

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA  
SEDE QUITO**

**CARRERA:  
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de: INGENIERAS  
EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES**

**TEMA:  
DETERMINACIÓN DE ANTOCIANINAS Y VALOR NUTRICIONAL DE LOS  
TENEARIOS (TENEARIO MOLITOR) ALIMENTADOS CON DIETAS  
ENRIQUECIDAS CON MAÍZ MORADO (ZEA MAYS L.)**

**AUTORAS:  
THALÍA CERELA INTRIAGO SÁNCHEZ  
YAMILET VALENCIA BURGOS**

**DIRECTOR:  
CHRISTIAN FABRICIO LARENAS URÍA**

Quito, septiembre de 2014

## DECLARACIÓN

Nosotras autorizamos a la Universidad Politécnica Salesiana la publicación total o parcial de este trabajo de titulación y su reproducción sin fines de lucro.

Además, declaramos que los conceptos, análisis desarrollados y las conclusiones del presente trabajo son de exclusiva responsabilidad de las autoras.

Quito, septiembre 2014

-----  
Thalía Cerela Intriago Sánchez  
172190312-6

-----  
Yamilet Valencia Burgos  
172655357-9

## **DEDICATORIA**

En primer lugar quiero dedicar mi esfuerzo a mi amado compañero, esposo y consejero Wilo Rodrigo Rodríguez Morillo por sacrificar su tiempo para que yo pudiera cumplir con el mío, el sueño de ser una profesional. Le agradezco por los consejos y energía impartidos, por ser el compañero fiel en mi etapa de esfuerzo y constancia.

También quiero dedicar mi logro a mi padre Rubén Intriago, a mi madre Nelly Sánchez y a mis hermanos Cristian, David y Danna por ser partícipes de mi educación y formación como ser humano y sobre todo por el amor verdadero y el deseo inevitable de apoyarme para que ser quien soy.

Thalía

Dedico esta tesis a los dos hombres más importantes de mi vida, a mi esposo William y a mi hijo Ian por darme la fuerza para seguir siempre adelante, por ser mi apoyo y sobre todo mi compañía a lo largo de estos años. A mis tatas por creer en mí y enseñarme a no rendirme nunca ante las adversidades de la vida. A mis hermanos Vianet y Alexander por ser un ejemplo de lucha constante y a mis suegros María y Germán quienes con su apoyo incondicional ayudaron a culminar mi carrera universitaria.

Yamilet

## **AGRADECIMIENTO**

A nuestra querida Universidad Politécnica Salesiana por los años de formación académica y humana como buenas cristianas y honradas ciudadanas; a los docentes de la Carrera de Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales por su afán de impartir sus conocimientos en las aulas de clase y su amistad fuera de ellas; al Químico Christian Larenas, director de nuestra tesis por su tiempo y conocimiento brindado durante el transcurso de la presente investigación.

Al Eco-Zoológico San Martín del Cantón Baños de Agua Santa, Provincia de Tungurahua por donar los especímenes de *Tenebrio molitor*, el espacio adecuado para su crianza y la información sobre su manejo en bioterio, base fundamental para esta investigación.

Al Museo de Ciencias Naturales por su colaboración en la identificación de los especímenes usados como base en el trabajo de investigación.

Thalía y Yamilet

## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN .....	1
CAPÍTULO 1 .....	2
GENERALIDADES .....	2
1.1 Tema.....	2
1.2 Hipótesis .....	2
1.3 Variables e Indicadores .....	2
1.4 Objetivos.....	2
1.4.1 Objetivo general.....	2
1.4.2 Objetivos específicos .....	3
1.5 Justificación.....	3
CAPÍTULO 2 .....	4
MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 Tenebrio (Tenebrio molitor).....	4
2.1.1 Ciclo de vida.....	6
2.1.3 Bioterio Eco Zoológico San Martín.....	6
2.2 Maíz (Zea mays).....	7
2.2.1 Valor nutritivo.....	8
2.2.2 Maíz morado.....	8
2.3 Antioxidantes.....	11
CAPÍTULO 3 .....	14
MATERIALES Y MÉTODOS .....	14
3.1 Población y muestra .....	14
3.2 Marco metodológico.....	14
3.2.1 Condiciones de Bioterio.....	14
3.2.2 Análisis proximal.....	15
3.2.3 Concentración de antocianinas .....	19
CAPÍTULO 4.....	25
RESULTADOS.....	25
4.1 Peso y longitud .....	25

4.2 Análisis bromatológico I del Tenebrio molitor .....	27
4.2.1 Humedad.....	27
4.2.2 Cenizas.....	29
4.3 Análisis bromatológico II del Tenebrio molitor.....	30
4.3.1 Calcio.....	30
4.3.2 Grasa.....	32
4.3.3 Proteína.....	33
4.4 Análisis de asimilación de antocianina en Tenebrio molitor.....	36
4.4.1 Mediante técnica TLC .....	36
4.4.2 Mediante espectrofotometría UV-VIS.....	36
4.4.3 Mediante HPLC .....	36
4.5 Mortalidad de Tenebrio molitor en bioterio .....	37
CONCLUSIONES .....	38
RECOMENDACIONES .....	40
LISTA DE REFERENCIAS .....	41
ANEXOS.....	44

