



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**CONSUMO DE INSECTOS COMO FUENTE DE
PROTEÍNA: REVISIÓN DE METODOLOGÍA PARA SU
IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN**

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA:

ELIZABETH GARCÍA BARRERA

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX. 2022





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesora: Sandoval Guillén Bertha Julieta

VOCAL: Profesora: Guzmán Aguirre Sandra

SECRETARIO: Profesora: García Saturnino Verónica

1er. SUPLENTE: Profesora: Méndez Palacios Iris Adriana

2do. SUPLENTE: Profesora: Sánchez Chinchillas Argelia

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: FACULTAD DE QUÍMICA

**Dirección: Circuito Escolar S/N, Ciudad Universitaria, Coyoacán CP. 04510
Ciudad de México**

ASESOR DEL TEMA:

QFB. Bertha Julieta Sandoval Guillén

SUSTENTANTE:

Elizabeth García Barrera

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	5
HIPÓTESIS	7
OBJETIVOS	7
Objetivo general	
Objetivos particulares	
I. ANTECEDENTES	8
1.1 Entomofagia a nivel mundial	9
1.2 Entomofagia en México	12
1.3 Composición química de insectos	14
1.3.1 Contenido de proteína	15
II. METODOLOGÍA	17
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
3.1 Contenido de proteína en insectos y factores que influyen en su cuantificación.	19
3.1.1 Identificación de insectos comestibles y su potencial como fuente de proteínas.	19
3.1.2 Etapas del ciclo de vida de los insectos.	21
3.1.3 Influencia del ciclo de vida de los insectos con el contenido de proteína	23
3.1.4 Composición química de insectos para consumo humano.	24
3.1.5 Elección de variables que influyen en la determinación de contenido de proteína en los insectos.	26
3.2 Propuesta de un método para determinar proteína en insectos.	30
3.2.1 Metodologías para determinar proteína total, y procedimientos de extracción.	30
3.2.2 Evaluación de la sobreestimación de proteína.	35

3.2.2.1	Corrección de nitrógeno proveniente de proteínas	35
3.2.2.2	Corrección de contenido de proteínas	38
3.2.3	Métodos de identificación y cuantificación de proteína en insectos.	41
	CONCLUSIONES	46
	BIBLIOGRAFÍA	47
	ANEXOS	54
	ANEXO 1	54
	ANEXO 2	55
	ANEXO 3	56

INTRODUCCIÓN

La carne es considerada una de las principales fuentes de proteínas de alta calidad, por su contenido de aminoácidos esenciales, es decir; aquellos que el metabolismo no sintetiza y que se obtienen de los alimentos. Debido a que la población mundial ha ido en aumento, no se alcanza a satisfacer la creciente demanda de consumo, por ende, se han buscado fuentes alternativas de este nutrimento. Los insectos pueden ser una alternativa viable, ya que el contenido de proteínas es alto y variable, aportando entre 40-50 gramos de proteína por 100 gramos de insecto (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2014; Van Huis y Tomberlin, 2017; Rojas, 2018).

El contenido de proteínas en los alimentos se cuantifica por medio de los métodos de Kjeldahl y Dumas; de acuerdo con las metodologías descritas en la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales, (AOAC International), para el análisis de alimentos (Jonas y Martínez, 2017). Ambos métodos cuantifican la cantidad de nitrógeno total presente en la muestra, el cálculo de proteína se hace mediante el uso de un factor que cambia dependiendo el tipo de alimento que se esté evaluando. En la mayoría de los alimentos, los aminoácidos representan el 16 % del peso de la proteína, por lo tanto; el factor de conversión de nitrógeno a proteína usualmente es 6.25. En algunos alimentos el factor es mayor o menor dependiendo de la proporción de nitrógeno en las proteínas (Simonne et al., 1999).

La falta de distinción del origen del nitrógeno del alimento genera una de las principales desventajas de ambos métodos de cuantificación de proteína. El método de Kjeldahl cuantifica nitrógeno orgánico y amonio por lo que hay interferencia de compuestos nitrogenados no proteicos, el método de Dumas cuantifica el nitrógeno inorgánico (fracciones como el nitrito y el nitrato) (Romero, 1997; Müller, 2017).

La estructura de los insectos (exoesqueleto) está formada principalmente por quitina compuesta por unidades de glucosamina y N-acetilglucosamina (NAG) enlazadas linealmente (Nikahd et al., 2020). Al componerse las moléculas de nitrógeno, el contenido de proteína calculado mediante el análisis de Kjeldahl y Dumas, así como el uso de los factores de conversión desarrollados para otros alimentos, sobreestiman el contenido de este nutriente (Jonas y Martínez, 2017).

Al analizar la composición química del insecto, así como los factores que influyen en la determinación del contenido proteico, se debe hacer una corrección del valor que se está considerando ya que hay una sobreestimación. Por lo anterior, en este trabajo se busca analizar el porcentaje de sobreestimación en el contenido de proteína, reportado en insectos considerando el contenido no proteico en la determinación.

HIPÓTESIS

Si se conoce el contenido de quitina presente en la estructura de los insectos y se considera el nitrógeno total de la muestra, se podrá calcular el porcentaje de sobreestimación de proteína reportada en la literatura, por los métodos de Kjeldahl y Dumas.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Analizar la sobreestimación del contenido de proteína reportado en insectos para proponer un método químico que permita determinar el contenido real de este nutrimento.

Objetivos Particulares

- Identificar las variables que afectan la determinación de proteínas en los insectos para evaluar su influencia en la sobreestimación en su contenido.
- Analizar la composición química de los insectos para establecer el contenido de nitrógeno no proteico que se debe considerar en el cálculo de la sobreestimación.
- Desarrollar un procedimiento confiable para la extracción y cuantificación de proteínas en insectos, utilizando como base los ya existentes.

I. ANTECEDENTES

Las proteínas son macromoléculas constituidas por cadenas de aminoácidos. Estos compuestos están formados por átomos de carbono (C), hidrógeno (H), oxígeno (O) y nitrógeno (N) al igual que algunos tienen azufre (S). Los aminoácidos tienen un grupo amino y un grupo carboxilo, se unen mediante enlaces peptídicos entre el grupo carboxilo y el grupo amino de éstos; formando la estructura de la proteína (López, 2014).

Estas moléculas son necesarias para el crecimiento, el desarrollo corporal, el mantenimiento y reparación del cuerpo, entre otras funciones como el reemplazo de tejidos desgastados o dañados, para producir enzimas metabólicas y digestivas, además son constituyentes esenciales de ciertas hormonas (Latham, 2002).

El organismo necesita del consumo de alimentos que funcionen como fuente de proteínas, estas pueden ser de origen animal o vegetal. Las de origen animal disponen de una mayor presencia y proporción de los aminoácidos esenciales, entre ellas se encuentran: la carne, pescado, mariscos, huevos, leche y sus derivados lácteos, entre otros (Nestlé, 2021).

Las fuentes de origen vegetal se consideran de menor calidad al presentar menor cantidad de aminoácidos esenciales, se encuentran: legumbres, cereales, cacahuates, semillas, entre otros. Es necesario ingerir diferentes grupos de alimentos de este tipo durante el día, para obtener una proteína de alto valor biológico y que, en su conjunto, proporcionen los aminoácidos esenciales que el cuerpo necesita. Adicionalmente, las proteínas de origen vegetal requieren un menor consumo de recursos naturales además de que generan una menor cantidad de gases de efecto invernadero en comparación con los alimentos de origen animal (Nestlé, 2021). A lo largo del tiempo se ha desarrollado el consumo de insectos en diferentes partes del mundo valorándose como fuente alternativa e inusual de proteínas.

De acuerdo con la FAO, la entomofagia se refiere “al consumo de insectos por los seres humanos”. El objetivo de esta práctica es la integración de insectos a la alimentación de manera consciente, además que tienen beneficios de carácter ambiental, sanitario, entre otros (Halloran y Vantomme, 2013).

Los insectos fueron fuente de alimentos para el ser humano cuando aún no se habían desarrollado armas para la cacería, ni técnicas agrícolas. Desde entonces, esta práctica ha persistido, no obstante, no es común integrar insectos a la alimentación ya sea por elección o sin saber que un producto está compuesto de insectos (Arnaldos et al., 2010).

1.1 ENTOMOFAGIA A NIVEL MUNDIAL

La entomofagia se practica con frecuencia en más de 90 países, principalmente en regiones de Asia, África y América Latina (Halloran y Vantomme, 2013). En la Figura 1, se observa el número de especies de insectos comestibles por país, México es uno de los países que cuentan con más de 300 especies al igual que China e India (Wageningen University, 2017). De acuerdo con lo reportado por distintos autores (Van Huis et al., 2013; Jongema y Wageningen University, 2017) las principales especies de insectos comestibles por grupo, en el mundo son: escarabajos (*Coleoptera*), orugas (*Lepidoptera*), abejas, hormigas y avispas (*Hymenoptera*), seguidos de saltamontes y langostas (*Orthoptera*), chinches (*Hemípteros*), libélulas (*Anisoptera*), termitas (*Isoptera*), entre otros; como se muestra en la Figura 2. Se destaca el grupo de escarabajos en la gráfica de pastel al tener mayor número de especies por grupo, 659 de un total de 2111 reportadas por Jongema y Wageningen University (2017).

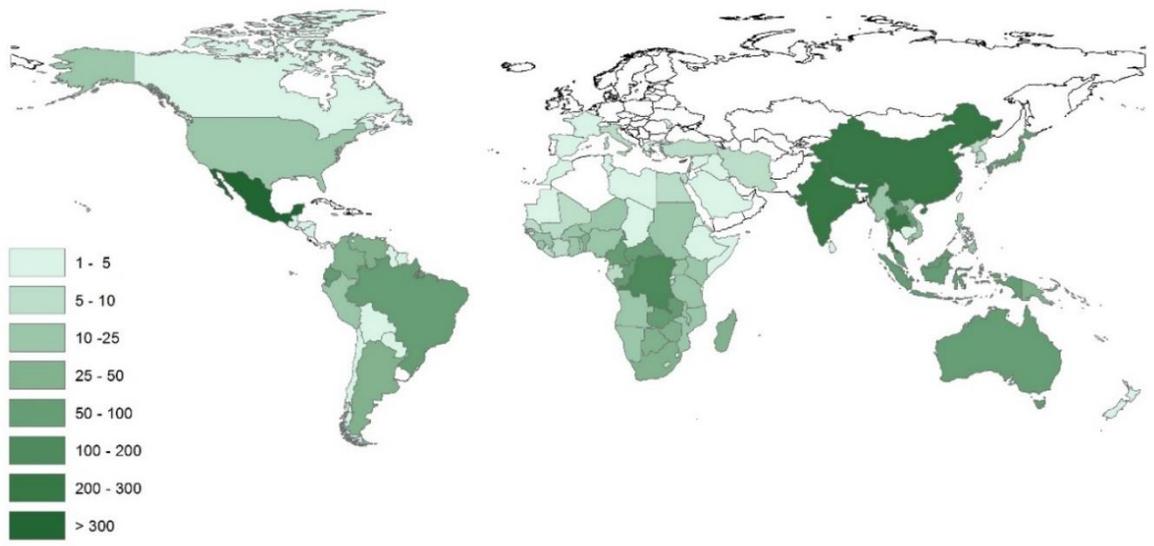


Figura 1. Cantidad de especies de Insectos comestibles registrados por país. Recuperada de: Jongema y Wageningen University, 2017.

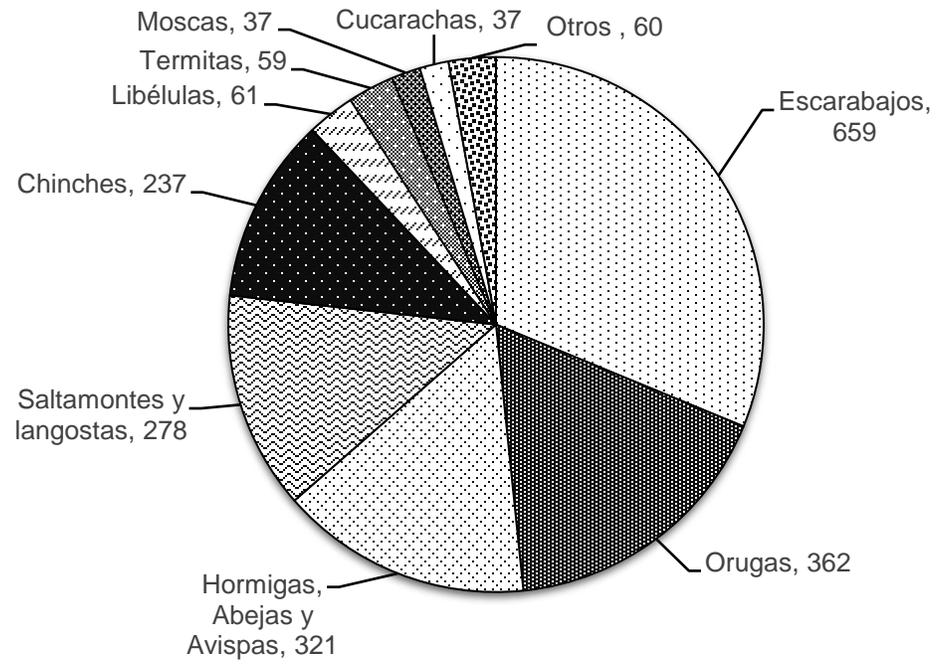


Figura 2. Número de especies de insectos comestibles reportadas por grupo, en el mundo (de un total de 2111). Basada en: Jongema y Wageningen University, 2017.

