

[INV]: CARACTERIZACIÓN NUTRICIONAL DEL POLVO DE LARVA DE *TENEBRIO MOLITOR*

Mg. Chamorro, Veronica (chamorro.veronica@inta.gob.ar). Instituto Tecnología de Alimentos (INTA) - ICyTeSAS - CONICET, Hurlingham, Bs.As., Argentina.

Dra. Gallardo, Gabriela (gallardo.gabrielal@inta.gob.ar). Instituto Tecnología de Alimentos (INTA) - ICyTeSAS - CONICET, Hurlingham, Bs.As., Argentina.

Dra. Vásquez Mazo, Priscilla. (vazquezmazo.pris@inta.gob.ar). Instituto Tecnología de Alimentos (INTA) - ICyTeSAS - CONICET, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina.

Est. Aparicio, Juan José*, (apariciojuan23@gmail.com). Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Bs. As., Argentina.

ABSTRACT

Actualmente el mundo consume más de 2,000 especies de insectos, los cuales poseen un alto perfil nutricional, particularmente en referencia a su contenido proteico. Dicha proteína contiene una alta concentración de aminoácidos esenciales y es más digerible, en promedio, que las proteínas vegetales. Asimismo, la producción de insectos es más sustentable que otras fuentes proteicas convencionales dado que requieren poca agua, liberan menor cantidad gases de efecto invernadero, necesitan poco espacio para reproducirse y desarrollarse, y poseen una alta tasa de conversión. En este estudio se evaluó la cantidad y la calidad proteica de una muestra de polvo de *Tenebrio molitor* para su uso como ingrediente en la reformulación de un alimento de consumo masivo como lo son los panes. El contenido proteico de la muestra de polvo de tenebrio, obtenida luego del secado de la larva, se determinó mediante el método de Kjeldahl. En cuanto a los resultados, se obtuvo un porcentaje de proteína para el polvo de tenebrio de $40,3 \pm 0,1\%$. Al usarse en el pan, se observó un aumento en el contenido proteico de $35,2\%$ con respecto al control. El perfil de aminoácidos se evaluó mediante cromatografía de intercambio iónico. Los aminoácidos esenciales representaron el $38,4\%$ del perfil total, siendo la leucina (Leu), el aminoácido predominante ($6,7\%$). Estos resultados resaltan el potencial de los insectos como el *Tenebrio molitor* para ser utilizados como ingredientes proteicos alternativos para la reformulación de alimentos y el enriquecimiento nutricional de los mismos.

Palabras clave: caracterización nutricional, insectos, aminoácidos esenciales, Tenebrio molitor

Currently, the world consumes more than 2,000 species of insects with a high nutritional profile, particularly regarding their protein content. Said protein contains a high concentration of essential amino acids and is more digestible, on average, than vegetable proteins. Likewise, the production of insects is more sustainable than other conventional protein sources since they require less water, release fewer greenhouse gases, take up little space, and have a high conversion rate. This study evaluated the protein quantity and quality of a sample of *Tenebrio molitor* powder as an ingredient in food reformulation, specifically in bread. The protein content of the *Tenebrio molitor* powder sample obtained after drying the worms was determined by the Kjeldahl method and the amino acid profile by ion exchange chromatography. Regarding the results, the protein percentage for the *Tenebrio molitor* powder of $40,3 \pm 0,1\%$ was obtained. When used in a mass consumption food such as bread, an increase in protein content of $35,2\%$ was observed. Essential amino acids represented $38,4\%$ of the total profile, with leucine (Leu) being the predominant amino

acid (6,7%). These results highlight the potential of insects, such as *Tenebrio molitor*, as a valuable source of protein for feed reformulation and nutritional fortification.

Keywords: nutritional characterization, insects, essential amino acids, Tenebrio molitor

INTRODUCCION

Existe una creciente demanda de alimentos debido al aumento sostenido de la población. Para alcanzar este requerimiento es necesario sumar fuentes de nutrientes. Se ha reportado que los insectos contienen altos porcentajes de proteína, aminoácidos esenciales y micronutrientes. Asimismo, su producción implica un proceso sustentable: bajo consumo de agua y emisión de gases y altas tasas de conversión (Van Huis et al., 2013). Actualmente el mundo consume más de 2,000 especies de insectos, los cuales poseen un alto perfil nutricional. En referencia a esto se destaca que la proteína de insecto contiene una alta concentración de aminoácidos esenciales y es más digerible, en promedio, que las proteínas vegetales (Gravel y Doyen, 2020).

