



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Análisis Químico Proximal (A.Q.P.) del escarabajo
Ulomoides dermestoides y su Capacidad Antioxidante**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:
GABRIELA SÁNCHEZ TORRES

ASESORA: **DRA. SUSANA PATRICIA
MIRANDA CASTRO**



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

"Atreveos: el progreso solamente se logra así".

Víctor Hugo.

"Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, la electricidad y la energía atómica: la voluntad".

Albert Einstein

"El primer paso para la solución de los problemas es el optimismo. Basta creer que se puede hacer algo para tener ya medio camino hecho y la victoria muy cercana".

John Baines

DEDICATORIAS

A mi asesora

Dra. Susana Patricia Miranda Castro

A mi profesora y amiga

I.A. Daniela Hernández Regino

A mi mamá

Martina Torres Castro

A mi novio

J. Roberto Romero Paulín

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la vida.

A mi madre y mis hermanos por todo el cariño y apoyo incondicional, porque estoy segura que sin ustedes el camino hubiera sido más complejo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por darme la oportunidad de formar parte de ella, así como de la formación que me ha brindado.

Al Sistema de Becas para Estudiantes Indígenas bajo la coordinación de Mtra. Evangelina Mendizábal García, así como la tutoría de la Lic. Ofelia Reyes Sánchez, puesto que me adoptaron como un miembro más de esta gran familia, gracias por todo el apoyo.

A mis maestros, por el conocimiento y experiencias brindadas para complementar mi desarrollo tanto personal como académico.

A la Dra. Susana Patricia Miranda Castro, por compartir sus conocimientos y experiencia conmigo, además del apoyo que me brindó durante el desarrollo de este proyecto.

A Itzel, Martha, David, José Abraham, Pedro, Leo y a todos mis amigos de la facultad que me han apoyado en este proceso pero sobre todo que me han brindado su amistad incondicional.

A Anita, Laura y Daniela, por ser mi segunda familia.

A mis tíos Francis y Gabino, por acogerme en su hogar.

A todas y cada una de las personas que creyeron en mí y que hoy ya no están para compartir mi alegría.

A Roberto y familia, gracias por todo.

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
CAPITULO 1 ANTECEDENTES	5
1.1 ANTIOXIDANTES	6
1.1.1 Radicales libres y Estrés Oxidativo.....	6
1.1.2 Definición de Antioxidantes.....	8
1.1.3 Clasificación.....	9
1.1.4 Función de los Antioxidantes.....	10
1.1.5 Enzimas que actúan como Antioxidantes.....	10
1.1.5.1 Superóxido dismutasa (SOD).....	11
1.1.5.2 Catalasa.....	11
1.1.5.3 Glutación peroxidasa (GPx).....	12
1.1.6 Alimentos en los que se encuentran los Antioxidantes	12
1.2 <i>ULOMOIDES DERMESTOIDES</i>	14
1.2.1 Clasificación.....	14
1.2.2 Taxonomía.....	14
1.2.3 Ciclo de Vida.....	15
1.2.4 Morfología.....	16
1.2.5 Coleopteroterapia	17
1.2.6 Sustancias presentes en el cuerpo de Ulomoides dermestoides que le confieren poder Antioxidante.....	17
1.3 TÉCNICAS PARA LA EVALUACIÓN ANTIOXIDANTE	19
1.3.1 Técnicas Directas	19
1.3.2 Técnicas Indirectas.....	19
1.3.2.1 Capacidad de Absorción de Radicales Libres de Oxígeno (ORAC).....	20
CAPÍTULO METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	25
2.1 CUADRO METODOLÓGICO.....	26
2.2 OBJETIVOS	27

2.2.1 Objetivo general	27
2.2.2 Actividades Preliminares.....	27
2.2.3 Objetivo particular 1.....	27
2.2.4 Objetivo particular 2.....	27
2.3 DESCRIPCIÓN DEL CUADRO METODOLÓGICO.....	28
2.3.1 Actividades Preliminares.....	28
2.3.2 Análisis Químico Proximal (AQP) del escarabajo Ulomoides dermestoides	28
2.3.2.1 Determinación de Cenizas	29
2.3.2.2 Determinación de Extracto etéreo	30
2.3.2.3. Determinación de Fibra	32
2.3.2.4 Determinación de Humedad (estufa).....	33
2.3.2.5 Determinación de Nitrógeno Total	35
2.3.3 Determinar la capacidad antioxidante por el método ORAC.....	37
2.3.3.1 Actividad 1: Preparación de reactivos	38
2.3.3.2 Actividad 2: Desarrollo del método.....	39
CAPÍTULO 3: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
3.1 ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL (A.Q.P)	42
3.2 CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE RADICALES LIBRES DE OXÍGENO (ORAC)	47
CONCLUSIONES	52
BIBLIOGRAFÍA	53
ANEXOS	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Daño que producen los radicales libres en la membrana celular.	8
Figura 2. Antioxidantes sintéticos.	9
Figura 3. Clasificación de los antioxidantes naturales.	10
Figura 4. Comparación de la capacidad antioxidante de algunos alimentos de acuerdo al sistema ORAC	13
Figura 5. Etapas de desarrollo del escarabajo <i>Ulomoides dermestoides</i>	15
Figura 6. Morfología del escarabajo <i>Ulomoides dermestoides</i>	17
Figura 7. Mecanismo de oxidación propuesto para FL en presencia de APPH.	23
Figura 8. <i>Ulomoides dermestoides</i> criado con una dieta de lechuga y pan integral.....	28
Figura 9. Crisoles con muestra calcinada en mufla a 550°C.	29
Figura 10. Muestra de escarabajos carbonizándose.	29
Figura 11. Destilador Soxhlet.....	31
Figura 12. Matraces con solvente y muestra de extracto etéreo.....	31
Figura 13. a) Ácido sulfúrico con muestra hirviendo, b) Solución a más la adición de Hidróxido de sodio hirviendo y c) Filtración al vacío de la muestra digerida. .	32
Figura 14. Estufa (Quincy Lab. Inc, Mod.30 GC).....	34
Figura 15. Digestor Kjeldahl.	35
Figura 16. Muestra obtenida en de la digestión de proteína.....	35
Figura 17. a) Destilador Micro-Kjeldahl, b) Mezcla digerida lista para valorarse y c) Solución valorada.	36
Figura 18 Microplaca de fluorescencia de 96 pocillos (Microfluor 2, Thermoscientific)..	40
Figura 19. Lector de microplacas Biotek Mod. Synergy HT	40
Figura 20. Curva de decaimiento de fluoresceína inducida por APPH en presencia de extractos de gorgojo a diferentes concentraciones.	47
Figura 21. Curva de Trolox	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Compuestos presentes en el escarabajo <i>Ulomoides dermestoides</i>	18
Tabla 2. Características de pruebas para la evaluación de la capacidad antioxidante.....	20
Tabla 3. Definición y función de los reactivos que se utilizan en el método ORAC.	24
Tabla 4. Proporción de reactivos utilizados para realizar la Curva de Trolox.	39
Tabla 5. Resultados del A.Q.P. del escarabajo <i>Ulomoides dermestoides</i> g/100g base seca y base húmeda.	42
Tabla 6 Valores ORAC del gorgojo <i>U. dermestoides</i> expresados en TEAC ($\mu\text{mol Trolox/g}$ muestra).....	50

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1 Porcentaje de Cenizas	30
Ecuación 2 Porcentaje de Extracto etéreo	31
Ecuación 3 Porcentaje de Fibra	33
Ecuación 4 Porcentaje de Humedad	34
Ecuación 5 Porcentaje de Nitrógeno	36
Ecuación 6 Porcentaje de Proteína	36
Ecuación 7 Porcentaje de Quitina.....	37
Ecuación 8 Área bajo la curva neta de Trolox.....	47
Ecuación 9 Área bajo la curva neta de la muestra.....	48
Ecuación 10 Concentración de micromoles equivalentes de Trolox por litro de muestra. ..	48
Ecuación 11 Concentración de micromoles equivalentes de Trolox por litro de muestra por concentración de la disolución	49
Ecuación 12 Valor ORAC expresado en unidades TEAC ($\mu\text{mol Trolox/g muestra}$).....	49

RESUMEN

En varios países latinoamericanos se practica la coleopteroterapia, con el escarabajo *Ulomoides dermestoides* con el fin de curar una gran gama de enfermedades. La mayoría de ellas, inducidas por el estrés oxidativo, producido por la presencia de radicales libres.

Por tal motivo, el objetivo de este trabajo de investigación fue determinar la composición química y la capacidad antioxidante de extractos del escarabajo *Ulomoides dermestoides* a través de Análisis Químico Proximal (A.Q.P.) y del método basado en la Capacidad de Absorción de Radicales Libres de Oxígeno (ORAC) para conocer la proporción de sus componentes y el poder de inhibición de la actividad oxidativa.

El Análisis Químico Proximal se realizó con base en las técnicas de la A.O.A.C (por sus siglas en ingles Association of Official Analytical Chemistry). Se realizaron pruebas de humedad, extracto etéreo, fibra, cenizas y nitrógeno total. En el caso particular del nitrógeno total se obtuvo porcentaje de proteína y quitina.

Por otro lado, la capacidad antioxidante del gorgojo fue evaluada por medio del método basado en la Capacidad de Absorción de Radicales Libres de Oxígeno propuesto por Huang y cols (2002) con algunas modificaciones. Se realizaron dos diluciones de los extractos acuosos: 1:100 y 1:250. El reactivo de fluoresceína se preparó a concentración 8.16×10^{-8} mM en tampón de fosfato de sodio ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$) 75 mM pH 7,4 y por otro lado el reactivo AAPH en el mismo tampón de fosfato. A 150 μl de solución de fluoresceína se le añadieron 25 μl de las distintas diluciones de los extractos del gorgojo y se mantuvo así durante 15 minutos a 37°C. Transcurrido este periodo se añadieron 25 μl de reactivo AAPH, y se inició una cinética de 2 horas en el lector de placas (Biotek. Mod. Synergy HT) a 37°C.

Los datos arrojados por el software Gen 5 permitieron calcular el área bajo la curva y obtener los micromoles equivalentes de Trolox/g muestra.

Análisis Químico Proximal (A.Q.P) del escarabajo *Ulomoides dermestoides* y su Capacidad Antioxidante.

Los resultados del Análisis Químico Proximal del escarabajo *U. dermestoides* se reportan en base húmeda y base seca, los valores son: 54.84% humedad, 34.976% extracto etéreo, 28.227% proteína, 18.572% quitina, 7.103% carbohidratos, 8.051% fibra y 3.091% cenizas.

Por otro lado, todos los extractos del escarabajo presentan gran capacidad antioxidante, sin embargo, la muestra con mayor efecto antioxidante fue la dilución de 1:100, con 118.099 μ mol Trolox/g muestra.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad causa impacto entre los consumidores el denominado “mercado de la salud” que cada día se expande en el mundo; este incluye los alimentos con antioxidantes considerados como alimentos funcionales y que entre otras definiciones, se pueden describir como productos alimenticios (animal o vegetal) naturales o industrializados que forman parte de la dieta diaria y que además de aportar nutrientes, tienen otros componentes bioactivos. Pueden contener ingredientes adicionales tales como fibra, vitaminas, minerales o eliminar algún compuesto (grasas saturadas o azúcares) con el fin de hacerlos más nutritivos (Coronado, Vega, Gutiérrez, Vázquez y Radilla, 2015).

Por tal motivo, en los últimos años se han realizado diversos estudios sobre los efectos de los antioxidantes en la salud. Los antioxidantes son compuestos que se encuentran en determinados alimentos y protegen al organismo de sustancias oxidantes como los radicales libres y sustancias reactivas de oxígeno, nitrógeno o cloro que desencadenan procesos patológicos y envejecimiento (Delgado, 2015).

Los radicales libres se liberan durante el metabolismo humano, y también se producen por contaminantes ambientales, (atmosféricos, acuáticos, de suelos), radiaciones (ultravioleta, gamma, hertziana), entre otros. Se pueden relacionar con el consumo o uso de tóxicos como el alcohol, tabaco y drogas o debido a una alimentación no adecuada, exposición a fertilizantes o pesticidas. Se incluye además el metabolismo de algunos químicos y elevado estrés físico o psíquico (Coronado y cols., 2015).

Uno de los mecanismos para neutralizar las especies reactivas del oxígeno es el consumo de sustancias antioxidantes obtenidas de productos naturales (Mendoza, Salgado y Durant, 2013). Algunos de estos, se encuentran presentes en el cuerpo de insectos, tal es el caso del escarabajo *Ulomoides dermestoides* (Villegas y Tantaleán, 2012), llamado “Gorgojo del maní” o gorgojo chino”.

Dichos escarabajos son consumidos en varios países latinoamericanos, lo que se conoce como coleopteroterapia, la cual consiste en ingerir el gorgojo vivo y cuando este llega al estómago, muere y libera sustancias curativas. La coleopteroterapia se utiliza con fines terapéuticos para tratar los síntomas de una amplia gama de enfermedades (Tejeda, 2014),

como asma, artritis, cáncer, diabetes, enfermedad de Parkinson, impotencia, problemas oculares, psoriasis, quistes de ovario, reuma y VIH-SIDA, entre otras (Cupul, 2010).

Algunos autores han reportado sustancias presentes en el cuerpo de *Ulomoides dermestoides* que le confieren cierta capacidad antioxidante, como por ejemplo, el 1-pentadecanol, 4-etilresorcinol, limoneno, ácidos grasos (mirístico, palmítico, esteárico, oleico y linoleico), entre otros (Mendoza y cols., 2013, Tejeda, 2014).

Además, cabe destacar que en diversos países se consumen insectos debido a su calidad nutritiva, en todos los estados de su desarrollo; en forma de huevecillos, larvas, pupas y adultos. De esta manera, se podría considerar al gorgojo chino como un insecto comestible (Ramos, Costa, Ferreira, Pino, Landero, Ángeles y García, 2006).