A nivel mundial existen aproximadamente 250 empresas que industrializan insectos o productos derivados, distribuidas mayormente en Bélgica, Brasil, Canadá, Dinamarca, España y Estados Unidos, estos dos últimos líderes en la producción de mosca doméstica *Musca domestica* y de mosca soldado *Hermetia illucens*. También Finlandia, Francia líder en gusano amarillo de las harinas *Tenebrio molitor*, Holanda, Reino Unido, Vietnam y Tailandia este último es considerado como productor global de grillos con fines comestibles en el planeta (Pino, 2020).

En la Figura 3 se presenta el mercado de insectos reportado en el año 2019 por FUNDES STRATEGY (2019). En Norteamérica, hay una demanda de fuentes de alimentos alternativas que sean sostenibles, dando como resultado un aumento de consumo de insectos en el mercado. En América Latina, México aporta alrededor del 19% del total de la industria de insectos comestibles, en cambio; en Europa Suiza tiene el mayor porcentaje (17%). Tailandia, China y Vietnam son los mayores consumidores de insectos en Asia.

África tiene el mercado más bajo de insectos comestibles comparado con los otros continentes, sin embargo, en el Congo, Camerúm, Zambia, Zimbabwe, Sudáfrica y Nigeria es común su consumo (FUNDES STRATEGY, 2019).

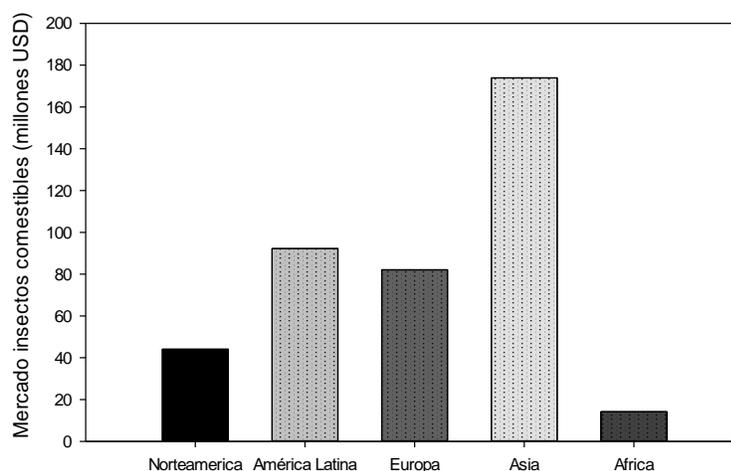


Figura 3. Mercado de insectos comestibles (en millones) Adaptada de: FUNDES STRATEGY (2019)

1.2 ENTOMOFAGIA EN MÉXICO

Es una práctica que se realiza desde la época prehispánica, los insectos comúnmente consumidos eran: libélulas, chapulines, escamoles, jumiles, gusano de maguey, gusanos de nopal, gusanos de maíz, moscas, hormigas, abejas, entre otros (Unilever Food Solutions, 2021).

Existen 2 mil especies de insectos comestibles en el mundo, en ese sentido, especialistas del Instituto de Biología de la UNAM en México, han identificado a más de 500 variedades de insectos para consumo tan sólo en los estados del centro, sur y sureste del país (UNAM Global, 2016). Entre estas destacan los escamoles, gusanos de maguey, hormigas chicanas, ahuatles, chapulines, jumiles, chinicuiles, entre otros (Díaz y Moreno, 2019), comparando las especies, se observa que algunas se consumen desde la época prehispánica hasta la época actual.

El consumo de insectos está presente en gran parte de la República Mexicana concentrada principalmente en grupos indígenas como: zapotecos, popolocas, tzetzales, huicholes, nahuas, tzotziles, tarascos, mayas, tlapanecos, mixtecos, entre otros, donde se hacen celebraciones en honor a estos (Viesca y Romero, 2009; INAH, 2012).

En la Tabla 1 se presentan los principales insectos de consumo en México y las regiones donde es común su integración en la alimentación. En la Figura 4, se observa la morfología de estos, para su identificación.

Tabla 1. Principales insectos de consumo en México y regiones donde es común su ingesta

Insecto	Estado de la República Mexicana en el que se consume
Hormiga chicatana <i>Liometopum apiculatum</i>	Estado de México, Ciudad de México, Hidalgo, Nuevo León, Puebla, Querétaro y Tlaxcala
Hormiga güijera (escamoles) <i>Atta mexicana</i>	Chiapas, Estado de México, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Oaxaca, Puebla, Veracruz y Yucatán
Gusano rojo de maguey <i>Aegiale hesperiaris</i>	Estado de México, Ciudad de México, Hidalgo, Michoacán, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Tlaxcala y Veracruz
Gusano blanco de maguey <i>Comadia redtembacheri</i>	Estado de México, Ciudad de México, Hidalgo, Durango, Guanajuato, Michoacán, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Tlaxcala y Zacatecas
Jumiles <i>Edessa spp</i> y <i>Euschistus zopitensis</i>	Estado de México, Ciudad de México, Guerrero, Morelos y Oaxaca

Fuente: Ramos-Elorduy, et al. (2015).



Figura 4. Insectos comestibles más consumidos en México. Recuperada de Romero y Carranza (2018)

1.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE INSECTOS

Los insectos desempeñan una importante función en la alimentación tanto del ser humano como de algunos animales domésticos siendo una excelente fuente de proteínas, hidratos de carbono y vitaminas (Vantomme, 2010).

En la Tabla 2 se presenta la composición química de algunos insectos comestibles, se puede observar que el contenido de cada uno de los nutrimentos varía dependiendo el orden al que pertenecen.

Gran parte de la atención en los insectos como alimento se ha centrado en su elevado contenido de proteína, sin embargo, se ha demostrado que también representan una fuente alternativa de lípidos y en especial de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) esenciales. Desde un punto de vista nutrimental, destaca su elevado contenido en ácidos grasos insaturados (superior al 60%) y en particular los altos niveles de los ácidos oleico (C18:1), linoleico (C18:2 n-6) y α -linolénico (C18:3 n-3) (Santurino et al., 2016).

De acuerdo con Ramos et al. (1998), la cantidad de calorías que aportan los insectos es de 216.94 a 776.8 kcal/100 g. Referente a las vitaminas, algunos insectos son ricos en tiamina y riboflavina como *Sphenarium purpurascens* al igual que proporcionan una cantidad importante de niacina como *Sphenarium sp.*

Tabla 2. Composición química de insectos comestibles.

Insecto	Orden	Proteínas	Grasas	Carbohidratos	Minerales	Fibra Cruda
g/100g de insecto						
Libélulas	<i>Odonata</i>	56.22	22.93	0.02	4.20	16.61
Langostas y saltamontes	<i>Orthoptera</i>	77.63	4.20	4.01	2.40	12.13
Mariposas y polillas	<i>Lepidoptera</i>	58.82	6.80	1.98	6.09	26.22
Moscas	<i>Diptera</i>	35.81	5.80	5.18	31.12	22.00
Escarabajos	<i>Coleoptera</i>	31.21	34.30	0.05	1.72	32.72
Hormigas, abejas y avispas	<i>Hymenoptera</i>	60.60	10.61	13.14	5.36	10.18

Fuente: Fleta (2018)

1.3.1 CONTENIDO DE PROTEÍNA

En diversas regiones se realizan análisis químicos para la determinación de la composición química de los insectos, principalmente se evalúa el contenido de proteína para determinarse como fuente alternativa de la misma. Los procedimientos de cuantificación de proteína más usados miden la cantidad de nitrógeno y han sido validados en alimentos como: carne, huevos o productos lácteos y granos. Se utiliza un factor de conversión específico para cada tipo de alimento, asumiendo que todo el nitrógeno presente está en forma de proteína (Merrill y Watt, 1973). Con la determinación de aminoácidos, se caracteriza nutricionalmente un alimento, es importante para el desarrollo de una industria alimenticia de calidad y fundamental para la salud humana. En la Tabla 3, se compara el contenido de aminoácidos esenciales y no esenciales, presentes en el insecto *T. molitor* y en la carne de res, demostrando que puede ser una fuente de proteínas viable. Las larvas de *T. molitor* contienen un alto contenido de proteínas, grasa, fibra y minerales. Su crianza se basa en el consumo de una variedad de frutas y hortalizas, alimentos de los cuales extraen el agua y nutrientes que necesitan. Por ello, han adquirido gran importancia económica, llegando a convertirse en una importante fuente de alimento de alta calidad, y un suplemento alimenticio para mascotas (Díaz et al., 2021).

El contenido de proteínas de diferentes especies de insectos, reportados en la literatura se obtiene principalmente a partir de la cuantificación de nitrógeno total utilizando el factor de conversión de nitrógeno a proteína de 6.25, generalmente de manera indistinta; al no haber un factor específico para cada especie de insecto.

La presencia de nitrógeno de origen no proteico (NNP) en insectos, proveniente de quitina, ácidos nucleicos, fosfolípidos y productos de excreción (por ejemplo, amoníaco) en el tracto intestinal, llevan a una sobreestimación del contenido de proteínas al considerar que todo el nitrógeno cuantificado es proteico (Janssen et al., 2017), independientemente del proceso de extracción o cuantificación, se utilice Kjeldahl o Dumas.

Hay algunas variables que se deben considerar en la composición química de los insectos, que influyen principalmente en el contenido de proteínas como la especie. El valor nutricional de los insectos también va a depender de acuerdo con el tipo de alimentación, etapa del ciclo de vida, método de extracción, e incluso el sexo del insecto (Oonincx y Van der Poel, 2011; Kulma et al, 2019).

Tabla 3. Comparación en el contenido de aminoácidos del insecto *T. molitor* y carne de res.

Aminoácido	<i>T. molitor</i> (g/kg muestra seca)	Carne de res (g/kg muestra seca)
Esenciales		
Isoleucina	27.7	16.0
Leucina	52.2	42.0
Lisina	26.8	45.0
Metionina	6.3	16.0
Fenilalanina	17.3	24.0
Treonina	20.2	25.0
Triptófano	3.9	-
Valina	28.9	20.0
Histidina	15.5	20.0
No esenciales		
Alanina	40.4	30.0
Ácido aspártico	40.0	52.0
Cisteína	4.2	5.9
Glicina	27.3	24.0
Ácido glutámico	55.4	90.0
Prolina	34.1	28.0
Serina	25.2	27.0
Taurina	0.10	-
Arginina	25.5	33.0
Tirosina	36.0	22.0

Fuente: Van Huis et al. (2013)

II. METODOLOGÍA

Para cumplir con el objetivo del trabajo, se hizo una revisión de información de artículos científicos nacionales e internacionales, libros, conferencias registradas, bases de datos, sobre: el consumo de insectos a nivel nacional e internacional, beneficios reportados de consumo, características generales (composición química), así como, variables (especie, etapas del ciclo de vida, sexo del insecto, y método de extracción de proteínas) que influyen en la determinación y cuantificación de este nutrimento, metodología y registros relacionados con el desarrollo del trabajo.

Las fuentes principales de consulta empleadas fueron:

- **Biblioteca Digital de la UNAM (UNAM-BIDI):** A través de distintas bases de datos, se realizó la búsqueda de artículos científicos para la recopilación de la información.
- **Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO):** Por medio de esta fuente se consultaron las definiciones de entomofagia y proteínas, artículos sobre el consumo de insectos, así como en registros de conferencias y acuerdos nacionales e internacionales.

Para la propuesta del método se llevó a cabo un análisis del contenido de proteína reportado en diversos artículos, se evaluó la metodología de cuantificación y extracción de proteínas, así como los principales factores que causan variación en el dato obtenido. Se seleccionaron los resultados de cuantificación de proteína por el método de Kjeldahl al ser el método oficial para alimentos de consumo humano.

Con la información recopilada se elaboraron dos propuestas para evaluar la sobreestimación del contenido de proteínas en los insectos.

En la primera propuesta se hizo una corrección del contenido de nitrógeno total considerando el valor de nitrógeno proveniente de la quitina. Se obtuvo una estimación del contenido de nitrógeno proteico, el cual se convirtió a proteína usando el factor de 6.25 para el método de Kjeldahl.

Se emplearon distintos valores de quitina dependiendo la especie del insecto, de acuerdo con lo reportado por diversos autores (Ramos-Elourdy et al., 1997; Banjo, 2006; Raksakantong, 2010; Sirimungkararat et al., 2010; Ramos-Elourdy et al., 2012) véase Tabla 7. El contenido de nitrógeno en la quitina reportado fue de 6.8 % (Shaofang et al. 2012; Janssen et al. 2017).