Nuestro país no tiene tradición en consumir insectos (entomofagia), pero una encuesta propia indicó que más del 60% de los encuestados aceptaría el agregado de polvo de insectos como ingrediente de un alimento. Debido a esto resulta importante poder caracterizar y estudiar este tipo de matriz.

OBJETIVOS

- Caracterizar la composición nutricional del polvo de *Tenebrio molitor*.
- Evaluar la cantidad y la calidad proteica de una muestra de polvo de *Tenebrio molitor* para su uso como ingrediente en la reformulación de pan, el cual es un alimento de consumo masivo.
- Comparar la cantidad y la calidad proteica de ambos panes (control y reformulado).

METODOLOGÍA

Materia Prima:

Las larvas de tenebrios fueron provistos por la empresa Grillos Capo. Para su manipulación y estudio los insectos se lavaron y se faenaron por congelamiento a -20°C.

Obtención del polvo:

Las larvas de *Tenebrio* se secaron en una estufa a temperatura constante (102°C) por dos horas y media (Figura 1), hasta alcanzar los parámetros óptimos de conservación de alimentos: aw menor a 0,6 y porcentaje de humedad menor a 10% (Lenz et al., 2018). Estos parámetros se basan en la movilidad y la vida útil del alimento. Cuanto más elevada sea la aw, existe mayor probabilidad de que los microbios puedan proliferar.



Figura 1. Larvas de *Tenebrio molitor* secadas

Para la medición de humedad se utilizó una termobalanza Sartorius Moisture Analyzer (Figura 2) y para la medición de actividad de agua se utilizó un equipo AquaLab Water Activity Meter (Devigon Devices, Inc.) (Figura 3). Posteriormente se molió en un molinillo DAMAI High Speed Multi Function Grinder. El polvo así obtenido fue guardado hasta su uso.



Figura 2. Termobalanza Sartorius



Figura 3. AquaLab Water Activity Meter

Caracterización TMP:

Proteínas

El contenido proteico de la muestra de polvo de *Tenebrio molitor* (TMP) se determinó mediante el método de Kjeldahl (AOAC 992.15) y fue calculado mediante el producto del contenido de nitrógeno medido por un factor de 6,25 (Figuras 4 y 5)

En la literatura científica, a menudo se estima el contenido proteico de los insectos, ya que son una fuente potencialmente rica de proteínas. Sin embargo, la estimación del contenido proteico a

veces puede ser inexacta debido a la presencia de otras sustancias ricas en nitrógeno en el cuerpo de los insectos (quitina, ácidos nucleicos, fosfolípidos). Janssen et al. (2017) sugieren un nuevo valor de factor de conversión de nitrógeno a proteína de 4,76 como una forma de corregir esta sobreestimación.



Figura 4. Titulación del método de Kjeldahl



Figura 5. Digestión de la muestra

Grasa

El contenido de grasa se determina mediante el procedimiento 920.39C descrito por la AOAC, utilizando un extractor tipo Soxhlet.

El proceso de extracción duró alrededor de 2 horas, tiempo en el cual el hexano, va pasando por la muestra para extraer la grasa. Transcurrido el tiempo de extracción se sacaron los vasos del equipo y se colocaron en estufa durante al menos 2 horas para eliminar los residuos de hexano.

Al final, se enfriaron los vasos en el desecador y luego se pesaron en la balanza de precisión.

Humedad

Se determinó por gravimetría según la AOAC 930.15.

El método consistió en evaporar, mediante secado, el agua contenida en la muestra, bajo condiciones normalizadas.

Se pesó la muestra en una cápsula y seca, previamente tarada. Se colocó en la estufa por 2,5 horas a 105°C y al final se enfrió en el desecador por 30 minutos y se pesó.

El contenido de agua (%H₂O) de un alimento se calculó de la siguiente manera:

$$\% \text{ Humedad (g agua/100 g)} = (P1 - P2) / m * 100$$

donde P1 es el peso de la muestra húmeda (g), P2 es el peso de la muestra seca (g) y m es el peso de la muestra húmeda (g).

Cenizas

Mediante la técnica de la AOAC 942.05, en un crisol de porcelana de 15 ml de peso conocido se pesó 2 gramos de la muestra, luego se colocó en una mufla a 600°C por un tiempo de 2 horas. Al término del tiempo se retiró y se colocó en desecador hasta su enfriamiento registrando su peso final.