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo es determinar la composición química y la capacidad antioxidante de extractos del escarabajo *Ulomoides dermestoides* a través de Análisis Químico Proximal (A.Q.P) y del método ORAC para conocer la proporción de sus componentes y el poder de inhibición de la actividad oxidativa.

CAPITULO 1

ANTECEDENTES

1.1 Antioxidantes

El creciente conocimiento acerca de los efectos de promoción de la salud de los antioxidantes en los alimentos cotidianos, en combinación con la hipótesis de que un número de conservadores sintéticos pueden tener efectos peligrosos, ha dado lugar a múltiples investigaciones en el campo de los antioxidantes naturales (Silva, 2009).

De acuerdo al Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), la presencia de antioxidantes naturales en los alimentos es importante, no sólo porque estos compuestos contribuyen a definir las características organolépticas y a preservar la calidad nutricional de los productos que los contienen, sino además, porque al ser ingeridos, ayudan a preservar en forma considerable la salud de los individuos que los consumen. La evidencia científica acumulada durante las últimas dos décadas indica que, más allá de las promesas iniciales de retardar el envejecimiento, los antioxidantes al ser consumidos bajo la forma de alimentos tienen un importante potencial para reducir el desarrollo de aquellas enfermedades que actualmente más afectan a la población mundial (enfermedades cardiovasculares, tumorales y neuro-degenerativas). Como resultado de tal reconocimiento, los antioxidantes han pasado a ser crecientemente considerados por la población como “Moléculas cuyo consumo es sinónimo de salud”.

1.1.1 Radicales libres y Estrés Oxidativo

Los radicales libres ($R\bullet$) son especies químicas orgánicas o inorgánicas (átomo, molécula o ión) que poseen al menos un electrón desapareado en su último orbital, hecho que les confiere una altísima inestabilidad y reactividad desde el punto de vista químico. Dada la configuración electrónica en capas abiertas, tienen una gran afinidad por captar o robar un electrón de otra molécula (Mateo, 2007). El mecanismo oxidante de los radicales libres está íntimamente ligado a su génesis, la cual sigue una secuencia de reacciones en cadena. En estas reacciones, una molécula previamente alterada (con un electrón sin aparear), y por tanto muy reactiva, es capaz de reaccionar con otra molécula no reactiva, induciendo en esta última la formación de un radical libre listo para iniciar un nuevo ataque nucleofílico, y así de manera sucesiva (Zequeira, 2006).

La capacidad que tenga cada radical libre para actuar como agente oxidante está determinada por factores como su reactividad, especificidad, selectividad y difusibilidad (Agudo, 2002).

Las células, como parte de su propio metabolismo, producen radicales libres y especies reactivas del oxígeno (ROS) (Almajano, 2009).

Los radicales libres se obtienen por diferentes mecanismos, entre los que se encuentran la cadena respiratoria mitocondrial, la cadena de transporte de electrones a nivel microsomal y en los cloroplastos, y las reacciones de oxidación, por lo que producen daño celular (oxidativo), al interactuar con las principales biomoléculas del organismo (Venéreo, 2002).

Se estima que el material nuclear de cada célula es atacado unas 10⁴ veces al día por los radicales libres, a pesar de lo cual, la mayoría de estas no tienen consecuencias graves para la célula, pues éstas disponen de mecanismos enzimáticos altamente eficaces encargados de reparar el material nuclear, disminuyendo de este modo sus posibles consecuencias (Mateo, 2007).

Dichos mecanismos enzimáticos están conformados por un complejo sistema antioxidante de enzimas como la catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y antioxidantes no enzimáticos, como las vitaminas A, E y C, glutatión, ubiquinona o flavonoides.

Si se produce un desequilibrio entre los prooxidantes y los antioxidantes, se llega a un estado de estrés oxidativo, que puede ser producido por una excesiva producción de radicales libres (Almajano, 2009).

El daño o estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno (Venéreo, 2002).

El estrés oxidativo se asocia con modificaciones de los fosfolípidos de la membrana y de proteínas (Figura 1) que conducen a la peroxidación y a la oxidación de grupos tiol (Arreguin, 2012), lo que produce un daño directo e irreversible que modifica sus funciones específicas, por ejemplo, el envejecimiento celular.

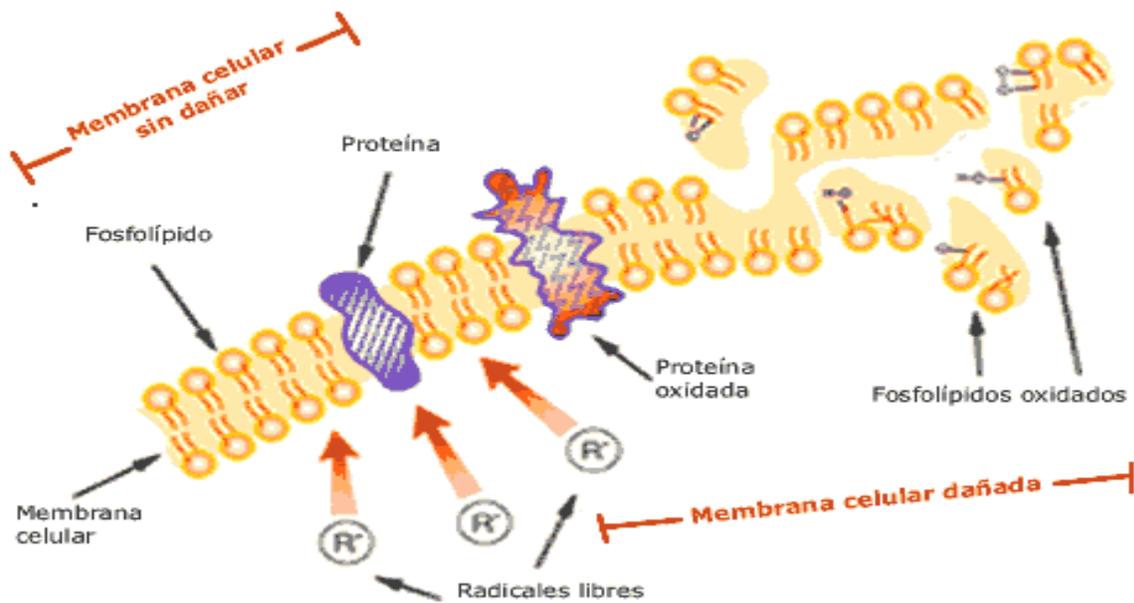


Figura 1. Daño que producen los radicales libres en la membrana celular.

Fuente: https://www.educ.ar/dinamico/UnidadHtml__get__ec21f43e-a65c-4eb2-8d0e-c6dcedfad43e/91079-EDI/data/54d8fdf4-7a07-11e1-807d-ed15e3c494af/index.html

Entre los componentes celulares susceptibles al efecto del estrés oxidativo también se encuentra el ADN, que forma los genes. Es muy sensible a la oxidación, que provoca mutaciones que pueden favorecer el desarrollo del cáncer.

1.1.2 Definición de Antioxidantes

Los antioxidantes son moléculas que tienen la propiedad de evitar o prevenir la oxidación con otras moléculas. Se produce una oxidación, siempre que una especie cede electrones a otra, la especie que gana electrones se reduce, y la que pierde se oxida. En estas reacciones de oxidación, a veces, se pueden producir radicales libres que pueden producir daño al organismo (Almajano, 2009).

Los antioxidantes están compuestos por un grupo de sustancias que al estar presentes en bajas concentraciones con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente estas reacciones, inhibiendo algún producto intermedio y oxidándose los mismos. Como

sustrato oxidable se pueden considerar casi todas las moléculas orgánicas o inorgánicas que se encuentran en las células vivas, como proteínas, lípidos, hidratos de carbono y las moléculas de ADN (Venéreo, 2002).

Sin embargo, las defensas natas del cuerpo humano pueden no ser suficientes para aliviar el estrés oxidativo. Por lo tanto, ciertas cantidades de antioxidantes exógenos naturales son recomendadas para mantener un nivel adecuado de antioxidantes con el fin de equilibrar los radicales libres (Deloya y Deloya, 2014).

1.1.3 Clasificación

Los antioxidantes se dividen en dos categorías principalmente que son: sintéticos y naturales. En general los antioxidantes sintéticos son compuestos de estructuras fenólicas con varios grados de sustitución alquílica (Figura 2), mientras que los antioxidantes naturales pueden ser: compuestos fenólicos (tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos), compuestos nitrogenados (alcaloides, derivados de la clorofila, aminoácidos y aminas) o carotenoides así como el ácido ascórbico. Algunos antioxidantes sintéticos son el BHA y BHT (Butilnitrogenados y hidroxitolueno) (Muñoz y Gutiérrez, 2004).

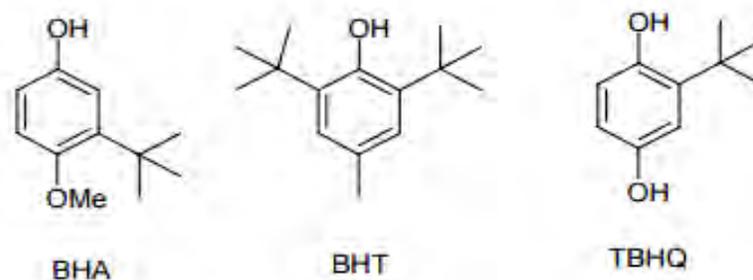


Figura 2. Antioxidantes sintéticos.

Dentro de los antioxidantes naturales, se pueden encontrar los enzimáticos y no enzimáticos, los cuales se presentan en la Figura 3. Los vegetales y frutas cuentan con un gran sistema antioxidante tanto de origen enzimático como no enzimático, sin embargo, las moléculas no enzimáticas juegan un papel muy importante en el equilibrio oxidativo.

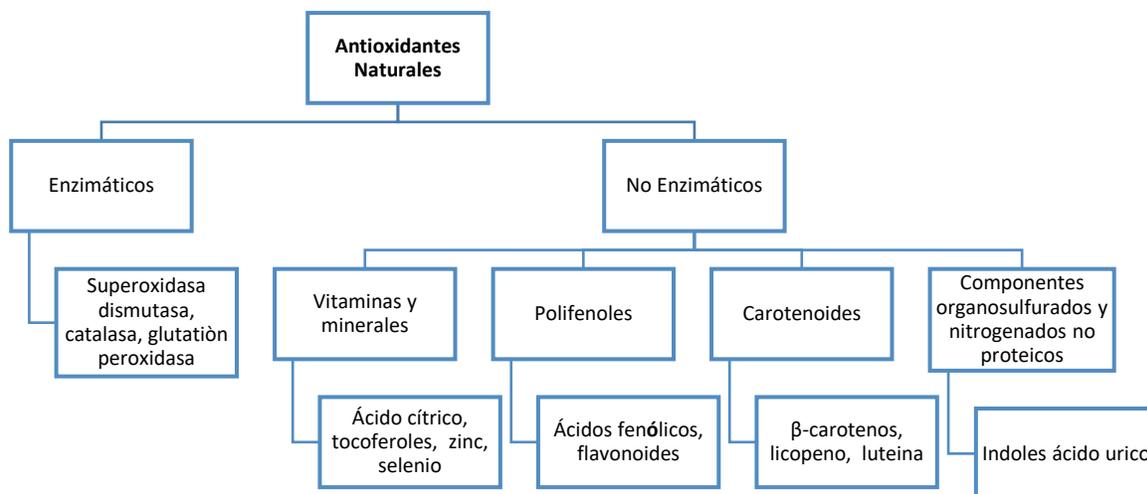


Figura 3. Clasificación de los antioxidantes naturales.

Fuente: Trapala, 2005

1.1.4 Función de los Antioxidantes

De acuerdo a Agudo (2012), los antioxidantes pueden actuar:

- A. Previniendo la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS).
- B. Interceptando el ataque de ROS.
- C. Secuestrando los metabolitos reactivos y convirtiéndolos en moléculas menos reactivas.
- D. Facilitando la reparación del daño causado por ROS.
- E. Manteniendo un ambiente favorable para la actuación de otros antioxidantes.
- F. Amplificando la resistencia de las dianas biológicas sensibles al ataque de ROS.

1.1.5 Enzimas que actúan como Antioxidantes

Las enzimas más importantes que participan en la defensa antioxidante son la catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa. Estas enzimas son el producto evolutivo devenido con la necesidad de la asimilación del oxígeno por parte de los organismos eucariontes (Zequeira, 2006).

1.1.5.1 Superóxido dismutasa (SOD)

La enzima superóxido dismutasa representa la primera línea de defensa de las células frente al estrés oxidativo (Rosales, 2006). Juega un importante papel en el mantenimiento del balance celular de las especies reactivas de oxígeno.

Es la encargada de catalizar la conversión de superóxido a peróxido de hidrógeno; debido a que en la respiración mitocondrial se genera un mayor número de superóxido libre en la célula (Floriano, Cárdenas, Castro, Reyes, Flores, Arzave y Torres, 2009).

La actividad SOD ha sido detectada en una amplia variedad de seres vivos, desde bacterias a humanos, implicada como defensa esencial frente a la toxicidad potencial del oxígeno. Cualquier célula que utilice el oxígeno tiene el potencial de producir anión superóxido y, por tanto, debe contener alguna forma de superóxido dismutasa. Las superóxido dismutasas constituyen una familia de metaloenzimas que se clasifican en cuatro grupos según el metal que actúe de cofactor: FeSOD, MnSOD, CuZnSOD y NiSOD (Rosales, 2006).

1.1.5.2 Catalasa

La catalasa es una enzima que protege de forma directa eliminando aniones de peróxido de hidrógeno. También impide la formación del radical hidroxilo OH, la especie reactiva derivada del oxígeno con mayor poder oxidante (Rosales, 2006).