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Porcentaje de insectos más consumidos a nivel mundial según la FAO .....	<b>5</b>
<b>Tabla 2.</b> Distribución de los componentes del maíz entre las fracciones grano (%) .....	<b>8</b>
<b>Tabla 3.</b> Componentes del maíz morado (g) en el grano y en la coronta .....	<b>10</b>
<b>Tabla 4.</b> Porcentaje de antocianinas en el grano y la coronta del maíz morado .....	<b>12</b>
<b>Tabla 5.</b> Sustituyentes de las antocianinas del maíz morado .....	<b>13</b>
<b>Tabla 6.</b> Tratamientos para la crianza del Tenebrio molitor .....	<b>15</b>
<b>Tabla 7.</b> ANOVA de una vía para peso (mg) .....	<b>25</b>
<b>Tabla 8.</b> Test de Tukey al 5% para peso .....	<b>25</b>
<b>Tabla 9.</b> ANOVA de una vía para longitud (mm).....	<b>26</b>
<b>Tabla 10.</b> Test de Tukey al 5% para longitud.....	<b>26</b>
<b>Tabla 11.</b> Porcentaje de humedad de Tenebrio molitor.....	<b>27</b>
<b>Tabla 12.</b> ANOVA de una vía para humedad (%) .....	<b>28</b>
<b>Tabla 13.</b> Test de Tukey al 5% para humedad .....	<b>28</b>
<b>Tabla 14.</b> Porcentaje de cenizas en Tenebrio molitor.....	<b>29</b>
<b>Tabla 15.</b> ANOVA de una vía para ceniza (%) .....	<b>30</b>
<b>Tabla 16.</b> Porcentaje de calcio en Tenebrio molitor .....	<b>30</b>
<b>Tabla 17.</b> ANOVA de una vía para calcio (%) .....	<b>31</b>
<b>Tabla 18.</b> Test de Tukey al 5% para calcio.....	<b>31</b>
<b>Tabla 19.</b> Porcentaje de grasa en Tenebrio molitor .....	<b>32</b>
<b>Tabla 20.</b> ANOVA de una vía para grasa (%).....	<b>33</b>
<b>Tabla 21.</b> Porcentaje de proteína para Tenebrio molitor .....	<b>33</b>
<b>Tabla 22.</b> ANOVA de una vía para proteína (%) .....	<b>34</b>
<b>Tabla 23.</b> Test de Tukey al 5% para proteína .....	<b>34</b>
<b>Tabla 24.</b> Concentración antocianinas HPLC-DAD .....	<b>37</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ciclo de vida del Tenebrio molitor .	6
<b>Figura 2.</b> Distribución general del maíz morado en el Ecuador	9
<b>Figura 3.</b> Imagen del maíz morado de la Provincia de Azuay-Ecuador	9
<b>Figura 4.</b> Estructura de la antocianina del maíz morado	12
<b>Figura 5 .</b> Metodología para la determinación de humedad.....	16
<b>Figura 6.</b> Metodología para la determinación de cenizas	16
<b>Figura 7.</b> Metodología para la determinación de calcio.....	17
<b>Figura 8.</b> Metodología para la determinación de proteína	18
<b>Figura 9.</b> Metodología para la determinación de grasa	19
<b>Figura 10.</b> Metodología para la extracción de antocianinas	20
<b>Figura 11.</b> Metodología para la determinación de la concentración de antocianinas mediante Espectrofotometría Uv-Visible	21
<b>Figura 12.</b> Metodología para la determinación de la concentración de antocianinas mediante cromatografía en capa fina	22
<b>Figura 13.</b> Hidrólisis ácida d muestras	23
<b>Figura 14.</b> Metodología para la determinación de la concentración de antocianinas mediante HPLC-DAD	24
<b>Figura 15.</b> Test de Tukey al 5% para peso	25
<b>Figura 16.</b> Test de Tukey al 5% para longitud	26
<b>Figura 17.</b> Test de Tukey al 5% para humedad	28
<b>Figura 18.</b> Test de Tukey al 5% para calcio	31
<b>Figura 19.</b> Test de Tukey al 5% para proteína	34
<b>Figura 20.</b> Análisis multivariado de similitud entre grupos	35

## RESUMEN

El maíz morado ha sido considerado tradicionalmente como fuente alimenticia, hoy en día se sabe que contiene grandes cantidades de antioxidantes naturales, especialmente antocianinas; por este motivo el presente trabajo pretende favorecer la alimentación de animales insectívoros mediante un suplemento alimenticio natural a base de larvas de escarabajo (*Tenebrio molitor*) alimentadas con harina de maíz morado.

Este trabajo inicia con la crianza de las larvas en condiciones de bioterio, es decir, en incubadora a 30°C y 80% de humedad, se crearon cinco dietas diferentes cada una con diferente proporción de harina de maíz morado, lechuga como fuente de agua y frutos secos como fuente de grasa. Antes de iniciar la etapa de pupa las larvas fueron medidas, pesadas y llevadas al laboratorio para la etapa experimental de dos fases.

La primera fase consistió en el análisis bromatológico de las muestras determinándose el porcentaje de humedad, cenizas, calcio, grasa y proteína; la segunda fase consistió en la determinación del contenido de antocianinas asimiladas por las larvas mediante tres técnicas; Cromatografía en Capa Fina (TLC) para determinar presencia o ausencia del pigmento, Espectrofotometría UV-VIS y HPLC-DAD para cuantificar las antocianinas presentes en cada muestra.

Al analizar los resultados de la fase experimental se puede concluir que las larvas alimentadas con dietas que contienen más del cincuenta por ciento de harina de maíz morado mostraron mejores características morfológicas, mayor cantidad de proteína y de antocianinas que el resto de larvas; por lo tanto, se logró probar que las larvas alimentadas con esta harina representan una alternativa natural de suplemento alimenticio para animales insectívoros.

