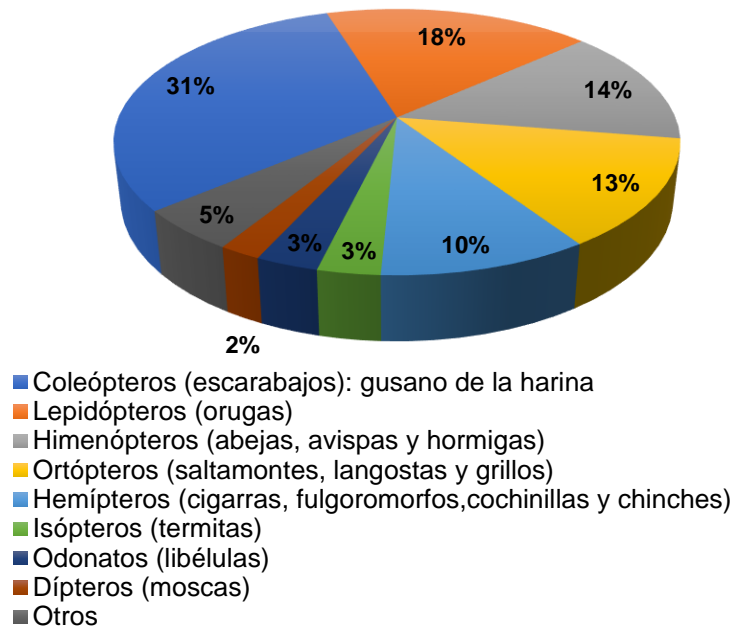


Figura 7. Porcentaje de insectos más consumidos a nivel mundial.

Fuente: elaboración propia a partir de datos de la [FAO, \(2013\)](#).

1.3.2. Composición nutricional

Debido a la diversidad de insectos consumidos en el mundo resulta complicado hacer un resumen del aporte nutritivo basado en su composición. Además, el valor nutritivo de estos se ve muy influenciado por otros aspectos como el hábitat, la dieta, el estado metamórfico en el que se encuentre o el tipo de cocinado al que posteriormente sean sometidos (van Huis, et al., 2013).

En la tabla 1 se muestran datos sobre la composición nutricional de diferentes especies de insectos comestibles recogidas a partir de diferentes fuentes de información. Los valores aportados se expresan por 100 g de parte comestible.

Los datos muestran una variación considerable dentro de las diferentes especies de insectos, particularmente para nutrientes clave como proteínas, grasas y grasas saturadas (Payne, et al., 2016). Por ejemplo, la desviación estándar del contenido de proteína del grillo común ($15,6 \pm 8,1$ g) y el gusano de la harina ($20,9 \pm 9,48$ g) excede el 50% de la media, lo mismo ocurre con el contenido de grasa de la termita ($24,5 \pm 6,78$ g) y de las larvas del picudo ($31,8 \pm 15,6$ g), y el contenido de grasa saturada del gusano de seda ($2,30 \pm 2,23$ g), las larvas del picudo ($17,5 \pm 20,9$ mg) y la termita ($3,63 \pm 1,90$ g). En la tabla 1 se recoge la media y desviación estándar de nutrientes para diferentes insectos comestibles.

Con todo y con ello es relevante el elevado contenido en proteínas, grasa y micronutrientes que presentan, aunque haya diferencias importantes entre ellos que impidan agruparlos en unos valores de referencia concretos.

Las proteínas de los insectos, comparadas con las de la carne y con las de origen vegetal, presentan niveles más altos de proteínas de alta calidad, de proteína total y de perfil de aminoácidos esenciales (Bukkens 2005; Rumpold y Schlüter 2013), debido al alto contenido de aminoácidos esenciales como la fenilalanina y tirosina. En cuanto a las grasas, en general, poseen altas cantidades de ácidos grasos insaturados en relación con los saturados (Finke, 2002; Rumpold y Schlüter, 2013; Tzompa, et al., 2014). El aceite extraído a partir de las larvas presenta 51,33% de ácido oleico y 22,47% de ácido linoleico lo cual lo hace una alternativa interesante para consumo (Valdez Pantoja y Untiveros Bermúdez, 2010).

En referencia a los micronutrientes presentan minerales como Fe, Ca, P, Cu, Mg, Mn y Zn, y también gran variedad de proteína lipofílicas como la riboflavina, ácido pantoténico, biotina, vitamina B12 y ácido fólico (Finke, 2002; Rumpold y Schlüter, 2013; van Huis, et al., 2013; Xiaoming, et al., 2010). Por otro lado, no son una fuente eficiente de vitamina A, vitamina C, niacina y, en la mayoría de los casos, de tiamina (Rumpold y Schlüter, 2013).

Cabe señalar que el contenido de vitaminas y minerales en los insectos comestibles silvestres es estacional y que, en el caso de las especies criadas en granja, puede controlarse por la alimentación (Kouřimská y Adámková, 2016).

Tabla 1. Media y desviación estándar de nutrientes para diferentes insectos comestibles.

	Grillo	Gusano de seda	Termita	Hormiga tejedora	Gusano de la harina
Materia seca (g)	32,4±6,93	33,7 ± 12,6	71,9±23,7	40,5±12,6	41±15,3
Proteína cruda (g)	15,6±8,1	17,9±7,76	24,5±6,78	10,8±7,96	20,9±9,48
Grasas (g)	4,56±2,15	10,2±4,58	28,2±8,79	10,8±12,3	14,7±8,28
Grasas saturadas (mg)	2.280	2.300±2.230	13.900±5.260	-	3.630±1.900
Fe (mg)	6,11±4,96	1,8	12,3±14,4	8,15±3,46	2,47±1,11
Zn (mg)	11±5,95	-	1,77±1,67	4,9	6,05±3,52
Ca (mg)	99,6±79,2	42	19,2±14,8	35,5±17,7	77,5±87,3
K (mg)	505±229	139	143±106	222	351±7,76
Vit. A (µg)	14,4±11,9	-	5,61±4,99	0	16,9±12,2
Vit. E (mg)	2,26±1,77	-	0,0036	-	1,310±0,744
Vit. D (µg)	640	-	2,22	-	640
Vit. B5 (mg)	2,3	-	-	-	2,62
Vit. B9 (mg)	150	-	125±91,7	-	0,157
Vit. B12 (µg)	5,37	5,58	-	-	0,47

Fuente: elaboración propia a partir de los datos de (Payne, et al., 2016).

1.4 Gusano de la harina “*Tenebrio molitor*”.

1.4.1. Características generales.

El *Tenebrio molitor* (Linnaeus, 1758), perteneciente a la familia *Tenebrionidae*, y está incluido en el orden Coleóptera de la clase Insecta (Ramos-Elorduy, et al., 2002). Se conoce comúnmente como “Gusano de la Harina”, aunque la denominación correcta sería larva de *Tenebrio molitor*, por ser la segunda etapa del ciclo de vida de este insecto.

Como muestra la Figura 8, el ciclo de vida del gusano de la harina se divide en 4 etapas y dura de 4 a 5 meses a una temperatura aproximada de 28° C: huevo, larva, crisálida y escarabajo. (Soto, 2003).

El huevo de la especie se caracteriza por ser blanco y pegajoso, tiene forma de frijol y de tamaño comparable a una mota de polvo. El período larvario es de aproximadamente 3 meses. Las larvas tienen un color entre amarillo y marrón claro, con un tamaño que varía entre los 20 a los 32 mm de largo y presentan un exoesqueleto duro el cual mudará hasta 12 veces durante su ciclo de vida. Durante esta etapa el gusano de la harina comerá y crecerá, ahorrando energía para la próxima transformación. (Aguilar-Miranda, et al., 2002; Soto, 2003; Ramos-Elorduy, et al., 2002)

Con la última muda las larvas se transforman en crisálidas semi-endurecidas, de forma curva y color crema, este estado dura de 5 a 6 días o incluso 2 semanas, dependiendo de la temperatura de incubación. De la crisálida sale un escarabajo de color marfil que a los pocos días se va endureciendo y cambiando su color a negro, presenta alas pero no puede volar y vive aproximadamente de 2 a 3 meses (Aguilar-Miranda, et al., 2002; Soto, 2003; Ramos-Elorduy, et al., 2002).

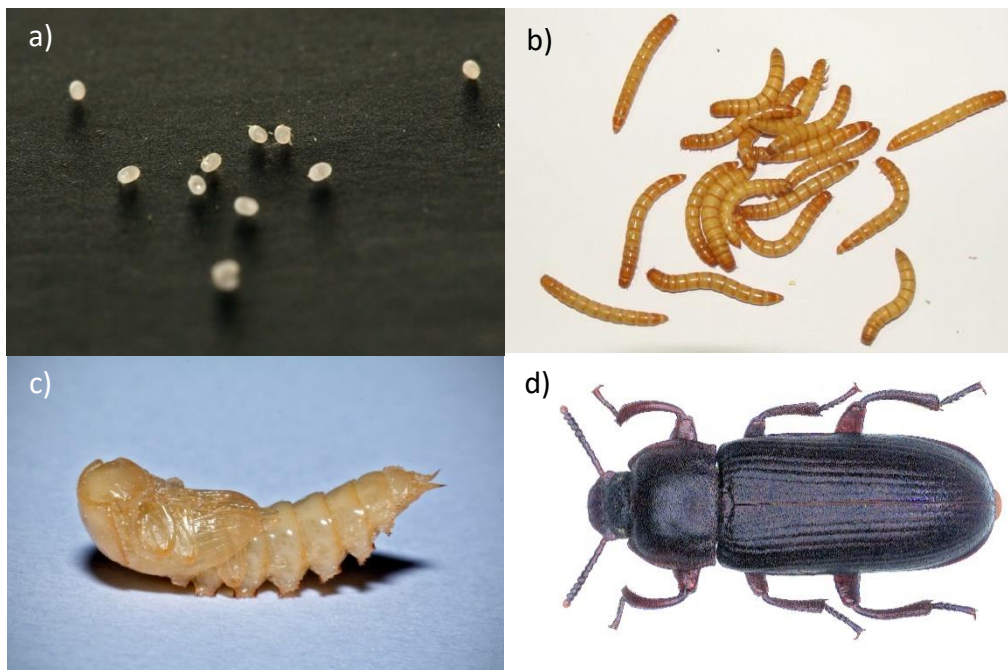


Figura 8. a) huevos b) larvas c) crisálida d) escarabajo.

Estos insectos son muy resistentes, y proporcionándoles una temperatura adecuada, se reproducen en abundancia ya que las hembras adultas de *T. molitor* ponen un promedio de 500 huevos de 4 a 17 días después de la cópula. (Aguilar-Miranda, et al., 2002) Las condiciones óptimas para *T. molitor* son 25 °C de temperatura y una humedad relativa de 60-75 % (Garrucho, 2017; Punzo, 1975; van Broekhoven, et al., 2015). Por ello, las temperaturas más comunes de cría para los gusanos de la harina entran dentro del rango de entre 25 y 28 °C (Garrucho, 2017; Kim, et al., 2015; Koo, et al., 2013; Punzo, 1975).

Por ello, con la temperatura, el espacio y la alimentación necesaria, una colonia puede aumentar hasta un 8000% de una generación a otra en un periodo de 6 meses (Soto, 2003).

1.4.2. Composición nutricional de la lava del gusano de la harina.

Nutricionalmente destaca por su contenido de proteínas y lípidos. Su valor nutricional en peso seco es de 53 % de proteína, 28 % de grasa, 6 % de fibra y 5 % humedad. Los principales ácidos grasos obtenidos son ácido linolénico (19,7 %), ácido palmítico (17,6 %), ácido linoleico (16,3 %) y ácido esteárico (11,4 %). La energía bruta del gusano de la harina es de aproximadamente 206 kcal/100 g de peso fresco, dependiendo de la dieta del insecto (Mariod, et al., 2017).