Elaboración de los panes control (PC) y reformulado (PR):

Las recetas de los panes (PC y PR) se indican en la Tabla 1:

Tabla 1. Ingredientes elaboración PC y PR

Ingredientes	PC	PR
Agua (ml)	160	160
Leche (ml)	160	160
Harina 000 (g)	500	450
TMP (g)	—	50
Azúcar (g)	10	10
Manteca (g)	30	30
Sal (g)	10	10
Levadura (g)	10	10

Se utilizó el horno de pan ATMA Easy Cook y se siguieron indicaciones del fabricante (Figura 4). Como puede observarse en la tabla 1, en PR se reemplazó un 10% del contenido de harina 000 con TMP.



Figura 4. Horno de pan ATMA

Composición de aminoácidos

Se determinó el perfil de aminoácidos en la muestra de polvo (TMP) mediante cromatografía de intercambio iónico Biocrom 30 (Figura 5).



Figura 5. Equipo de cromatografía de intercambio iónico Biocrom 30

El contenido del perfil total de aminoácidos se determinó mediante el método de Spackman *et al* (1958) donde 1 mg de proteína de la muestra de polvo de tenebrio fue hidrolizado con 1 ml de ácido metanosulfónico (MSA) 4 M - 0,2% de triptamina a 110 °C a 22 h bajo atmósfera de vacío. Después de eso, las muestras se acondicionaron a pH 2,2 con NaOH y luego se centrifugaron a 10000 rpm durante 10 minutos. La separación de aminoácidos se realizó mediante cromatografía de intercambio catiónico con derivación posterior a la columna con ninhidrina (Biochrom 30™). Las condiciones cromatográficas fueron un gradiente de pH de 2,2 a 13,6 y un gradiente de temperatura de 52 a 85 °C.

El contenido de aminoácidos se determinó utilizando métodos de patrón interno (L-norleucina) y patrón externo (patrones de aminoácidos Sigma AA-18 y ácido L-cisteico monohidrato, L-metionina sulfóxido, L-metionina sulfona, triptófano, L-ornitina monohidro-cloruro).

Contenido de proteínas muestras pan PC y PR

El contenido proteico de la muestra de los panes PC y PR, se determinó mediante el método de Kjeldahl (AOAC 992.15, 1990) y fue calculado mediante el producto del contenido de nitrógeno medido por un factor de 6,25.

RESULTADOS

Obtención y caracterización del polvo

Después del secado, se midieron los parámetros de a_w , humedad, proteína, cenizas y grasa. Los resultados se encuentran la Tabla 2.

Tabla 2. Caracterización de TMP

Muestra	a_w	Humedad (%)	Cenizas (%)	Proteína (%)	Grasa (%)
TMP	0,3456	5,34 \pm 0,17	3,45 \pm 0,02	40,3 \pm 0,1	28,970 \pm 0,811

La actividad de agua arrojó un valor de 0,35, el cuál se fue menor que los parámetros óptimos establecidos de conservación de alimentos: a_w menor a 0,6 y porcentaje de humedad menor a 10%. TMP tiene un porcentaje de proteínas significativamente alto, posicionando este ingrediente como una fuente prometedora de proteínas sostenibles y de alta calidad. Estos resultados son fundamentales para la comprensión de su potencial en la alimentación y la nutrición.

Composición de aminoácidos

En la tabla 4, se listan las composiciones de aminoácidos esenciales (AAEE) y la sumatoria de los no esenciales (AANEE) obtenidos en TMP. A su vez se comparan éstos valores con resultados propios en otras matrices: carne bovina y harina de arveja, usando la misma metodología.