En la segunda propuesta se realizó la corrección del contenido de proteínas usando el nuevo factor de conversión (4.76 ± 0.09) propuesto por Janssen et al. (2017).

Se compararon los resultados obtenidos por ambas propuestas y se calculó el porcentaje de proteínas que se está sobreestimando mediante el método de Kjeldahl considerando el nitrógeno total y el uso del factor de 6.25.

Se realizaron dos Análisis de Varianza (ANOVA) de dos factores con varias muestras por grupo evaluando la influencia del sexo de los insectos en el contenido de proteína y en el de quitina.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 CONTENIDO DE PROTEÍNA EN INSECTOS Y FACTORES QUE INFLUYEN EN SU CUANTIFICACIÓN.

3.1.1 IDENTIFICACIÓN DE INSECTOS COMESTIBLES Y SU POTENCIAL COMO FUENTE DE PROTEÍNAS

De acuerdo con Rumpold y Schlüter (2013) los insectos proporcionan cantidades satisfactorias de energía y proteínas, satisfacen los requisitos de aminoácidos para los seres humanos, tienen un alto contenido de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados, son ricos en micronutrientes como cobre, hierro, magnesio, manganeso, fósforo, selenio y zinc, así como riboflavina, ácido pantoténico, biotina y, en algunos casos, ácido fólico, al igual que son ricos en fibra.

Se debe considerar que la composición nutricional de los insectos varía sustancialmente entre especies: a lo largo de las etapas metamórficas (huevos, larvas, pupas o adultos), el hábitat y la dieta del insecto (Van Huis et al., 2013).

En la Tabla 4 se observa el contenido de proteína en algunas especies de insectos, así como su variación dentro del mismo orden. El valor de proteína varía desde 23.47 % para termita *Macrotermes nigeriensis* hasta 65.60% para cucaracha *Periplaneta americana L* por lo que, no se puede considerar la misma cantidad de proteínas para todos los insectos, al haber variación incluso entre especies.

Tabla 4. Contenido de proteína determinado por el método de Kjeldahl, reportado en base seca (BS) en diferentes especies de insectos

Insectos comestibles	Nombre científico	Contenido de proteína (%) BS	Etapas del ciclo de vida	País de estudio/ Origen
Escarabajo ¹	<i>Callipogon barbatus</i>	41.00	Larva	México
Escarabajo ⁵	<i>Protaetia brevitarsis</i>	44.23	Larva	Corea del Sur
Escarabajo ²	<i>Oryctes rhinoceros</i>	50.48	Larva	Nigeria
Escarabajo ⁵	<i>Tenebrio molitor</i>	53.22	Larva	Corea del Sur
Escarabajo ⁵	<i>Allomyrina dichotoma</i>	54.18	Larva	Corea del Sur
Escarabajo ⁴	<i>Copris nevinsoni</i> <i>Waterhouse</i>	54.43	Larva	Tailandia
Escarabajo ²	<i>Oryctes rhinoceros</i> Linnaeus	57.81	Larva	Nigeria
Escarabajo ⁴	<i>Tenebrio molitor</i>	60.20	Adulto	México
Grillo ⁵	<i>Teleogryllus emma</i>	55.65	Adulto	Corea del Sur
Grillo ⁵	<i>Gryllus bimaculatus</i>	58.32	Adulto	Corea del Sur
Cucaracha ³	<i>Periplaneta australasiae</i> F	62.40	NR	México
Cucaracha ³	<i>Periplaneta americana</i> L	65.60	NR	México
Mosca ¹	<i>Copestylum haggi y anna</i>	37.00	NR	México
Mosca ⁴	<i>Efidra hians</i>	35.87	NR	México
Abeja ¹	<i>Apis mellifera</i>	42.00	Larvas	México
Abeja ¹	<i>Apis mellifera</i>	49.00	Pupas	México
Abeja ¹	<i>Apis mellifera</i>	50.00	Larvas y Pupas	México
Hormiga ⁴	<i>Liometopum apiculatum</i>	39.67	Larvas	México
Hormiga ¹	<i>Pogonomyrmex barbatus</i>	45.79	NR	México
Hormiga ¹	<i>Atta mexicana</i>	46.00	NR	México
Termitas ⁴	<i>Macrotermes bellicosus</i>	34.80	NR	Nigeria
Termitas ⁴	<i>Macrotermes nigeriensis</i>	23.47	NR	Nigeria
Mariposa ¹	<i>Aegiale (Acentrocne) hesperiaris</i>	40.00	Larva	México
Mariposa ⁴	<i>Aegiale hesperiaris</i>	40.34	Larva	México

*Proteína= %N x 6.25, NR (No reportado)

1. Ramos-Elourdy et al. (1997); 2. Onyeike et al. (2005); 3. Ramos-Elourdy et al. (2012); 4. Rumpold y Schlüter (2013); 5. Tae-Kyung et al. (2019)

3.1.2 ETAPAS DEL CICLO DE VIDA DE LOS INSECTOS

Se le llama metamorfosis a la serie de cambios que sufren los insectos durante su desarrollo desde el huevo hasta convertirse en adultos. Con sus excepciones, los insectos nacen a partir de un huevo, su desarrollo posterior puede tomar uno de dos caminos, la metamorfosis incompleta o gradual, o la metamorfosis completa (Zumbado y Azofeifa, 2008).

Los insectos pueden clasificarse en ametábolos y metábolos. Los ametábolos presentan muy pocos cambios, principalmente de tamaño y desarrollo de genitalia externa. Este tipo de metamorfosis se encuentra en insectos primitivos sin interés agrícola que, por carecer de alas, se conocen también como apterigotos (Universidad Nacional de Córdoba, 2019).

La gran mayoría de los insectos, son metábolos, es decir presentan cambios externos más o menos pronunciados durante su desarrollo, y como poseen alas (o las han perdido secundariamente) se conocen también como pterigotos (Universidad Nacional de Córdoba, 2019).

Tipos de metamorfosis:

- **Metamorfosis incompleta o gradual**

Inicia con el huevo, del que nace un pequeño insecto de apariencia similar al adulto, llamado *ninfa*, el cual carece de alas y su aparato reproductor funcional (Zumbado y Azofeifa, 2008). Este tipo de insectos pasa por los estados de desarrollo: Huevo-Ninfa-Adulto (Universidad Nacional de Córdoba, 2019). Se dan varias fases o estadios, durante las cuales se van desarrollando paulatinamente las alas, hasta llegar finalmente a la fase adulta, capaz de reproducirse, y de volar.

Este tipo de desarrollo se presenta en:

- Insectos del orden *Orthoptera* como son grillos y chapulines principalmente.

Las hembras depositan los huevos en diversos sustratos que incluyen el suelo, hojas, troncos, cortezas, hojarasca y ramitas. En muchos casos producen sonidos al frotar una parte del cuerpo contra la otra. Tienen antenas largas y filiformes, segmentadas (Zumbado y Azofeifa, 2008).

- Insectos del orden Blattodea (cucarachas)

Se reproducen sexualmente, las hembras ponen de tres a seis cápsulas de huevos conocidas como ootecas, cada una con alrededor de 30 a 50 huevos. Dependiendo de la especie, las ootecas son pegadas a un sustrato, algunas se cargan en el extremo del abdomen hasta que las ninfas emergen o las hembras mantienen la ooteca dentro del abdomen hasta un cierto tiempo para parir a las ninfas.

- Insectos del orden Hemiptera (Chinches, chicharritas)

- **Metamorfosis Completa**

Consta de cuatro etapas: huevo-larva-pupa-adulto. Cuando el insecto está en su etapa de *larva*, es muy diferente en forma y estructura al adulto. Las larvas incrementan su tamaño en cada estadio. Durante la etapa de pupa el insecto no se alimenta y se mantiene protegido al resguardo de los depredadores (Zumbado y Azofeifa, 2008). Ejemplos de grupos que presentan este tipo de metamorfosis:

- Insectos del orden Coleoptera (abejones, escarabajos, picudos, mariquitas).
- Insectos del orden Himenópteros (hormigas, abejas y avispas)

3.1.3 INFLUENCIA DEL CICLO DE VIDA DE LOS INSECTOS EN EL CONTENIDO DE PROTEÍNA

Los insectos son consumidos en diferentes etapas de su ciclo de vida como: huevos, larvas, pupas o adultos. Las principales especies consumidas son, por orden de importancia: escarabajos (*Coleoptera*), orugas (*Lepidoptera*), hormigas, abejas y avispas (*Hymenoptera*), saltamontes y langostas (*Orthoptera*), chinches, pulgones y chicharritas (*Hemiptera*), termitas (*Isoptera*) y moscas (*Diptera*) y algunas otras. Los lepidópteros, coleópteros y dípteros (incluidas las moscas) se consumen comúnmente en la **etapa larvaria**; mientras que *Orthoptera*, *Hymenoptera*, *Hemiptera* e *Isoptera* se consumen principalmente en la **etapa adulta** (Yi, et al., 2013).

De acuerdo con Jansen et. al. (2017) se necesitarían estudios detallados para desarrollar factores de conversión de nitrógeno específicos para cada especie de insecto y para cada etapa del ciclo de vida de la especie. Jonas y Martínez (2017) también nos mencionan que la gran variedad de insectos comestibles en sus diferentes etapas de desarrollo, y la heterogeneidad en la composición con respecto a la quitina dificulta tener un factor detallado para cada insecto en sus distintas etapas del ciclo de vida, siendo una variable que se tiene que considerar.

Algunos autores (Kulma et al., 2019) han reportado la influencia del ciclo de vida en la determinación de contenido de proteína, sin embargo, en la Tabla 4 se puede observar que, para el caso de las abejas, el contenido de este nutrimento es similar como pupa, larva y la combinación de estas.

3.1.4 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE INSECTOS PARA CONSUMO HUMANO

En los insectos y demás artrópodos la estructura de soporte de los músculos es externa, a diferencia de los vertebrados (peces, anfibios, reptiles, aves, y mamíferos) que presentan un esqueleto interno. El exoesqueleto está conformado por la cutícula, y la epidermis. La cutícula está compuesta principalmente por quitina, se encuentra encima de la epidermis y se extiende por todo el cuerpo incluyendo los extremos del tubo digestivo y tubos respiratorios (Zumbado y Azofeifa, 2008). La quitina está compuesta de unidades de N-acetilglucosamina, como se muestra en la Figura 5, estas se encuentran unidas entre sí por enlaces β -1,4, de la misma forma en que las unidades de glucosa componen a la celulosa (Zainol et al., 2020).

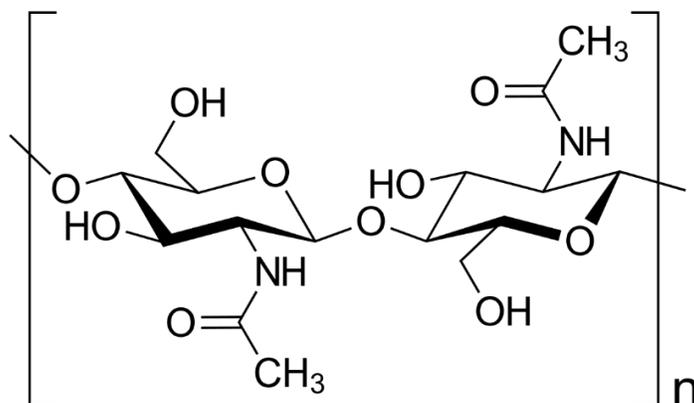


Figura 5. Estructura de la quitina, moléculas de N-acetilglucosamina unidas por enlaces β -1,4

La endocutícula está compuesta de quitina y proteínas, sin embargo, no forma parte de las escleroproteínas y, por tanto, es suave y flexible. La exocutícula está compuesta de quitina y escleroproteínas por lo que se presenta rígida (Soto et al., 2011). La cantidad de quitina y proteína no digerible en la cutícula de los insectos es muy variable: las cutículas duras tienen un alto contenido de proteína entre el 70 y el 85% (peso seco) y las blandas un bajo contenido de quitina del 15 al 30% (Chapman, 2013).

La quitina rara vez existe en forma pura en la naturaleza, generalmente se encuentra unida a una matriz compleja con otros compuestos. Se ha sugerido que

la quitina podría aportar una cantidad significativa de nitrógeno y, por lo tanto, estimar la proteína usando nitrógeno y el factor de 6.25 podría resultar en una sobreestimación del contenido de proteína real del insecto (Finke, 2007).

Finke (2007) hace una estimación del contenido de quitina, de acuerdo con el porcentaje de fibra ácido detergente (ADF), al basarse en la similitud estructural entre la celulosa y la quitina. El contenido de quitina resulta despreciable y concluye que, para determinar el contenido de proteína total, se puede seguir usando el factor de 6.25 como una estimación razonable del contenido de proteína real para las especies de insectos estudiados. Esta afirmación se contradice con lo antes reportado de la sobreestimación del contenido de proteínas en los insectos ya que, desprecia la cantidad de quitina cuantificada en el extracto obtenido, en cambio Janssen et al. (2017), no consideran insignificante el contenido no proteico cuantificado del extracto (incluyendo la quitina). En esta investigación, se consideró la suma de los aminoácidos para la modificación del contenido de proteínas y un nuevo factor dependiendo el tipo del insecto (véase Tabla 5).