Se trata de un sistema enzimático oxido-reductor ampliamente distribuido entre los seres vivos. Presenta una dualidad funcional: por un lado está encargado de la descomposición del agua oxigenada hasta agua y oxígeno molecular, mientras que por otro es responsable de la oxidación dependiente de peróxido de moléculas donadoras de electrones, como alcoholes o ácido fórmico (Mateo, 2007).

1.1.5.3 Glutación peroxidasa (GPx)

La glutatión peroxidasa es una enzima de selenio encargada de catalizar la reacción de reducción de peróxido de hidrógeno a lipoperóxido. Los hidroperóxidos son procedentes de fuentes diversas orgánicas (lípidos de membrana y restos nucleicos) (Mateo, 2007).

La glutatión peroxidasa usa como agente reductor el glutatión reducido (GSH) y se localiza en: citosol (eritrocitos), lisosomas (neutrófilos, macrófagos y otras células del sistema inmune).

Según Venéreo (2002), existen 3 formas de GPx:

- GPx-c o forma celular: Tiene mayor afinidad por el peróxido de hidrógeno que por el lipoperóxido.
- GPx-p o forma extracelular: Presenta afinidad semejante para ambos sustratos.
- GPx-PH: Tiene afinidad específica para los lipoperóxidos.

Las formas celular o extracelular no son capaces de utilizar los lipoperóxidos.

1.1.6 Alimentos en los que se encuentran los Antioxidantes

La determinación de la actividad antioxidante de los alimentos es importante para predecir el potencial antioxidante in vitro de los mismos antes de ser ingeridos, por tal motivo la presencia natural de antioxidantes en los alimentos cumple, primariamente, la función de prevenir y/o retardar el daño oxidativo que afecta a los lípidos y, en menor grado, a las proteínas (Flores, Sandoval, Valdivia y Aguilar, 2010) y el deterioro del alimento que disminuye su calidad y valor nutricional (Agudo, 2002).

El grupo de alimentos más rico en antioxidantes son las frutas, y especialmente las frutas del bosque; fresa, uva, ciruela o granada. También hay bebidas con un alto contenido en antioxidantes; vino, café y té. Ciertas verduras aportan antioxidantes del grupo de los carotenoides, por ejemplo, tomate, pimiento y zanahoria. Hay otros alimentos que contienen

muchos antioxidantes, como el cacao y, en consecuencia, el chocolate. Algunos de estos alimentos se muestran en la Figura 4.

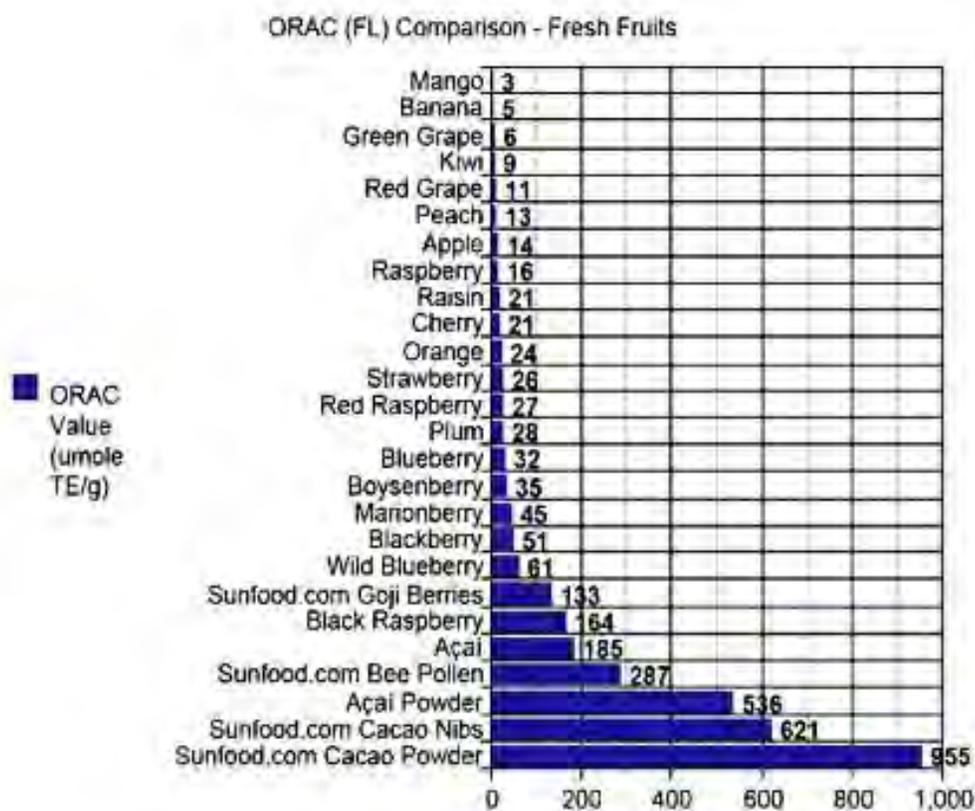


Figura 4. Comparación de la capacidad antioxidante de algunos alimentos de acuerdo al sistema ORAC.

Fuente: Brunswick Laboratories Wareham MA USA

1.1.6.1 Biodisponibilidad de los Antioxidantes

De acuerdo al Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), la biodisponibilidad de un antioxidante determinado (fracción de la cantidad inicialmente ingerida que finalmente llega a la sangre), dependerá, entre otros factores, de:

1. La estructura química de cada antioxidante en cuestión (ej. eficiencia de absorción de los tocoferoles respecto a los carotenoides o a los flavonoides).
2. De la matriz en la cual cada antioxidante se encuentra formando parte del alimento (ej. fruto entero respecto a jugo, liofilizado o microencapsulado del mismo).

3. Del estado en que se encuentra el alimento a ser ingerido (ej. crudo respecto a cocido, natural respecto a procesado).

1.2 *Ulomoides dermestoides*

El gorgojo chino (*Ulomoides dermestoides*), también conocido como: *Martianers dermestoides*; *Palembus dermestoides* (Mendoza, 2013), es una especie que en la actualidad se ha puesto de moda, ya que se le adjudican beneficios para la salud humana por medio de la coleopteroterapia.

Los gorgojos proceden de China, donde ya se le atribuían cualidades curativas, pero el uso médico actual surgió en Argentina, difundiéndose de ahí a otros países; es por eso que se le conoce como gorgojos chinos, gorgojos argentinos, gorgojos chilenos, gorgojos alemanes o gorgojos del maní. La mayoría de los coleópteros son fitófagos (que se alimentan de materias vegetales vivas) y muchas especies pueden construir plagas de los cultivos, siendo las larvas las que causan la mayor parte de los daños agrícolas y forestales (Arias y Chávez, 2015).

1.2.1 Clasificación

Los insectos son una clase de invertebrados del filum artrópodo caracterizado por presentar un par de antenas, tres pares de patas y un par de alas, su nombre proviene del latín *insectum* que significa cortado en medio (Mondragón y Contreras, 2015).

Los insectos constituyen aproximadamente tres cuartas partes de los organismos totales presentes en la tierra. Son únicos, no sólo en la diversidad, sino también en el número de individuos de cada especie. Hay 200 millones de insectos por cada ser humano, (Tejeda, 2014), por lo que se puede decir que es el orden que contienen más especies que cualquier otro orden en el reino animal (Arias y Chávez, 2015).

1.2.2 Taxonomía

La orden Coleóptera tiene aproximadamente 350,000 especies conocidas, de las cuales la familia Tenebrionidae abarca aproximadamente el 6 % (Tejeda, 2014).

Los gorgojos son coleópteros que pertenecen a la familia de los Tenebrionidae del género *Palembus* y de la especie *Ulomoides Dermestoides* (Arias y Chávez, 2015).

Reino: Animalia

Filo: Arthropoda

Subfilo: Hexapoda

Clase: Insecta

Orden: Coleóptera

Familia: Tenebrionidae

Género: *Palembus* (*Ulomoides*)

Especie: *dermestoides*

Nombre científico: *Ulomoides dermestoides*

Fuente: Tejeda, 2014

1.2.3 Ciclo de Vida

El ciclo de vida del escarabajo se desarrolla en 4 etapas principalmente, primero como huevo, posteriormente como larva, pupa y finalmente como adulto (Figura 5).



Figura 5. Etapas de desarrollo del escarabajo *Ulomoides dermestoides*

Huevos: Las hembras ovipositan sobre los residuos, subproducto del proceso alimenticio. El huevo recién ovipositado está recubierto de una fina película mucilaginosa, en la cual se adhieren residuos de harina y/o excrementos. La forma del huevo es oblonga y su periodo de desarrollo es de 16 a 18 días (Castelli, 2014).

Larvas: Al eclosionar los huevos emergen larvas de gran movilidad, presentan coloración blanco-cremosa uniforme, aunque transcurrido el tiempo debido a la actividad de los pigmentos, las larvas alcanzan un color carmelita claro. Son típicas elateriformes, presentando su cuerpo visiblemente segmentado y con gran facilidad, pueden apreciarse las regiones del cuerpo: cabeza, tórax y abdomen. Las larvas viven en este estado aproximadamente en un periodo de 52 a 57 días.

Las larvas tienen varias etapas, las cuales se identifican por la liberación de exuvias, como escamas que pueden llegar a confundirlo con larvas muertas. Los estadios larvales superan las 10 exuvias (Castelli, 2014).

Prepupa: La larva en su último instar detiene su crecimiento, disminuye su actividad y toma una posición a manera de la letra c, quedando de esta manera entre 4 a 6 días (Castelli, 2014).

Pupa: La pupa es del tipo exarata, de color blanco lechoso a café claro. Las pupas se desarrollan en un periodo aproximadamente de 4 a 6 días (Castelli, 2014).

Adultos: Pasan por tres etapas, un gorgojo de color blanco, luego pasa a marrón y se transforma en adulto cuando adquiere el color negro. Son de tamaño pequeño, activos, móviles, de gran capacidad de dispersión. Los adultos viven en promedio de 492 a 1386 días (Castelli, 2014).

1.2.4 Morfología

Los Coleópteros (alas en estuche), comúnmente llamados: escarabajos o gorgojos, presentan diferentes tamaños pequeños o grandes; tienen un exoesqueleto endurecido. La forma del cuerpo del adulto es oblonga, aplanada, la cabeza es tipo prognata, ojos compuestos prominentes, fácilmente diferenciables en cualquier posición de los adultos. Poseen fuertes mandíbulas (Figura 6) (Tejeda, 2014).

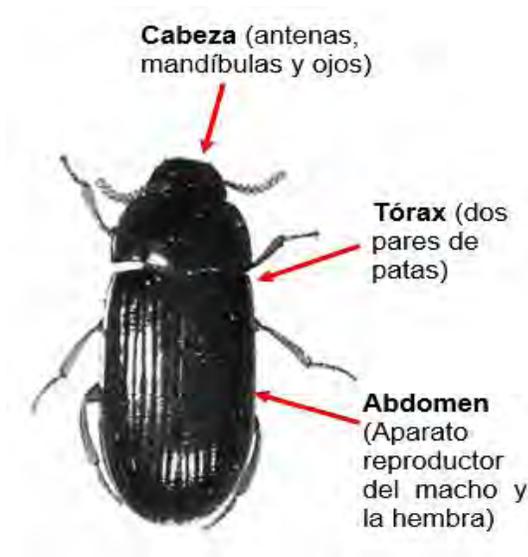


Figura 6. Morfología del escarabajo *Ulomoides dermestoides*
Fuente: Creación propia con imagen de google

1.2.5 Coleopteroterapia

En la medicina tradicional de varios países latinoamericanos, se conoce como coleopteroterapia la ingestión de escarabajos con fines terapéuticos para tratar los síntomas de una amplia gama de enfermedades como asma, artritis, cáncer, diabetes, enfermedad de Parkinson, impotencia, problemas oculares, psoriasis, quistes de ovario, reuma y VIH-SIDA, entre otras (Cupul, 2010).

1.2.6 Sustancias presentes en el cuerpo de *Ulomoides dermestoides* que le confieren poder Antioxidante.

En años recientes han surgido una serie de trabajos enfocados a demostrar los efectos terapéuticos que se le atribuyen al escarabajo *Ulomoides dermestoides*, los cuales se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Compuestos presentes en el escarabajo *Ulomoides dermestoides*

Autor (es)	Propiedades del escarabajo <i>Ulomoides dermestoides</i>	Tipo de Extracto	Nombre del artículo	Compuestos presentes en el escarabajo
Santos y colaboradores	Propiedades antiinflamatorias	Extractos polares de cuerpo entero	Edema plantar en rata inducido por carragenina y pruebas con células mononucleares de sangre periférica.	
Crespo y colaboradores	Propiedades citotóxicas y genotóxicas	Extracto diclorometano de cuerpo entero de	Línea celular de cáncer de pulmón humano (A549) y relacionaron este resultado con los reportes positivos del uso del coleóptero en el tratamiento alternativo del cáncer.	Principal benzoquinona de su secreción de defensa, la 1,4-benzoquinina.
Mendoza y colaboradores	Actividad anti-irritante	Extractos metanólicos del cuerpo entero	Ensayo de inhibición de la lisis, hemorragia y coagulación de la membrana corioalantoidea de huevos de gallinas.	Presencia de compuestos con actividad antioxidante (No especifica cuales).
Tejeda	Antioxidantes e inflamatorias	Extracto metanólico	Caracterización de los efectos biológicos y terapéuticos del gorgojo del maní (<i>Ulomoides dermestoides</i>).	Compuestos: limoneno, y los ácidos grasos mirístico, palmítico, esteárico, oleico y linoleico. También se encontró: 1-pentadecanol, alfa-pineno, beta-felandreno y alfa-terpineno; en el extracto hexánico: 2-metil-p-benzoquinona, 2,4-dihidroxi-1-etilbenzeno, 2,5-dimetil-quinona, hidrocarburos saturados e insaturados y alcoholes.