La composición nutricional varía entre las distintas etapas del desarrollo. Aunque el mayor contenido de proteína y el menor de grasa se encuentra en los escarabajos adultos (Kouřimská y Adámková, 2016), son las especies que se consumen en su forma larvaria las que tienden a tener un mayor contenido de grasa, un resultado que cabe de esperar, ya que deben almacenar sus grasas para usarlas como energía metabólica y para apoyar otras funciones metabólicas durante sus etapas pupales, a menudo inmóviles (Dossey, et al., 2016).

Tabla 2. Composición nutricional de *Tenebrio molitor* en estado larval y adulto.

Fuente:

Componente	Larva
Proteína cruda (g)	5,33
Grasas (g)	46,44
Ácidos grasos saturados (g)	22,26
Ácidos grasos insaturados (g)	77,74
Omega 3 (g)	46,1
Omega 6 (g)	31,64
Fibra (g)	32,7
Humedad (g)	4,58
Cenizas (g)	2,86
Vitamina B12 (µg)	0,47
Calcio (mg)	434.59
Fósforo (mg)	7060.7
Potasio (mg)	9479.73
Hierro (mg)	66.87
Sodio (mg)	3644.84
Magnesio (mg)	2026.88
Zinc (mg)	104.28

elaboración propia a partir de los datos obtenidos de (Ravzanaadii, et al., 2012). Proteínas, grasas, fibra, humedad y cenizas expresado en g/ 100g muestra. Perfil lipídico expresado en g/ 100g de proteína. Minerales expresados en mg/ kg de muestra. Vitamina B12 en µg/kg de muestra.

En la tabla 2 se muestra la composición de macronutrientes y micronutrientes de las larvas, en la cual se observa para las larvas que la cantidad de proteína cruda es de 5,33 g/100g de muestra y la de grasa 46,41 g/100g de muestra, con una

cantidad de 77,74 g/100g de muestra de ácidos grasos insaturados y presencia de vitamina B12 (0,47 µg/kg de muestra).

1.5. Incorporación de insectos en los alimentos.

1.5.1. Legislación.

La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria publicó una lista de insectos comestibles y los riesgos microbiológicos, químicos y ambientales asociados con el consumo de insectos y su producción para alimentación humana y animal. Algunas sustancias tóxicas y alergénicas se encuentran entre los riesgos potenciales del consumo de insectos, por esta razón, los insectos comestibles se incluyeron en el nuevo reglamento sobre autorización de nuevos alimentos de la UE, que se publicó en noviembre de 2015.

Desde el 1 de enero de 2018 es de aplicación en todos los Estados miembros de la Unión Europea el [Reglamento \(UE\) 2015/2283](#) del Parlamento Europeo y del Consejo de 25 de noviembre de 2015 relativo a los nuevos alimentos, por el que se modifica el Reglamento (UE) nº 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo y se derogan el Reglamento (CE) nº 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo y el Reglamento (CE) nº 1852/2001 de la Comisión.

En dicho reglamento los insectos están incluidos en la definición de «nuevo alimento», en la categoría de alimento que consista en animales o sus partes, aislado de estos o producido a partir de estos, que las personas no hayan consumido en una medida importante en la Unión Europea antes del 15 de mayo de 1997, fecha límite que fija el Reglamento.

En consecuencia, cualquier operador que quiera comercializar insectos para alimentación humana en la Unión Europea, debe presentar una solicitud de autorización o de notificación, siguiendo uno de los dos procedimientos descritos en el reglamento, bien el procedimiento de solicitud de autorización de nuevos alimentos, o bien, el procedimiento de notificación para alimentos tradicionales de terceros países, que se basará en el historial de uso alimentario seguro en un tercer país, de manera que tales alimentos deben haber sido consumidos en al menos un tercer país durante por lo menos veinticinco años como parte de la dieta habitual de un número significativo de personas. Una vez que la Comisión

Europea lo incluya en la lista de la Unión Europea se podrá iniciar su comercialización.

La revisión por parte de la UE pretende evitar los riesgos que puede acarrear el consumo de insectos y que deben ser tenidos en cuenta. Se recomienda consumir insectos que hayan sido criados en granjas en condiciones controladas (Adámková, Kourimská et al., 2016).

1.5.2. Seguridad alimentaria.

El riesgo de transmisión de enfermedades de humanos a animales y viceversa, podría aumentar con el uso descuidado de los productos de desecho, el manejo inadecuado de insectos con respecto a cuestiones de higiene y el contacto directo entre insectos de granja e insectos silvestres, debido a la débil bioseguridad. Debido a que los insectos están taxonómicamente más alejados de los humanos que el ganado convencional, se espera que el riesgo de infecciones zoonóticas sea bajo en comparación con los mamíferos o aves, aunque el tema debe investigarse a fondo (van Huis, et al., 2013).

Los artículos publicados hasta la fecha sobre este tema muestran que las cargas de patógenos humanos en insectos de cría, en concreto grillos y gusanos de la harina, son muy bajas y los patógenos comunes transmitidos por los alimentos parecen estar ausentes, en dichos estudios no se logró aislar *Salmonella spp.* ni *Listeria monocytogenes* en muestras de insectos (Giaccone, 2005; Klunder, et al., 2012).

Según la FAO, (2013) no se conocen casos de transmisión de enfermedades o parasitoides a humanos derivados del consumo de insectos, siempre que hayan sido manipulados en condiciones favorables de higiene como cualquier otro alimento. Aun así, pueden producirse alergias comparables a las de crustáceos. Las glicoproteínas, incluidos los alérgenos del veneno de los insectos, como la fosfolipasa A y la hialuronidasa son las principales estructuras alergénicas en los insectos (Soares de castro, et al., 2018).

La revisión llevada a cabo por Marefu, et al., (2019) mostró que el método de producción a través del cual se producen los insectos comestibles y los métodos de procesamiento son unos de los factores clave que afectan a la seguridad

alimentaria. Así como la especie de insecto, el alimento que consumen y el entorno que habitan también influyen sustancialmente en la presencia de peligro (Schabel, 2010).

1.5.3. Producción de insectos.

En el consumo de insectos comestibles se pueden diferenciar tres vertientes claras, por un lado, el consumo de insectos enteros con un mínimo procesado, esta práctica se lleva a cabo en todo el mundo, pero principalmente en regiones de Asia, África y América donde están incluidos en su cultura gastronómica (FAO, 2013). En los países occidentales esta forma de consumo se da menos, por lo que se ofrecen como ingrediente principal de productos en forma de harinas y extractos de grasas.

Las especies más utilizadas por la industria alimentaria para la producción de alimentos son tres: grillo doméstico, *Acheta domesticus* L., el gusano de la harina, *Tenebrio molitor* L., y la mosca soldado, *Hermetia illucens* L. Actualmente existen diversas empresas que se dedican a la cría de insectos, tanto para alimentación humana como alimentación animal, incluyendo empresas ubicadas en Europa.

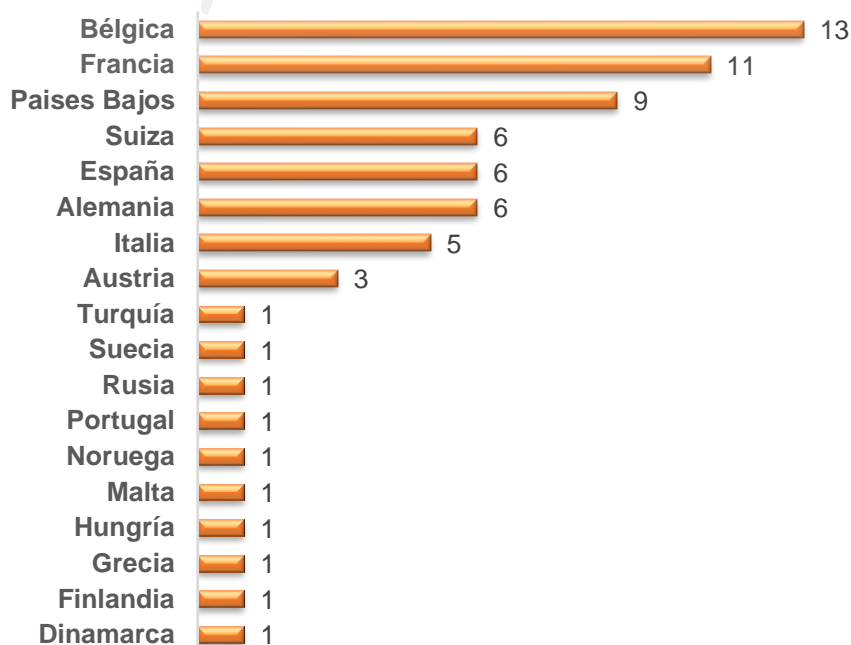


Figura 9. Número de empresas dedicadas a la cría, importación y/o exportación de insectos como pienso, alimentación humana y/o derivados de insectos en Europa. Fuente: FAO (2017a)

En España, emprendedores ya se están haciendo eco de las posibilidades de negocio de los insectos. Existen algunas iniciativas como Insagri una empresa dedicada a la producción de grillos y gusanos de la harina; Insectfit, que comercializa barritas proteicas con harina de grillo o Don Grillo, que se anuncia como la primera empresa que comercializará insectos comestibles en España.



2. OBJETIVO

2.1. Objetivo general

El objetivo general del presente trabajo fin de grado es la obtención y caracterización de harina a partir de la larva del gusano de la harina (*Tenebrio molitor*).

2.2. Objetivos particulares

Para alcanzar este objetivo general se plantean los siguientes objetivos particulares:

- Determinar la composición química de la harina de gusano: contenido en proteína, contenido en grasa, contenido en cenizas y contenido en humedad.
- Determinar la composición físico-química de la harina de gusano: pH, actividad de agua y color.
- Determinar las propiedades tecno-funcionales de la harina de gusano: capacidad de retención de agua, capacidad de retención de aceite, capacidad de hinchamiento, capacidad y estabilidad de formación de espuma, capacidad de formación de la emulsión y estabilidad de la misma.
- Determinación del poder antioxidante de la harina de gusano con cuatro metodologías distintas: capacidad de secuestro de radicales (métodos DPPH y ABTS) capacidad de quelación del ion ferroso (FIC) y Capacidad de reducción del ion férrico (FRAP).

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. Materia prima.

La materia prima, larvas del gusano de la harina (*Tenebrio molitor*) fue suministrada por la empresa “La Grillería”, ubicada en Valencia. Los gusanos llegaron vivos al día siguiente de realizar el pedido, para evitar que pasen el menor tiempo posible en el paquete y en transporte refrigerado.

Para poder trabajar con ellos hubo que sacrificarlos previamente. Este proceso se realizó introduciendo los gusanos vivos en el congelador a una temperatura de -20°C durante 3 días para bajar su temperatura corporal y paralizar su metabolismo, provocando así su muerte.

3.2. Métodos analíticos para la caracterización de la harina de gusano.

Para llevar a cabo estas determinaciones, tras el sacrificio, los gusanos tuvieron que ser liofilizados (Figura 10a) durante 24h en un liofilizador B. Braun Biotech Christ Alpha 2-4 (Figura 11) y molidos. Tras la molienda, se obtuvo una pasta debido a la elevada cantidad de grasa que presentan este tipo de insectos (Figura 10b), nada parecida al polvo fino de una harina, por lo que el resultado no fue el esperado. De tal manera que para llegar al objetivo propuesto se decidió llevar a cabo un proceso de desgrasado.