3.1.5 ELECCIÓN DE VARIABLES QUE INFLUYEN EN LA DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE PROTEÍNA EN LOS INSECTOS.

Los valores nutricionales de los insectos varían incluso dentro de las especies dependiendo la dieta y cómo se preparan los insectos antes de consumo (Ramos et al., 2012).

Efecto del procesamiento y extracción de proteína en el insecto

Para utilizar insectos como fuente alternativa de proteínas, la extracción eficaz de las mismas es un requisito previo, ya que se buscan presentaciones en las que los insectos sean aceptados por los consumidores potenciales. De acuerdo con Janssen et al. (2017), determinaron el factor de conversión de nitrógeno a proteína para larvas de tres distintas especies y sus extractos de proteínas, los resultados se muestran en la Tabla 5.

En la determinación del contenido de proteína a partir del contenido de nitrógeno total, se calculó el factor a través de la relación de nitrógeno proteico que se consideró a partir del perfil de aminoácidos realizado y el nitrógeno total de la muestra cuantificado por el método de Dumas. La relación para el factor de conversión queda como: N_{aa} / N_t .

La determinación del factor de nitrógeno se realizó primero en las larvas de *T. molitor*, *A. diaperinus* y *H. illucens* posteriormente determinaron el valor después de la extracción y purificación de proteínas (de cada larva). En la primera parte (Janssen et al., 2017) consideraron un valor de factor promedio de 4.76 ± 0.09 . Este factor fue diferente al obtenido para la proteína soluble extraída, el valor promedio fue de $5,60 \pm 0,24$. Siendo significativamente más alto en comparación con el de las larvas enteras, ya que se considera la eliminación del nitrógeno no proteico (NNP) (Janssen et al., 2017).

En la extracción de proteínas (Janssen et al., 2017) mezclaron las larvas congeladas con ácido cítrico 0.1 M y un buffer de fosfato disódico 0.2 M a pH 6. Posteriormente las soluciones obtenidas se centrifugaron y filtraron, lo obtenido se

dializó, considerándose como el extracto de proteínas que posteriormente se liofilizó para su almacenamiento.

Debido a las diferencias obtenidas se proponen dos factores considerando el tipo de muestra que se tenga, es así como, se demuestra la influencia que tiene el proceso de extracción de proteína en el insecto comparado con la determinación directa en el mismo.

Tabla 5. Contenido de proteína (g/ 100 g de muestra seca) determinado por el método de Dumas en diferentes larvas de insectos y sus extractos.

Insecto	Nitrógeno total	Factor determinado	Contenido de proteínas (Nuevo factor)
<i>Tenebrio molitor</i>	9.41 ± 0.03	4.75	44.8 ± 0.1
Extracto de <i>T. molitor</i>	12.15 ± 0.53	5.59	68.1 ± 3.0
<i>Alphitobius diaperinus</i>	10.21 ± 0.05	4.86	48.6 ± 0.2
Extracto de <i>A. diaperinus</i>	13.00 ± 1.09	5.59	72.8 ± 6.1
<i>Hermetia illucens</i>	7.70 ± 0.06	4.67	36.7 ± 0.3
Extracto de <i>H. illucens</i>	12.06 ± 0.13	5.62	67.6 ± 0.7

Fuente: Janssen et al. (2017).

Efecto del sexo de los insectos en el contenido de proteína

Para conocer la influencia del sexo en la cantidad de proteína aportada por insectos, se revisó la investigación de Kulma et al. 2019, en dónde evaluaron el efecto del sexo del insecto en el porcentaje de proteína. El grillo *A. domestica* fue seleccionado como la especie a evaluar, el cual se compró en tres lotes de fuentes comerciales locales. En la Tabla 6 se presentan los resultados obtenidos, reportados por lote analizado.

Tabla 6. Contenido de proteína y quitina en insectos, dependiendo el sexo

Insecto	Método	Hembra	Macho	Hembra	Macho
		Contenido de proteína		Contenido de quitina	
(g/ 100 g de muestra seca)					
Grillo (<i>Acheta domestica</i> L.) ²	Kjeldahl Factor: 6.25	63.10 ±0.40 ^{aA}	69.90±0.40 ^{bA}	5.40±0.40 ^p	6.20±0.20 ^q
Grillo (<i>Acheta domestica</i> L.) ²	Kjeldahl Factor: 6.25	66.60±0.50 ^{aA}	70.80±0.60 ^{bA}	5.50±0.30 ^p	6.10±0.30 ^q
Grillo (<i>Acheta domestica</i> L.) ²	Kjeldahl Factor: 6.25	65.70±0.10 ^{aA}	71.90±0.30 ^{bA}	5.50±0.10 ^p	6.00±0.70 ^q
Saltamontes (<i>Zonocerus variegatus</i> L.) ¹	Kjeldahl Factor: NR	17.28 ± 0.01 ^{aB}	14.96± 0.03 ^{bB}	NR	NR

(a y b) letras distintas indican que hay diferencia significativa entre filas con un $\alpha = 0.05$

(A y B) letras distintas indican que hay diferencia significativa entre columnas con un $\alpha = 0.05$

(p y q) letras distintas indican que hay diferencia significativa entre filas con un $\alpha = 0.05$

NR: No reportado

1. Ademolu et al. (2017); 2. Kulma et al. (2019)

Como se observa en la Tabla 6, el contenido de proteína varía dependiendo el sexo del insecto, en el caso de los grillos, los machos contienen mayor proteína comparado con las hembras. El análisis realizado por Kulma et al. (2019) confirma que los grillos, tanto machos como hembras son una fuente potencial de proteínas y que el contenido de estas es significativamente afectado por el sexo. En el caso de los saltamontes, las hembras presentaron mayor contenido de proteína, comparado con los machos. Este efecto se asocia a las diferencias en sus requisitos nutricionales para su rendimiento óptimo específicos del sexo (Reddiex et al., 2013).

Los resultados del análisis de varianza (ANOVA) de dos factores (Hembra y Macho) con varias muestras por Grupo (Grillos *Acheta domestica* L. y Saltamontes *Zonocerus variegatus* L.), con un $\alpha = 0.05$, señalan que hay una diferencia estadísticamente significativa; entre las variables medidas de especie y contenido de proteína de acuerdo con el sexo. Es decir, se afirma que el contenido de proteína se distingue entre el tipo de insectos Grillos y Saltamontes, siendo menor en estos últimos. En cuanto a la influencia del sexo, es mayor el contenido de proteína en los grillos machos y saltamontes hembras (véase Anexo 1).

En el caso de los grillos en la fecundación, las hembras dependen de la ingesta de proteínas, las cuales son necesarias para el desarrollo del huevo. Es así como el contenido de proteínas en ellas se vea reflejado como menor comparado con los machos, en cambio; éstos prefieren una dieta rica en carbohidratos para satisfacer la demanda de energía gastada durante el cortejo por lo que tienen mayor cantidad de proteínas como se ve reflejado en la Tabla 6.

Cuando se analizó el contenido de quitina en grillos por Kulma et al. (2019), en el caso de los machos, se obtuvo mayor cantidad de este componente comparado con las hembras. Los resultados del análisis de varianza (ANOVA) de dos Factores (Hembra y Macho) con varias muestras por Grupo (Grillos *Acheta domestica* L.), con un $\alpha = 0.05$, señalan que hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de quitina de acuerdo con el sexo. Se confirma lo reportado por Kulma et al. (2019), respecto a la influencia del sexo del insecto en el contenido de quitina. En cambio, no hay diferencia estadísticamente significativa, entre los Grupos de grillos (véase Anexo 2).

El contenido de proteína y quitina depende del sexo del insecto (hembra o macho) por lo que se debe de considerar la variación para la corrección del contenido de proteína en los insectos.

3.2 PROPUESTA DE UN MÉTODO PARA DETERMINAR PROTEÍNA EN INSECTOS

3.2.1 METODOLOGÍAS PARA DETERMINAR PROTEÍNA TOTAL Y PROCEDIMIENTOS DE EXTRACCIÓN DE PROTEÍNAS

La forma más habitual de cuantificación de proteína es de forma indirecta y aproximada, a partir del contenido de nitrógeno en la muestra, o bien deduciendo su cantidad a partir del contenido de uno o dos aminoácidos particulares. Este último es más inexacto (García & Fernández, 2012).

La naturaleza de la muestra y el motivo específico del análisis suelen dictar la elección de los métodos analíticos; velocidad, precisión, especificidad y sensibilidad a menudo son factores clave en esta elección. (Nielsen, 2017).

Para cuantificar el contenido de nitrógeno total en los alimentos y posteriormente convertirlo a proteína, se emplean principalmente dos métodos: Kjeldahl y Dumas.

- **Método de Kjeldahl**

Actualmente sigue siendo el método oficial más usado. Éste emplea una digestión ácida (con ácido sulfúrico concentrado y catalizadores) que efectúa la destrucción oxidativa de la materia orgánica de la muestra y la reducción del nitrógeno orgánico a amoníaco. La reacción forma sulfato de amonio, que en exceso de hidróxido de sodio genera amoníaco, el cual se destila y se titula para determinar el contenido de nitrógeno en la muestra a estudiar (Lanza et al., 2016).

Este método se compone especialmente de tres etapas:

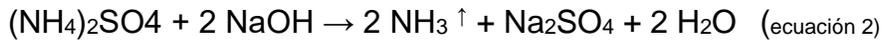
- **Digestión**

Las proteínas y componentes orgánicos de los alimentos en la muestra se digieren con ácido sulfúrico en presencia de catalizadores (sulfato de cobre para acelerar la reacción). El nitrógeno orgánico total se convierte en sulfato de amonio (Centeno, 2020).



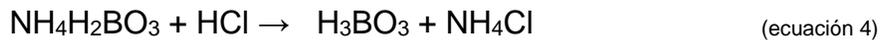
- **Destilación y Neutralización**

Se alcaliniza la muestra digerida y el nitrógeno se desprende en forma de amoníaco (ecuación 2). El amoníaco destilado se recoge sobre un exceso de ácido bórico (ecuación 3).



- **Titulación**

Los aniones de borato formados se titulan con ácido estandarizado. El resultado del análisis representa el contenido de proteína cruda del alimento ya que el nitrógeno también proviene de componentes no proteicos (García y Fernández, 2012).



- **Método de Dumas**

Se caracteriza por pirólisis completa de la muestra y medición del contenido de nitrógeno de los gases de combustión. El nitrógeno puede ser medido con manómetro después de absorber el dióxido de carbono en una solución alcalina o por conductividad térmica en métodos automatizados (Romero, 1997).

La muestra de masa conocida se ingresa en una cámara a altas temperaturas con presencia de oxígeno y de un catalizador, la muestra sólida o líquida se combustiona, esto conduce a la liberación de dióxido de carbono (CO₂), agua (H₂O) y nitrógeno. Los óxidos de nitrógeno (NO_x) resultantes se reducen a nitrógeno elemental con la ayuda de cobre, mientras que los subproductos (H₂O y CO₂) se separan completamente. El nitrógeno restante se analiza con un detector de conductividad térmica (Mera, 2015).

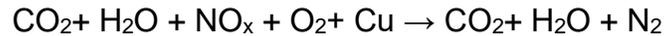
- **Combustión**

La muestra se pesa y se introduce en un horno de alta temperatura y se quema rápidamente en presencia de oxígeno. Esto conduce a la liberación de sustancias como dióxido de carbono, agua y nitrógeno en forma de diferentes óxidos (NO_x).



- **Reducción**

Los gases de combustión pasan a un horno de alta temperatura y a través del cobre caliente para eliminar el oxígeno y convertir óxido de nitrógeno en nitrógeno molecular. Las trampas específicas eliminan el agua y el dióxido de carbono



El método Dumas recupera cuantitativamente todas las formas de nitrógeno, orgánico e inorgánico, durante el análisis y es específico del nitrógeno total, carece de cualquier grado de selectividad para la proteína (Müller, 2017).

Comparación del método de Kjeldahl y Dumas

El método de Dumas es considerablemente más rápido que el método de Kjeldahl puesto que, cada medición tarda alrededor de unos minutos comparado con la hora o más de este último método.

A pesar de la diferencia de los procedimientos de ambos métodos, tienen en común el uso de un factor de conversión de nitrógeno total que es cuantificado. Estos factores, en el método tradicional Kjeldahl se han establecido a partir del patrón de aminoácidos de la muestra. Para las muestras de alimentos con una composición variable, se acordó un factor general de 6.25. Cuando se utilizan los mismos factores de conversión para técnicas con distinta cuantificación de nitrógeno, se pueden producir diferencias en los resultados (Müller, 2017).