Fuente: Mendoza y cols 2013, Tejeda, 2014

1.3 Técnicas para la Evaluación Antioxidante

Hay muchos métodos diferentes para determinar la función antioxidante, los cuales se basan en diferentes generaciones de radicales libres, que actúan por diferentes mecanismos (Číž, Čížová, Dejev, Kratchanova, Slavov, y Lojek, 2010). Estos mecanismos cumplen la función de comprobar como un agente oxidante induce daño oxidativo a un sustrato oxidable, daño que es inhibido o reducido en presencia de un antioxidante. Esta inhibición es proporcional a la actividad antioxidante del compuesto o de la muestra (Quintanar y Calderón, 2009). Así, lo que se determina realmente es el efecto antioxidante ya que la actividad antioxidante no se puede medir de forma directa (Agudo, 2002).

Las medidas de la actividad antirradicalaria se pueden realizar mediante dos estrategias distintas, en función de la información que se quiere obtener. Por un lado, tenemos las técnicas directas y por otra las técnicas indirectas.

1.3.1 Técnicas Directas

Determinación directa: El radical se emplea como un factor de cuantificación (produce una señal analítica). La adición del antioxidante, antes o después de la generación del radical, provoca una disminución de la señal. En el ensayo de post-adición se forma el radical en ausencia de la muestra y así, cuando se añade la sustancia antioxidante se produce un descenso en la señal debido a la disminución de la concentración del radical. En ensayos de inhibición, la muestra se añade a los sustratos de oxidación antes que sea generado el radical, la reacción comienza con la adición del oxidante (ABTS●+, DPPH, etc.) (Agudo, 2002).

1.3.2 Técnicas Indirectas

Determinación indirecta: La presencia de radicales libres produce la pérdida o aparición de un reactivo, y por tanto, en presencia de un antioxidante se provoca el aumento o disminución de la señal (métodos, ORAC, FRAP, etc.) (Agudo, 2002).

Ejemplos de las técnicas directas e indirectas se desarrollan en la tabla 2.

Tabla 2. Características de pruebas para la evaluación de la capacidad antioxidante total.

Prueba	DDPH	ABTS	FRAP	ORAC	TRAP	TOSC	Luminol
Técnica	Espectro-fotometría	Espectro-fotometría	Espectro-fotometría	Fluorometría	Consumo de oxígeno	Cromatografía de gas	Quimio-luminiscencia
Iniciador (oxidante)	DPPH	Hidroxilo	Hidroxilo	AAPH	AAPH	ABAP	AAPH
Monitor (sonda)	DPPH	ABTS	TPTZ-Fe	Ficoeritrina	Oxígeno	a-ceto-m butírico	Luminol
Condición de cuantificación	515 nm	414 nm	595 nm	Exc 504 nm Em 565 nm	Unidades arbitrarias	Integración	490 nm
Forma de expresión de resultados	1-50	Equivalentes de Trolox	uM Fe/l	Equivalentes de Trolox	Equivalentes de Trolox	Equivalentes de Trolox	Equivalentes de Trolox

Nota: 2,2-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH \cdot), 2,2'-azinobis-(ácido -3 etilbenzotiazolino-6-sulfónico) (ABTS), 2,2'-azobis-2-metilpropionamida (AAPH.), 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ), 2,2'-azobis(2-amidinopropano) (ABAP), potencia antioxidante reductora férrica (FRAP), capacidad de absorción de radicales libres de oxígeno (ORAC), potencial total de atrapamiento de radicales peróxido (TRAP), capacidad total de atrapamiento de oxi-radicales (TOSC).

Fuente: Quintanar y Calderón, 2009.

1.3.2.1 Capacidad de Absorción de Radicales Libres de Oxígeno (ORAC)

Fundamento del método ORAC

El método mide la capacidad de los antioxidantes en la muestra para proteger a la fluoresceína del daño oxidativo. Se basa en la capacidad del AAPH (2, 2'- Azobis (2-amidinopropano dihidrocloruro)) para generar radicales peroxilo (ROO \cdot), los cuales van a reaccionar con la fluoresceína (3',6'-dihidroxi-fluorano) (Huang, Ou, Hampsch, Flanagan y Prior, 2002), y forman un producto no fluorescente que puede ser fácilmente cuantificado. La capacidad

antioxidante se determinó por una disminución en la velocidad y cantidad de producto formado en el tiempo (Naranjo, Vélez y Rojano, 2011).

El método ORAC combina tiempo de inhibición con grado de inhibición cuando la reacción llega a su terminación (Ou, Hampsch y Prior, 2001). Se utiliza una curva de trolox y los resultados se expresan en TEAC (μmol de trolox/g muestra).

Ventajas y desventajas del método ORAC

Algunas de las ventajas que presenta este método son, que utiliza radicales libres biológicamente relevantes, es un método estandarizado, lo que permite la comparación de datos entre laboratorios e integra el grado y el tiempo de reacción antioxidante (Zuelueta, Esteve y Frígola, 2009). Además, este método puede medir la expresión antioxidante de compuestos hidrofílicos y lipofílicos en una muestra, y es muy utilizado para determinar la capacidad antioxidante de alimentos y productos naturales (Zapata, Piedrahita y Rojano, 2014).

Entre las desventajas que presenta el método, se encuentran; el costo y mantenimiento de equipos, los cuales son altos (Thaipong, Boonprakob, Crosby, Cisneros y Hawkins, 2006), la variabilidad de los datos puede ser grande entre los equipos, además, el método presenta sensibilidad al pH y requiere largos tiempos para cuantificar los resultados (Zuelueta y cols., 2009).

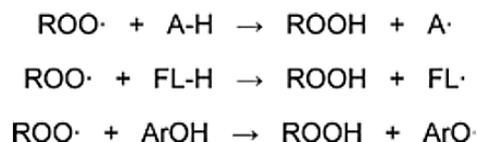
Mecanismo de reacción

El mecanismo de la reacción se basa en la transferencia de un átomo de hidrógeno (Hydrogen Atom Transfer, HAT) del antioxidante al radical libre. Por esto, se utiliza el radical iniciador, el AAPH, para generar el radical peroxilo $\text{ROO}\cdot$, un mol de AAPH, pierde un mol de nitrógeno, para generar dos moles de radical AAPH en un ratio constante.

En una solución saturada de aire, el radical AAPH reacciona rápidamente con el oxígeno para dar un radical peroxilo más estable, ROO·.

La pérdida de fluorescencia de la FL es el indicador de la extensión de la oxidación con el radical peroxilo. En presencia de un antioxidante, ROO· capta preferiblemente, un átomo de hidrógeno del antioxidante estable (ArOH). Como consecuencia, la disminución de la fluorescencia por acción del radical peroxilo es disminuida o inhibida (Figura 7).

Las reacciones que tienen lugar son:



Donde:

*A-H representa al radical iniciador AAPH

* FL-H es el compuesto fluorescente (FL)

*ArOH es el antioxidante

(Almajano, 2009).

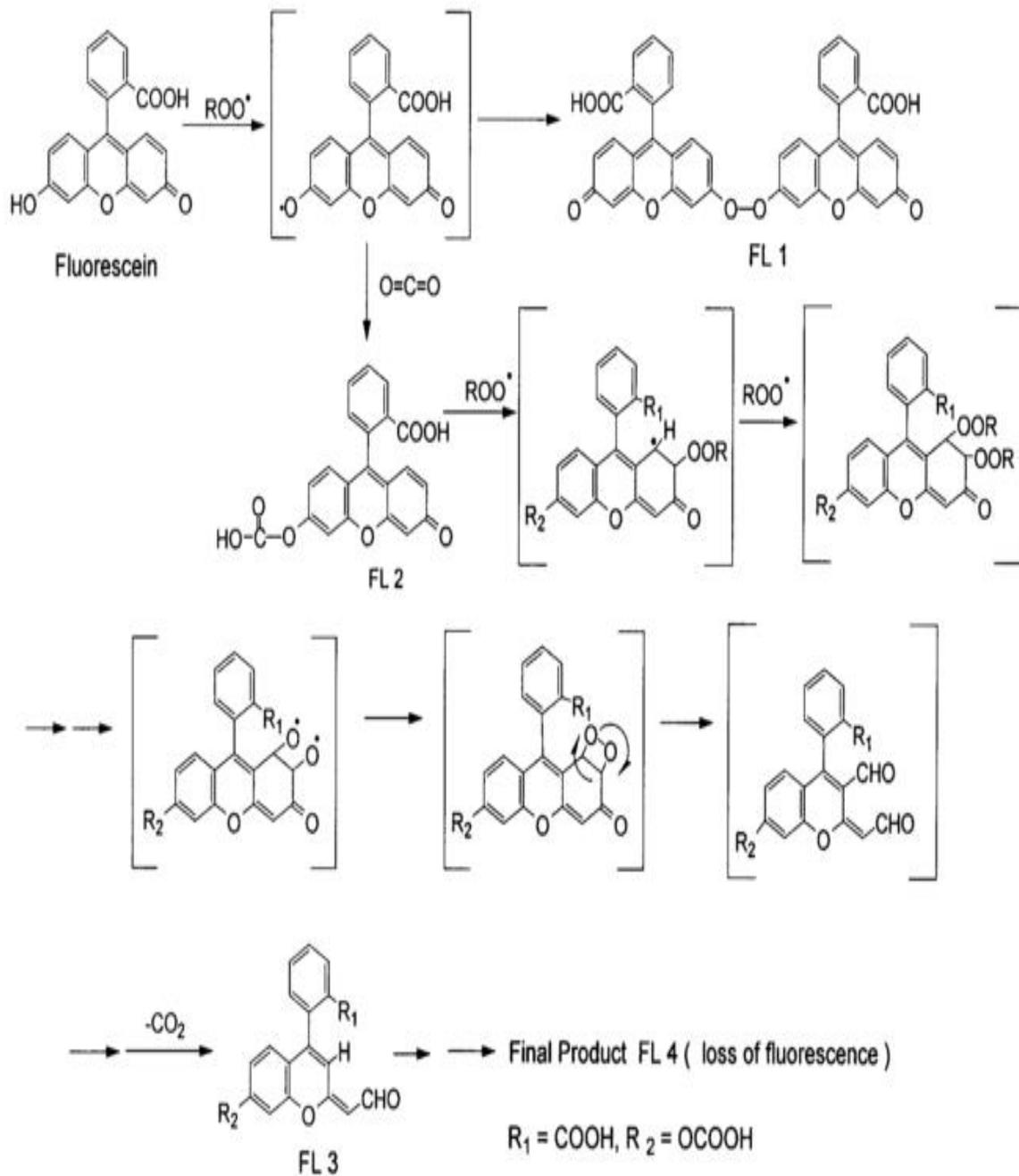


Figura 7. Mecanismo de oxidación propuesto para FL en presencia de APPH.
Fuente: Ou y cols (2001).

Para el desarrollo del método ORAC, es necesario conocer la función de los reactivos que se muestran en la tabla 3.

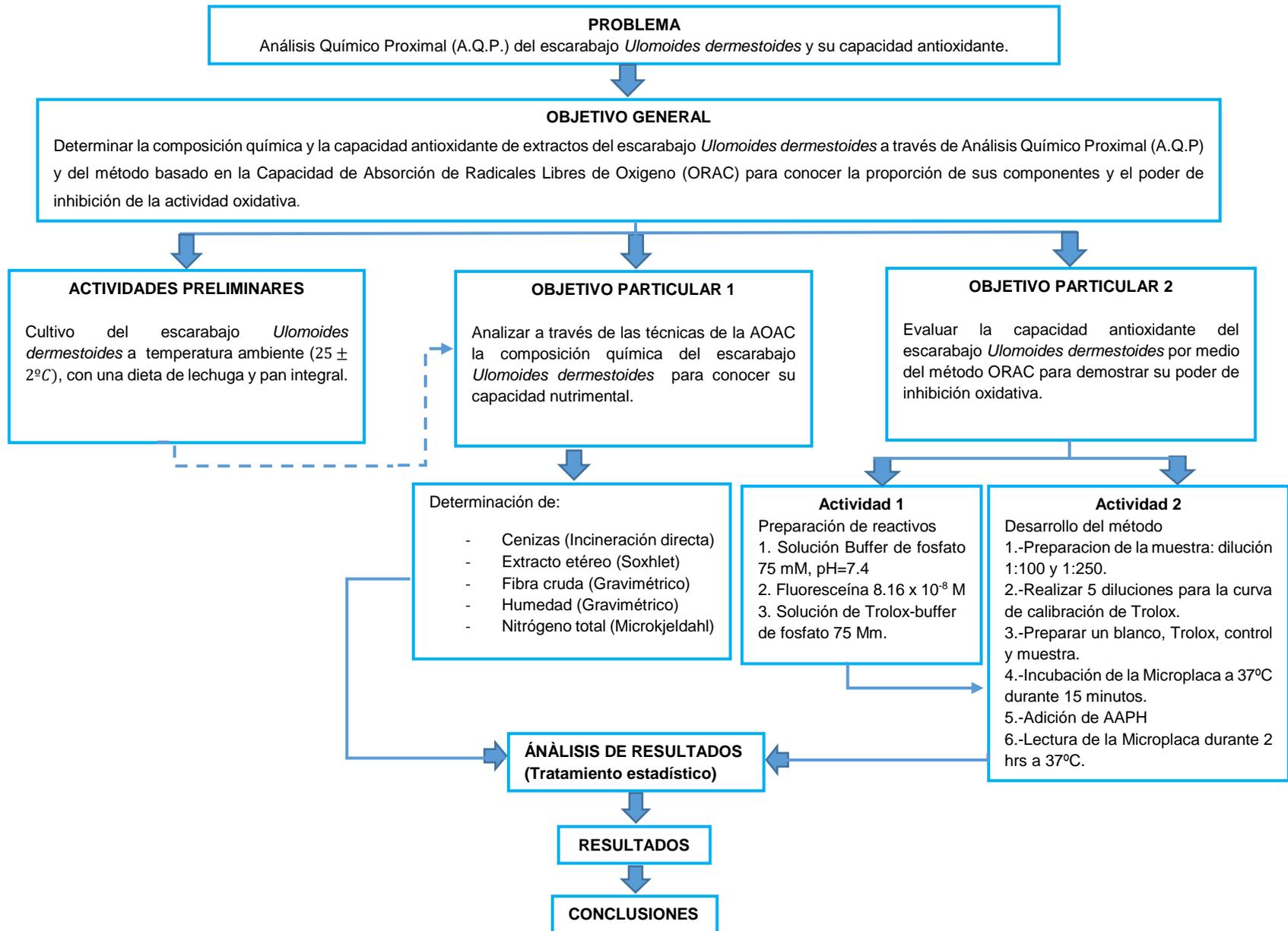
Tabla 3. Definición y función de los reactivos que se utilizan en el método ORAC.