**Palabras clave:** Larva, Bioterio, Antocianina, Suplemento alimenticio.

## ABSTRACT

The purple corn has been traditionally considered as a great food source. Nowadays is known that it has great amounts of natural antioxidants, especially anthocyanins. This present written work favors the feeding of insectivorous animals through natural nutritious supplement based on the beetle's larvae (*Tenebrio molitor*) fed with purple corn flour.

This work starts with the breeding of larva with conditions of vivarium, which means, in an incubator with 30°C and 30% humidity, we created five different diets each with different proportions of purple corn flour, lettuce as a water source and dried fruits as a grease source. Before initiating this stage of pupae, these larvae were measured, weighted and taken to the laboratory for the experiment stage of two steps.

The first stage consisted in the bromatologic analysis of the samples, measuring the humidity percentage, ashes, calcium, grease and protein. The second step consisted in the determination of the contents of the assimilated anthocyanin by the larvae by means of three techniques; chromatography in fine layer (TLC) in order to determine the presence or absence of pigment, spectrophotometry UV-VIS and HPLC-DAD for the quantification of anthocyanin in each sample.

To analyze the results of the experimental stage it can be concluded that the fed larvae with diets that contain more than 50% of purple corn flour had shown better morphological characteristics, more amount of protein and anthocyanin than the other samples. So, it was probed that the larvae fed with this flour represents a natural alternative as a nutritious supplement for the feeding of insectivorous animals.

**Keywords:** Larva, Vivarium, Anthocyanin, Nutritional supplement.

## INTRODUCCIÓN

Debido a la escasez de productos nutricionales naturales en el mercado, los tenebrios son una opción válida de complemento nutricional para animales insectívoros. Además, se ha demostrado que una dieta enriquecida con tenebrios aporta al animal que lo consume 20,23% de proteína, 16% de grasa y 57,37% de calcio, ayudando así en el proceso de crecimiento, desarrollo y fertilidad (Valdez & Untiveros, 2010).

La presencia de antocianinas en la variedad pigmentada de maíz morado, azul o negro, lo hace un producto potencial para el suministro de colorantes y antioxidantes naturales. Por ello el estudio de los pigmentos del maíz morado ha despertado un interés sin precedentes (Cuevas, *et al* 2008).

Según Murias (2010) en la actualidad se están realizando pruebas para desarrollar piensos a partir de harinas procedentes de insectos que se adecuen a la fisiología digestiva de diferentes especies animales.

Dada la importancia del Tenebrio molitor en la alimentación animal esta investigación pretende incrementar el valor nutricional de la larva adicionando en su dieta sustratos ricos en antioxidantes naturales y de esta forma, favorecer la alimentación del animal que lo consuma.

# CAPÍTULO 1

## GENERALIDADES

### 1.1 Tema

Determinación de antocianinas y valor nutricional de los tenebrios (*Tenebrio molitor*) alimentados con dietas enriquecidas con maíz morado (*Zea mays* L.)

### 1.2 Hipótesis

**H<sub>0</sub>** = Las dietas enriquecidas no generan un cambio significativo en la composición nutricional de *Tenebrio molitor*.

**H<sub>a</sub>** = Las dietas enriquecidas generan un cambio significativo en la composición nutricional de *Tenebrio molitor*.

### 1.3 Variables e Indicadores

**Variable Dependiente:** Concentración de antocianinas, Valor nutricional

**Variable Independiente:** Dieta enriquecida con harina de maíz morado

### 1.4 Objetivos

#### 1.4.1 Objetivo general

Determinar el valor nutricional y el contenido de antocianinas asimiladas por los tenebrios (*Tenebrio molitor*) alimentados con dietas a base de harina de maíz morado (*Zea mays*).

### **1.4.2 Objetivos específicos**

- Cuantificar la cantidad de antocianinas asimiladas por *Tenebrio molitor* mediante cromatografía en capa fina, espectrofotometría visible y HPLC.
- Determinar el efecto de los tratamientos utilizados sobre el valor nutricional del *Tenebrio molitor* mediante análisis proximal.

### **1.5 Justificación**

Los insectos son una fuente de proteína para distintas especies animales, tanto en vida silvestre como en cautiverio (Damborsky, Sandrino-Ybran. T., & Oscherov, 1998).

El presente trabajo surge como una alternativa de alimentación nutricional para animales insectívoros a base de larvas de *Tenebrio molitor* enriquecidas con antocianinas naturales de la harina de maíz morado (*Zea mays*).

La crianza y mantenimiento de tenebrios es muy sencillo, no demanda mucho espacio, recursos y tiempo; una vez que el escarabajo deposita sus huevos se esperan 13 semanas en condiciones adecuadas de luz, humedad y temperatura para completar el ciclo de la larva.

La presente investigación pretende favorecer al mercado de alimentos para animales insectívoros, ofreciendo un complemento alimenticio natural, de buena calidad y con un aporte elevado de nutrientes y antioxidantes; además un resultado favorable en la experimentación podrá significar un aporte al desarrollo de nuevos alimentos funcionales que eventualmente pueden utilizarse en nutrición no solamente animal sino también humana, generando un uso alternativo a la variedad de maíz morado.

## CAPÍTULO 2

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Tenebrio (*Tenebrio molitor*)

El orden Coleóptera es el orden de insectos más rico en especies, siendo alrededor de 300 000 las ya registradas, y el más variable también en cuanto a tamaños, pues hay ejemplares desde 0,25 mm hasta 15 cm de longitud. Muchas de sus especies son plagas de las plantas cultivadas y árboles frutales y forestales en las que causan daños solamente comparables a los de las orugas de los lepidópteros (Moreno, 2005).