El método de Kjeldahl cuantifica nitrógeno orgánico y amonio por lo que hay interferencia de compuestos nitrogenados no proteicos, en cambio; el método de

Dumas cuantifica el nitrógeno inorgánico (fracciones como el nitrito y el nitrato) (Romero, 1997; Müller, 2017).

Ambos métodos ofrecen una precisión similar, pero el Kjeldahl sigue siendo el que goza de mayor reconocimiento y puede ser muy eficaz cuando se ejecuta en lotes. Sin olvidar que ninguno de los dos métodos es exacto ya que se basan en la aproximación de contenido de proteína mediante la cuantificación de nitrógeno total en la muestra (Müller, 2017).

Extracción de proteínas

Existen gran variedad de métodos disponibles para la extracción de proteínas, siendo de vital importancia la elección de los mismos con base en el tipo de muestra que se tenga y las características de las proteínas que se deseen aislar. Estos pueden ser desde molienda manual, para extracciones simples hasta tratamientos enzimáticos. El método de extracción de proteínas más utilizado se realiza con la solubilización de estas en soluciones alcalinas, seguido de la precipitación con base en la modificación de pH de la solución y el punto isoeléctrico (Tamayo et al., 2018).

En la extracción de proteínas se realiza la ruptura celular o lisis, donde los métodos más empleados se basan en la homogenización del tejido y la destrucción de membranas por medio de procesos físicos y/o químicos, para maximizar la liberación de las proteínas y evitar la degradación por factores como la temperatura, o modificaciones por proteólisis, oxidación, entre otros (Maldonado et al., 2017). Los procesos que se realizan para la extracción de proteínas se clasifican en mecánicos y no mecánicos. A partir del extracto, existen varios métodos que permiten la purificación de proteínas, para ello se somete a tratamientos que las separan en diferentes fracciones basados en propiedades como tamaño o carga.

En la Figura 5 se muestra la clasificación de los principales métodos de extracción de proteínas, así como los pasos posteriores de precipitación y concentración de estas en el extracto obtenido.

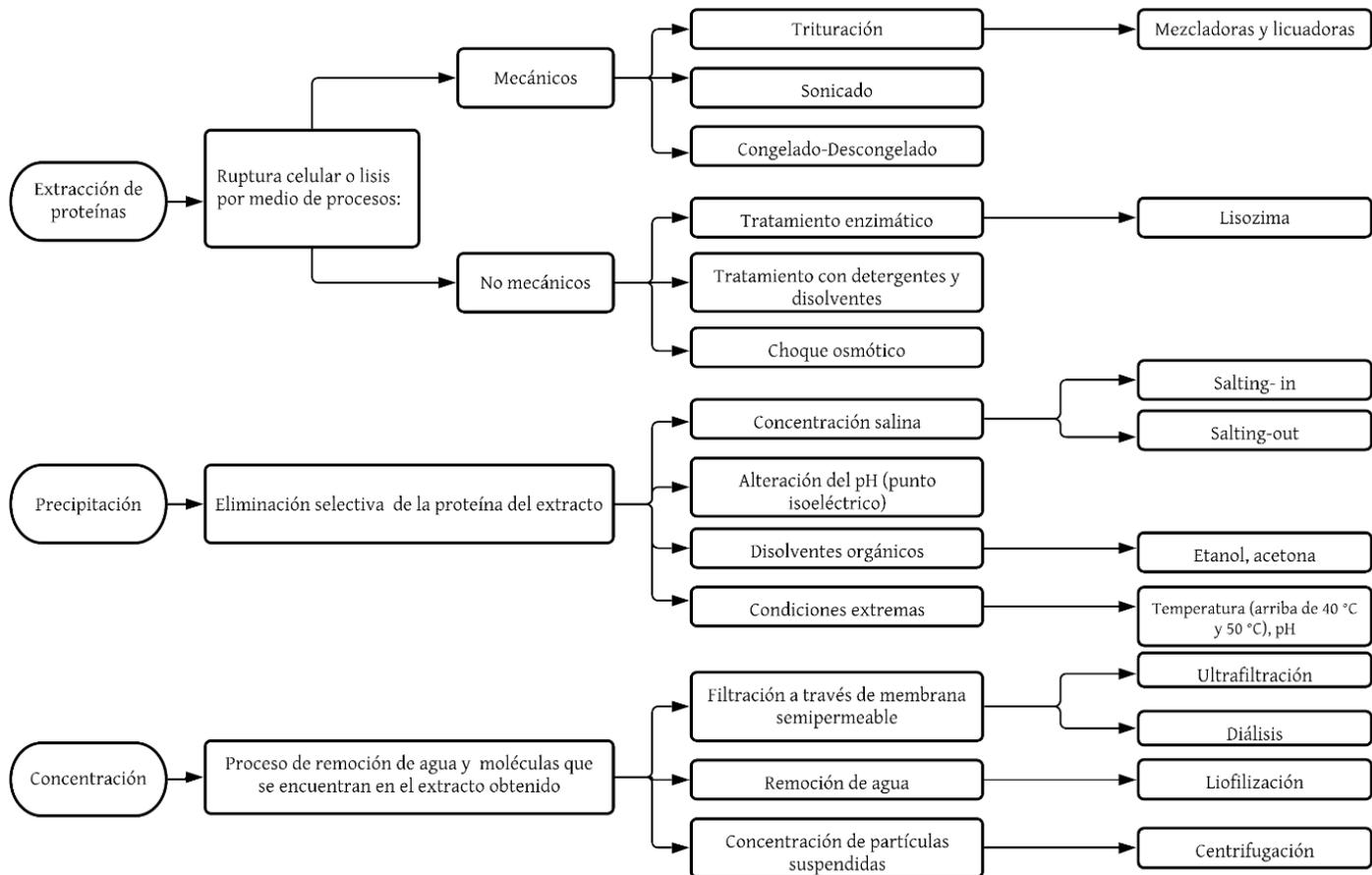


Figura 5. Clasificación de los métodos más comunes para la extracción, precipitación y concentración de proteínas en alimentos
 Elaboración propia con base en: Universidad Nacional de San Martín (2017); Maldonado et al. (2017); Tamayo et al. (2018); Thomas (2019).

3.2.2 EVALUACIÓN DE LA SOBREENESTIMACIÓN DE PROTEÍNA

La influencia de las variables descritas anteriormente (especie, proceso, extracción de proteínas y sexo) así como la composición de los insectos (moléculas de nitrógeno no proteicas), se consideran para las dos propuestas del cálculo de proteína en los insectos.

1. Corrección del **nitrógeno** proveniente de proteínas a partir del contenido de nitrógeno total y considerando el contenido de quitina y el nitrógeno de esta.
2. Corrección del **contenido de proteína** reportado a partir del contenido de nitrógeno total y el factor de conversión de 4.76 propuesto por Janssen et al. (2017), para larvas de *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus* y *Hermetia illucens*.

3.2.2.1 Corrección de nitrógeno proveniente de proteínas

Se determinó el nitrógeno total de la muestra a partir del contenido de proteína reportado en la Tabla 4. El ajuste de nitrógeno se realizó considerando el porcentaje de nitrógeno no proteico a partir del contenido de quitina reportado (véase Tabla 7).

Tabla 7. Contenido de quitina (g/100g de insecto) reportado.

Insecto	Contenido de quitina (%)
Escarabajos <i>Tenebrio molitor</i>	16.30 ⁴
Hormigas, abejas y Avispas <i>Atta mexicana</i>	11.00 ²
Saltamontes y langostas <i>Acheta domesticus</i>	16.35 ³
Termitas <i>Macrotermes nigeriensis</i>	6.40 ⁵
Moscas <i>Eristalis sp</i>	15.00 ²
Cucarachas <i>Blaberus sp</i>	8.44 ¹

Fuente: 1. Ramos-Elourdy et al., 1997; 2. Banjo, 2006; 3. Raksakantong, 2010; 4. Sirimungkararat et al., 2010; 5. Ramos-Elourdy et al., 2012;

Para la corrección del nitrógeno total se aplicaron los siguientes algoritmos

$$NNP (\%) = \left(\frac{16.30 \text{ g quitina}}{100 \text{ g de insecto}} \right) \left(\frac{6.8 \text{ g nitrógeno}}{100 \text{ g quitina}} \right) (100) = 1.11 \frac{\text{g nitrógeno}}{100 \text{ g de insecto}}$$

$$\text{Nitrógeno proteico} = \text{Contenido de nitrógeno total} - NNP$$

$$\text{Contenido de proteínas (\%)} = \text{Nitrógeno proteico} * 6.25$$

*Considerando: 16.30 % de quitina en el escarabajo *Tenebrio molitor*

NNP: Nitrógeno no proteico

En la Tabla 8 se reportan los valores obtenidos de la corrección del nitrógeno total y el contenido de proteína (g/100 g de muestra seca) considerando el nitrógeno aportado por la quitina.

Tabla 8. Contenido de nitrógeno total reportado y contenido de proteína cruda corregido (propuesta 1) (g/ 100 g de muestra seca)

Insectos comestibles	Nombre científico	Nitrógeno total (%)	Nitrógeno de quitina (%)	Nitrógeno proteico (%)	Contenido de proteína (%)
Escarabajo ¹	<i>Callipogon barbatus</i>	6.56	1.11	5.45	34.07
Escarabajo ⁵	<i>Protaetia brevitarsis</i>	7.08	1.11	5.97	37.30
Escarabajo ²	<i>Oryctes rhinoceros</i>	8.08	1.11	6.97	43.55
Escarabajo ⁵	<i>Tenebrio molitor</i>	8.52	1.11	7.41	46.29
Escarabajo ⁵	<i>Allomyrina dichotoma</i>	8.67	1.11	7.56	47.25
Escarabajo ⁴	<i>Copris nevinsoni Waterhouse</i>	8.71	1.11	7.60	47.50
Escarabajo ²	<i>Oryctes rhinoceros Linnaeus</i>	9.25	1.11	8.14	50.88
Escarabajo ⁴	<i>Tenebrio molitor</i>	9.63	1.11	8.52	53.27
Grillo ⁵	<i>Teleogryllus emma</i>	8.90	1.11	7.79	48.70
Grillo ⁵	<i>Gryllus bimaculatus</i>	9.33	1.11	8.22	51.37
Cucaracha ³	<i>Periplaneta australasiae F</i>	9.98	0.57	9.41	58.81
Cucaracha ³	<i>Periplaneta americana L</i>	10.50	0.57	9.92	62.01
Mosca ¹	<i>Copestylum haggi y anna</i>	5.92	0.90	5.02	31.36
Mosca ⁴	<i>Efidra hians</i>	5.74	0.90	4.84	30.23
Abeja ¹	<i>Apis mellifera</i>	6.72	0.75	5.97	37.33
Abeja ¹	<i>Apis mellifera</i>	7.84	0.75	7.09	44.33
Abeja ¹	<i>Apis mellifera</i>	8.00	0.75	7.25	45.33
Hormiga ⁴	<i>Liometopum apiculatum</i>	6.35	0.75	5.60	35.00
Hormiga ¹	<i>Pogonomyrmex barbatus</i>	7.33	0.75	6.58	41.12
Hormiga ¹	<i>Atta mexicana</i>	7.36	0.75	6.61	41.33
Termitas ⁴	<i>Macrotermes bellicosus</i>	5.57	0.44	5.13	32.08
Termitas ⁴	<i>Macrotermes nigeriensis</i>	3.76	0.44	3.32	20.75
Mariposa ¹	<i>(Acentrocne) hesperiaris</i>	6.40	0.34	6.06	37.88
Mariposa ⁴	<i>Aegiale hesperiaris</i>	6.45	0.34	6.11	38.22

*Proteína= %N de proteína x 6.25

1. Ramos et al. (1997); 2. Onyeike et al. (2005); 3. Ramos et al. (2012); 4. Rumpold y Schlüter (2013); 5. Tae-Kyung et al. (2019)

3.2.2.2 Corrección de contenido de proteínas

En este apartado se consideró el factor de conversión de 4.76 propuesto por Janssen et al. (2017) para la determinación del contenido de proteína, a partir del nitrógeno total reportado por el método de Kjeldahl (véase Tabla 4). Para esta corrección se aplicaron los siguientes algoritmos:

$$\text{Contenido de nitrógeno total} = \frac{\text{Contenido de proteína}}{\text{Factor de conversión (6.25)}}$$

$$\text{Factor de conversión} = \frac{\text{Contenido de aminoácidos}}{\text{Nitrógeno total cuantificado}}$$

$$\text{Contenido de proteínas(\%)} = \text{Nitrógeno total} * 4.76$$

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 9 junto con la comparación del contenido de proteína de ambas propuestas.

El contenido de proteína es diferente en los métodos propuestos y lo reportado utilizando el factor de conversión de 6.25, los valores obtenidos de las correcciones son menores a lo reportado en la literatura. Se considera que el valor reportado sobrestima el contenido de proteínas, al considerar el nitrógeno total sin distinguir el nitrógeno no proteico (quitina principalmente), por lo que se hizo la corrección por ambos métodos.