Tabla 4. Composición de Aminoácidos en TMP vs carne bovina y harina de arveja

Nombre	Aminoácidos (g/100g de aac totales)		
	Polvo de Tenebrio	Carne bovina	Harina de arveja
Lys	6,0	9,8	7,0
Leu	6,7	7,3	7,3
His	3,8	5,1	0,5
Val	5,3	5,0	4,4
Phe	4,6	4,6	5,1
Ile	4,5	4,2	3,5
Met	1,4	2,7	1,1
Thr	5,3	5,3	3,5
Trp	0,8	2,2	ND*
AAEE	38,4	46,1	32,3
AAEE	61,6	53,9	67,7

*ND: no detectado

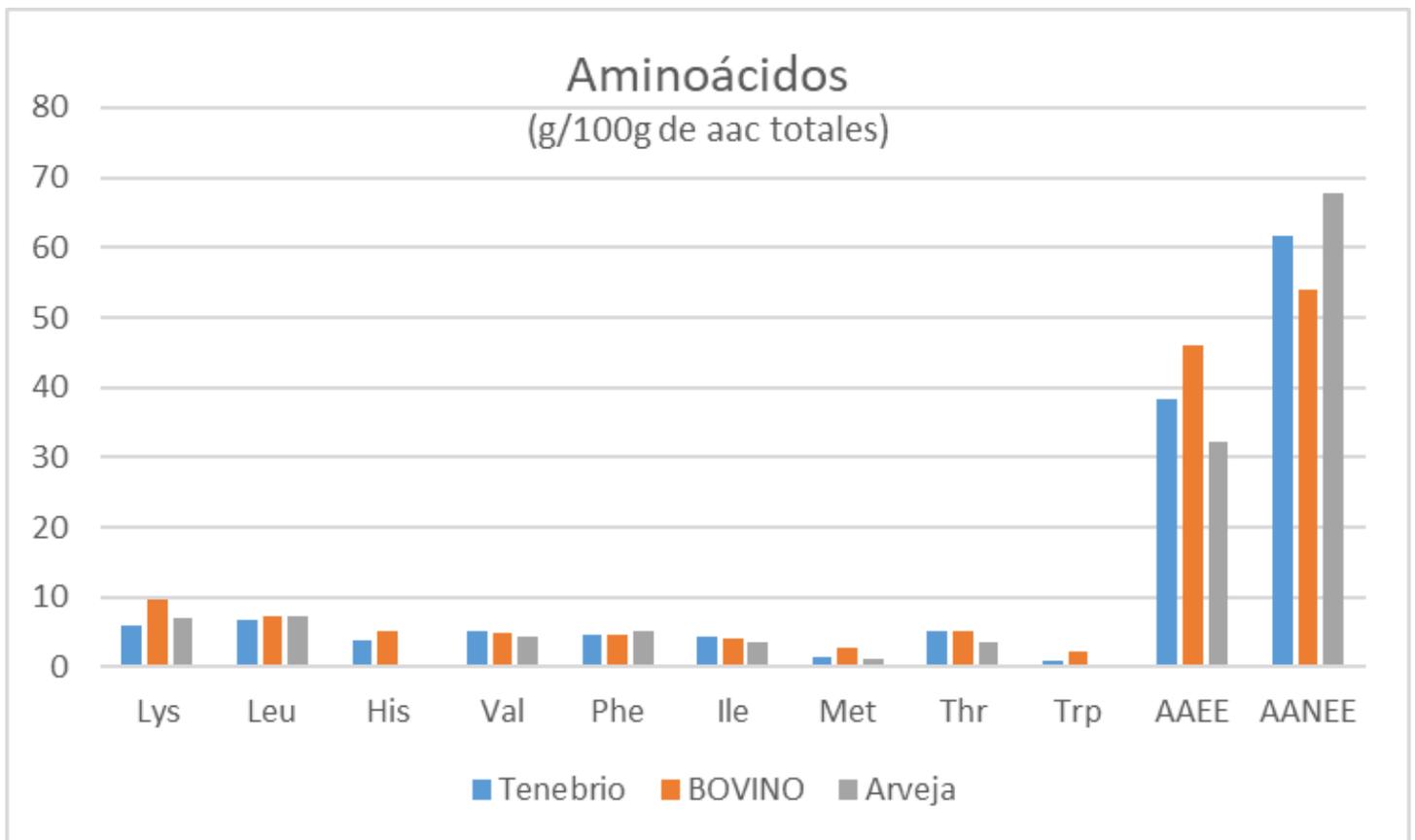


Figura 8. Composición de Aminoácidos en TMP vs harina de arveja y carne bovina

De la tabla 5 y la figura 8 puede observarse que TMP, a diferencia de la harina de arveja, contiene todos los aminoácidos esenciales, obteniendo un contenido total de AAEE de aproximadamente un 40%. Dentro de los AAEE, la leucina (Leu) fue el aminoácido predominante (6,7%). Al comparar el perfil de aminoácidos con la carne bovina puede observarse una distribución similar; si bien el % de AAEE es menor (38,4% en TMP vs 46,1% en carne bovina), este valor fue mayor que el obtenido para la proteína de origen vegetal como la arveja (%AAE: 32,3%).