La cabeza del adulto esta frecuentemente quitinizada; es de forma variable, esferoidal, más ancha que larga, o bien muy alargada, las antenas ofrecen también gran diversidad a su forma y al número de sus estructuras (Moreno, 2005).

La familia Tenebrionidae es la más rica en especies, particularmente diversa en zonas cálidas y áridas del planeta. Larvas y adultos se alimentan de restos o derivados vegetales, y algunas especies de los géneros *Tribolium*, *Gnathocerus*, *Palorus*, *Tenebrio*, etc, son plagas de productos almacenados de origen vegetal. Viven generalmente en el suelo y se refugian bajo piedras (Barrientos & Abelló, 2004).

Los tenebrios a veces se encuentran en los granos y en los productos de la molienda; son coleópteros con hábitos nocturnos. Prefieren alimentarse con granos o cereales molidos, húmedos o en malas condiciones. Atacan sin embargo toda clase de harinas, subproductos, semillas, residuos de molinos, insectos muertos, etc (IICA, 1972).

De hecho hace algunos años atrás la presencia de tenebrios en los molinos de harina eran considerados una plaga que gracias a la tecnificación y mejora en la forma de almacenar la harina se ha podido controlar. Atacan también a las pastas para sopa y pueden roer el papel, cartón y la madera de los embalajes (Moreno, 2005).

La alimentación de animales y humanos mediante gran variedad de insectos genera un impacto positivo al ambiente, a la salud y al medio social.

**Tabla 1**  
Porcentaje de insectos más consumidos a nivel mundial según la FAO

Insecto	Orden	% de consumo
Escarabajos	Coleóptero	31
Orugas	Lepidóptero	18
Abejas, avispas y hormigas	Himenópteros	14
Saltamontes, langostas y grillos	Ortópteros	13
Cigarras, fulgoromorfos, saltahojas, cochinillas y chinches	Hemípteros	10
Termitas	Isópteros	3
Libélulas	Odonatos	3
Moscas	Dípteros	2
Otros	Otros	5

Nota: Halloran & Vantomme, 2013

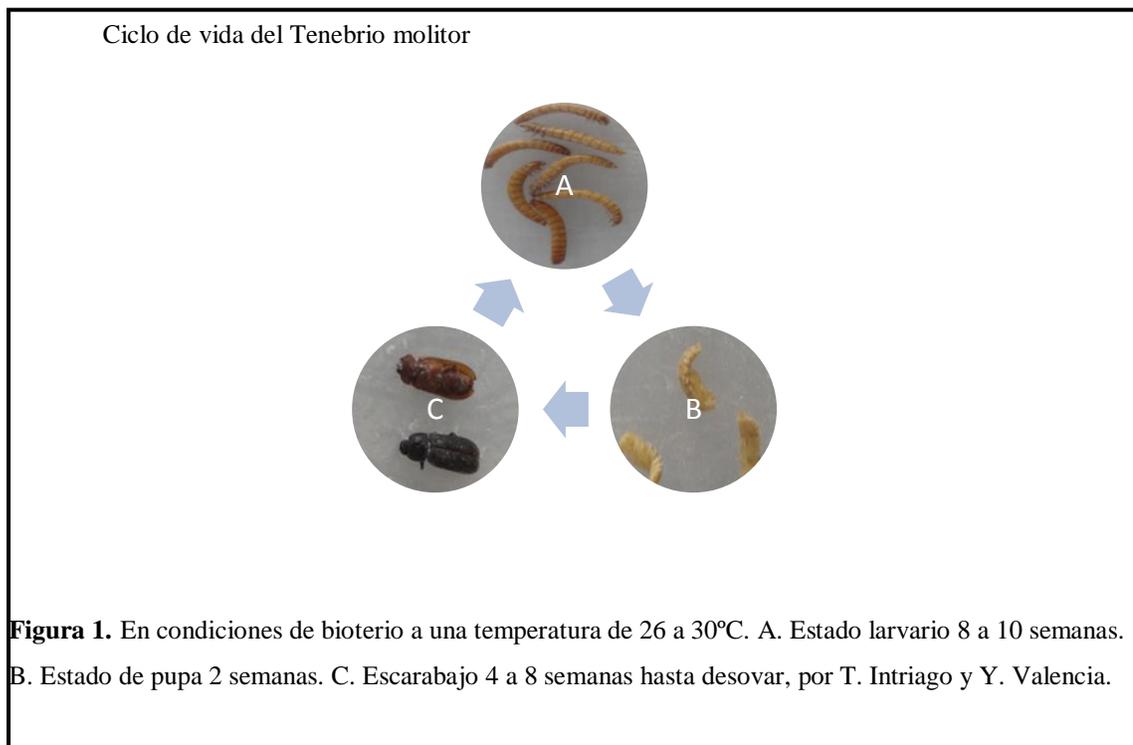
Las larvas se utilizan como alimento de mascotas: peces tropicales, aves, reptiles y pequeños mamíferos insectívoros (Damborsky, Sandrino-Ybran. T., & Oscherov, 1998). Los valores nutritivos de un análisis bromatológico del *Tenebrio molitor* publicado en la Revista de Ornitología “El Canario Uruguayo” demuestran que un tenebrio aporta con: 58,02% de Humedad, 01,00% de Ceniza, 57,37% de Calcio, 16,00% de Grasa y 20,23% de Proteína (Soto, 2003, págs. 39, 40).