Con base en esto, la corrección de contenido de nitrógeno tiene un intervalo de % de sobreestimación del 12.38% al 36.04 % dependiendo la especie de insecto. En el caso de la corrección de contenido de proteína utilizando el nuevo factor propuesto por Janssen et al. (2017) que es de 4.76 se tiene un intervalo de sobreestimación de 31.28% a 31.34% (véase Anexo 3), comparando con lo reportado. De acuerdo con lo obtenido, es evidente que se sobreestima la concentración de proteínas en los insectos.

Es importante mencionar que se tiene que considerar que ambos métodos de corrección para contenido de proteína no toman en cuenta el sexo del insecto (no

se tienen datos reportados del porcentaje de quitina), el cual como se mencionó anteriormente, influye en el valor de quitina dependiendo si es hembra o macho.

En el factor de conversión de 4.76 propuesto por Janssen et al. (2017), se considera el tipo de proceso para la cuantificación de contenido de proteínas en larvas enteras.

Tabla 9. Comparación del contenido de proteína reportado y el obtenido por ambas propuestas (g/100 g de muestra seca)

Insectos comestibles	Nombre científico	Contenido de proteína (%) reportado	Contenido de proteína (%) PROPUESTA 1	Contenido de proteína (%) PROPUESTA 2
Escarabajo ¹	<i>Callipogon barbatus</i>	41.00	34.07	31.23
Escarabajo ⁵	<i>Protaetia brevitarsis</i>	44.23	37.30	33.69
Escarabajo ²	<i>Oryctes rhinoceros</i>	50.48	43.55	38.45
Escarabajo ⁵	<i>Tenebrio molitor</i>	53.22	46.29	40.53
Escarabajo ⁵	<i>Allomyrina dichotoma</i>	54.18	47.25	41.26
Escarabajo ⁴	<i>Copris nevinsoni</i> <i>Waterhouse</i>	54.43	47.50	41.45
Escarabajo ²	<i>Oryctes rhinoceros</i> <i>Linnaeus</i>	57.81	50.88	44.03
Escarabajo ⁴	<i>Tenebrio molitor</i>	60.20	53.27	45.85
Grillo ⁵	<i>Teleogryllus emma</i>	55.65	48.70	42.38
Grillo ⁵	<i>Gryllus bimaculatus</i>	58.32	51.37	44.42
Cucaracha ³	<i>Periplaneta australasiae</i> F	62.40	58.81	47.52
Cucaracha ³	<i>Periplaneta americana</i> L	65.60	62.01	49.96
Mosca ¹	<i>Copestylum haggi</i> y <i>anna</i>	37.00	31.36	28.18
Mosca ⁴	<i>Efidra hians</i>	35.87	30.23	27.32
Abeja ¹	<i>Apis mellifera</i>	42.00	37.33	31.99
Abeja ¹	<i>Apis mellifera</i>	49.00	44.33	37.32
Abeja ¹	<i>Apis mellifera</i>	50.00	45.33	38.08
Hormiga ⁴	<i>Liometopum apiculatum</i>	39.67	35.00	30.21
Hormiga ¹	<i>Pogonomyrmex barbatus</i>	45.79	41.12	34.87
Hormiga ¹	<i>Atta mexicana</i>	46.00	41.33	35.03
Termitas ⁴	<i>Macrotermes bellicosus</i>	34.80	32.08	26.50
Termitas ⁴	<i>Macrotermes nigeriensis</i>	23.47	20.75	17.87
Mariposa ¹	<i>Aegiale</i> (<i>Acentrocneme</i>) <i>hesperiaris</i>	40.00	37.88	30.46
Mariposa ⁴	<i>Aegiale hesperiaris</i>	40.34	38.22	30.72

1. Ramos et al. (1997); 2. Onyeike et al. (2005); 3. Ramos et al. (2012); 4. Rumpold y Schlüter (2013); 5. Tae-Kyung et al. (2019)

Como se mencionó el contenido de proteína y quitina depende del sexo del insecto por lo que ambos métodos aproximan el valor con las consideraciones del nitrógeno no proteico con base en lo reportado (Tabla 6).

En el primer método se analiza el porcentaje de quitina de acuerdo con lo reportado y el tipo de insecto de referencia en cambio en el segundo método, considera el contenido de aminoácidos determinado de manera general, sin evaluar el cambio de contenido de quitina dependiendo a la especie y sexo de los insectos, así como la composición de aminoácidos.

Con base en la evaluación de los métodos de extracción y cuantificación de proteína en insectos, así como el análisis de sobreestimación que se tiene por no considerar el nitrógeno no proteico presente en la estructura de estos se hace la propuesta de un método considerando todos los factores mencionados.

La Figura 6 presenta el diagrama propuesto para la metodología de cuantificación de proteínas en insectos.

En el diagrama se consideró la extracción de la fracción de proteínas, así como la corrección del contenido de nitrógeno ya que como se comprobó existe una sobreestimación de proteína en los insectos.

3.2.3 MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNA EN INSECTOS

Se investigaron los datos reportados de proteínas para insectos, identificando el método de cuantificación. En la Tabla 10 se muestra la comparación de los valores reportados del contenido de proteína determinado por el método de Kjeldahl y Dumas, usando en ambos el factor de 6.25 (nitrógeno total a proteína) en los respectivos insectos.

Los valores son del mismo grado de magnitud (expresados 100 g de insectos en base seca) entre ambos métodos, pero no completamente iguales por lo que se afirma lo dicho anteriormente por (Müller, 2017), aunque se utilicen los mismos factores de conversión para técnicas distintas de cuantificación de nitrógeno, se pueden producir diferencias en los resultados, debido que los métodos no son exactos.

Se reportaron diferentes porcentajes de proteína por Yi et al. (2013) y Janssen et al. (2017) para el gusano de harina *Tenebrio molitor* y el grillo *Acheta domesticus* por el método de Dumas (usando en ambos el factor 6.25). En el caso de Yi et al. (2013) determinaron un valor de 19.10 ± 1.30 g/100 g de muestra seca para *Tenebrio molitor* y 21.50 ± 0.50 g/100 g de muestra seca para *Acheta domesticus*. En cambio, Janssen et al. (2017) obtuvieron los valores de 58.80 ± 0.20 g/100 g de muestra seca para *Tenebrio molitor* y 63.80 ± 0.30 g/100 g de muestra seca para *Acheta domesticus*, estos últimos son más cercanos a los reportados por el método de Kjeldahl como se observa en la Tabla 10.

Además de los procedimientos analíticos, las diferencias en la composición y recuperación (métodos de extracción) también pueden ser causadas por diferentes dietas en los insectos (Janssen et al., 2017). En los artículos revisados, no se menciona la dieta que tuvo cada insecto antes de la determinación de proteínas correspondiente, por lo que no se puede hacer una comparación o evaluación de este parámetro.

Tabla 10. Comparación de contenido de proteína (g/100 g muestra seca) determinada por los métodos de Kjeldahl y Dumas.

Insecto	Etapa de desarrollo	Dumas Factor: 6.25	Kjeldahl Factor: 6.25
Gusano de harina <i>Tenebrio molitor</i>	Larva	58.80 ± 0.20 ³	58.44 ± 2.89 ⁴
Gusano de harina <i>Zophobas morio</i>	Larva	20.70 ± 0.30 ²	19.70 ± NR ¹
Grillo <i>Acheta domesticus</i>	Adulto	63.80 ± 0.30 ³	68.20 ± NR ¹
		21.50 ± 0.50 ²	

NR: No reportado

1. Finke (2007); 2. Yi et al. (2013); 3. Janssen et al. (2017); 4. Tae-Kyung et al. (2020)

Para la propuesta del método de cuantificación, se revisó la evaluación de los principales procesos de extracción de proteínas en insectos, al considerarse también como una variable que influye en la determinación.

Extracción de proteínas:

Después de la extracción de grasa de la muestra, las proteínas se encuentran fuertemente desnaturalizadas, por lo cual es necesario el desarrollo de procesos de extracción y mejora de las mismas, así se obtendrán concentrados y aislados proteicos para la aplicación o estudio posterior. Los procesos de extracción de proteínas en los alimentos se hacen dependiendo del uso que se le quiera dar posteriormente (Vioque et al. 2001).

Algunos autores (Yi et al, 2013; Bubler, et al., 2016; Tae-Kyung, et al., 2020) sugieren realizar la extracción de proteínas para evitar interferencias de contenido no proteico en la cuantificación. A continuación, se revisará el procedimiento general.

Los insectos en su estado fresco se congelan (-20 °C) por medio de nitrógeno líquido para su inactivación, posteriormente se trituran, con ayuda de agua destilada. Los insectos molidos y congelados se liofilizan para proseguir con el análisis del contenido de proteínas sea por el método de Dumas o por el método de Kjeldahl (Yi et al, 2013; Bubler, et al., 2016), al igual que para la extracción de la fracción proteínica.

Los protocolos de extracción de proteínas sugieren emplear muestra desengrasada (Zhao et al., 2016). Para este fin, se hace una extracción de grasa dependiendo del insecto (libélulas 22.93%, langostas y saltamontes 4.20%, mariposas y polillas 6.80%, moscas 5.80%, escarabajos 34.30%, hormigas, abejas y avispas 10.61%) como se muestra en la Tabla 2, con n-hexano o éter de petróleo, por el método de Soxhlet. Después de la sedimentación de los sólidos se decanta y se elimina el disolvente residual por evaporación (evaporador rotatorio, campana de extracción) (Yi et al., 2013, Bubler et al., 2016; Tae-Kyung, et al., 2020).

Como se mencionó hay distintos tipos de extracción de proteínas, de acuerdo con Tae-Kyung, et al. (2020) se homogeneizaron 200 g de harina desengrasada en 400mL de ácido ascórbico al 0.02%, la solución filtrada se centrifugó y el sobrenadante se consideró como el extracto de proteína. En cambio, Bubler, et al. (2016) hicieron una extracción de las proteínas solubles con agua destilada (1:25 m/v) ajustada a pH 10 con hidróxido de sodio (NaOH 1M), con agitación constante (60 °C, 30 minutos). El extracto obtenido se centrifugó y se obtuvo un sobrenadante, las proteínas se precipitaron ajustando a pH 4 con ácido clorhídrico (HCl 1M).

En ambos métodos se obtuvieron diferentes valores de proteína después de la extracción, Bubler, et al. (2016) reportaron un contenido de proteína cruda de 64.6 ± 0.3 para *Tenebrio molitor* por el método de Kjeldahl con el factor de 6.25, en cambio Tae-Kyung, et al. (2020) obtuvieron 71.34 ± 0.64 para el mismo insecto siguiendo las mismas condiciones.

La diferencia se encuentra en el método de extracción después del desengrasado de la muestra, se obtienen diferentes tipos de proteína, en el caso de Bubler, et al. (2016) cambiaron el pH en la extracción de acuerdo con el punto isoeléctrico de las proteínas (pI) es decir; para todas las fracciones de proteína de harina de insectos, se encontró que el punto isoeléctrico estaba en la región de pH 4. Para un gran número de proteínas, sus valores de pI están en el intervalo de 3,5 y 6,5 a valores extremos de pH ácido o básico, la proteína puede desplegarse exponiendo más grupos hidrófobos.

La evaluación de sobreestimación del contenido de proteínas basado en el factor propuesto por Janssen et al. (2017) se determinó con el contenido de

aminoácidos y el nitrógeno total cuantificado. Para el primero, se realiza un perfil de aminoácidos para considerar el contenido proteico del extracto y hacer la relación con el NPN.

Para el análisis y determinación del factor es importante conocer el proceso de cuantificación de aminoácidos en la muestra, se debe de considerar que estos valores dependerán de la especie del insecto principalmente, así como de su extracción y sexo del insecto.

Perfil de aminoácidos

El análisis de aminoácidos en alimentos es utilizado para la caracterización nutricional principalmente. Es importante para el desarrollo de una industria alimenticia de calidad y fundamental para la salud humana. Los métodos para evaluar la calidad de las proteínas se pueden dividir en: químicos, como el Puntaje químico o Chemical Score y Puntaje de Aminoácidos Corregidos por Digestibilidad (PDCAAS) y biológicos, como la Retención Nitrogenada y Modificaciones en el peso corporal (Rivara, 2015).

Los métodos biológicos utilizan criterios fisiológicos, los métodos químicos, se basan en la determinación de los aminoácidos esenciales de la proteína en estudio y su comparación con una proteína de referencia (Rivara, 2015). Para evaluar la calidad de la proteína se requiere conocer el perfil de aminoácidos al igual que para la relación de porcentaje de nitrógeno proteico, como lo relacionó Jansen et al. (2017), determinando el contenido de nitrógeno no proteico en la harina de los insectos.

La evaluación del perfil de aminoácidos en la muestra en polvo se analiza mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), siguiendo la norma internacional ISO 13903:2005, el método no es válido para la cuantificación de triptófano (Yi et al. 2013; Jansen et al. 2017) debido a la hidrólisis ácida que se emplea.