Figura 10. a) *Tenebrio molitor* liofilizado; b) *Tenebrio molitor* liofilizado y molido.



Figura 11. Liofilizador B. Braun Biotech Christ Alpha 2-4.

3.2.1. Desgrasado.

Los gusanos se introdujeron en tres matraces diferentes con hexano en proporción 1:5 y se introdujo en un baño de ultrasonidos sin control de temperatura durante 2h como se muestra en la figura 12. A continuación, se filtró con un Kitasato acoplado a un embudo buchner. Las muestras se pasaron a una bandeja y se llevó a la estufa a 30°C durante 24h. Después, se volvió a pasar por el molinillo (Figura 13).

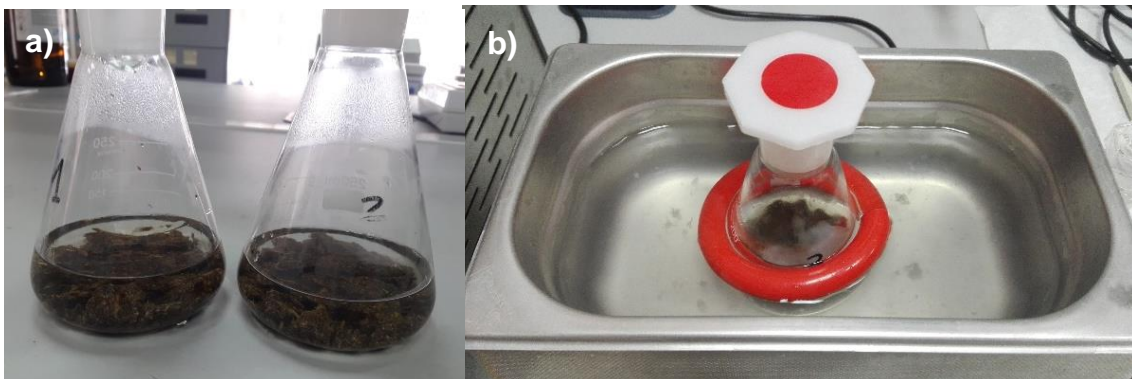


Figura 12. a) Gusanos en hexano; b) Gusanos en hexano puestos a ultrasonidos.

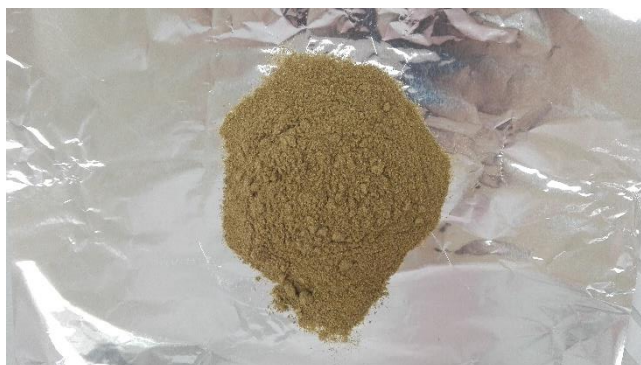


Figura 13. Gusano desgrasado molido (harina de *Tenebrio molitor*).

3.2.2. Composición química.

3.2.2.1. Proteínas

La determinación del contenido en proteínas se realizó según el método AOAC 24.007 (AOAC, 2000), utilizando el digestor BüchiDigestionUnit modelo 426 (Figura 14) y el destilador BüchiDestillationUnit modelo B-316 (Büchi, Suiza) (figura 15). Todas las determinaciones se realizaron por triplicado y el factor que se usó fue de 6,25 para convertir el porcentaje de nitrógeno en porcentaje de proteína, el cual fue proporcionado directamente por el programa. El resultado se expresó en g de proteína/ 100 g de muestra.



Figura 14. Digestor BüchiDigestionUnit modelo 426.



Figura 15. Destilador BüchiDestillationUnit modelo B-316.

3.2.2.2. Grasas

La determinación del contenido lipídico se realizó de acuerdo con el método oficial de la AOAC 24.005 (AOAC, 2000), utilizando el extractor Soxhlet J.O, Selecta Mo.6003286 (J.O Selecta S.A., Abrera, Barcelona, España) (Figura 16).

Los resultados se expresaron en g grasa/100 g de muestra. Las muestras se analizaron por triplicado.



Figura 16. Extractor Soxhlet J.O, Selecta Mo.6003286.

3.2.2.3. Cenizas.

El contenido de cenizas se determinó según el método de la AOAC 24.009 (AOAC, 2000) y las determinaciones se realizaron por triplicado. Para su determinación se utilizó una mufla Habersal modelo 12-PR1300 PAD (Habersal S.A., Caldes de Montibui, Barcelona, España) (Figura 17a). Se aumentó la temperatura de las muestras gradualmente hasta alcanzar una temperatura de 550°C para conseguir un polvo blanquecino (Figura 17b). Finalmente, este resultado se determinó por una diferencia de peso y fue expresado en g cenizas/ 100 g muestra.

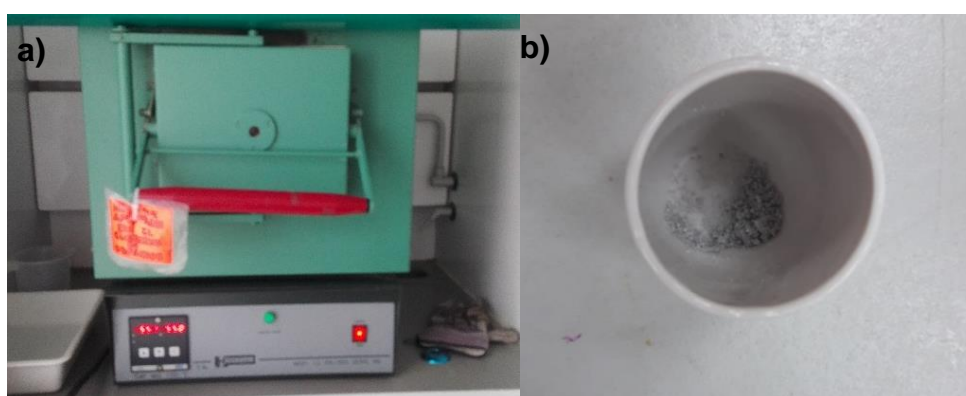


Figura 17. a) Mufla Habersal modelo 12-PR1300 PAD; b) Cenizas obtenidas tras salir de la mufla.

3.2.2.4. *Humedad*

La determinación del contenido de humedad se realizó según lo descrito por el método de la AOAC 24.003 (AOAC, 2000). Se sometieron las muestras, por triplicado, a una temperatura de 105°C durante 24h hasta alcanzar peso constante en una estufa modelo P. selecta (Barcelona, España) (Figura 18). los resultados se determinaron por diferencia de peso y se expresaron en g agua/100 g de muestra.



Figura 18. Estufa modelo P. selecta.

3.2.3. *Propiedades físico-químicas.*

3.2.3.1. *pH.*

Para la determinación del pH, se disolvió 1 gramo de muestra en 10 mL de agua destilada y desionizada. Se determinó el pH de la suspensión mediante un pH-metro GLP 21 Crison (Eutech Instruments Pte Ltd., Singapur) por duplicado.

3.2.3.2. *Actividad de agua (Aw).*

La medida de la actividad de agua se realizó por triplicado, utilizando un equipo Novasina Thermoconstanter Srpint TH-500 (Pfäffikon, Suiza) a una temperatura de 25±1 °C. Las muestras se introducían en unas cápsulas de plástico, llamadas cápsulas de Novasina y tras la estabilización se tomó directamente la medida.

3.2.3.3. *Color.*

El color fue estudiado en las coordenadas CIELAB*, en las cuales la coordenada L* proporciona resultados de la luminosidad de las muestras, a* hace referencia

a la coordenada verde-rojo y el parámetro b^* a la coordenada amarilla-azul. Se consideró de interés calcular y presentar valores de las magnitudes psicofísicas como el croma (C^*) y tono (h^*), cuyo cálculo se realizó mediante las siguientes expresiones:

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad h^* = \tan^{-1}(a^*/b^*)$$

Para su determinación se utilizó un colorímetro Minolta CM-2600d (Minolta Camera Co, Osaka, Japón) (Figura 19), utilizando el observador 10° y el iluminante D_{65} . Para las mismas, se usaron cristales de baja reflectancia entre las muestras y el equipo, del tipo CR-A51/1829-752 (Minolta Camera Co. Osaka, Japón). Se realizaron 9 medidas por cada muestra según las recomendaciones de la American Meat Science Association (2012).



Figura 19. Colorímetro Minolta CM-2600d.

3.2.4. Propiedades tecno-funcionales.

3.2.4.1. Capacidad de retención de agua (CRA).

Para llevar a cabo esta determinación, primero se pesaron 3 tubos de vidrio vacíos (MT), se tararon y se les adicionó 0,3 gramos de muestra aproximadamente (ME). A cada uno de los tubos se añadió 10 mL de agua, se agitó en un vortex durante 30 segundos, y se dejaron las muestras a temperatura ambiente durante toda la noche (Figura 20).

Al día siguiente, las muestras se centrifugaron durante 20 minutos a una velocidad de 3.000 r.p.m. en una centrífuga Nahita Model 2690. Tras la

centrifugación, se eliminó el sobrenadante con una micropipeta de 5 mL y se procedió a pesar los tubos (MTP). La determinación se hizo por triplicado. Los resultados de la capacidad de retención de agua (g agua/g muestra) se determinaron mediante la siguiente expresión:

$$CRA = \frac{MTP - MT - ME}{ME}$$

Donde:

MTP: Masa del tubo y precipitado (g).

MT: Masa del tubo vacío (g).

ME: Masa de la muestra (g).



Figura 20. CRA

3.2.4.2. Capacidad de retención de aceite (CRO).

Para la determinación de la CRO, inicialmente se pesaron los tubos de ensayo vacíos (MT), se tararon y se les adicionó aproximadamente 0,3 g de muestra (ME). A continuación, se añadió 5 mL de aceite de girasol a cada tubo, se agitaron con ayuda de un vortex 30 segundos a velocidad media y se dejaron reposar toda la noche a temperatura ambiente (Figura 21).

Al siguiente día, las muestras se centrifugaron durante 20 minutos a una velocidad de 3.000 r.p.m. en una centrífuga Nahita Model 2690. Tras la centrifugación, se eliminó el sobrenadante con una micropipeta de 5 mL a cada

tubo y se procedió a pesar dichos tubos (MTP). Esta determinación se realizó por triplicado.

La capacidad de retención de aceite (g aceite/g muestra) se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$CRO = \frac{MTP - MT - ME}{ME}$$

Donde:

MTP: Masa del tubo y precipitado (g).

MT: Masa del tubo vacío (g).

ME: Masa de la muestra (g).



Figura 21. CRO.

3.2.4.3. Capacidad de hinchamiento (SWC).

El procedimiento para determinar la SWC fue el siguiente: en tubos graduados de 10 mL se adicionó aproximadamente 0,3 g de muestra, se midió el volumen que ocupaba cada muestra (V_0) y se anotó junto al peso exacto de la muestra añadida. Posteriormente, se adicionaron 5 mL de agua destilada, se agitaron durante 1 minuto con ayuda de un vortex y se dejaron reposar durante 24 horas a temperatura ambiente. Trascurrido ese tiempo, se midió el volumen final de las muestras (V_1). Esta determinación se realizó por triplicado (Figura 22).

La capacidad de hinchamiento (mL de agua/g de muestra) se determinó mediante la siguiente expresión:

$$SWC = \frac{V_1 - V_0}{P \text{ muestra}}$$

Donde:

V₁: Volumen de las muestras trascurridas las 24h (mL).

V₀: Volumen inicial de las muestras (mL).