Los insectos han sido complemento en la dieta de personas en lugares como Asia, África y Latinoamérica. Es un hábito que siempre ha estado presente, pero es apenas en esta época donde se la ha dado mayor importancia como complemento nutricional; es así que la FAO ha creado el programa de insectos comestibles para contribuir a la seguridad

alimentaria a nivel mundial ya que contienen niveles elevados de proteínas, grasas y minerales por lo que son considerados nutritivos (Halloran & Vantomme, 2013).

Probablemente este sea el alimento vivo más fácil de reproducir, algo importante que se debe tomar en cuenta es que estas larvas en ningún momento deben ser consideradas como una alimentación completa. Una dieta monótona o el abuso en el consumo pueden provocar enfermedades de orden nutricional, como deficiencia de calcio (raquitismo, osteoporosis), retraso en el tiempo de coagulación de la sangre, obesidad y congestión alimenticia, entre otras (Fuentes, 2012).

### 2.1.1 Ciclo de vida



### 2.1.3 Bioterio Eco Zoológico San Martín

En el área de conservación animal (zoológicos, centros de paso, vivarios, zoocriaderos, serpentarios etc.) se conoce al bioterio como un área destinada a la producción y

reproducción de vertebrados e invertebrados que hacen parte de las dietas naturales en algunas especies silvestres (Carvajal & Cinturia, 2011, pág. 2).

En el bioterio del Eco Zoológico San Martín se manejan 6 especies de animales (grillos, tenebrios, lombrices, guppys, cucarachas y ratones) que servirán de alimento a las 18 diferentes especies silvestres (aves, reptiles y mamíferos) que posee el zoológico.

La cría de tenebrio (*Tenebrio molitor*) se la hace en incubadora a 30° C y 80% de humedad, los escarabajos reproductores se separan de las larvas y se disponen en una caja con tapa de tela para favorecer la ventilación. La alimentación es una mezcla de harina de trigo y avena molida que se cambia cada 15 días, zanahoria, lechuga o manzana como alimento fresco que se cambia cada 3 días y frutos secos como maní (Carvajal & Cinturia, 2011).

## **2.2 Maíz (*Zea mays*)**

El maíz es una monocotiledónea del orden Poales y la familia Poaceae. Es una de las plantas cultivadas de mayor interés desde el punto de vista de su origen, estructura y variación. En cultivo han sido desarrollados tipos tan diferentes que permiten sembrarlos desde el Ecuador hasta el límite de las tierras templadas, y desde el nivel del mar hasta el borde de las heladas permanentes. Esa adaptabilidad, representada por los genotipos más variados, es paralela a la variedad de sus usos como alimento, forraje o utilización industrial (León, 1987).

- “**Mazorca:** Compacta y formada por hojas que la cubren totalmente” (Noroña, 2008, págs. 5-7).
- **Semillas:** Contenidas dentro de un fruto denominado cariósipide, la capa externa que rodea este fruto corresponde al pericarpio.

En el tamaño de grano influyen diferentes factores de nutrición en la planta, pero las altas temperaturas acortan el periodo de llenado del grano, disminuyendo el peso final;

por otro lado, las condiciones de estrés hídrico disminuye el número de células destinadas para la acumulación de almidón (Balbi, Garcia, Ferrero, & Bonilla, 2006).

La cantidad de lípidos según Balbi, García, Ferrero y Bonilla (2006) depende de la variedad, del tipo de suelo, región de siembra, factores climáticos como la sequía lo que reduce el contenido de lípidos en el maíz.

### 2.2.1 Valor nutritivo

La composición química del maíz varía según la parte del grano que se analice como se indica en la Tabla 2. Tomando en cuenta el contenido de proteína y almidón se evidencia que la mayor cantidad de estos componentes se encuentra en el endospermo del grano de maíz.