Con base en la revisión de los métodos de extracción y cuantificación, en la Figura 6 se muestra la propuesta para evaluar el porcentaje de proteínas en insectos, se consideran las modificaciones realizadas por los autores anteriormente mencionados y los procedimientos aplicables para la extracción de proteínas.

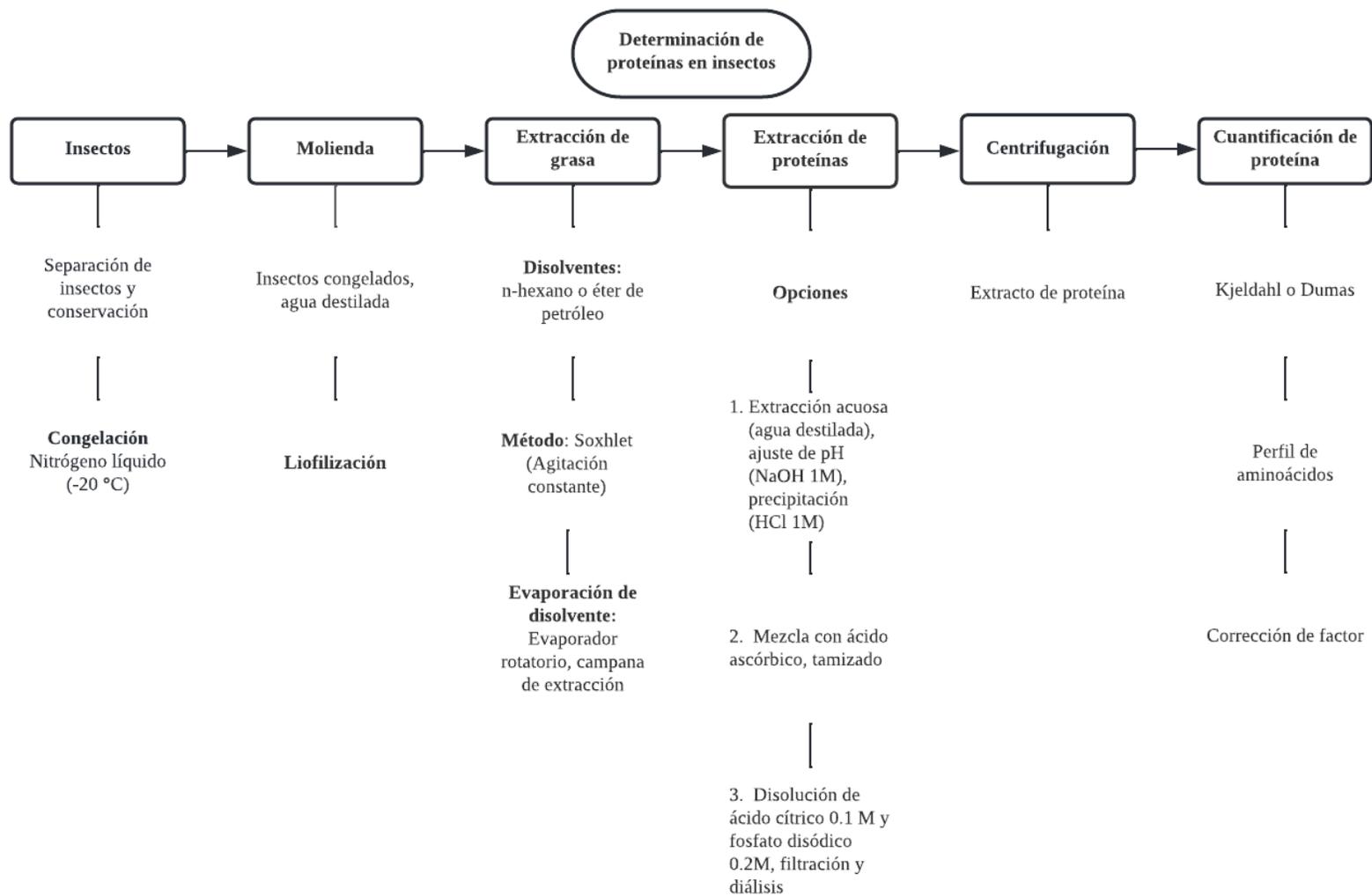


Figura 6. Diagrama del proceso de extracción y cuantificación de proteínas en insectos

Propuesta basada en las metodologías de: Yi et al. (2013); Bubler, et al. (2016); Janssen et al. (2017); Tae-Kyung, et al. (2020)

CONCLUSIONES

De acuerdo con la revisión bibliográfica y el análisis de la información reportada en la literatura, se puede concluir que el contenido de proteína de los insectos varía dependiendo la especie, proceso de extracción de proteínas e incluso el sexo.

El método más utilizado para cuantificar proteína en los insectos es Kjeldahl, el cual se basa en la determinación de nitrógeno total presente en el alimento. El contenido de proteína calculado mediante este método y el factor de conversión de 6.25 sobreestiman el valor de proteína, ya que no distingue entre moléculas no proteicas como la quitina, componente principal en el exoesqueleto del insecto.

Los valores de proteínas reportados en la literatura a partir del método de Kjeldahl sobreestiman desde 5.61% hasta 20.33% dependiendo del insecto, valores corregidos a partir del contenido de quitina (véase Anexo 3).

Si se considera que la corrección en la cuantificación de proteínas se realiza usando del contenido el factor de conversión de 4.76 propuesto por Janssen et al. (2017), el valor de proteína reportado en la bibliografía se encuentra sobreestimado en un 30% aproximadamente.

El método para la cuantificación de proteínas en insectos propuesto considera la extracción de estas para eliminar la sobreestimación por presencia de quitina.

RECOMENDACIONES

Al considerar la estructura y composición química de los insectos, la quitina es el principal factor que interfiere en la determinación de proteínas, se tendría que cuantificar el contenido de este compuesto en los insectos comúnmente consumidos, de acuerdo con su orden, para tener un valor más específico que se pueda aproximar a la especie. Así se evitaría la sobreestimación que se tiene al no analizar el contenido no proteico.

Es importante examinar las variables que influyen en la determinación de proteína, por lo que se tendría que reportar la especie del insecto, tipo de extracción y sexo del mismo.

BIBLIOGRAFÍA

- Ademolu, K., Simbiat, E., Concilia, I., Adeyinka, A., Abiodun, O., Adebola, A. (2017). Gender Variations in Nutritive Value of Adult Variegated Grasshopper, *Zonocerus variegatus* L (Orthoptera: Pygomorphidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 90 (2), 117-121.
- Arnaldos, M., García M., Presa, J. (2010). Entomofagia. [En línea] (Actualizado al 2010). Disponible en: <https://bit.ly/3nyS6A1> [Último acceso 11 de septiembre de 2021].
- Banjo, A., Lawal, O., Adeyemi, A. (2006). The microbial fauna associated with the larvae of *Oryctes monocerus* *Journal of Applied Sciences Research* 2(11), 837-843
- Bubler, S., Rumpold, B., Jander, E., Rawel, H., Schlüter, O. (2016) Recovery and techno-functionality of flours and proteins from two edible insect species: Meal worm (*Tenebrio molitor*) and black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. *A Cell Press Journal*, 2 (12)
- Chapman, R. (2013). *The Insects: Structure and Function*, 4th Edition. Cambridge: Cambridge University Press
- Centeno, F. (2020) 4. Determinación de proteína cruda o total. En: *Manual de Métodos Físicoquímicos para el Etiquetado Nutricional de los Alimentos*. México: Facultad de Química, UNAM
- Díaz, E., Albino, S., Guillén, A. (2021) *Tenebrios: viscosos ¡pero sabrosos!* [En línea] Instituto de Ecología. (Actualizado al 2021). Disponible en: <https://bit.ly/3SyNals> [Último acceso el 7 de agosto de 2022]
- Díaz, J. y Moreno, C. (2019). *Entomofagia: insectos, íconos de la gastronomía mexicana*. [En línea] (Actualizado al 3 de julio de 2019). Disponible en: <https://bit.ly/3x5nxD2> [Último acceso el 25 de julio de 2021].
- FAO (2014). *Aprovechar el potencial de los insectos para la alimentación animal*. [En línea] (Actualizado al 2014). Disponible en: <https://bit.ly/3buKef1> [Último acceso el 4 de marzo de 2021].
- Fleta, J. (2018). Entomofagia: ¿Una alternativa a nuestra dieta tradicional? *Sanidad mil* 74(1), 43-45

- FUNDES STRATEGY. (2019) *Descubre: Cadena de valor de insectos*. [En línea] (Actualizado a noviembre de 2019). Disponible en: <https://bit.ly/3szplUF> [Último acceso el 10 de febrero de 2021].
- Finke, M. (2007) Estimate of Chitin in Raw Whole Insects. *Zoo Biology* 26, 105-115
- García, E. y Fernández, I. (2012) *Determinación de proteínas de un alimento por el método de Kjeldahl* [En línea] (Actualizado el 28 de junio de 2012). Disponible en: <https://bit.ly/3iM8rxv> [Último acceso el 28 de junio de 2021].
- Halloran, A. y Vantomme, P. (2013). La contribución de los insectos a la seguridad alimentaria, los medios de vida y el medio ambiente. *Guía Informativa de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. Roma
- INAH (2012). Presentan la importancia cultural de los insectos [En línea] (Actualizado al 23 de abril de 2012). Disponible en <https://bit.ly/3rHBdVz> [Último acceso el 10 de febrero de 2022]
- Janssen, R., Vincken, J., Van den Broek, L., Fogliano, V., Lakemond, C. (2017) Nitrogen to protein conversion factors for three edible insects: *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus* and *Hermetia illucens*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65 (11), 2275-2278.
- Jonas, A., Martínez, J. (2017). *The high level of protein content reported in insects for food and feed is overestimated*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 62, 184-188.
- Jongema, Y. y Wageningen University, (2017, August 14). List of edible insects of the world (April 1, 2017). Wageningen University & Research. <https://bit.ly/3GGHB3M>
- Kulma, M., Kourimská, L., Planchy, V., Bozik, M., Adámková, A., Vrabec, V. (2019). Effect of sex on the nutritional value of house cricket, *Acheta domestica* L. *Food Chemistry*, 272, 267-272.
- Lanza, J., Churión, P., Gómez, N. (2016). Comparación entre el método Kjeldahl tradicional y el método Dumas automatizado (N CUBE) para la determinación de proteínas en distintas clases de alimentos. *SciELO Analytics Saber*, 28(2)

- Latham, M. (2002). Capítulo 9. Macronutrientes: carbohidratos, grasas y proteínas. **En** M, Latham. Ed. *Nutrición Humana en el Mundo en Desarrollo*. Roma: Colección FAO: Alimentación y nutrición N° 29.
- López, R. (2014). Capítulo 1. Las proteínas, ¿qué son y cómo son? **En** R, López. (Ed.), *Las proteínas de los alimentos*. (7-15). Madrid: CSIC.
- Maldonado, K., Martell, R., Alvarado, B., Valero, J., Martínez, A., Díaz, A., González, R. (2017). Comparación de métodos de extracción de proteínas de cerebro y linfocitos de rata. *Ingeniería y Tecnología. TECNOCENCIA*, 11(3), 127-137
- Merrill, A., Watt, B. (1973). *Valor Energético de los alimentos: Base y derivación*. Departamento de Agricultura de EE. UU., Manual de agricultura. Núm. 74
- Mera, L. (2015). Comparación de los métodos Kjeldahl y Dumas para análisis de proteína cruda en materias primas y productos terminados en una planta de alimentos balanceados [Tesis de licenciatura, Universidad Central del Ecuador]. Quito. Disponible en: <https://bit.ly/3y80sRQ> [Último acceso 5 de julio de 2021]
- Müller, J. (2017). ¿Dumas o Kjeldahl para el análisis de referencia? *Analytics beyond Measure*. España.
- Nestlé (2021). Nutrición: Los alimentos que contiene proteínas de origen vegetal. [En línea] (Actualizado al 2021). Disponible en: <https://bit.ly/3vac5Xy> [Último acceso el 11 de octubre de 2021]
- Nielsen, S. (2017). *Food Analysis*. 5ª Ed. New York:Springer International Publishing
- Nikahd, M., Mikusek, J., Banwell, M., Yu, L., Coote, M., Gardiner, M. (2020). Further, Small-Molecule Pyrolysis Products derived from Chitin. *CSIRO Publishing*, 73, 1187-1196
- Oonincx, D. y Van der Poel, A. (2011). Effects of diet on the chemical composition of migratory locusts (*Locusta migratoria*). *Zoo Biology*, 30 (1), 9-16
- Onyeike, E., Ayalogu, E., Okaraonye (2005). Nutritive value of the larvae of raphia palm beetle (*Oryctes rhinoceros*) and weevil (*Rhyncophorus pheonicis*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 85, 1822-1828