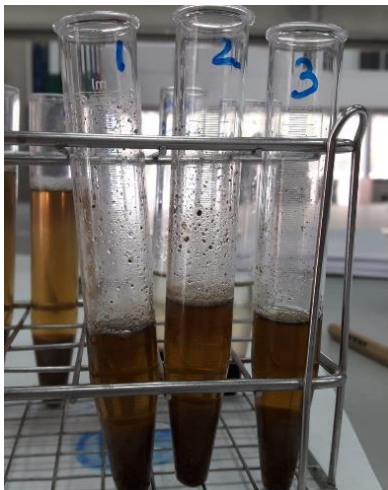


Figura 22. SWC.

3.2.4.4. Capacidad de formación de espuma y estabilidad de la misma (FC y FS).

Para la determinación de la capacidad de formación de espuma de la harina de *Tenebrio molitor*, y la medida de la estabilidad de la misma, se pusieron en un vaso de precipitado de 250 mL 2.5 gramos de muestra, se adicionaron 50 mL de agua destilada. Se marcó el volumen inicial de la disolución (V₁), se llevó al ultraturrax (Figura 23) durante 2 minutos a una velocidad de 20.000 r.p.m. Transcurrido ese tiempo se midió el volumen final (V₂) (Figura 24).

La capacidad de formación de espuma (%) fue determinada con la siguiente expresión:

$$FC = \frac{V_2 - V_1}{V_1} * 100$$

Donde:

V₂: Volumen final tras la formación de la espuma (mL).

V₁: Volumen inicial de las muestras (mL).

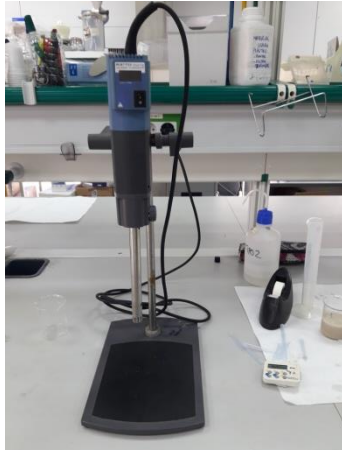


Figura 23. Ultraturrax.

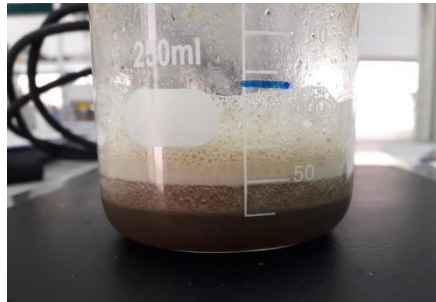
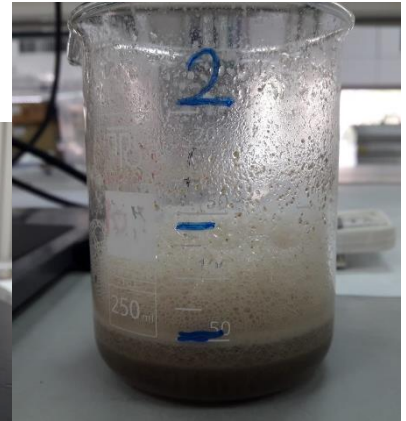


Figura 24. Volúmenes obtenidos FC.



Para la determinación de la estabilidad de la espuma, se esperó 5 minutos tras la formación de la misma y se volvió a medir el volumen (V_3) (Figura 25). Estas determinaciones se realizaron por triplicado.

La estabilidad de la espuma (%) fue determinada con la siguiente expresión:

$$FS = \frac{V_3 - V_1}{V_1} * 100$$

Donde:

V_3 : Volumen final tras 5 minutos de reposo (mL).

V_1 : Volumen inicial de las muestras (mL).

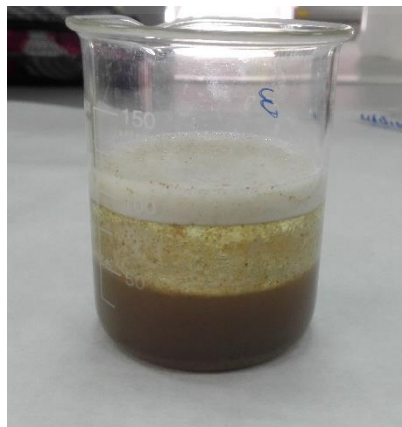


Figura 25. Volumen obtenido FS.

3.2.4.5. Capacidad emulsificante (AE).

Se pesó en un vaso de precipitado de 150 mL 1 gramo de muestra aprox. y se añadieron 50 mL de agua destilada. Esta mezcla se homogeneizó con un ultraturrax a 8.000 r.p.m durante 2 minutos. A continuación, a la suspensión

anterior se le añadieron 50 mL de aceite de girasol, se volvió a homogeneizar durante 1 minutos a 8.000 r.p.m. Se pasó a tubos de centrífuga graduados 10 mL de esta mezcla homogeneizada y se centrifugó a 1.500 r.p.m durante 5 minutos. Transcurrido este tiempo, se midió el volumen de emulsión formada. Esta determinación se realizó por triplicado.

La actividad emulsificante (mL / 100 mL de muestra), fue determinada con la siguiente expresión:

$$AE = \frac{V \text{ capa de emulsión}}{V \text{ total en el tubo}} * 100$$

3.2.4.6. Estabilidad de emulsión (EE).

Las emulsiones formadas en la capacidad emulsificante se calentaron durante 30 minutos en baño con agua a una temperatura de 80°C, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se llevaron a centrifugar durante 5 minutos a 15.000 r.p.m. Después de centrifugar, se midió el volumen de la emulsión (Figura 26). Esta determinación se realizó por triplicado.

La estabilidad de la emulsión se expresa como mL de capa emulsificada que permanece, respecto al volumen de la emulsión que previamente se había formado por 100, como se muestra en la siguiente expresión:

$$EE = \frac{V \text{ emulsión permanente}}{V \text{ emulsión inicial}} * 100$$

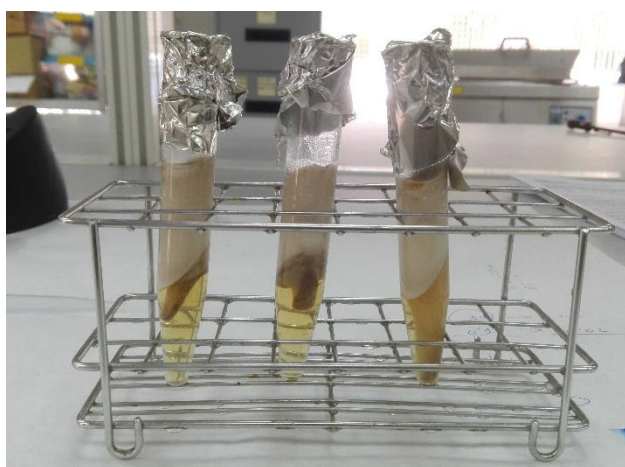


Figura 26. Volumen final de EE.

3.2.5. Propiedades antioxidantes.

3.2.5.1. Extracción.

Para poder realizar la determinación de las propiedades antioxidantes, previamente se tuvo que preparar la muestra mediante una extracción de compuesto antioxidantes. Los extractos resultantes serán empleados en el resto de los apartados relacionados.

Para dicha extracción, se cogieron 1,5 g de muestra y se introdujeron en un tubo de centrífuga, al que se adicionó 15 mL de una mezcla de metanol y agua (80:20). Esta mezcla, con el tubo de centrífuga inmerso en un baño con hielo para evitar pérdidas del disolvente por calentamiento, se llevó al ultraturax durante 5 minutos con una velocidad de 18.000 r.p.m. A continuación, se centrifugó durante 10 minutos a 4°C a una velocidad de 8.000 r.p.m.

Una vez centrifugado, se recogió el sobrenadante y llevó a un matraz. Se hizo pasar por un filtro de membrana de 0.45 µm para eliminar las partículas sólidas que pudieran quedar en suspensión. Estas extracciones se realizaron por triplicado y se conservaron en condiciones de congelación.

3.2.5.2. Actividad antioxidante utilizando el método del radical 2,2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

Esta determinación se llevó a cabo según el procedimiento descrito por [Brand-Williams et al. \(1995\)](#). Se colocaron 200 µL de las diferentes muestras en tubos de ensayo y se le adicionó 2 mL de una solución de DPPH 0,06 mM. Las muestras se agitaron durante 1 minuto en un vortex y posteriormente se guardaron en oscuridad durante 15 minutos. Transcurrido este tiempo, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 517 nm en un espectrofotómetro HP 8451 (Hewell Packard). Los resultados se expresaron en mg equivalentes de Trolox (TE)/ g de muestra, para obtenerlos fue necesario realizar una curva patrón con concentraciones conocidas de Trolox, la cual se muestra en la Figura 27.

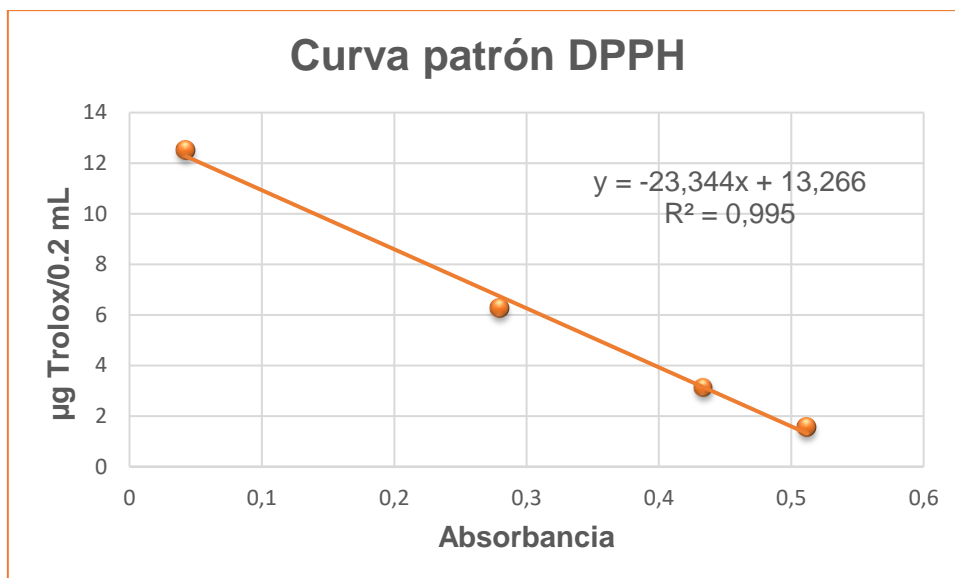


Figura 27. Curva patrón DPPH.

3.2.5.3. Actividad antioxidante por reducción del ion férrico (FRAP).

Las muestras utilizadas para esta determinación por el método FRAP fueron los extractos obtenidos según el procedimiento descrito en el apartado 3.3.4.1 (extracción). La determinación se realizó siguiendo el método descrito por [Oyaizu \(1986\)](#).

En un tubo de ensayo se introdujeron 1000 µL de muestra con 2,5 mL de tampón fosfato (0,2 M y pH de 6,6) y 2,5 mL de ferricianuro de potasio al 1%. Las muestras se taparon con papel de aluminio y se incubaron en un baño a una temperatura de 50°C durante 20 minutos. Tras esto, se añadió 2,5 mL de CCl₃COOH al 10%, se llevó a agitación durante 2 minutos. Se cogieron 2,5 mL de la mezcla anterior y se les añadió 2,5 mL de agua destilada y 0,5 mL de tricloruro de hierro al 0,1%. Se volvió a agitar durante 2 minutos.