Reactivo	Definición y función
Trolox	Es un análogo hidrosoluble del alfa-tocoferol. En virtud de su alta solubilidad en agua y su amplia disponibilidad comercial, el Trolox es universalmente empleado como estándar en las curvas de comparación de diversos ensayos de actividad antioxidante (como ORAC, TEAC).
AAPH	Es también conocido como: 2,2'-azobis (2-amidinopropano) dihidroclorido. Se usa como una fuente de radicales peroxilos.
Fluoresceína	<p>La fluoresceína es una sustancia de la familia de las xantinas, es una sal de sodio de resorcinol ftaleína. Tiene propiedades colorantes y fluorescentes. Es soluble en agua y la colorea de amarillo. Cuando se encuentra en soluciones de pH mayor a cinco, su color se torna verde y altamente fluorescente. Gracias a sus dobles enlaces conjugados, es capaz de captar un fotón de alta energía y devolverlo como fotón de baja energía. Dicho en otras palabras, la fluoresceína capta luz en cierta longitud de onda, y emite luz en una longitud de onda más larga. La energía disipada en el proceso se traduce en calor (vibraciones de las moléculas). Es un proceso que sucede en un muy corto lapso, del orden de millonésimas de segundo.</p> <p>El fenómeno de la fluorescencia depende de los siguientes factores:</p> <ul style="list-style-type: none">- pH del medio en el cual se encuentra la sustancia. Cuanto más alcalino es el pH, mayor es la fluorescencia.- Concentración de dicha sustancia.- Longitud de onda de luz que actúa como excitante

Fuente: Cornucopia, 2004, Zapata y cols 2014.

CAPÍTULO 2: METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

2.1 Cuadro Metodológico



2.2 Objetivos

2.2.1 Objetivo general

Determinar la composición química y la capacidad antioxidante de extractos del escarabajo *Ulomoides dermestoides* a través de Análisis Químico Proximal (A.Q.P) y del método basado en la Capacidad de Absorción de Radicales Libres de Oxígeno (ORAC) para conocer la proporción de sus componentes y el poder de inhibición de la actividad oxidativa.

2.2.2 Actividades Preliminares

- Cría del escarabajo *Ulomoides dermestoides*

2.2.3 Objetivo particular 1

Analizar a través de las técnicas de la AOAC la composición química del escarabajo *Ulomoides dermestoides* para conocer su capacidad nutrimental.

2.2.4 Objetivo particular 2

Evaluar la capacidad antioxidante del escarabajo *Ulomoides dermestoides* por medio del método ORAC para demostrar su poder de inhibición oxidativa

2.3 Descripción del Cuadro Metodológico

2.3.1 Actividades Preliminares

El escarabajo estudiado en este proyecto *Ulomoides dermestoides* se escogió en su estado adulto. Los escarabajos adultos son de tamaño pequeño, con una longitud de 5 mm y 1 mm de ancho (Tejeda, 2014). Los escarabajos fueron proporcionados por la Dra. Patricia Miranda procedentes de un cultivo establecido en el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

El cultivo del escarabajo se realizó a temperatura ambiente $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, alimentados con una dieta de lechuga y pan integral (Figura 8).



Figura 8. *Ulomoides dermestoides* criado con una dieta de lechuga y pan integral.

2.3.2 Análisis Químico Proximal (A.Q.P.) del escarabajo *Ulomoides dermestoides*

Se realizó el análisis químico proximal del gorgojo chino para determinar su composición y de esta manera evaluar su valor nutrimental. Para esto, se llevó a cabo la determinación de cenizas, extracto etéreo, fibra, humedad y proteína.

Se determinó nitrógeno total por MicroKjeldahl (AOAC, 47.021, 1975) para cuantificar la presencia de quitina en el exoesqueleto del gorgojo y la proteína verdadera.

2.3.2.1 Determinación de Cenizas

Método: Incineración directa (AOAC, 942.05)

Fundamento

Los alimentos contienen pequeñas cantidades de materiales inorgánicos que varían en composición y en concentración. Estos se determinan en conjunto como residuo después de calcinar la muestra a 550- 600°C.

Procedimiento

Se colocaron 2 g de muestra en una cápsula de porcelana a peso contante, enfriadas en desecador (Figura 9) y pesadas después de alcanzar temperatura ambiente.

La muestra se carbonizó lentamente con ayuda de un mechero Fisher (Figura 10) hasta que las cenizas tomaron un color gris claro. Posteriormente se colocó la muestra carbonizada en una mufla marca Sola Basic y modelo Lindberg a 550 °C hasta que las cenizas se tornaron blancas, se colocaron en el desecador y se pesaron. La prueba se realizó por triplicado.



Figura 9. Crisoles con muestra calcinada en mufla a 550°C.



Figura 10. Muestra de escarabajos carbonizándose.

Secuencia de cálculo

$$\% \text{ cenizas} = \frac{B-C}{A} * 100 \dots\dots \text{Ecuación 1}$$

Donde:

A: Peso de la muestra húmeda (g)

B: Peso del crisol + muestra húmeda (g)

C: Peso del crisol + muestra seca (g)

2.3.2.2 Determinación de Extracto etéreo

Método: Extracción etéreo por Soxhlet (AOAC, 920.39)

Fundamento

Se basa en la extracción semicontinua de grasa con un disolvente orgánico. En este método el disolvente se calienta, se volatiliza y condensa, goteando sobre la muestra, la cual queda sumergida en el disolvente. Posteriormente este es sifoneado al matraz de calentamiento para empezar de nuevo el proceso. El contenido de grasa se cuantifica por diferencia de peso.

Procedimiento

Se colocó a peso constante un matraz de bola con fondo plano en una estufa marca Quincy Lab. Inc. Modelo 30 GC a 100°C por 2 horas. Posteriormente se pesaron 2 g de muestra seca (obtenida en la determinación de humedad) y se colocaron en un cartucho Soxhlet.

El cartucho se introdujo en el extractor del equipo, el cual fue conectado con el matraz bola de fondo plano y un refrigerante. Se adicionó hexano como solvente (Figura 11) hasta que hizo sifón dos veces, es decir, una vez que el extractor se llenó de solvente, este fue conducido al matraz de fondo plano, lo cual se llevó a cabo por duplicado.

El matraz de bola con fondo plano fue calentado en parrilla en ebullición suave durante 4 h aproximadamente hasta extraer toda de grasa posible (Figura 12). Una vez realizado lo anterior, se retiró el cartucho con la muestra desengrasada y el solvente fue recuperado al continuar con la ebullición hasta que gran parte de él se encontrara en el extractor, evitando el sifón.



Figura 11. Destilador Soxhlet.



Figura 12. Matracos con solvente y muestra de extracto etéreo.

El residuo en el fondo del matraz correspondía al extracto etéreo, el cual fue secado en la estufa a 100°C hasta peso constante.

Secuencia de cálculo

$$\% \text{ Extracto etéreo} = \frac{MG-M}{W} * 100 \dots\dots \text{Ecuación 2}$$

Donde:

MG: Peso del matraz con grasa (g)

M: Peso del matraz a peso constante (g)

W: Peso de la muestra seca (g)

2.3.2.3. Determinación de Fibra

Método: Gravimétrico (AOAC, 962.09)

Fundamento

Fibra cruda es la pérdida de masa que corresponde a la incineración del residuo orgánico que queda después de la digestión con soluciones de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio en condiciones específicas.

Procedimiento

Se pesaron 2 gramos de muestra desengrasada (extraída por Soxhlet) y se colocaron en un vaso de precipitado de 600 mL. Se adicionaron 200 mL de ácido sulfúrico al 1.25% hirviendo (Figura 13a). Se colocó el vaso sobre la placa caliente y se dejó ebullición exactamente por 30 minutos. Transcurrido ese tiempo, se adicionaron 200 mL de hidróxido de sodio al 1.25% hirviendo y nuevamente se dejó ebullición por 30 minutos (Figura 13b). Posteriormente se retiró el vaso y se filtró al vacío con un embudo Büchner en un matraz kitasato, con el papel filtro a peso constante y cenizas conocidas (Figura 13c).

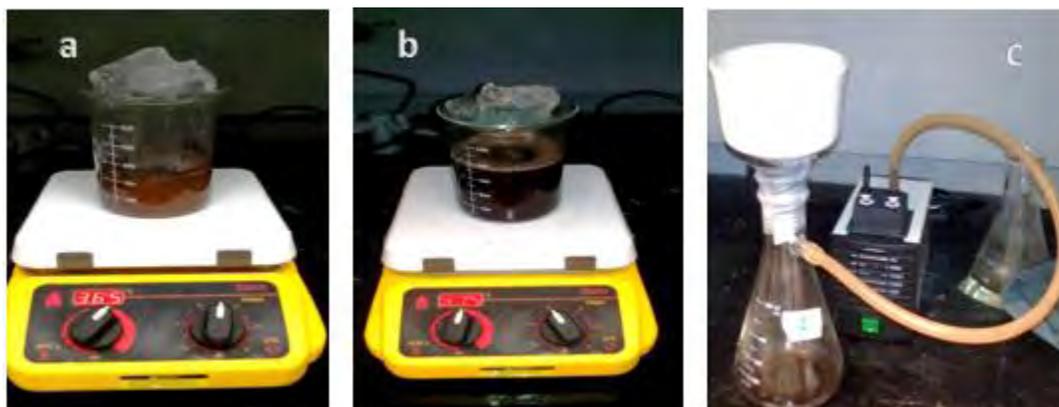


Figura 13. a) Ácido sulfúrico con muestra hirviendo, b) Solución a más la adición de Hidróxido de sodio hirviendo y c) Filtración al vacío de la muestra digerida.

Se lavó con agua destilada hirviendo hasta que el pH de las aguas del lavado fue igual al del agua destilada.

El residuo se transfirió a una cápsula de porcelana a peso constante y se secó a una temperatura de 130°C durante 2 horas.

Se dejó enfriar en el desecador y se determinó su peso. Para finalizar, los residuos se calcinaron a en mufla a 550°C durante 30 minutos, se enfriaron en desecador y se determinó su peso.

Secuencia de cálculo

$$\% \text{ Fibra cruda} = \frac{(P_s - P_p) - (P_c)}{M} * 100 \dots\dots \text{Ecuación 3}$$

Donde:

Ps: Masa del residuo seco a 130°C (g)

Pp: Masa del papel filtro (g)

M: Masa de la muestra (g)

Pc: Masa de las cenizas (g)

2.3.2.4 Determinación de Humedad (estufa)

Método: Gravimétrico (AOAC, 934.01)

Fundamento

Cuando un alimento es sometido a secado a una temperatura adecuada, presenta una pérdida de peso, debido a la evaporación del agua. Esta pérdida de peso se evalúa analíticamente reportándose como humedad. La muestra debe ser térmicamente estable y no debe contener una cantidad significativa de compuestos volátiles.

Procedimiento

Se llevó a peso constante una cápsula de porcelana en estufa (Figura 14) a 100°C. Posteriormente se pesaron 2 g de muestra en la cápsula de porcelana y se secó en estufa a 80-90°C hasta peso constante. Se enfrió en desecador y se registró el peso.



Figura 14. Estufa (Quincy Lab. Inc, Mod.30 GC)

Secuencia de cálculo

$$\% \text{ humedad} = \frac{B-C}{A} * 100 \dots\dots \text{Ecuación 4}$$

Donde:

A: Peso de la muestra húmeda (g)

B: Peso de la cápsula de porcelana + muestra húmeda (g)

C: Peso de la cápsula de porcelana + muestra seca (g)

2.3.2.5 Determinación de Nitrógeno Total

Método: Determinación de nitrógeno total por Microkjeldahl (AOAC, 47.021, 1975)

Fundamento

El método se basa en la destrucción de la muestra orgánica con ácido sulfúrico concentrado, formándose sulfato de amonio que en exceso de hidróxido de sodio libera amoníaco, el que se destila recibiendo en ácido bórico. El borato de amonio formado se valora con ácido sulfúrico. El método comprende 3 fases: digestión, destilación y titulación.

Procedimiento

Se pesaron entre 12 ± 3 mg de muestra y se colocó en un tubo de digestión. Se adicionó 1.9 ± 0.1 g de K_2SO_4 , 40 ± 10 mg de HgO y 2.0 ± 0.1 mL de H_2SO_4 .

Los tubos con la solución resultante se colocaron en el aparato de digestión (Figura 15) hasta que el contenido se tornó completamente transparente (Figura 16). Los tubos se dejaron enfriar y se les agregó un volumen mínimo de agua para disolver los sólidos.



Figura 15. Digestor Kjeldahl.



Figura 16. Muestra obtenida en de la digestión de proteína.