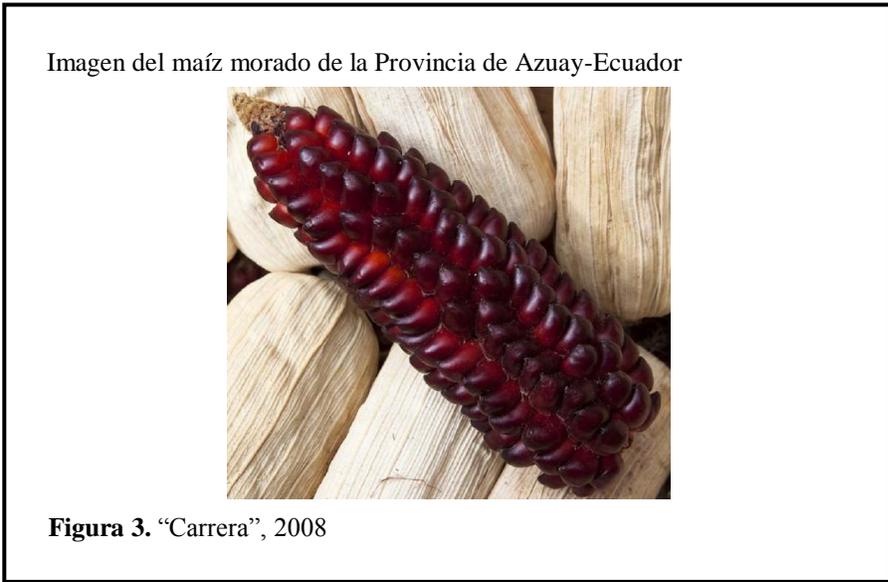
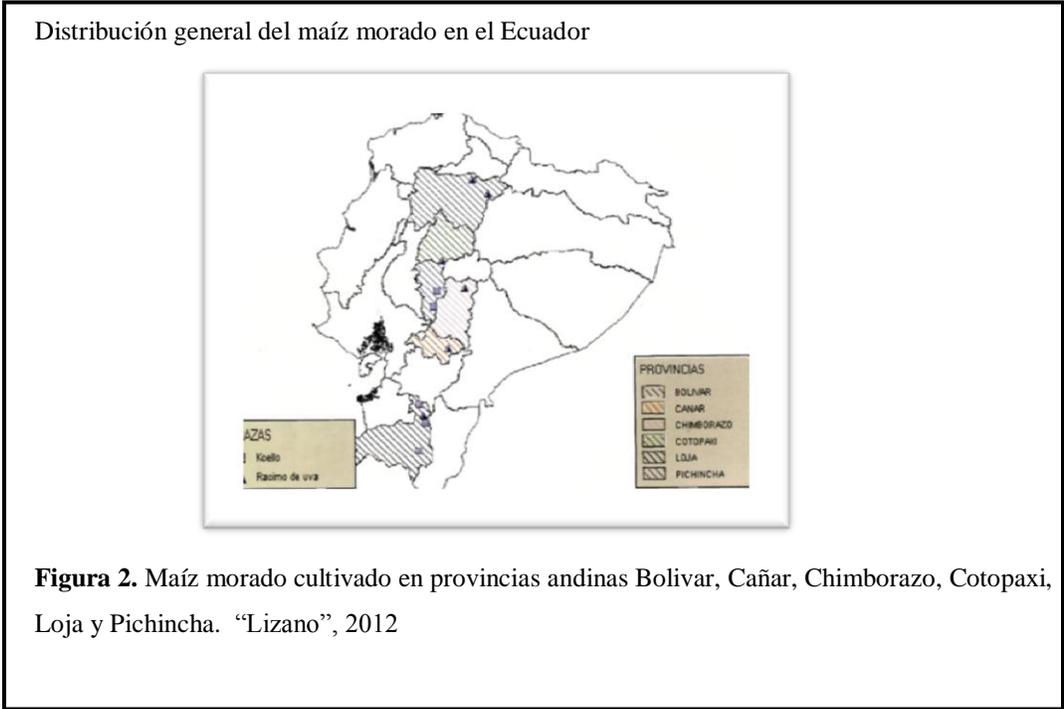
<b>Tabla 2</b>			
Distribución de los componentes del maíz dentado entre las fracciones del grano (%)			
<b>Componente</b>	<b>Endospermo</b>	<b>Embrión</b>	<b>Pericarpio</b>
<b>Proteínas</b>	73,1	23,9	3,0
<b>Extracto etéreo</b>	15,0	83,2	1,8
<b>Cenizas</b>	18,2	78,5	3,3
<b>Almidón</b>	98,0	1,3	0,7
<b>Azúcar</b>	28,2	70,0	1,8

**Nota:** (Mayorga, 2010)

### 2.2.2 Maíz morado

Los especímenes típicos de maíz morado se encuentran en provincias que van desde los 1200 a 2580 msnm (Figura 2), son de granos redondos con pericarpio rojo, morado (Figura 3), estrechamente agrupados para dar la apariencia de un racimo de uvas.

Las mazorcas son de formas cónicas a ovales con ocho a catorce hileras en espiral. Color rojizo a purpura en toda la tusa (Yáñez, Zambrano, Caicedo, Sánchez, & Heredia, 2003).



La coloración característica de los granos de maíz morado o negro es el resultado de la acción de muchos genes, que producen pigmentos de diferente color. La combinación de pigmentos rojos y azules dan como resultado el color morado del maíz (Manrique, 2000, págs. 5,6).

La composición del maíz morado varía según se tome el grano o la coronta, el promedio de composición nutricional del maíz se encuentra en la tabla 3, en donde se aprecia que el mayor contenido es el de carbohidratos, seguido del contenido proteico.

**Tabla 3**  
Componentes del maíz morado (g) en el grano y en la coronta

COMPONENTE	GRANO	CORONTA
<b>Proteínas</b>	6,70	3,74
<b>Grasas</b>	1.50	0,32
<b>Carbohidratos</b>	76,90	57,42
<b>Calcio</b>	12,00mg	24,00mg
<b>Humedad</b>	11,40	11,20
<b>Cenizas</b>	1,70	3,31

**Nota:** “Risco”, 2007

### 2.2.2.3 Usos del maíz morado

**Industrial:** Da color a bebidas, dulces y confites, productos de panadería, vegetales, conservas de pescado, grasas y aceites, mermeladas y jaleas, frutas enconfitadas y en almíbar, jarabes de frutas, sopas y saborizantes, coloración de jugos de frutas (fresas), vinos y vinagres, endulzantes alimentarios (sirope de maíz) y de alcohol (Chávez, 2000, pág. 20).

**Casero:** Se obtienen bebidas no alcohólicas como el pinolate guatemalteco, el pinolillo costarricense u hondureño, el atole mexicano u otras bebidas alcohólicas o chichas.

Harina para la elaboración de pan de maíz, tortas de maíz, “tapas” o tortillas, arepas y otros productos de repostería (Ramírez & Williams, 2005, págs. 27, 28).

**Farmacéutico:** Reducción de enfermedades coronarias, efectos anti cancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos; incrementa la agudeza visual, y mejorar la visión nocturna (Mayorga V. , 2010, pág. 15).