Se esperó 10 minutos y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 700 nm. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de Trolox (TE)/ g de muestra, para obtenerlo fue necesario realizar una curva patrón con concentraciones conocidas de Trolox, la cual se muestra a continuación en la figura 28.

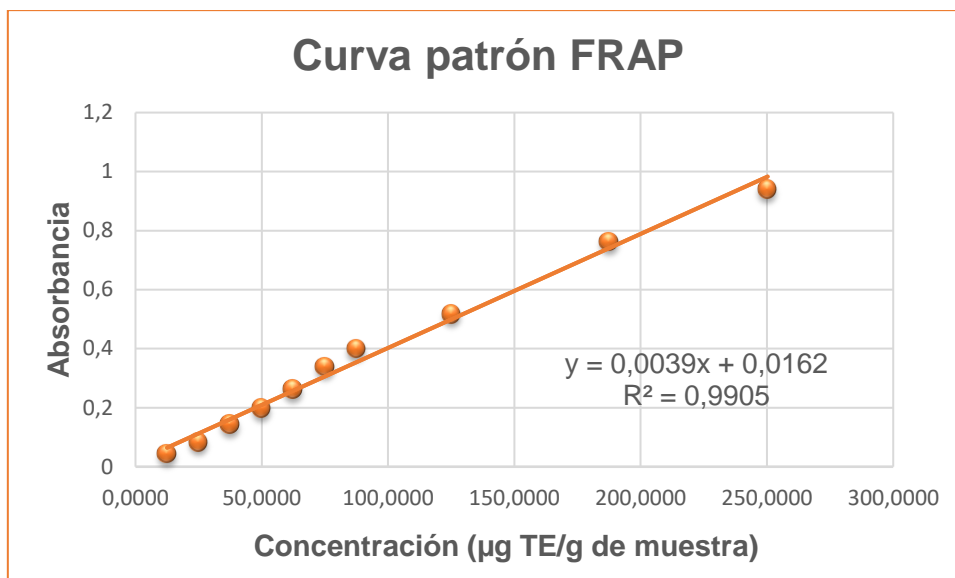


Figura 28. Curva patrón FRAP.

3.2.5.4. Capacidad quelante del ion ferroso (FIC).

Las muestras utilizadas para esta determinación por el método FIC fueron los extractos obtenidos según el procedimiento descrito en el apartado 3.3.4.1 (extracción). La determinación se realizó siguiendo el método descrito por [Carter \(1971\)](#).

Se colocó 1 mL de la muestra (los extractos anteriormente mencionados) en un tubo de ensayo y se le adicionó 0,1 mL de $\text{FeSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ con una concentración 2 mM y 3,7 mL de metanol. Se agitó con un vortex durante un minuto y se esperó durante 5 minutos. Después de este tiempo, se le adicionó 200 µL de Ferrozina a una concentración 5 mM. Se agitó 2 minutos y se esperó 10 minutos. Tras este último tiempo, se procedió a medir la absorbancia a una longitud de onda de 562 nm con un espectrofotómetro HP 8451 (Hewell Packard).

Los resultados se expresaron en mg equivalentes de EDTA/ g de muestra, para obtenerlo fue necesario realizar una curva patrón con concentraciones conocidas de EDTA, la cual se muestra a continuación en la figura 29.

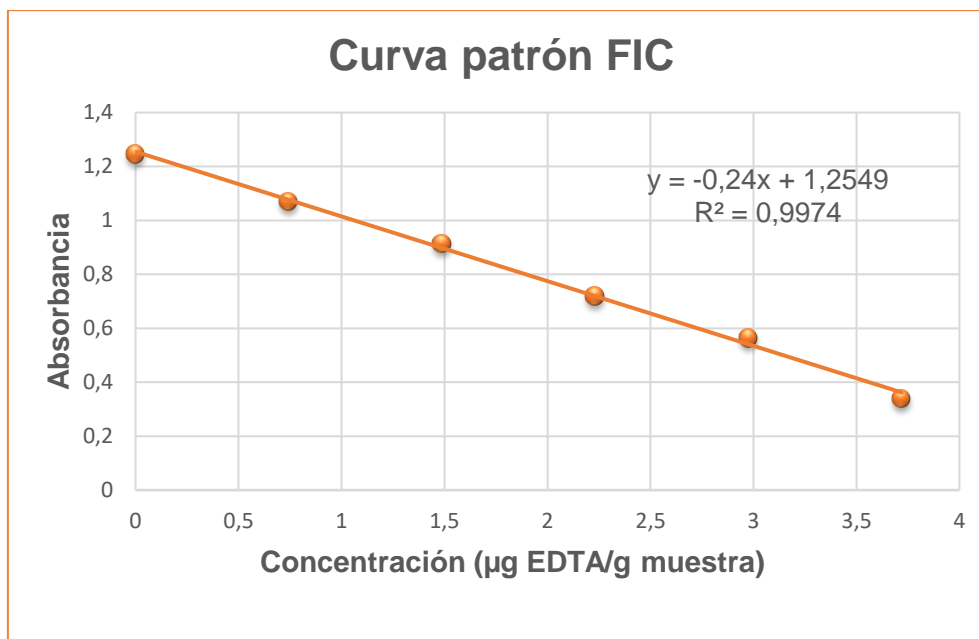


Figura 29. Curva patrón FIC.

3.2.5.5. Actividad antioxidante utilizando el radical 2,2'-Azinobis[3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico] (ABTS).

Las muestras utilizadas para esta determinación por el método ABTS fueron los extractos obtenidos según el procedimiento descrito en el apartado 3.3.4.1 (extracción).

La determinación, se llevó a cabo según el procedimiento descrito por [Gullón et al. \(2015\)](#). Se prepararon inicialmente los reactivos A, B y C que fueron necesarios para la determinación de la concentración de mg de trolox en las muestras.

- Reactivo A: se pesó 38,4 mg de reactivo ABTS y se completó con agua ultrapura hasta un volumen de 10 mL.
- Reactivo B: se pesó 33,1 mg de $K_2S_2O_8$ y se completó con agua ultrapura hasta un volumen de 5 mL.
- Reactivo C: se mezcló en el reactivo A 1 mL de reactivo B y se dejó toda la noche a oscuridad y en agitación.

El reactivo C, se disolvió en agua destilada hasta conseguir una absorbancia entre 0,70 y 0,72 nm medida a una longitud de onda de 734 nm en un espectrofotómetro HP 8451 (Hewell Packard). Una vez se consiguió la dilución dentro del rango indicado de longitud de onda, en una cubeta de 1 cm de lado,

se colocó 990 μL de reactivo C diluido y 10 μL de muestra. Se mezcló con la punta de una micropipeta y se esperó un tiempo de 6 minutos. Tras este tiempo, se midió la absorbancia de las muestras a 734 nm.

Los resultados se expresaron en mg equivalentes de Trolox (TE)/ g de muestra, para obtenerlo fue necesario realizar una curva patrón con concentraciones conocidas de Trolox, lo cual se muestra a continuación en la figura 30.

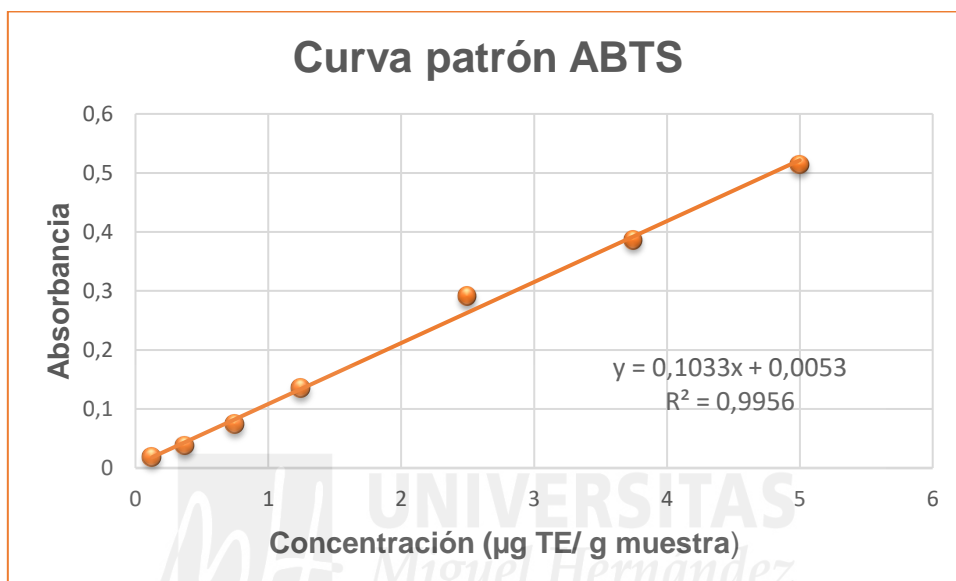


Figura 30. Curva patrón ABTS.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Rendimiento

El rendimiento de las larvas de gusano tras la liofilización fue del 46,42%. El proceso de desgrasado eliminó el 93.74% de la grasa. El rendimiento final fue del 20.24%.

4.2. Composición química.

En la tabla 3 se observa la composición química de la harina de gusano desgrasada. En cuanto al contenido en proteínas y el contenido en grasas presentan un valor de 60,17 g/100 g de muestra y 2,88 g/100 g de muestra, respectivamente, los cuales son similares al estudio elaborado por [Bubler, et al., \(2016\)](#), en el que se compara la composición de las larvas del gusano con la harina de *Tenebrio molitor* (57,8 g/g y 19,1 g/g) y harina de *Tenebrio molitor* desgrasado (64,6 g/g y 2,8 g/g). El estudio mencionado concluye que la eliminación de las grasas mediante el proceso de desgrasado redujo el porcentaje de grasa cruda en la harina desgrasada con respecto a la no desgrasada y aumentó el porcentaje de proteínas en un 14%. [Kim, et al., \(2016\)](#) en su estudio relacionado con larvas de gusano de la harina y pupas de gusano de seda como un nuevo ingrediente proteico en salchichas, también aportó datos semejantes a los del presente estudio, mostrando un contenido de proteínas de 70,42 g/100g y una cantidad de grasa de 3,94 g/100g para el gusano desgrasado.

Tabla 3. Composición química de la harina de gusano desgrasada.

	Proteínas	Grasas	Cenizas	Humedad
Harina de gusano	60,17 ± 0,31	2,88 ± 0,006	0,15 ± 0,005	0,047 ± 0,002

En referencia al contenido de cenizas y humedad (tabla 3), los valores obtenidos fueron de 0,15 g/100 g de muestra y 0,047 g/100 g de muestra, respectivamente. Estos resultados están muy por debajo de los consultados en la bibliografía científica. El estudio realizado por [Kim, et al., \(2016\)](#) muestra un contenido de cenizas de 8,14 g/100 g de muestra y valores de humedad del 5,84 g/100 g de

muestra para las lavas de *T. molitor* desgrasado, comparado con los valores para cenizas y humedad de las larvas de gusano sin desgrasar (6,36 g/100 g de muestra y 5,41 g/100 g de muestra, respectivamente). Según informa [Ravzanaadii, et al., \(2012\)](#) el contenido para estos parámetros es de 2,86 g/100 g de muestra y 4,58 g/100 g de muestra en el orden mencionado.

4.3. Propiedades físico-químicas.

Con respecto a la composición físico-química de la harina de gusano (Tabla 4), el valor obtenido de pH fue de 6,105 y el de actividad de agua de 0,379. En la literatura científica no se hay demasiados estudios referentes a estos parámetros en harina de gusano, por lo cual se van a comparar con valores de pH y aw de la larva de *Tenebrio molitor*.