Se colocó un matraz Erlenmeyer con 10 mL de H_3BO_3 4% y 2- 4 gotas de indicador debajo del condensador. Se colocó la muestra en la cámara de ebullición del destilador micro-Kjeldahl (Figura 17a) y se le agregó 10 mL de NaOH- $Na_2S_2O_3$.

El destilado estuvo listo para titularse cuando adquirió una coloración verde (Figura 17b), se utilizó HCl 0.02 N valorada como solución de titulación (Figura 17c).



Figura 17. a) Destilador Micro-Kjeldahl, b) Mezcla digerida lista para valorarse y c) Solución valorada.

Secuencia de cálculo

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(\text{mL HCl} - \text{mL blanco}) * \text{Normalidad} * 14.007 * 100}{\text{mg muestra}} \dots\dots \text{Ecuación 5}$$

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrógeno} * 5.6 \dots\dots \text{Ecuación 6}$$

El método de Microkjeldahl se utilizó para determinar porcentaje de quitina y proteína verdadera. El factor de cálculo 6.89 (Díaz, Argüelles, Higuera, Hernández, Lizardi, & Goycoolea, F. (2006), se requiere para calcular el porcentaje de quitina que presenta el escarabajo y el factor de cálculo 5.6 se utilizó para calcular el porcentaje de proteína verdadera (Janssen, Vincken, Van Den Broek, Fogliano, & Lakemond, 2017).

$$\% \text{ Quitina} = \% \text{ Nitrógeno} * 6.89 \dots\dots \text{Ecuación 7}$$

Para obtener el contenido de quitina, una muestra de 5 gramos de escarabajos fue separada del cultivo y tritura por acción del motero utilizando nitrógeno líquido. Posteriormente, la muestra fue removida con una solución de NaOH 1.5% hirviendo en una proporción de 1:20 durante una hora. La solución resultante se filtro, separando de esta manera la quitina, la cual, se seco a 50°C durante 2 horas y después se realizó Microkjeldahl.

2.3.3 Determinar la capacidad antioxidante por el método ORAC

Método: Capacidad de absorción de radicales libres de oxígeno (ORAC) (Huang, Ou, Hampsch, Flanagan & Prior, 2002)

Fundamento

El método mide la capacidad de los antioxidantes en la muestra para proteger a la fluoresceína del daño oxidativo. Se basa en la capacidad del AAPH (2, 2'- Azobis (2-amidinopropano dihidrocloruro)) para generar radicales peroxilo (ROO·), los cuales van a reaccionar con la fluoresceína (3',6'-dihidroxi fluorano), lo que da como resultado, una evidente disminución en su fluorescencia, generando un área bajo la curva.

Procedimiento

Preparación de la muestra: Extractos acuosos

Los escarabajos (0.512 g) fueron separados del cultivo y triturados usando el método tradicional de fragmentación por fricción con mortero, en donde se adicionaron 2.5 mL de Buffer, lo que dio como resultado 36.388 mg de muestra.

Posteriormente se centrifugó (IEC Clinical Centrifuge modelo 16210) a 3000 r.p.m durante 15 minutos y se filtró el sobrenadante utilizando un filtro millipore con tamaño de poro de 0.5 μm . Se realizaron diluciones de 1:100 y 1:250.

2.3.3.1 Actividad 1: Preparación de reactivos

- **Buffer fosfato 75 mM, pH=7.4 (250 mL)**

Primero se preparó el buffer de fosfato 0.1 M, para el cual se necesitó realizar una mezcla de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{NaH}_2\text{PO}_4$. Para preparar Na_2HPO_4 0.2 M se solubilizó 7.089g de dicho compuesto en 250 mL de agua. Y con respecto al NaH_2PO_4 0.2 M, se necesitaron 2.76 g en 100 mL de agua.

Posteriormente se mezclaron 81 mL de Na_2HPO_4 , 19 mL de NaH_2PO_4 y 100 mL de agua, lo que dio como resultado la solución de 200 mL del buffer de fosfato 0.1 M a pH = 7.4.

Del buffer de fosfato 0.1 M, se tomaron 187.5 mL y se aforaron a 250 mL de agua destilada. La solución resultante fue el buffer de fosfato 75 mM y pH=7.4

- **Fluoresceína 8.16×10^{-8} M**

La concentración a la que se necesitaba la fluoresceína era baja, por tal motivo se prepararon diluciones seriadas.

Primero se pesaron 3.94 mg de fluoresceína la cual se colocó en un matraz aforado de 25 ml. Posteriormente se aforó el matraz a 25 mL con buffer de fosfato 75 mM. La solución resultante tuvo una concentración de 4.19×10^{-4} M.

De esta solución se tomaron 0.5 mL de la solución de fluoresceína 4.19×10^{-4} M y se aforó a 50 mL con el buffer de fosfato 75 mM. La concentración final de la solución de fluoresceína fue de 4.19×10^{-6} M.

Para finalizar, se tomaron 1.95 mL de la solución de fluoresceína 4.19×10^{-6} M y se aforó a 100 mL con buffer de fosfato 75 mM, lo que dio como resultado la solución de fluoresceína 8.16×10^{-8} M.

Todas las soluciones de fluoresceína (4.19×10^{-4} M, 4.19×10^{-6} M y 8.16×10^{-8} M) deben permanecer a bajas temperaturas para su posterior uso.

- **Trolox 1 mM**

Para preparar la solución de Trolox 1 mM se colocaron 2.5 mg Trolox en 1 mL de etanol y la solución se aforo a 10 ml con buffer de fosfato 75 mM.

2.3.3.2 Actividad 2: Desarrollo del método

Como patrón se llevó a cabo la curva de calibración de Trolox, para la cual, se realizaron las siguientes diluciones de Trolox 1 Mm y buffer de fosfato 75 mM:

Tabla 4. Proporción de reactivos utilizados para realizar la Curva de calibración de Trolox.

Concentración (μM)	6.25	12.5	25	50	75
Trolox 1 Mm (μL)	12.5	25	25	50	75
Buffer fosfato 75 mM (μL)	1987.5	1975	975	950	925

Para continuar con el método, la solución de fluoresceína se preincubó a 37° C durante 15 minutos antes de la carga en el bastidor de reactivo y el buffer de fosfato se calentó a 37° C para preparar el reactivo AAPH y así se mantuvo hasta su uso.

Para el llenado de la placa se tomó en cuenta lo siguiente: para preparar el blanco, la muestra y el control:

- Blanco: Se adicionaron en un pocillo 150 μL de fluoresceína 8.16×10^{-8} M, 25 μL del disolvente de la muestra (buffer) y 25 μL del disolvente con AAPH (buffer).
- Muestra: Se adicionaron en un pocillo 150 μL de fluoresceína 8.16×10^{-8} M y 25 μL del disolvente de la muestra/Trolox, a las concentraciones establecidas en la tabla 4.
- En el caso de las muestras a probar del extracto acuoso del gorgojo, se procedió igual pero haciendo diluciones. (150 μL de fluoresceína 8.16×10^{-8} M y 25 μL de la diluciones 1:100 y 1:250).
- Control: Se colocó en un pocillo 150 μL de fluoresceína 8.16×10^{-8} M y 25 μL del disolvente de la muestra.

Una vez, que estuvo completa la placa (Figura 18), esta se precalentó en el lector de microplacas (Figura 19) a 37°C por 15 minutos. Dos minutos antes de terminar el precalentamiento de la placa, se pesaron 207.5mg de AAPH y se disolvieron en 5 mL del buffer de fosfato a 37°C . Inmediatamente se adicionaron 25 μL del reactivo de AAPH en los pocillos, excepto en el blanco y se inició una cinética de 2 horas, equilibrado a 37°C . La fluorescencia se leyó a 485 nm de excitación y a 528 nm de emisión hasta su completa extinción. El software que se utilizó para el análisis fue Gen 5. Estas medidas permitieron calcular el área bajo la curva, la cual incrementa de manera lineal en presencia de agentes antioxidantes en el medio.



Figura 18. Microplaca de fluorescencia de 96 pocillos (Microfluor 2, ThermoScientific).



Figura 19. Lector de microplacas Biotek Mod. Synergy HT

CAPÍTULO 3: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis Químico Proximal (A.Q.P)

El escarabajo *U. dermestoides* ha sido estudiado en diversos ámbitos, en muchas partes del mundo, desafortunadamente, aún no se cuenta con información suficiente de su composición química, es por esta razón que en este trabajo se realizó el Análisis Químico Proximal.

Los resultados del Análisis Químico Proximal en g/100g base seca y base húmeda se muestran en la tabla 5. Tomando en cuenta que las pruebas se realizaron por triplicado, de cada parámetro se obtuvo media aritmética, desviación estándar y coeficiente de variación. Excepto para carbohidratos, ya que se calcularon por diferencia.

Tabla 5. Resultados del A.Q.P. del escarabajo *Ulomoides dermestoides* g/100g base seca y base húmeda.

	Base seca	Base húmeda		
	X		C.V	D.S
Humedad		54.84		
Extracto etéreo	34.976	15.794	2.898	0.082
Proteína (Microkjeldahl)	28.207	12.76	0.015	0.324
* Quitina (Microkjeldahl)	18.572	8.364	0.055	1.031
Fibra cruda	8.051	3.6358	1.002	0.124
Cenizas	3.091	1.3961	0.041	0.03
Carbohidratos	7.103	3.2064		
Total	100	99.99		

En todas las pruebas el coeficiente de variación es menor a 10% y la desviación estándar también es muy pequeña, lo que indica que los resultados son confiables.

Humedad

Los resultados muestran que el escarabajo *Ulomoides dermestoides* presenta una considerada cantidad de agua en su composición, la cual fue de 54.84%, valor que se encuentra muy cercano al intervalo obtenido por Ramos, Quintero, Ramos, Pino, Ángeles, García y Barrera (2012), al reportar un porcentaje de humedad de entre 58.30% a 77.15%.

Extracto etéreo

Después de la humedad, el principal constituyente, es el contenido de extracto etéreo, debido a que dicho valor en base seca fue de 34.976%, lo ubica en un intervalo de 80-590g/Kg de grasa de acuerdo a Ramos y cols (2006), quienes reportan valores desde 6.37% hasta 53.73% de extracto etéreo. De igual manera Kim, Weaver & Choi (2017) reportaron un contenido de 37.11% para el escarabajo *Tenebrio molitor*, un coleóptero muy similar a *U. dermestoides*.

Por otro lado, al comparar el contenido de extracto etéreo (34.976%) con alimentos convencionales, dicho valor es más alto que el valor reportado por Navarro y cols (2011) para frijol (2,92%) pero inferior a los valores reportados para pollo (58.71%) y huevo (41.80%).

Lo anterior demuestra que el gorgojo chino es un insecto con una fuente considerable de energía proveniente del extracto etéreo.

Cabe destacar que Tejeda (2014), caracterizó los efectos biológicos y terapéuticos del gorgojo del maní (*Ulomoides dermestoides*) y encontró que ácidos grasos saturados e insaturados forman parte del contenido de extracto etéreo del gorgojo chino, entre los que se encuentran; ácidos mistérico, palmítico, esteárico, oleico y linoleico.

Proteína y Quitina

En cuanto al contenido proteico presente en el escarabajo *U. dermestoides*, esta se obtuvo por medio de Microkjeldahl. Se llevaron a cabo dos operaciones:

La primera se realizó para determinar el porcentaje de proteína presente en el gorgojo, resultado del producto entre el porcentaje de nitrógeno total y el factor 5.6. Se utilizó el factor de 5.6 debido a que es el más apropiado para insectos de acuerdo a Janssen y cols (2017), quienes estudiaron los factores de conversión de nitrógeno a proteína para tres insectos comestibles: *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus* y *Hermetia illucens*, con base en la proporción de aminoácidos de cada insecto.

El porcentaje de proteína fue de 21.124% en base húmeda. Al convertir este valor a base seca, el contenido proteico fue de 47.779%, el cual es cercano al 48.31%, reportado por Zhou Rui (2006).

En segundo lugar se procedió a desproteínizar la muestra para separar la materia soluble de la insoluble (quitina), puesto que la molécula de quitina interfiere en la cuantificación de proteína verdadera. Se obtuvo como resultado un promedio de 18.572% en base seca. Dicho valor surgió al multiplicar el porcentaje de nitrógeno total por el factor de 6.89.

El factor 6.89 surge al obtener el porcentaje de nitrógeno presente en una molécula de quitina, tomando en cuenta que el peso molecular de la quitina es de 203.19 g/mol y el del nitrógeno es de 14 g/mol, se obtiene un porcentaje de 14.51%. Al calcular el porcentaje quitina que hay en 100 g de muestra, es decir, dividir 100/14.51 el resultado es 6.89.

Para obtener el porcentaje real de proteína se realizó una diferencia entre el promedio de proteína total (46.779%) y quitina (18.572%), lo que dio como resultado un porcentaje de 28.207% reportado en la tabla 5.

Es necesario tomar en cuenta que la quitina al ser un polímero insoluble en agua y en solventes orgánicos (Pacheco, 2010) se considera parte del contenido de fibra, aunado a esto, por su estructura química también podría considerarse como carbohidrato.

Fibra

Ramos y cols (2006), reportaron un intervalo en base seca que oscila entre 5.1% y 6.9% de fibra para la familia Tenebrionidae, intervalo que fue superado por el porcentaje obtenido, el cual fue de 8.051% en el gorgojo. Y aunque algunos autores concuerdan en que el contenido

de fibra en los insectos es baja, se puede considerar como un importante aporte de fibra para la dieta. La cantidad de fibra influye en la absorción de los nutrientes, es decir, en grandes cantidades los nutrientes se absorben menos (Fox, 2006).

Cabe destacar que el valor de fibra reportado para huevo (6.13%) por Navarro y cols (2011) es inferior al resultado obtenido experimentalmente (8.051%), aunque dicho valor es inferior al reportado para el frijol (28.51%) debido a la diferencia en su estructura y distribución de sus componentes.