Elaboración de los panes PC y PR

Los panes se elaboraron cuidadosamente con indicaciones del fabricante del horno ATMA (Figura 6). En la figura 6 puede observarse el resultado final de PC y PR.



Figura 6. Panes PR (izquierda) y PC (derecha).

Desde el punto de vista sensorial PR tuvo una clara diferencia en el color debido al agregado del TMP. No obstante, no se apreció un impacto en las características de leudado, como tampoco en las características finales del producto. En cuanto al interior de los panes, se revisó una característica clave como son los alveolos. Estos se refieren a las burbujas o cavidades presentes en la miga del pan, que son responsables de su textura y esponjosidad. En general, la uniformidad en la estructura de los alvéolos es deseada al hornear pan, ya que indica una distribución homogénea de las burbujas en toda la masa. En la figura 7 puede observarse el interior de los panes, encontrando una distribución similar de los alvéolos en PR y PC.

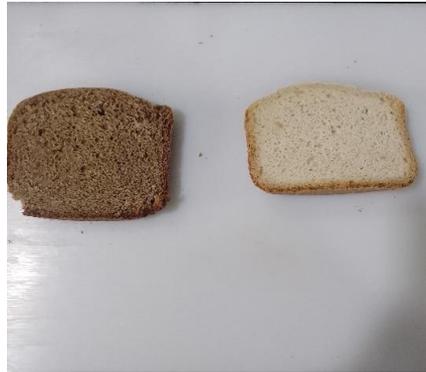


Figura 7. Rebanado de los panes

Contenido de proteínas de los panes

Al reemplazar en un 10% el contenido de harina de trigo 000 con TMP se obtuvo un aumento del contenido de proteínas en PR (9,6 g de proteína/100 g muestra) de un 35,2% con respecto a PC (7,1 g de proteína/100 g muestra) .

CONCLUSIONES

Los análisis revelaron que el polvo de tenebrio tiene un contenido proteico del $40,3 \pm 0,1\%$. La evaluación del perfil de aminoácidos mediante cromatografía de intercambio iónico mostró que los aminoácidos esenciales representan el 38,4% del perfil total, siendo la leucina (Leu) el aminoácido predominante con un 6,7%. Asimismo, presentó todos los aminoácidos esenciales y su contenido fue mayor al obtenido en la proteína de origen vegetal. Cuando se incorporó en la producción de pan, se logró un aumento del contenido proteico en un 35,2% en comparación con el pan control. Además, ésta adición no afectó el comportamiento del alimento durante la elaboración, ni tampoco se observó un impacto en las características principales del producto final, más allá del cambio en el color. Se concluye que el polvo de larva de *Tenebrio molitor* es una opción interesante para la reformulación de alimentos en términos de cantidad y calidad proteica. Estos resultados respaldan la potencialidad que presenta el polvo de larva de *Tenebrio molitor* como un recurso proteico alternativo, con ventajas sustentables en la producción de este ingrediente.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su gratitud a:

- Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA Castelar)

- Instituto de Ciencia y Tecnología de Sistemas Alimentarios Sustentables (ICyTeSAS) - CONICET
- Lic. Daniel Caporaletti, encargado de Grillos Capos, empresa de cría de insectos.

BIBLIOGRAFÍA

1. AOAC. Official Methods of Analysis, 15th ed. (1990); Association of Official Analytical Chemists: Arlington, VA.
2. Janssen, R. H., Vincken, J. P., van den Broek, L. A. M., Fogliano, V., & Lakemond, C. M. M. (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. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00471>.
3. Gravel, A., & Doyen, A. (2020). The use of edible insect proteins in food: Challenges and issues related to their functional properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 59, 102272.
4. Lenz, D.; Saubidet, P.; Chamorro, V.; Polenta, G.; Pazos, A. ; Perez, C.; López, M. C.; Gallardo, G. “Harina de insectos como fuente de proteína no convencional” VII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Córdoba, octubre 2018.
5. Sparkman DH, Stein EH, Moore S (1958). Automatic recording apparatus for use in Chromatography of amino acids, *Anal. Chem.* 30: 119.
6. 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 (No. 171). Food and agriculture organization of the United Nations.