Tabla 4. Composición físico-química de la harina de gusano.

	pH	Aw	Color				
			L*	a*	b*	C*	h
Harina de gusano	6,10±0,02	0,370±0,004	52,84±0,42	5,74±0,08	12,68±0,11	13,92±0,11	1,15±0,00

Aw: actividad de agua; L*: luminosidad; a*: coordenada rojo/verde; b*: coordenada amarillo/azul; C*: croma; h: tono.

En el estudio realizado por [Kim, et al., \(2016\)](#) en el que se trabaja con harina de gusano y harina de gusano desgrasada, el valor de pH fue de 6,51 y 6,74, respectivamente. El valor de pH de la harina desgrasada es similar, pero ligeramente superior al obtenido en este estudio. En cuanto a datos referentes a las larvas de *T. molitor*, el pH obtenido en el trabajo llevado a cabo por [Vandeweyer, et al., \(2017\)](#) fue de 6,7, es similar al del presente estudio. Por el contrario, el valor de la actividad de agua se ve reducido en un 30 % en la preparación de la harina, pasando de 0,97 a 0,379. Esto hace suponer que el pH no se ve influenciado en la transformación de la larva de gusano en harina desgrasada, en cambio los tratamientos llevados a cabo para la obtención de la harina desgrasada si influyen en la actividad de agua. Si comparamos los

resultados de este estudio con valores de otras harinas de insectos, la harina de *Tenebrio molitor* tiene un pH similar (6,48) y una aw ligeramente inferior (0,17) al de la harina de grillo común (Pérez Horcajo, 2018).

Inicialmente los gusanos objeto de estudio mostraban un color pardo-oscuro (marrón), probablemente debido al pardeamiento durante el procesado (congelación, liofilización, molienda) de la grasa que contienen. Tras el proceso de desgrasado el color cambió a un marrón más claro. El desgrasado con hexano dio lugar a un color menos pardo de las harinas producidas como en el estudio realizado por Bubler, et al., (2016).

Los valores obtenidos de los parámetros de color para la harina de gusano analizada fueron: L* 52,84, a* 5,74 y b* 12,68. Son escasos los estudios referentes al color relacionados con este tema en la literatura científica. En el estudio realizado por Kim, et al., (2016) se obtuvieron valores de color de L* 73,51, a* 7,06 y b* 21,09 para la harina de larvas de gusano de la harina desgrasado. Los valores para la harina de gusano no tratadas fueron de L* 38,35, a* 8,91 y b* 23,61. Estos resultados comparados con los del presente estudio presentan valores superiores en sus tres coordenadas, a excepción de la luminosidad de la harina de gusano no desgrasada que muestra un valor inferior a la analizada en este estudio.

Según el estudio llevado a cabo por Bubler, et al., (2016) el desgrasado de la harina de gusano aumentó ligeramente el índice de pardeamiento e indujo un cambio en el color en comparación con las larvas no procesadas. El color de las diferentes fracciones de harina de insecto parece estar relacionado con el contenido de proteína, mientras que el índice de pardeamiento depende del contenido de grasa. Los extractos de proteína tenían un color amarillo claro en el rango de pH ácido (2–6).

4.4. Propiedades tecno-funcionales.

Para establecer las propiedades tecno-funcionales de la harina de gusano, se evaluaron la capacidad de retención de agua (WHC), la capacidad de retención de aceite (OHC), la capacidad de hinchamiento (SWC), la capacidad de

formación de la espuma (FC) y estabilidad de la espuma (FS) y la capacidad de emulsión y la estabilidad de la emulsión (EC y ES respectivamente), los resultados fueron mostrados en la Tabla 5.

Las propiedades tecno-funcionales son de gran importancia a la hora de formular alimentos, proporcionan una idea del posible comportamiento durante el proceso de hidratación del producto y del papel que desempeñe la fibra en el sistema alimenticio (Espinosa Niño, 2017).

La capacidad de retención de agua (CRA) expresa la máxima cantidad de agua que puede ser retenida por gramo de material seco en presencia de un exceso de agua, y posteriormente, bajo la acción de una fuerza patrón (Alarcón García, et al., 2012). Se relaciona en gran medida con el tamaño de las partículas, con la cantidad de grupos hidroxilos libres capaces de interactuar con el agua externa y con la cantidad de fibra soluble de las mismas (Umaña, et al., 2013). La capacidad de retención de aceite (CRO) expresa la máxima cantidad de aceite que puede ser retenida por gramo de material seco en presencia de un exceso de aceite, y posteriormente, bajo la acción de una fuerza o unas condiciones determinadas (Alarcón García, et al., 2012). La absorción de aceite es atribuida a la retención física de la grasa por atracción capilar y al enlace que se forma con la cadena apolar proteica, de allí que la hidrofobicidad de las proteínas ejerza un papel importante sobre la absorción de la grasa (Jaimes, et al., 2014).

En el presente estudio el valor obtenido para la CRA es de 1,65 g de agua/g de muestra y para la CRO de 1,29 g de aceite/g de muestra, como muestra la Tabla 6. Estos valores son similares a los aportados por Zielińska, et al., (2018) cuyos resultados fueron de 1,29 g de agua/g de muestra y 1,71 g de aceite/g de muestra para la harina de gusano sin tratar. En los datos aportados por Bublér, et al., (2016) se observa una CRA de 0,8 g/g de masa seca y una CRO de 0,55 g/g de masa seca para la harina de *T. molitor* desgrasada, valores reducidos a la mitad en comparación con los de este estudio. Esto puede ser debido por la diferencia en el método de producción de la harina y las diferentes condiciones de la prueba (Bublér, et al., 2016). En cambio, el trabajo elaborado por Zhao et al., (2016) en el que se estudia la extracción y propiedades funcionales de las proteínas de larvas de *Tenebrio molitor*, informa que el valor de la capacidad de retención de

agua es de 1.87 g de agua/g de muestra del extracto proteico de las larvas del gusano de la harina liofilizado, similar al del presente estudio. Sin embargo, el valor de la capacidad de retención de aceite es de 2,33 g de aceite/ g de muestra, el doble que en la harina analizada.

En cuanto a la capacidad de hinchamiento los valores obtenidos fueron de 2,42 mL de agua/g muestra, dado que en la literatura científica no se ha trabajado con esta propiedad en harina de gusano ni en otros insectos, los valores serán comparados con valores de harinas vegetales. Por ejemplo, las diferentes harinas de quinua analizadas en el estudio llevado a cabo por [Pellegrini, et al \(2018\)](#) presentan valores de capacidad de hinchamiento comprendidos entre 8,55 y 9,57 mL de agua/g muestra.

Tabla 5. Propiedades tecno-funcionales de la harina de gusano.

	CRA	CRO	SWC	FC	FS	AE	EE
Harina de gusano	1,65±0,08	1,29±0,12	2,42±0,48	149,09±43,71	105,91±34,07	60,33±1,53	45,87±1,37

CRA: capacidad de retención de agua (g agua/g muestra); CRO: capacidad de retención de aceite (g aceite/ g muestra); SWC: capacidad de hinchamiento (mL de agua/g muestra); FC: capacidad de formación de espuma (mL/ 100 mL muestra); FS: estabilidad de la espuma (mL/ 100 mL muestra); AE: capacidad emulsificante (mL/ 100 mL muestra); EE: estabilidad de la emulsión (mL/ 100 mL muestra).

La capacidad de formación de espuma (FC) y la estabilidad de la espuma (FS) son parámetros importantes en la caracterización de las propiedades funcionales de las proteínas. Las proteínas deben ser altamente solubles en agua, flexibles y formar parte de una película cohesiva en la interfaz agua-aire para garantizar una buena formación de espuma ([Wagner y Gueguen, 1999](#)). La estabilidad de la espuma representa la capacidad de la espuma para retener su estructura a lo largo del tiempo y puede evaluarse midiendo el volumen de la espuma o pesando el volumen del líquido separado con el tiempo ([Damodaran, 2005](#))

La capacidad de formación de espuma y estabilidad de la espuma obtuvieron valores de 149,09 mL/100 mL muestra y 105,91 mL/100 mL muestra,

respectivamente (Tabla 5). Estos valores son muy superiores a los consultados en la bibliografía científica, por ejemplo, en el estudio realizado por [Zielińska, et al., \(2018\)](#) en el que se estudia la comparación de propiedades funcionales de insectos comestibles y preparaciones proteicas de los mismos, la FC y FS para la harina de *T. Molitor* analizada fue del 31 y 26%, respectivamente, para la harina de *Gryllodes sigillatus* fue del 41 y 34,67% y para la harina de *Schistocerca gregaria* fue del 22,33 y 19,33%. Sin embargo, en el estudio mencionado anteriormente también se determinó la FC y FS del preparado proteico de *T. Molitor*, *G. sigillatus* y *S. gregaria*, y los valores obtenidos respecto a estos parámetros fueron superiores en comparación con los de las harinas. Las diferencias en la FC de las proteínas pueden deberse a sus diferentes características conformacionales. Se observó que las proteínas globulares tenían una capacidad reducida para desplegarse en la interfaz aire-agua, lo que limita la capacidad de encapsular burbujas de aire ([Mundi y Aluko, 2012](#)). A su vez, se encontró que los grillos (*G. sigillatus*) calentados a 50 ° C durante 30 minutos tenían un FC del 100% con un FS del 90% después de 1 hora ([Hall, et al., 2017](#)). Los lípidos son la principal causa de desestabilización de la espuma de los concentrados de proteínas y los aislados. Los estudios han demostrado que la eliminación de lípidos neutros con hexano y de lípidos polares con alcohol acuoso conduce a un aumento notable en las propiedades espumantes de las proteínas de la soja ([Cano-Medina, 2011](#)), quizá sea el proceso de desgrasado al que fue sometida la harina de gusano, el motivo por el que presenta valores superiores de FC y FC con respecto a la bibliografía consultada.

La capacidad emulsionante es un término cualitativo que se usa para describir la cantidad de aceite que una proteína puede absorber para estabilizar un sistema de dos fases ([Firebaugh, et al., 2005](#)). La formación de una emulsión alimentaria es un proceso dinámico, aunque termodinámicamente desfavorable, debido al aumento en el área interfacial después de la emulsificación. Por lo tanto, después de un tiempo suficiente, cualquier emulsión colapsará cuando las dos fases intenten minimizar el área de contacto ([Rousseau, 2000](#)). La estabilidad de la emulsión ha sido caracterizada empíricamente para cuantificar el grado de asentamiento en una emulsión ([Demetriades, et al., 1997](#))

Como se observa en la Tabla 5, la capacidad emulsificante en la harina de gusano fue de 60,33 mL/100 mL y la estabilidad de la emulsión fue de 45,87 mL/100 mL de muestra. En referencia a estos parámetros, los datos del estudio llevado a cabo por [Zielińska, et al., \(2018\)](#) muestran valores similares de AE, aunque ligeramente superiores, para la harina de gusano *T. molitor*, harina de grillo *G. sigillatus* y harina de *S. gregaria*, siendo estos 65,96 mL/100 mL de muestra, 62 mL/100 mL de muestra y 69,17 mL/100 mL de muestra, respectivamente. Por el contrario, el valor de EE para la harina de *T. molitor* (27,59 mL/ 100 mL de muestra) se reduce casi a la mitad, mientras las harinas de *G. sigillatus* (38,3 mL/ 100 mL de muestra) y *S. gregaria* (48,11 mL/ 100 mL de muestra) muestran valores más aproximados a los obtenidos para la harina de gusano objeto de estudio. La estabilidad de la emulsión fue mayor en el preparado de proteínas que en la harina de larvas de gusano (51,31 mL/ 100 mL de muestra). La mayor estabilidad de emulsión puede asociarse con el mayor contenido de proteínas y la mayor cantidad de aminoácidos hidrófobos ([Zielińska, et al., 2015](#)).