Carbohidratos

Con respecto al contenido de carbohidratos, Fan, Fu, Yuan y Tong (2006) realizaron un trabajo de investigación sobre los componentes nutricionales de *Palembus dermestoides* criado en diferentes dietas, reportando un porcentaje de carbohidratos en base seca de 14%, el cual es diferente al obtenido, siendo este último de 7.103% debido probablemente a una diferencia en la alimentación del gorgojo.

Entre los carbohidratos reportados por Torres, Cortés y Ayala, (2016) en un estudio cualitativo para identificar los carbohidratos y lípidos y cuantificar los ácidos grasos presentes en *A. ustulata* (coleoptera: *melolonthidae*) por técnicas como cromatografía en capa fina y cromatografía de gases acoplada a masas, se hallaron: glucosa, fructosa, xilosa, maltosa y trehalosa. La presencia de los carbohidratos fructosa y glucosa se explican porque están relacionados con la formación y composición de la cutícula formada por quitina que se sintetiza a partir de glucosa.

Cenizas

Según reportes de Ramos y cols (2006), los Tenebrionidae contienen entre 2.7-3.1% de sales minerales, lo que concuerda con el resultado experimental de cenizas en base seca, el cual fue de 3.09%, además, Zhou Rui (2006) obtuvo un contenido similar de cenizas, dicho valor asciende a 3%.

Al comparar el valor de cenizas (3.09%) con el de algunos alimentos convencionales reportados por Navarro y cols (2011), por ejemplo para pollo (1.77%) y frijol (1.96%), se observa claramente que el valor obtenido experimentalmente es superior, sin embargo, al comparar con el valor reportado para huevo (3.67%) dicho valor es ligeramente inferior. Lo que demuestra que el gorgojo tiene un porcentaje importante de minerales.

De acuerdo a Llorente y cols (2004), estas sustancias participan arduamente llevando a cabo gran variedad de funciones, por ejemplo, activan y controlan diversas reacciones y algunos son parte de macromoléculas como el hierro en la hemoglobina de la sangre.

Por otro lado, en los últimos años el consumo de insectos ha aumentado significativamente hasta el punto de considerarlos como platillos exóticos. Esto debido a su calidad nutritiva. De acuerdo a Julieta Ramos quien dirige la línea de investigación denominada “Los insectos como una fuente de proteínas en el futuro” en el Instituto de Biología de la UNAM, en México se consume una importante cantidad de insectos, los cuales han sido estudiados provenientes de Chiapas, Estado de México, Guerrero, Hidalgo, Milpa Alta (Ciudad de México), Oaxaca, Puebla, entre otros.

Dentro de la rama de investigación, también se ha estudiado a insectos medicinales. De un total de 374 especies en el mundo, en México se encuentran 252 especies. Dichos insectos son utilizados para curar una amplia gama de enfermedades. Donde figura el caso del gorgojo *Ulomoides dermestoides*.

Aunado a esto, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) proyecta que la población mundial podría exceder los 9 billones de habitantes para 2050, sin embargo, ya que los insectos comestibles proporcionan porcentajes importantes de proteínas, grasas, vitaminas y minerales podrían ser la solución para la hambruna mundial. Por tal motivo, dicha organización propone que la población incremente el consumo de insectos, aunque dicha práctica ya se realiza en África, Asia, Sudamérica y Australia hasta el momento solo se han reportado el consumo de 1900 especies de insectos.

3.2 Capacidad de Absorción de Radicales Libres de Oxígeno (ORAC)

El efecto protector del antioxidante se calculó usando las diferencias de áreas bajo la curva de decaimiento de la fluoresceína entre el control y la muestra (Figura 20), y se comparó contra la curva del Trolox (Figura 21). El resultado se expresó en micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra ($\mu\text{mol Trolox/g muestra}$) (Tabla 6).

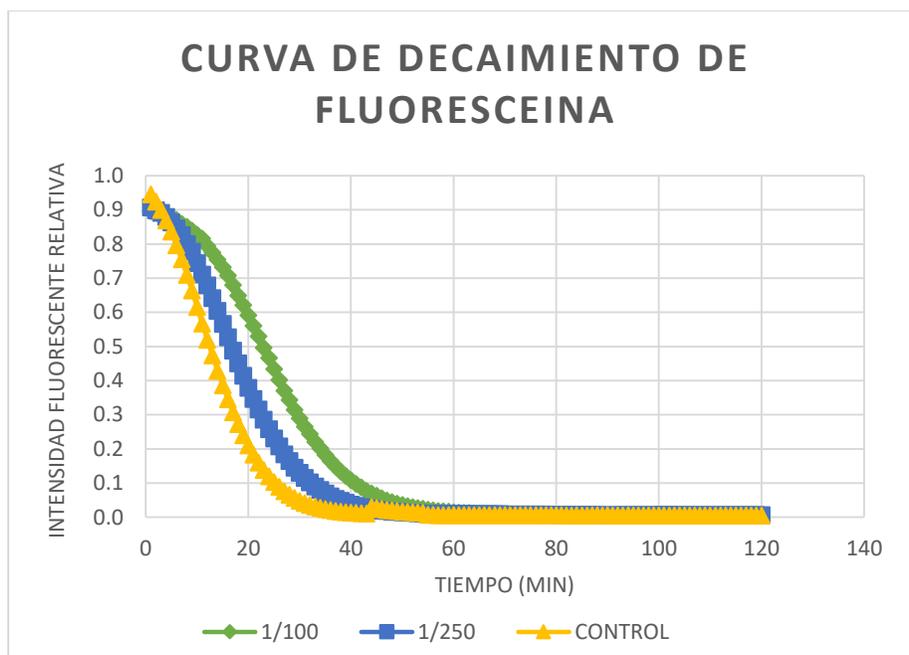


Figura 20. Curva de decaimiento de fluoresceína inducida por APPH en presencia de extractos de gorgojo a diferentes concentraciones.

De los datos proporcionados por el software Gen 5, se obtuvo el área bajo la curva (AUC) del control, las muestras y el Trolox.

Para construir la curva de Trolox se utilizó la Ecuación 8:

$$AUC_{\text{Neta trolox}} = AUC_{\text{Trolox}} - AUC_{\text{Control}} \dots\dots \text{Ecuación 8}$$

Con los valores del área bajo la curva neta se construyó un gráfico (Figura 19), del cual se obtuvo una ecuación del tipo $y = mx + b$

Donde:

$$b = 1.4753$$

$$m = 0.7055$$

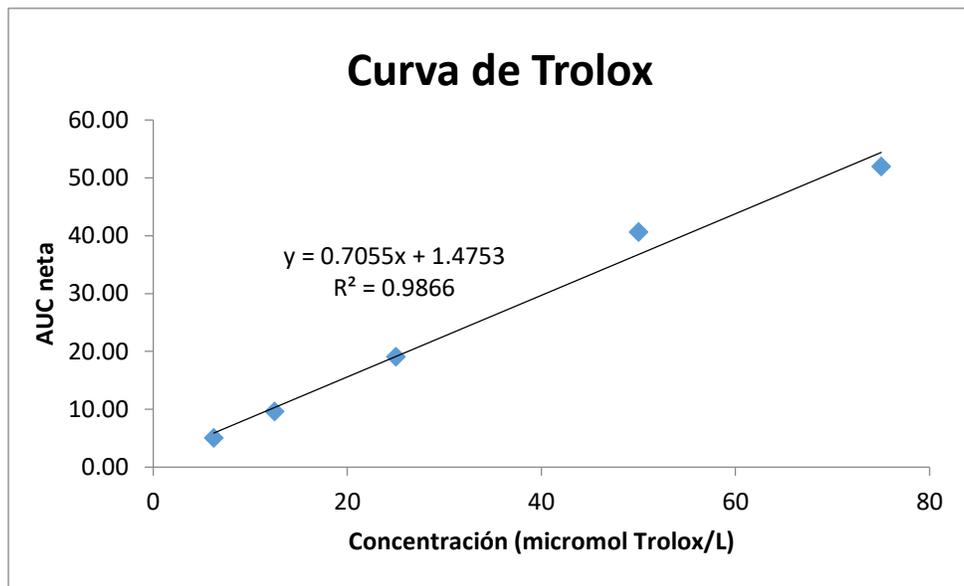


Figura 21. Curva de Trolox

Posteriormente se obtuvo el área bajo la curva neta de la muestra ($AUC_{\text{Neta muestra}}$) de acuerdo a la Ecuación 9:

$$AUC_{\text{Neta muestra}} = AUC_{\text{Muestra}} - AUC_{\text{Control}} \dots\dots \text{Ecuación 9}$$

La $AUC_{\text{Neta muestra}}$ se utilizó para calcular la concentración de micromoles equivalentes de Trolox por litro de muestra ($\mu\text{mol Trolox/L muestra}$) (Ecuación 10), tomando en cuenta una concentración inicial de la muestra de 14.56 g/L.

$$\frac{\mu\text{mol Trolox}}{\text{L}} \text{ diluido} = \frac{\text{AUC}_{\text{Neta muestra}} - b}{m} \dots\dots \text{Ecuación 10}$$

Al multiplicar la Ecuación 10 por el factor de dilución 1:100 y 1:250 (Ecuación 11), se obtuvieron los valores de la tabla 6:

$$\frac{\mu\text{mol Trolox}}{\text{L}} = \frac{\mu\text{mol Trolox}}{\text{L}} \text{ diluido} * \frac{1}{100} \dots\dots \text{Ecuación 11}$$

El valor ORAC expresado en unidades TEAC ($\mu\text{mol Trolox/g}$ muestra), resultaron de la Ecuación 12, donde el valor de la concentración final de la muestra fue de: 0.1456 g/L y 0.0582 g/L, respectivamente para las diluciones 1:100 y 1:250.

$$\frac{\mu\text{mol Trolox}}{\text{g muestra}} = \frac{\frac{\mu\text{mol Trolox}}{\text{L}} \text{ diluido}}{\text{Concentración final muestra (g/L)}} \dots\dots \text{Ecuación 12}$$

Los resultados del método ORAC, se presentan en la tabla 6. Se obtuvo un promedio de 118.099 $\mu\text{mol Trolox/g}$ muestra para la dilución 1:100 y 77.998 $\mu\text{mol Trolox/g}$ muestra para la dilución 1:250, lo que demuestra, la capacidad antioxidante en ambas concentraciones. Sin embargo, el que presentó mayor capacidad antioxidante fue la dilución 1:100.

Los resultados fueron evaluados estadísticamente mediante un análisis de varianza con $\alpha=0.05$. No hubo diferencia significativa entre las concentraciones. El coeficiente de variación es menor a 10%, por lo tanto, todos los resultados son confiables.

Tabla 6. Valores ORAC del gorgojo *U. dermestoides* expresados en TEAC ($\mu\text{mol Trolox/g}$ muestra).

Muestra	1:100		1:250	
	$\mu\text{mol Trolox/L}$	$\mu\text{mol Trolox/g muestra}$	$\mu\text{mol Trolox/L}$	$\mu\text{mol Trolox/g muestra}$
1	1274.896	87.562	920.561	63.225
2	1367.279	93.907	1260.255	86.556
3	2516.402	172.830	1226.118	84.211
Promedio	1719.526	118.099	1135.645	77.998
D.S	691.659	47.504	187.048	12.847
C.V	0.402	0.402	0.165	0.165

Mendoza y cols (2013), realizaron un estudio acerca de capacidad antioxidante de extractos metanólicos de cuerpo entero del escarabajo *Ulomoides dermestoides* con MeOH 48% y 96%, en un tiempo de extracción de 24 y 48 horas. El extracto obtenido con metanol 48 %/48 h (UD4848) mostró mayor actividad al presentar un valor ORAC de $3,65 \pm 0,46$ equivalentes de Trolox, el cual es inferior al de la dilución 1:100. La composición química del extracto UD4848 fue: ácido linoleico (29.1 %), palmítico (23.9 %), oleico (21.9 %), esteárico (5.6 %), mirístico (0.5 %), n-pentadecanol (11.2 %) y 4 etilresorcinol 2 (6.8 %).

Al comparar la capacidad antioxidante de los extractos del gorgojo con alimentos considerados con un importante aporte de antioxidantes, todos los resultados demuestran ser superiores a la capacidad antioxidante que presentan los arándanos silvestres ($61 \mu\text{mol Trolox/g}$ muestra) pero inferiores a las bayas de Golgi ($133 \mu\text{mol Trolox/g}$ muestra) y frambuesas negras ($164 \mu\text{mol Trolox/g}$ muestra) (Figura 4).

La capacidad antioxidante del gorgojo, podría atribuirse a compuestos con grupos sustituyentes hidrofóbicos en la posición C4 del resorcinol (Tejeda, 2014), los cuales son antioxidantes y potentes inhibidores de la actividad tirosinasa, una enzima que cataliza la oxidación de fenoles.

En una investigación realizada por Mendoza y Saavedra (2013) se estudió el efecto antiirritante de los extractos metanólicos y hexánicos de *U. dermestoides* mediante un ensayo modificado de irritación de la membrana corioalantoidea (CAM) de huevos fertilizados de gallina (HET-CAM). En dicha investigación los resultados demostraron el efecto antiirritante de los extractos metanólicos del gorgojo atribuido a compuestos con actividad antiinflamatoria como el ácido oleico y el limoneno.

Cabe destacar que el ácido oleico (Mendoza y cols 2013) y el limoneno también han demostrado tener propiedades antioxidantes. Además, el limoneno presenta propiedades antibacterianas y antifúngicas. Por otra parte, el ácido linoleico es un ácido graso esencial poliinsaturado, de la familia Omega 6 que ejerce efectos significativos sobre el sistema inmune (Tejeda, 2014).