### **2.3 Antioxidantes**

Entre los antioxidantes ingeridos en la dieta se destacan las vitaminas E y C, los betacarotenos, procianidinas y polifenoles.

**Polifenoles:** Compuestos orgánicos que estructuralmente presentan un grupo -OH unido a un anillo aromático. Los compuestos de esta familia presentan variados efectos beneficiosos para la salud (Pietta, 2000).

**Antocianinas:** Proviene del griego anthos=flor y kyanos=azul, son pigmentos con características químicas de glucósidos; son de color rojo, rosado, azul y violeta; formadas por una molécula de antocianidina (aglicón) que se une a una fracción de carbohidrato a través de un enlace glucosídico (Almeida., 2012).

Las antocianinas se localizan principalmente en la piel de frutas como manzanas, peras, uvas, zarzamoras, ciruelas; en flores como la jamaica, rosas y verduras como col morada y maíz morado.

Estos pigmentos cumplen la función de atraer seres vivos (principalmente insectos y pájaros) para propósitos de polinización y dispersión de semillas. Existen diversos factores que afectan el color como el pH de la célula, el efecto de co-pigmentación determinado por la presencia de otros flavonoides, temperatura, luz, etc (Barrientos L. , 2009).

En un reciente estudio comparativo entre el maíz negro y el arándano azul, se descubrió que el maíz tenía un contenido cuatro veces superior en antocianinas que el arándano azul, siendo la cianidina C3G la más abundante en el maíz negro y la que posee mayor actividad antioxidante (Nutribiota, 2008).

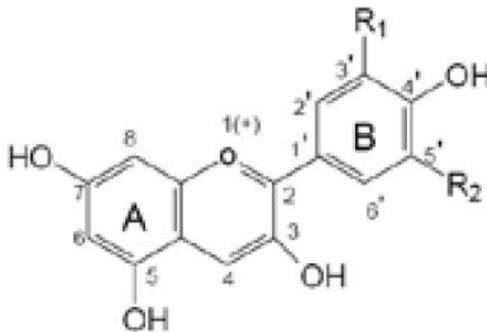
**Tabla 4**

Porcentaje de antocianinas en el grano y la coronta del maíz morado

Muestra	Antocianinas (mg de antocianinas/100g)	Rendimiento (%)
Coronta	610,998	79,47
Grano	51,935	6,75
Grano molido	768,839	20,53

Nota: "Risco", 2007

Estructura de la antocianina del maíz morado.



**Figura 4.** "Cuevas, Antezana, & Winterhalter", 2008

**Tabla 5**

Sustituyentes de las antocianinas del maíz morado

<b>Aglicona</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>
Petunidina	OH	OCH3
Malvidina	OCH3	OCH3
Pelargonidina	H	H
Delfinidina	OH	OH
Cianidina	OH	H
Peonidina	OCH3	H

**Nota:** “Cuevas, Antezana, & Winterhalter”, 2008

La cianidina protege la membrana celular de lípidos de la oxidación por una variedad de sustancias peligrosas. Es un antioxidante 4 veces más fuerte que la vitamina E (Wrolstad & Guisti, 2001, págs. 1-9).

Debido a su alta reactividad natural, las antocianinas son degradables rápidamente por interacciones con otros componentes existentes en el medio. Su color es fácilmente afectado por un número de reacciones que ocurren en los alimentos y el mayor problema se produce durante el almacenamiento debido a su inestabilidad causada por diversos factores ya mencionados anteriormente (Mayorga, 2010).

Algunos experimentos en animales han demostrado que la alimentación basada en suplementos con alto contenido de antocianinas previene efectivamente la inflamación y el subsecuente daño a vasos sanguíneos de los animales que los consuman. Esta habilidad antiinflamatoria de las antocianinas también ayuda contra las reacciones alérgicas en los animales insectívoros (Cuevas, Antezana, & Winterhalter, 2008).

## CAPÍTULO 3

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Población y muestra

La población son todos los tenebrios criados en el Eco Zoológico San Martín destinados a la alimentación de animales insectívoros. Son 800 pupas derivadas de 47 escarabajos productores. La muestra está conformada por 500 pupas de *Tenebrio molitor* distribuidos en 5 diferentes grupos de estudio.

En la presente investigación se utilizó el análisis estadístico ANOVA de una vía para todos los grupos comparados de *Tenebrio molitor*, donde  $p > 0,05$  no es significativo,  $p < 0,05$  es significativo y  $p < 0,01$  es muy significativo, empleando los programas STATISTIX 8.0 e INFOSTAT; y el análisis de Tukey al 5% para determinar el grupo que presenta diferencia significativa ante los demás, empleando el programa de software libre R.

Para el análisis multivariado de coordenadas principales se empleó el programa PAST 2.0, del cual se derivan los gráficos de componentes principales, de similitud entre grupos y clústers.

#### 3.2 Marco metodológico

##### 3.2.1 Condiciones de Bioterio

Para la crianza del *Tenebrio molitor* se establecieron 5 grupos de estudio, a los cuales se les aplicó dietas diferentes con variaciones del sustrato (Tabla 6).

Las condiciones del bioterio del Eco-Zoológico San Martín fueron: temperatura de 26 a 30° C, humedad del 80% en incubadora.