4.5. Actividad antioxidante.

La determinación de la actividad antioxidante de los alimentos es importante para deducir el potencial antioxidante in vitro de los mismos antes de ser ingeridos. Los métodos de determinación de la actividad antioxidante se basan en distintos sistemas generados de radicales libres. Dichos radicales reaccionan con la muestra y en virtud de la capacidad antioxidante de ésta, se inhibirá la generación de los primeros [Benavente-García et al., \(2000\)](#). De esta forma, lo que se determina realmente es el efecto antioxidante y no la actividad antioxidante, ya que esta no se puede medir de manera directa. Actualmente, debido a la complejidad de los procesos de oxidación, no existe un método que refleje de forma completa el perfil antioxidante de una muestra, por lo tanto, se trabaja con varios métodos para facilitar la comparación e interpretación de los resultados.

En la tabla 6 se resumen las determinaciones de la capacidad antioxidante obtenida a partir de cuatro métodos diferentes de estudio: DPPH, ABTS, FRAP y FIC.

Tabla 6. Determinación de la actividad antioxidante de la harina de gusano.

	DPPH	ABTS	FRAP	FIC
Harina de gusano	27,31 ± 0,05	185,12 ± 14,77	8385,26 ± 2351,61	242,74 ± 1,16

Valores expresados de DPPH, FRAP y ABTS en µg de equivalente de Trolox/ g muestra; FIC expresado en mg de EDTA/ g muestra.

Los compuestos antioxidantes en los alimentos desempeñan un papel importante como sustancias protectoras contra los radicales libres, por ejemplo, las especies reactivas de oxígeno (ROS). Alternativamente, diversos compuestos cromógenos (ABTS, DPPH, DMPD, DMPO y FRAP) son utilizados para determinar la capacidad de los compuestos antioxidantes y de esta forma captar los radicales libres generados, actuando contra los efectos perjudiciales de los procesos de oxidación que implican a especies reactivas de oxígeno (Kurkoski, et al., 2005) Todavía no se han publicado datos sobre las propiedades antioxidantes de los insectos comestibles, y la mayoría de los estudios se basan en insectos capturados en la naturaleza. (Zielińska, et al., 2017)

En el método DPPH se emplea un radical orgánico (2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl) en presencia del antioxidante y se ve en qué grado es capturado, lo que produce un descenso de la absorbancia a 515 nm (Brand-Williams, et al., 1995). Este radical servirá para determinar la actividad antioxidante de los extractos que se obtuvieron de las muestras de harina de gusano. La harina de *T. molitor* analizada presentó valores de 27,31 µg de equivalente de Trolox/g muestra. El estudio elaborado por Zielińska, et al., (2017) determinó la actividad de captación de radicales libres, la actividad quelante de iones y el poder reductor de los hidrolizados de insectos comestibles obtenidos después de la digestión gastrointestinal simulada de especies seleccionadas de insectos comestibles criados en cautiverio. La mayor actividad antirradical contra DPPH se observó en los hidrolizados obtenidos después de la digestión de *Anphphustaa annulipes* (valor de IC₅₀ 19,1 µg/mL). Se notó un valor ligeramente más alto en el hidrolizado de *Zophobas morio* (23,8 µg/mL). La actividad antirradical más baja contra DPPH se observó en *Dubia blaptica* (76.3 µg/ml). En otro estudio se trabajó con las actividades antioxidantes y

antiinflamatorias de hidrolizados y fracciones de péptidos obtenidas por hidrólisis enzimática de insectos comestibles seleccionados tratados con calor. En dicho estudio, la mayor actividad antirradical contra el DPPH[·] del *T. molitor* fue para el hidrolizado de la proteína de gusano (valor de IC₅₀ 40.3 µg/mL), así como la actividad contra DPPH[·] más baja fue para el *T. molitor* crudo hidrolizado (valor de IC₅₀ 109.4 µg/mL) (Zielińska, et al., 2017). Los resultados obtenidos en el estudio llevado a cabo por Pérez Horcajo, (2018) sobre la harina de grillo (*Acheta domestica*), muestran valores superiores de DPPH[·] (785,17 µg de equivalente de Trolox/g muestra) con respecto a la harina de *Tenebrio molitor*.

El método ABTS se basa en la capacidad de los antioxidantes para capturar el radical orgánico ABTS^{·+}, captura que produce un descenso de la absorbancia a 658 nm. Los valores obtenidos de ABTS para la harina del presente estudio fueron 185,12 µg de equivalente de Trolox/g muestra, estos datos están muy por encima con respecto a los consultados en la bibliografía científica. En el estudio realizado por Zielińska, et al., (2017) la mayor actividad antirradical contra ABTS^{·+} se observó para el hidrolizado obtenido del *T. molitor* crudo (valor de CI₅₀ 5,3 µg/mL) y la más baja se obtuvo en el hidrolizado de *T. molitor* hervido (valor de IC₅₀ 28,9 µg / mL). En otro estudio en el que se trabaja con otros insectos diferentes de los gusanos, la mayor actividad antirradical contra ABTS^{·+} fue para el hidrolizado obtenido después del proceso de digestión de *Z. morio* (valor de IC₅₀ 4,6 µg/mL) pero también para *A. annulipes* (valor de IC₅₀ 7,4 µg/mL). La actividad antirradical más baja contra ABTS^{·+} se observó en *Locusta migratoria* (valor de IC₅₀ 25,9 µg/mL) (Zielińska, et al., 2017). Los resultados del primer estudio mencionado muestran que el tratamiento térmico de los insectos incrementó la actividad antioxidante de los hidrolizados y las fracciones de péptidos y, en particular, la cocción se caracterizó por mejores resultados.

El método FRAP se basa en la evaluación de la capacidad para reducir el ión férrico por parte de las muestras de harina de gusano, utilizando para ello la ferricianida como cromóforo. El poder antioxidante de las muestras analizadas fue de 8.385,26 µg de equivalente de Trolox/g muestra. Este valor es muy superior comparado con el de otras harinas, por ejemplo, la harina de grillo

común con un valor de 2039,93 μg de equivalente de Trolox/g muestra (Pérez Horcajo, 2018).

La quelación de los iones metálicos tiene un efecto antioxidante debido a que los iones de metales de transición, por ejemplo, los iones de hierro y cobre catalizan la producción de especies reactivas de oxígeno, como los radicales hidroxilos o el radical superóxido. Esto conduce a la oxidación de ácidos grasos insaturados y otros daños oxidativos (Saiga, et al., 2003).

En el método FIC el hierro en estado ferroso (Fe^{+2}) acelera la oxidación lipídica al reaccionar con el peróxido de hidrógeno y los peróxidos lipídicos originados. La actividad quelante del ion ferroso se midió inhibiendo la formación del complejo ferrozina- Fe^{+2} (Carter, 1971). La muestra de harina de gusano analizada mostró unos valores de actividad antioxidante para el método FIC de 242,74 mg equivalentes de EDTA/g de muestra. En el estudio elaborado por Zielińska, et al., (2017), con respecto a los hidrolizados de tenebrio, la muestra de gusano horneado es la que tiene mayor capacidad para quelar iones Fe^{2+} (valor de IC_{50} 52,14 $\mu\text{g}/\text{mL}$), y la de gusano hervido es la que menor capacidad antioxidante presenta (valor de IC_{50} 69,71 $\mu\text{g}/\text{mL}$). La cantidad mínima de antioxidantes para reducir la oxidación a la mitad es muy superior a la que muestra el hidrolizado de la preparación de la proteína de *G. sigillatus* (valor de IC_{50} 16,18 $\mu\text{g}/\text{mL}$), que es el que mayor capacidad antioxidante para el método FIC presenta en este estudio. Zielińska, et al., (2017) muestra su estudio relacionado con la capacidad antioxidante de proteínas predigeridas de insectos comestibles, que la capacidad más alta para quelar Fe^{2+} se observa para los hidrolizados de *A. annulipes* (58.82%) y *Z. morio* (56.51%).

5. CONCLUSIONES

- Debido a la cantidad de grasa que las larvas de *Tenebrio molitor* contienen, inicialmente la molienda dio lugar a una pasta imposible de analizar, por lo que se tuvo que realizar un proceso de desgrasado posterior. Finalmente, tras la eliminación de las grasas, se obtuvo la harina de gusano deseada y se pudo llevar a cabo el estudio.
- En la harina de gusano desgrasado es relevante que más del 50% del contenido total de gusano es proteína (60,17 g/100 g de muestra).
- En cuanto al color, tras el desgrasado la luminosidad aumentó mientras que las coordenadas rojo-verde y amarillo-azul disminuyeron.
- Las propiedades tecno-funcionales presentaron valores de CRA, CRO, SWC de 1,65 g agua/100 g de muestra, 1,29 g aceite/100 g de harina y de 2,42 mL agua/mL de muestra respectivamente. La FC y FS fueron de 149,09 mL/100 mL de muestra y 105,91 mL/100 mL de harina, respectivamente. Las propiedades de formación y estabilidad de la emulsión mostraron valores de 60,33 mL/100 mL de harina y 45,87 mL/100 mL de harina respectivamente.
- Los resultados obtenidos de las propiedades tecno-funcionales muestras valores favorables, resaltando la capacidad de formación de espuma y estabilidad de la espuma y la capacidad emulsionante y la estabilidad de la emulsión, además de la buena capacidad de retención de agua y aceite. La capacidad de hinchamiento está presente en menor medida.
- Con todos los métodos antioxidantes empleados, la harina de gusano mostró actividad. Con el método DPPH mostró una actividad de 27,31 µg Trolox/g de muestra, con el método ABTS de 185,12 µg Trolox/g de muestra, y con los métodos FRAP y FIC mostró una actividad de 8385,26 µg Trolox/g de muestra y 242,74 mg EDTA/g de harina, respectivamente.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Adámková, A., Kourimská, L., Borkovcová, M., Kulma, M., Mlček, J. (2016). Nutritional values of edible Coleoptera (*Tenebrio molitor*, *Zophobas morio* and *Alphitobius diaperinus*) reared in the Czech Republic. *Potravinarstvo*, 10(1), 663-671.
- Aguilar-Miranda, E.D., López, M.G., Escamilla-Santana, C., De La Rosa, B.A.P. (2002). Characteristics of maize flour tortilla supplemented with ground *Tenebrio molitor* Larvae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 192–195.
- Alarcón García, M.A., López-Vargas, J.H., Restrepo Molina, D.A. (2013). Caracterización de la funcionalidad tecnológica de una fuente rica en fibra dietética obtenida a partir de cáscara de plátano. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 66(1), 6959-6968.
- Alexander, P., Brown, C., Arneith, A., Dias, C., Finnigan, J., Moran, D., Rounsevell, M.D.A. (2017). Could consumption of insects, cultured meat or imitation meat reduce global agricultural land use?. *Global Food Security*, 15, 22-32.
- Alves, A.V., Sanjinez-Argandoña, E.J., Linzmeier, A.M., Cardoso, C.A.L., Macedo, M.L.R. (2016). Food Value of Mealworm Grown on *Acrocomia aculeata* Pulp Flour. *PLoS One*, 11(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151275>
- Benavente-García, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuño, A., Del Rio, J.A., (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chemistry*, 68(4), 457-462.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E.E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Cano-Medina, A., Jiménez-Islas, H., Dendooven, L., Patiño Herrera, R., González-Alatorre, G., Escamilla-Silva, E.M. (2011). Emulsifying and foaming

- capacity and emulsion and foam stability of sesame protein concentrates. *Food Research International*, 44, 684–692.
- Carter, P. (1971). Spectrophotometric determination of serum iron at the submicrogram level with a new reagent (ferrozine). *Analytical Biochemistry*, 40(2), 450-458.
- Damodaran, S. (2005). Protein stabilization of emulsions and foams. *Journal of Food Science*, 70, 54-66.
- de Oliveira, L.M., da Silva Lucas, A.J., Cadaval, C.L., Mellado, M.S. (2017). Bread enriched with flour from cinereous cockroach (*Nauphoeta cinerea*). *Innovate Food Science and Emerging Technologies*, 44, 30-35.
- de Vries, M., de Boer I.J.M. (2010). Comparing environmental impacts for livestock products: A review of life cycle assessments. *Livestock Science*, 128, 1-11.
- Demetriades, K., Coupland, J.N., McClements, D.J. (1997). Physical properties of whey protein stabilized emulsions as related to pH and NaCl. *Journal of Food Science*, 62(2), 342-347.
- FAO, FIDA, OMS, PMA y UNICEF. (2017). El estado de la seguridad alimentaria y la nutrición en el mundo. *Fomentando la resiliencia en aras de la paz y la seguridad alimentaria*. FAO.
- FAO. (2010). Forest insects as food: Humans bite back. *FAO of the United Nations Regional Office for Asia and the Pacific, Bangkok*.
- FAO. (2017a). Edible Insects Stakeholders Directory (Version 2.0). <http://www.fao.org/edible-insects/stakeholder-directory/en/>
- Finke, M.D. (2002). Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biology*, 21, 269–285.
- Firebaugh, J.D., Daubert, C.R., (2005). Emulsifying and foaming properties of a derivatized whey protein ingredient. *International Journal of Food Properties* 8 (2), 243–253.