Adicionalmente, Mendoza y Saavedra (2013) proponen que el Omega-9 y el Omega-6 podrían contribuir a la capacidad antiirritante de los extractos metanólicos, los cuales presentaron alta concentración de monoterpenos con propiedades antiinflamatorias como el limoneno, alfa-terpineno y alfa-pineno.

Crespo y cols (2011), evaluaron la citotoxicidad de los principales componentes volátiles liberados por *U. dermestoides*, en la línea celular A549 de epitelio carcinomatoso de pulmón. Se demostró que los compuestos de defensa del escarabajo (metil-1,4-benzoquinonas, etil-1,4-benzoquinonas y 1-pentadeceno) en dosis del insecto de 0.15 equivalente/mL y mayores redujeron significativamente la viabilidad de las células tumorales un 85% y cerca de un 70% en células mononucleares. Lo que sugiere que las benzoquinonas en el extracto del insecto son las responsables de la inhibición de la proliferación celular.

Otras investigaciones se han enfocado en la identificación y aislamiento de proteínas de coleópteros con actividad antioxidante, uno de ellos demostró la presencia de la enzima antioxidante superóxido dismutasa (SOD) en extractos acuosos del escarabajo *U. dermestoides* (Long, Defu, Beibei, Xiao Can y Jia, 2009).

CONCLUSIONES

Los insectos han sido consumidos en México desde la época prehispánica, sin embargo, en los últimos años ha surgido una nueva tendencia en la que se pretende consumir “insectos comestibles”, debido a sus propiedades nutritivas.

Adicionalmente, estudios recientes demuestran que el valor nutricional de los insectos, es elevado, ya que son una fuente importante de proteínas, grasas, fibra, minerales y vitaminas, lo que coincide con los resultados obtenidos en el Análisis Químico Proximal del escarabajo *U. dermestoides*, el cual se cuantificó en base seca y base húmeda.

La cuantificación de quitina fue de 18.572%, por lo que, sería importante delimitar que porcentaje de quitina pertenece a carbohidratos y cual a fibra.

Por otro lado, el uso de las propiedades curativas de los insectos, en especial, los coleópteros (coleopteroterapia), se ha utilizado para tratar diversas enfermedades, en donde el estrés oxidativo, juega un importante papel.

En el caso de los extractos del cuerpo entero del escarabajo chino, se encontró que todas las muestras presentan importante capacidad antioxidante. La muestra con mayor efecto antioxidante fue la dilución de 1:100, con 118.099 $\mu\text{mol Trolox/g}$ muestra. Lo que demuestra que el escarabajo presenta un importante poder de inhibición de la actividad oxidativa, superando de esta manera, muchos de los alimentos considerados ricos en antioxidantes como frutas y verduras, y hasta, bebidas como el vino. La capacidad antioxidante se atribuye a compuestos como el limoneno, 4-etilresorcinol y ácido oleico.

Por otra parte, el escarabajo *U. dermestoides* también presenta propiedades antiinflamatorias y citotóxicas.

En conclusión, los resultados demuestran que, la calidad nutritiva del gorgojo *Ulomoides dermestoides* es alta, debido a la proporción de sus componentes. Además, de que, presenta una importante capacidad antioxidante.

BIBLIOGRAFÍA

- Agudo, L. (2002). Técnicas para la determinación de compuestos antioxidante en alimentos. *Autodidacta*, 27–34.
- Almajano, M. (2009). Determinación de la actividad antioxidante de las bayas de golji. *Consorti Escola Industrial de Barcelona*, 1–12.
- Arias, N. y Chávez, P. (2015). Investigación de campo. Centro educativo Cruz Azul, A.C., 1-13.
- Arreguin, J. (2012). Bases moleculares del Post- acondicionamiento del miocardio: papel de las enzimas antioxidantes. Tesis doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- AOAC, (1975). *Methods of Analysis*. 1st ed. Association of Official Analytical Chemist, Washington, D.C.
- Castelli, P., (2014). Descripción y cría: *Palembus Ulomoides Dermestoides*. 1–35.
- Číž, M., Čížová, H., Devev, P., Kratchanova, M., Slavov, A. y Lojek, A. (2010). Different methods of control and comparison of the antioxidant properties of vegetables. *Food Control*, 21(4), 518–523.
- Crespo, R., Villaverde, M.L., Girotti, J.R., Güerci, A., Juárez, M.P. y De Bravo, M.G. (2011). Cytotoxic and genotoxic effects of defence secretion of *Ulomoides dermestoides* on A549 cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 136, 204-9.
- Cornucopia, C. (2004). Caracterización y evaluación funcional y de seguridad de compuestos bioactivos de frutas iberoamericanas como ingredientes alimentarios. 1-6.
- Cupul, F. (2010). Sobre el uso de *Ulomoides dermestoides* (Chevrolat, 1878), (*Coleóptera, Tenebrionidae, Diaperini*) en la coleopteroterapia : Informe de un caso en Ixtapa, *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, 34(3-4), 419–422.
- Coronado, M., Vega, S., Gutiérrez, R., Vázquez, M. y Radilla, C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de Nutrición*, 42(2), 206–212.
- Delgado, M., (2015). Perspectiva de los polifenoles en México. *Entre textos*, 7(21), 1-12.

- Deloya, G. y Deloya, C. (2014). Efecto Anti-Inflamatorio y Citotóxico. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*, 30(3), 655-661.
- Díaz, E., Argüelles, W., Higuera, I., Hernández, J., Lizardi, J. y Goycoolea, F. (2006). Determination of chitin and protein contents during the isolation of chitin from shrimp waste. *Macromolecular Bioscience*, 6(5), 340–347.
- Fan, W., Fu, C., Yu, J., Yuan, W. y Tong, Z. (2008). Nutritional components of *Palembus dermestoides* reared in different diets. *Chinese Bulletin of Entomology*, 6, 958-962.
- Floriano, E., Cárdenas, N., Castro, M., Reyes, J., Flores, J., Arzave, C. y Torres, J. (2009). Niveles de expresión de Mn-superóxido dismutasa (Mn-SOD) en tejidos con cáncer de próstata e hiperplasia prostática benigna. *Revista Mexicana de Urología*, 69(04), 159–162.
- Flores, D., Sandoval, J., Valdivia, B. y Aguilar, C. (2010). Uso de técnicas electroquímicas para evaluar el poder antioxidante en alimentos. *Investigación y Ciencia*, 18(49), 20–25.
- Fox A, Cameron. 2006. *Ciencia de los alimentos nutrición y salud*. Editorial Limusa. Noriega Editores, México.
- Garcés, A., Arango, G. y Gómez, T., (2009). Cría de *Ulomoides dermestoides*, coleóptera: tenebrionidae, en tres tipos de sustrato*. *Revista Lasallista de Investigación*, 6(2), 64–68.
- Huang, D., Ou, B., Hampsch, M., Flanagan, J. y Prior, R. (2002). High-Throughput Assay of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) using a Multichannel Liquid Handling System Coupled with a Microplate Fluorescence Reader in 96-Well format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(16), 4437–4444.
- Janssen, R. H., Vincken, J. P., Van Den Broek, L. A. M., Fogliano, V. y 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, 2275-2278.
- Kim, S., Weaver, C. y Choi, M. (2017). Proximate composition and mineral content of five edible insects consumed in Korea. *CYTA - Journal of Food*, 15(1), 143–146.

- Long, D., Defu, C., Beibei, Z., Xiao Can, L. y Jia, Y. (2009). Optimization of extraction conditions for superoxide dismutase from *Martianus dermestoides*. Journal of Northeast Forestry University, 37(4), 69-70, 73.
- Llorente J., Morrone, J., Yáñez, O. y Vargas, I. (2004). Biodiversidad, taxonomía y biogeografía de artrópodos en México. Editorial Conabio, México.
- Mateo, H. (2007). Estudio de la superóxido Dismutasa en *Trypanosoma Cruzi*: purificación, caracterización bioquímica y aplicaciones diagnósticas. Tesis doctoral. Universidad de Granada, España.
- Mendoza, D., Salgado, M. y Durant, L. (2013). Capacidad antioxidante de extractos metanólicos de cuerpo entero del escarabajo. Revista Cubana, 32(4), 402–410.
- Mendoza, D.L. y Saavedra, S. (2013). Chemical composition and anti-irritant capacity of whole body extracts of *Ulomoides dermestoides* (Coleoptera, Tenebrionidae). VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica, Colombia. 20 (1), 41-8.
- Mondragón, I. y Contreras, Y. (2015). Uso de los insectos *Tenebrio molitor*, *Tribolium castaneum* y *Palembus dermestoides* (Coleóptera, Tenebrionidae) como recurso didáctico en la enseñanza de las Ciencias Naturales. Revista de investigación, 39(86), 255–270.
- Muñoz, M. A. y Gutiérrez, M. (2004). Determinación de actividad antioxidante de diversas partes del árbol *Nicotiana Glauca*. Songklanakarin Journal of Science and Technology, 26(2), 1–4.
- Naranjo, M., Vélez, L. T. y Rojano, B. A. (2011). Actividad antioxidante de café colombiano de diferentes calidades. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 16(2), 164–173.
- Navarro, A., Ávila, R., Aguilar, P., Vera, O. y Dávila R.M. (2011). Estudio de la composición de cuchamá (*Paradirphia fumosa*) de la mixteca poblana. Ciencia y Mar, 15(53), 13–21.
- Ou, B., Hampsch, M. y Prior, R. (2001). Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance

Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4619–4626.

- Pacheco, A. (2010). Análisis comparativo del contenido proteínico entre dos órdenes de artrópodos del noreste de México (*Orthoptera* y *Arachnida*) y grupo cárnico (*Artiodactyla*) como alternativa de complemento alimenticio. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Nuevo León, México.
- Ramos, B., Quintero, B., Ramos, J., Pino, J. M., Ángeles, S.C., García, A. y Barrera, D. (2012). Análisis químico y nutricional de tres insectos comestibles de interés comercial en la zona arqueológica del municipio de San Juan Teotihuacán y en Otumba, en el Estado de México. *Interciencia*, 37(12), 914-920.
- Ramos, J., Costa, E., Ferreira, J., Pino, J., Landero, I. Ángeles, S. y García, A. (2006). Estudio comparativo del valor nutritivo de varios coleóptera comestibles en México y *Pachymerus nucleorum* (Fabricius, 1792) (*Bruchidae*) de Brasil. *Interciencia*, 31(7), 512–516.
- Rosales, D. (2006). Papel de las actividades superóxido dismutasa y catalasa en la virulencia de *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*. Estrategias para la estimulación del estallido respiratorio en fagocitos de lenguados cultivados. Tesis doctoral. Universidad de Málaga, España.
- Silva, B. (2009). Desarrollo de biopelículas con actividad antioxidante y evaluación del factor de protección a los alimentos. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Quintanar, M. y Calderón, J. (2009). La Capacidad Antioxidante Total. Bases y Aplicaciones. *Revista de Educación Bioquímica*, Universidad Nacional Autónoma de México, 28(3), 89–101.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros, L. y Hawkins, D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6–7), 669–675.
- Tejeda, K. (2014). Caracterización de los efectos biológicos y terapéuticos del gorgojo del maní *Ulomoides dermestoides*. Tesis de Licenciatura. Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz.

- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L. y Hawkins Byrne, D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6–7), 669–675.
- Trapala, J. (2005). Aislamiento, cuantificación y evaluación de posibles antioxidantes presentes en la semilla de tamarindo mexicano residual (*Tamarindus indica*). Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Torres, D., Cortés, C. y Ayala, A. (2016). Identificación de carbohidratos y lípidos y cuantificación de ácidos grasos de la larva de *Ancognatha ustulata* (coleoptera: *Melolonthidae*). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, 56, 257–264.
- Venéreo G. J. R. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 31(2), 126–133.
- Villegas, F. D. y Tantaleán, V. M. (2012). Evaluación experimental de *Ulomoides dermestoides* (Tenebrionidae) como hospedero intermediario de *Hymenolepis diminuta*. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 32(3), 515-8.
- Zamora, J. (2007). Antioxidantes: Micronutrientes en lucha por la salud. Programa de Maestría en Nutrición Humana. Universidad de Costa, Costa Rica.
- Zapata, S., Piedrahita, A. y Rojano, B. (2014). Capacidad atrapadora de radicales oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia. *Perspectivas en Nutrición Humana*, 16(1), 25–36.
- Zequeira, D. E. B. (2006). Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 25(2).
- Zhou Rui, C. (2006). Determination of nutritional components of in *Palembus dermestoides*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 5, 684-687
- Zuelueta, A., Esteve, M. y Frígola, A. (2009). ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 114(1), 310–316.)

REFERENCIAS DE INTERNET

- Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA). (2011). Antioxidantes: definición, clasificación y conceptos generales. Recuperado de <http://www.portalantioxidantes.com/antioxidantes/>
- Gazzaneo, A. Los antioxidantes retrasan el envejecimiento celular. Recuperado de https://www.educ.ar/dinamico/UnidadHtml__get__ec21f43e-a65c-4eb2-8d0e-c6dcedfad43e/91079-EDI/data/54d8fdf4-7a07-11e1-807d-ed15e3c494af/index.html
- Ensayos de divulgación científica y humanística (EDCH). Antioxidantes y alimentos. Recurado de <http://www.unirioja.es/ensaya/archivos/antioxidantes.pdf>

ANEXOS

ANÁLISIS DE VARIANZA

Se aplicó a los resultados del objetivo particular 2, para determinar si existe diferencia significativa entre las medias. Utilizando una distribución de Student, con 1 grado de libertad y $\alpha=0.05$ y el valor $t_t = 7.71$

t_c = valor calculado

t_t = valor de tablas

Factor de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	t_c	t_t
Tratamientos	2-1= 1	2412.2957	2412.2957	1.99	7.71
Error	6-2= 4	4843.3258	1210.83145		
Total	6-1 = 5	7255.6215			

Si $t_c < t_t$, entonces no hay diferencia significativa entre las concentraciones.