- Pino, J. (2020). *Cultivo y consumo de insectos, opción ante la creciente demanda de alimentos*. [En línea] (Actualizado al 16 de marzo de 2020). Disponible en: <https://bit.ly/2VbkHiK> [Último acceso el 25 de julio de 2021]
- Ramos-Elorduy, J., Escalante, A., Pino, J. (2015). *Acridofagia y otros insectos*. Ciudad de México: Trilce Ediciones
- Ramos, J., Pino, J., Cuevas, S. (1998). Insectos comestibles del Estado de México y determinación de su valor nutritivo. *Anales del Instituto de biología. Serie Zoología*, 69(1), 65-104
- Ramos, J., Pino, J., Escamilla, E., Alvarado, M., Lagunez, J., Ladron, O. (1997). Nutritional Value of Edible Insects from the State of Oaxaca. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10, 142-157
- Ramos, J., Pino, J., Martínez, V. (2012). Could grasshoppers be a nutritive meal? *Food Nutr. Sci*, 3, 164-175
- Rakasakantong, P., Meeso, N., Kubola, J., Siriamornpun, S. Fatty acids and proximate composition of eight Thai edible terri-colous insects. *Food Research International*, 43(1), 350-355
- Reddiex, A., Gosden, T., Bonduriansky, R., Chenoweth S. (2013). Sex-specific fitness consequences of nutrient intake and the envolvability of diet preferences. *The American Naturalist*. 182(1), 91-102.
- Rivara, M. (2015). ¿Por qué es importante determinar el perfil de aminoácidos en los alimentos? *Sistema de información pública* [En línea] (Actualizado al 31 de marzo de 2015). Disponible en: <https://bit.ly/3IEWPPh> [Último acceso el 9 de octubre de 2021]
- Rojas, L. (2018). *Insectos, la proteína de moda*. [En línea] (Actualizado el 17 de septiembre de 2018). Disponible en: <https://bit.ly/3m6AwRI> [Último acceso el 28 de septiembre de 2021].
- Romero, J. y Carranza, H. (2018). Insectos comestibles más consumidos en México [Figura] Creative Commons <https://bit.ly/3B6QqTk>
- Romero, N. (1997). Métodos de análisis para la determinación de nitrógeno y constituyentes nitrogenados en alimentos. **En** Morón, C., Zacarías, I., De Pablo, S. eds. *Producción y manejo de datos de composición química de*

- alimentos en nutrición*. Santiago: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación.
- Rumpold, B. & Schlüter, O. (2013) *Nutritional composition and safety aspects of edible insects*. *Molecular Nutrition and Food Research*, 57(3), 802-823
- Santurino, A., García-Serrano, J., Molina, P., Sierra, M., Castro-Gómez, M., Calvo, J. (2016). Los insectos como complemento nutricional de la dieta: Fuente de lípidos potencialmente bioactivos. *Alimentación. Nutrición y Salud*. 23(2), 50-56
- Shaofang, L., Jie S., Lina, Y., Chushu, Z., Jie, B., Feng, Z., Mingjing, Q., Chen, J., Qingli, Y. (2012). Extraction and Characterization of Chitin from the Beetle *Holotrichia parallela* Motschulsky. *Molecules*, 17, 4604-4611.
- Simonne, A., Simonne, E., Eitenmiller, R., Mills H., Cresman, C. (1996). Could the Dumas Method replace the Kjeldahl digestion for nitrogen and crude protein determinations in foods? *Science Food Agriculture*, 73, 39-45
- Sirimungkararat, S., Saksirirat, W. Nopparat, T., Natongkham, A. (2008). Edible products from silkworm (*Samia ricini* D.) and mulberry silkworm (*Bombyx mori* L.) in Thailand. En: Durst, P., Johnson, D., Leslie, R., Shono, K. (Ed.) *Forest insects as food: Humans bite back*. Bangkok: FAO
- Soto, A., Dionizio, M., Pallini, A. (2011) Análisis de la composición química de la cutícula de *Tetranychus Evansi Backer y Piritchard y de Tetranychus urticae koch* (Acari: Tetranychidae). *Boletín científico Centro de Museos. Museo de Historia Natural*, 15(2), 171
- Tae-Kyung, K., Hae In, Y., Ho Hyun, C., Mi-Ai, L., Young-Boong, K., Yun-Sang, C. (2020). Change of amino acid composition and protein technical functionality of edible insects by extracting steps. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 23 (2), 298-305
- Tae-Kyung, K., Hae In, Y., Young-Boong, K., Hyun-Wook, K., Yun-Sang, C. (2019). Edible Insects as a Protein Source: A Review of Public Perception, Processing Technology, and Research Trends. *Food Science of Animal Resources*, 39 (4), 523-525

- Tamayo, A., Kyriakopoulou, K., Suarez-Garcia, E., Van der Berg C., Van der Goot J. (2018) Understanding differences in protein fractionation from conventional crops, and herbaceous and aquatic biomass. Consequences for industrial use. *Trends in Food Science & Technology*, 71, 235-245.
- Thomas, L. (2019) *Técnicas de la purificación de la proteína*. [En línea] (Actualizado al 26 de febrero de 2019). Disponible en: [https://www.news-medical.net/life-sciences/Protein-Purification-Techniques-\(Spanish\).aspx](https://www.news-medical.net/life-sciences/Protein-Purification-Techniques-(Spanish).aspx) [Último acceso el 17 de junio de 2021]
- Unilever Food Solutions (2021). *Entomofagia: Insectos protagonistas de tus platillos*. [En línea] (Actualizado al 2021). Disponible en: <https://bit.ly/3972KFE> [Último acceso 11 de septiembre de 2021]
- UNAM Global. (2016). *Insectos comestibles, alternativa de alimentación*. [En línea] (Actualizado al 2016). Disponible en: <https://bit.ly/2UCgbdn> [Último acceso el 13 de marzo de 2021]
- Universidad Nacional de Córdoba. (2019). *Desarrollo y metamorfosis de insectos. Zoología Agrícola*. [En línea] (Actualizado al 2019). Disponible en: <https://bit.ly/3p5q688> [Último acceso el 26 de marzo de 2021]
- Universidad Nacional de San Martín. (2017). *Purificación de proteínas: Métodos, principios y equipamiento*. [En línea] (Actualizado a marzo de 2017). Disponible en: <https://bit.ly/3iFS6ul> [Último acceso el 17 de junio de 2021].
- Van Huis, A., Tomberlin, J. (2017). *Insects as food and feed: from production to consumption*. Netherlands: Wageningen Academic Publishers.
- 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*. Roma: Food and Agriculture Organization of The United States
- Vantomme, P. (2010). Los insectos forestales comestibles, una fuente de proteínas que se suele pasar por alto. *Unasyuva* 236, 61
- Vioque, J., Sánchez-Vioque, R., Pedroche, J., Yust, M., Millán, F. (2001). Obtención y aplicaciones de concentrados y aislados protéicos. *Información Tecnológica: Grasas y Aceites*, 52(2), 127-131

- Yi, L., Lakemond, C., Sagis, L., Eisner-Schadler, V., Van Huis, A., Van Boekel, M. (2013). Extraction and characterization of protein fractions from five insect species. *Food Chemistry*, 141 (4), 3341-3348
- Zainol, N., Kormin, F., Zainol, A., Fatihah, N., Fadzelly, M. (2020). The Potential of Insects as alternative Sources of Chitin: An Overview on the Chemical Method of Estraction from Various Sources. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 1-25
- Zhao, X., Vázquez, J., Johansson, D., Landberg, R., Lanton, M. (2016). Yellow Melaworm Protein for Food Purposes. Extraction and Functional Properties. *Plos one*, 11(2)
- Zumbado, M. & Azofeifa, D. (2018). *Insectos de Importancia Agrícola. Guía Básica de Entomología*. Costa Rica: Programa Nacional de Agricultura Orgánica (PNAO)

ANEXOS

ANEXO 1 Análisis de Varianza del sexo de los insectos como influencia en el contenido de proteína

Tabla A1. Análisis de Varianza de dos factores (Hembra y Macho) con distintas muestras por grupo (Grillos *Acheta domestica* L. y Saltamontes *Zonocerus variegatus* L.). Influencia en el contenido de proteína.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F
Insectos (Grillos y Saltamontes)	12132.18	3	4044.06	31379.72
Sexo (Hembra y Macho)	83.03	1	83.03	644.27
Interacción	78.52	3	26.17	203.10
Error	2.06	16	0.13	
Total	12295.80	23		

$\alpha = 0.05$

Para la variable de insectos (especie) se tiene:

$$F = 31379.72 > F_{(0.05, 3, 16)} = 3.24$$

Por lo tanto, se rechaza H_0 , es decir; existe evidencia estadísticamente significativa para concluir que el contenido de proteína en los insectos es diferente.

Para la variable del sexo en insectos se tiene:

$$F = 644.27 > F_{(0.05, 1, 16)} = 4.49$$

Por lo tanto, se rechaza H_0 , es decir; existe evidencia estadísticamente significativa para concluir que el contenido de proteína en hembras y machos es diferente.

ANEXO 2 Análisis de Varianza del sexo de los insectos como influencia en el contenido de quitina

Tabla A2. Análisis de Varianza de dos factores (Hembra y Macho) con distintas muestras por grupo (*Grillos Acheta domestica L.*). Influencia en el contenido de quitina.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F
Insectos (Grillos)	0.01	2	0.01	0.03
Sexo (Hembra y Macho)	1.81	1	1.81	12.31
Interacción	0.07	2	0.03	0.24
Error	1.76	12	0.15	
Total	3.65	17		

$\alpha = 0.05$

Para la variable de especie de insecto se tiene:

$$F = 0.03 < F_{(0.05, 2, 12)} = 3.88$$

Por lo tanto, no se rechaza H_0 , es decir; no existe evidencia estadísticamente significativa para concluir que el contenido de quitina en los insectos es diferente.

Para la variable del sexo en insectos se tiene:

$$F = 12.31 > F_{(0.05, 1, 12)} = 4.74$$

Por lo tanto, se rechaza H_0 , es decir; existe evidencia estadísticamente significativa para concluir que el contenido de quitina en hembras y machos es diferente.

ANEXO 3 Tabla comparativa de sobreestimación del contenido de proteína en insectos

Tabla A3. Comparación del contenido de proteína reportado y el obtenido por ambos métodos (porcentaje de sobreestimación).

Insectos comestibles	Nombre científico	Contenido de proteína (%) reportado	Contenido de proteína (%) PROPUESTA 1	% Sobreestimación Propuesta 1	Contenido de proteína (%) PROPUESTA 2	% Sobreestimación Propuesta 2
Escarabajo	<i>Callipogon barbatus</i>	41.00	34.07	20.33	31.23	31.28
Escarabajo	<i>Protaetia brevitarsis</i>	44.23	37.30	18.57	33.69	31.29
Escarabajo	<i>Oryctes rhinoceros</i>	50.48	43.55	15.91	38.45	31.29
Escarabajo	<i>Tenebrio molitor</i>	53.22	46.29	14.96	40.53	31.31
Escarabajo	<i>Allomyrina dichotoma</i>	54.18	47.25	14.66	41.26	31.31
Escarabajo	<i>Copris nevinsoni</i> <i>Waterhouse</i>	54.43	47.50	14.58	41.45	31.31
Escarabajo	<i>Oryctes rhinoceros</i> <i>Linnaeus</i>	57.81	50.88	13.61	44.03	31.30
Escarabajo	<i>Tenebrio molitor</i>	60.2	53.27	13.00	45.85	31.30
Grillo	<i>Teleogryllus emma</i>	55.65	48.70	14.27	42.38	31.31
Grillo	<i>Gryllus bimaculatus</i>	58.32	51.37	13.53	44.42	31.29
Cucaracha	<i>Periplaneta australasiae</i> F	62.4	58.81	6.10	47.52	31.31
Cucaracha	<i>Periplaneta americana</i> L	65.6	62.01	5.78	49.96	31.31
Mosca	<i>Copestylum haggi</i> y <i>anna</i>	37	31.36	17.98	28.18	31.30
Mosca	<i>Efidra hians</i>	35.87	30.23	18.66	27.32	31.30
Abeja	<i>Apis mellifera</i>	42	37.33	12.53	31.99	31.29
Abeja	<i>Apis mellifera</i>	49	44.33	10.55	37.32	31.30
Abeja	<i>Apis mellifera</i>	50	45.33	10.31	38.08	31.30
Hormiga	<i>Liometopum apiculatum</i>	39.67	35.00	13.36	30.21	31.31
Hormiga	<i>Pogonomyrmex barbatus</i>	45.79	41.12	11.37	34.87	31.32
Hormiga	<i>Atta mexicana</i>	46	41.33	11.31	35.03	31.32
Termitas	<i>Macrotermes bellicosus</i>	34.8	32.08	8.48	26.5	31.32
Termitas	<i>Macrotermes nigeriensis</i> <i>Aegiale</i>	23.47	20.75	13.11	17.87	31.34
Mariposa	<i>Acentrocneme hesperiari</i> <i>Aegiale</i>	40	37.88	5.61	30.46	31.32
Mariposa	<i>Aegiale hesperiaris</i>	40.34	38.22	5.56	30.72	31.32