- Gahukar, R.T. (2011). Entomophagy and human food security. *International Journal of Tropical Insect Science*, 31(3), pp. 129-144.
- Galante, E. y Marcos-García, M.A. (2004a). Decomposer Insects. *Encyclopedia of Entomology*, pp. 664-674.
- Galante, E., Numa, C., Verdú, J.R. (2015). La conservación de los insectos en España, una cuestión no resuelta. *Revista IDE@ - SEA*, 7, 1-13.
- Garrucho, N.T. (2017). Tenebrio molitor for food or feed: Rearing conditions and the effect of pesticides on its performance. *Politécnico de Coimbra*, 1-70.
- Gullón, B., Pintado, M.E., Fernández-López, J., Pérez Álvarez, J.A., Viuda-Martos, M. (2015). In vitro gastrointestinal digestion of pomegranate peel (*Punica granatum*) flour obtained from co-products. Changes in the antioxidant potential and bioactive compounds stability. *Journal of Functional Foods*, 19, 617-628.
- Hall, F.G., Jones, O.G., O'Haire, M.E., Liceaga, A.M. (2017). Functional properties of tropical banded cricket (*Grylloides sigillatus*) protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 224, 414–422.
- HERALDO DE ARAGON EDITORA, S.L.U. La cría de insectos comestibles, un sector en auge en el que Aragón pudo ser pionera. (2018). Consultado en febrero de 2019. <https://www.heraldo.es/noticias/aragon/2018/02/09/insectos-comestibles-sector-auge-que-aragon-pudo-ser-pionera-1223784-300.html>
- Jaimés, J.D.C., Restrepo, D., Acevedo, D. (2014). Preparación y determinación de las propiedades funcionales del concentrado proteico de trupillo (*Prosopis juliflora*). *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 12(1), 144-52.
- Jongema, Y. (2017). List of edible insects of the world. Wageningen University and Research. <https://www.wur.nl/en/Research-Results/Chair-groups/Plant-Sciences/Laboratory-of-Entomology/Edible-insects/Worldwide-species-list.htm>

- Kim, S.Y., Park, J.B., Lee, Y.B., Yoon, H.J., Lee, K.Y., Kim, N.J. (2015). Growth characteristics of mealworm *Tenebrio molitor*. *Journal of Sericultural and Entomological Science*, 53(1), 1-5.
- Koo, H.Y., Kim, S.G., Oh, H.K., Kim, J.E., Choi, D.S., Kim, D.I., y Kim, I. (2013). Temperature-dependent development model of larvae of mealworm beetle, *Tenebrio molitor* L. (*Coleoptera: Tenebrionidae*). *Korean journal of applied entomology*, 52(4), 387-394.
- Kouřimská, L., Adámková, A. (2016). Nutritional and sensory quality of edible insects. *NFS Journal*, 4, 22-26.
- Kuskoski, E.M., Asuero, A.G., Troncoso, A.M., Mancini-Filho, J., Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*, 25(4), 726-732.
- LA VANGUARDIA. Los insectos comestibles, una alternativa de futuro. (2018). Consultado en febrero de 2019. <https://www.lavanguardia.com/natural/20180718/45909697841/los-insectos-comestibles-una-alternativa-de-futuro.html>
- Mariod, A.A., Saeed Mirghani, M.E., y Hussein, I. (2017). *Tenebrio molitor* mealworm unconventional oilseeds and oil sources. *Academic Press, Chapter 50*, 331-336.
- Mundi, S., y Aluko, R.E. (2012). Physicochemical and functional properties of kidney bean albumin and globulin protein fractions. *Food Research International*, 48(1), 299–306.
- Murefu, T.R., Macheke, L., Musundire, R., Manditsera, F.A. (2019). Safety of wild harvested and reared edible insects: A review. *Food Control. In Press, Accepted Manuscript*.
- Oonincx, D.G., van Itterbeeck, J., Heetkamp, M.J., van den Brand, H., van Loon, J.J., van Huis, A. (2010). An exploration on greenhouse gas and ammonia production by insect species suitable for animal or human consumption. *PLoS One*, 5(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014445>

- Oonincx, D.G.A.B., de Boer, I.J.M. (2012). Environmental impact of the production of mealworms as a protein source for humans – A life cycle assessment. *PLoS One*, 7(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051145>
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction: Antioxidant activity of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japan Journal of Nutrition*, 44(6), 307-315.
- Patel, S., Suleria, H.A.R., Rauf A. (2019). Edible insects as innovative foods: Nutritional and functional assessments. *Trends in Food Science & Technology*, In Press
- Payne, C.L.R., Scarborough, P., Rayner, M., Nonaka, K. (2016). A systematic review of nutrient composition data available for twelve commercially available edible insects, and comparison with reference values. *Food Science & Technology*, 47, 69-77.
- Pijoan, M. (2001). El consumo de insectos, entre la necesidad y el placer gastronómico. Elsevier. Vol. 20(9):11-199
- Premalatha, M., Abbasi, T., Abbasi, T., Abbasi, S.A. (2011). Energy-efficient food production to reduce global warming and ecodegradation: the use of edible insects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15, 4357–4360.
- Punzo, F. (1975). Effects of temperature, moisture and thermal acclimation on the biology of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Iowa State University, Retrospective Theses and Dissertations*.
- Ramos-Elorduy, J., Ávila González, E., Rocha Hernández, A., Pino, J.M. (2002). Use of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) to recycle organic wastes and as feed for broiler chickens. *Journal Economic Entomology*, 95(1), 214-220.
- Ravzanaadii, N., Kim, S.H., Choi, W.H., Hong, S.J., Kim, N.J. (2012) Nutritional Value of Mealworm, *Tenebrio molitor* as Food Source International. *Journal of Industrial Entomology*, 25(1), 93-98.
- Reglamento (UE) 2015/2283 del Parlamento Europeo y del Consejo de 25 de noviembre de 2015 relativo a los nuevos alimentos, por el que se modifica el

Reglamento (UE) nº 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo y se derogan el Reglamento (CE) nº 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo y el Reglamento (CE) nº 1852/2001 de la Comisión.

Rousseau, D. (2000). Fat crystals and emulsion stability - a review. *Food Research International*, 33, 3-14.

Rumpold, B.A., Schlüter, O.K. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular Nutrition Food Research*, 57, 802–823.

Saiga, A.I., Tanabe, S., Nishimura, T. (2003). Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3661–3667.

Salter, A.M. (2018). The effects of meat consumption on global health. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 37(1), 47-55.

Samways, M.J. (2005). Insect Diversity Conservation. *Cambridge University Press, Cambridge*.

Schabel, H.G. (2010). Forest insects as food: A global review. *Forest Insects as Food: Humans Bite Back*, 37–64

Soares de Castroa, R.J., Oharab, A., dos Santos Aguilara, J.G., Fontenele Dominguesc, M.A. (2018). Nutritional, functional and biological properties of insect proteins: Processes for obtaining, consumption and future challenges. *Food Science & Technology*, 76, 82-89.

Soto, H. (2003). Gusanos de la harina (Larvas de *Tenebrio molitor*). *Revista de Ornitología Científica Técnica Práctica. Órgano Oficial de ACRU (Asociación de Canaricultores Roller de Uruguay)*, 2, 39-40.

Tzompa-Sosa, D.A., Yi L.Y., Van Valenberg, H.J.F., Van Boekel, M.A.J.S., Lakemond, C.M.M. (2014). Insect lipid profile: Aqueous versus organic solventbased extraction methods. *Food Research International*, 62, 1087–1094.

- Umaña, J., Lopera, S., y Gallardo, C. (2013). Caracterización de harinas alternativas de origen vegetal con potencial aplicación en la formulación. *Alimentos Hoy*, 22(29), 33-46.
- Valdez Pantoja, C., Untiveros Bermúdez, G. (2010). Extracción y caracterización del aceite de las larvas del *Tenebrio molitor*. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 76, 407-414
- van Broekhoven, S., Oonincx, D.G.A.B., van Huis, A., van Loon, J. J. A. (2015). Growth performance and feed conversion efficiency of three edible mealworm species (*Coleoptera: Tenebrionidae*) on diets composed of organic by-products. *Journal of Insect Physiology*, 73, 1-10.
- van Huis, A., Oonincx, D.G.A.B. (2017). The environmental sustainability of insects as food and feed. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 37(5), artículo 43.
- Van Huis, A., Van Itterbeeck, J., Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G., Vantomme, P. (2013). Edible Insects. Future prospects for food and feed security. *FAO Forestry Paper*, 171, 199.
- Van Mierlo, K., Rohmer, S., Gerdessen, J.C. (2017). A model for composing meat replacers: Reducing the environmental impact of our food consumption pattern while retaining its nutritional value. *Journal of Cleaner Production*, 165(Supplement C), 930-950.
- Vandeweyer, D., Crauwels, S., Lievens, B., Van Campenhout L. (2017). Microbial counts of mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) and crickets (*Acheta domesticus* and *Gryllobates sigillatus*) from different rearing companies and different production batches. *International Journal of Food Microbiology*, 242, 13–18
- Xiaoming, C., Ying, F., Hong, Z. (2010). Forest insects as food: Humans bite back. Proceedings of a workshop on Asia-Pacific resources and their potential for development. *FAO*, 85–92.
- Zielińska E., karaś, M., Baraniak, B. (2018). Comparison of functional properties of edible insects and protein preparations thereof. *Food Science and Technology*, 91, 168-174.

- Zielińska, E., Baraniak, B., Karaś, M. (2017). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Hydrolysates and Peptide Fractions Obtained by Enzymatic Hydrolysis of Selected Heat-Treated Edible Insects. *Nutrients*, 9(9), 970.
- Zielińska, E., Baraniak, B., Karaś, M., Rybczyńska, K., Jakubczyk, A. (2015). Selected species of edible insects as a source of nutrient composition. *Food Research International*, 77, 460-466.
- Zielińska, E., karaś, M., Jakubczyk, A. (2017). Antioxidant activity of predigested protein obtained from a range of farmed edible insects. *International Journal of Food Science and Technology*, 52, 306–312.