**Tabla 6**

Tratamientos para la crianza del Tenebrio molitor

Materiales	Dietas
15 Tupperware o cajas plásticas	<b>DIETA 1:</b> consiste en una mezcla de 100g de harina de maíz morado, 5g lechuga y 2g de maní.
Malla	<b>DIETA 2:</b> consiste en una mezcla 75g de harina de maíz morado y mezclar con 25 g de harina de trigo, 5g lechuga y 2g de maní.
Harina de maíz morado	<b>DIETA 3:</b> consiste en una mezcla 50g de harina de maíz morado y
Harina de trigo	mezclar con 50 g de harina de trigo, 5g lechuga y 2g de maní.
Lechuga como fuente de agua	<b>DIETA 4:</b> consiste en una mezcla 25g de harina de maíz morado y
Maní como fuente de grasa	mezclar con 75g de harina de trigo, 5g lechuga y 2g de maní.
Hojas de control	<b>DIETA 5:</b> Grupo control, consiste en una mezcla 100g harina de
	trigo, 5g lechuga y 2g de maní. Ésta dieta es la administrada
	regularmente a los tenebrios en el Eco Zoológico San Martín.

**Nota:** Tratamiento para la crianza, por T. Intriago y Y. Valencia

### 3.2.2 Análisis proximal

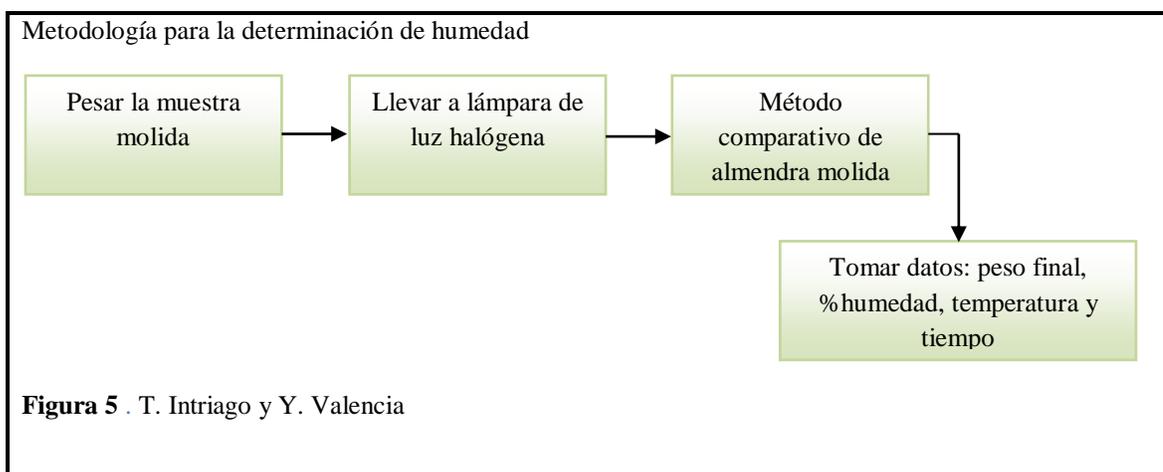
La harina de maíz morado y harina de trigo fueron compradas en el mismo lugar, del mismo costal, se homogenizó y se separó la muestra para los análisis.

Para realizar el análisis proximal del Tenebrio molitor y harina de maíz morado (*Zea mays*) se utilizaron los métodos descritos por el INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización)

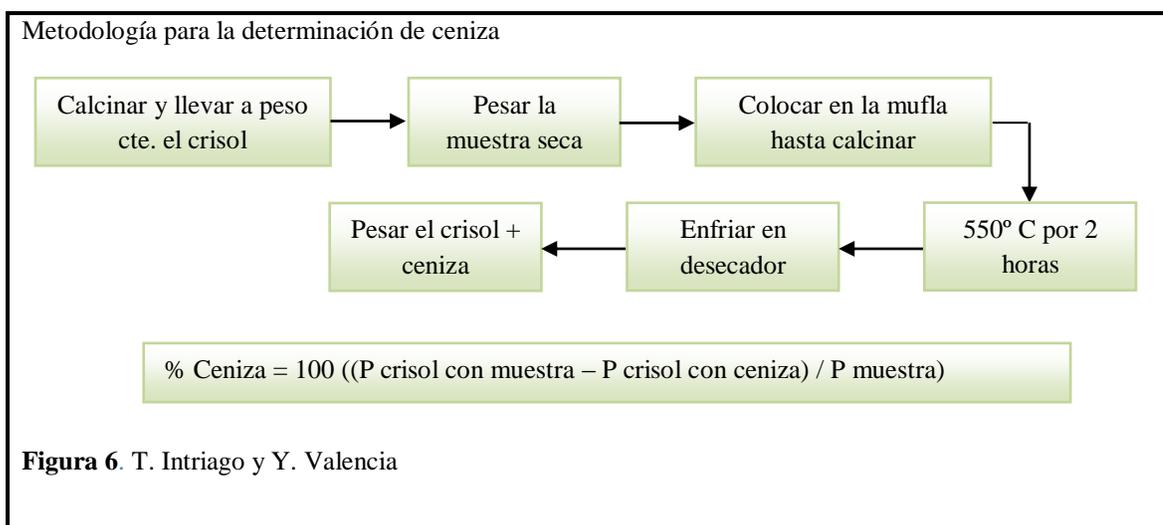
### 3.2.2.1 Humedad y cenizas

Humedad y cenizas totales mediante secado en termobalanza basada en la Norma INEN 518 y 520 (INEN, 1995).

El método para la determinación de la humedad se basa en evaporar de manera continua la humedad de la muestra y el registro continuo de la pérdida de peso, hasta que la muestra se sitúe a peso constante. El error de pesada en este método es mínimo ya que la muestra no es expuesta constantemente al ambiente.



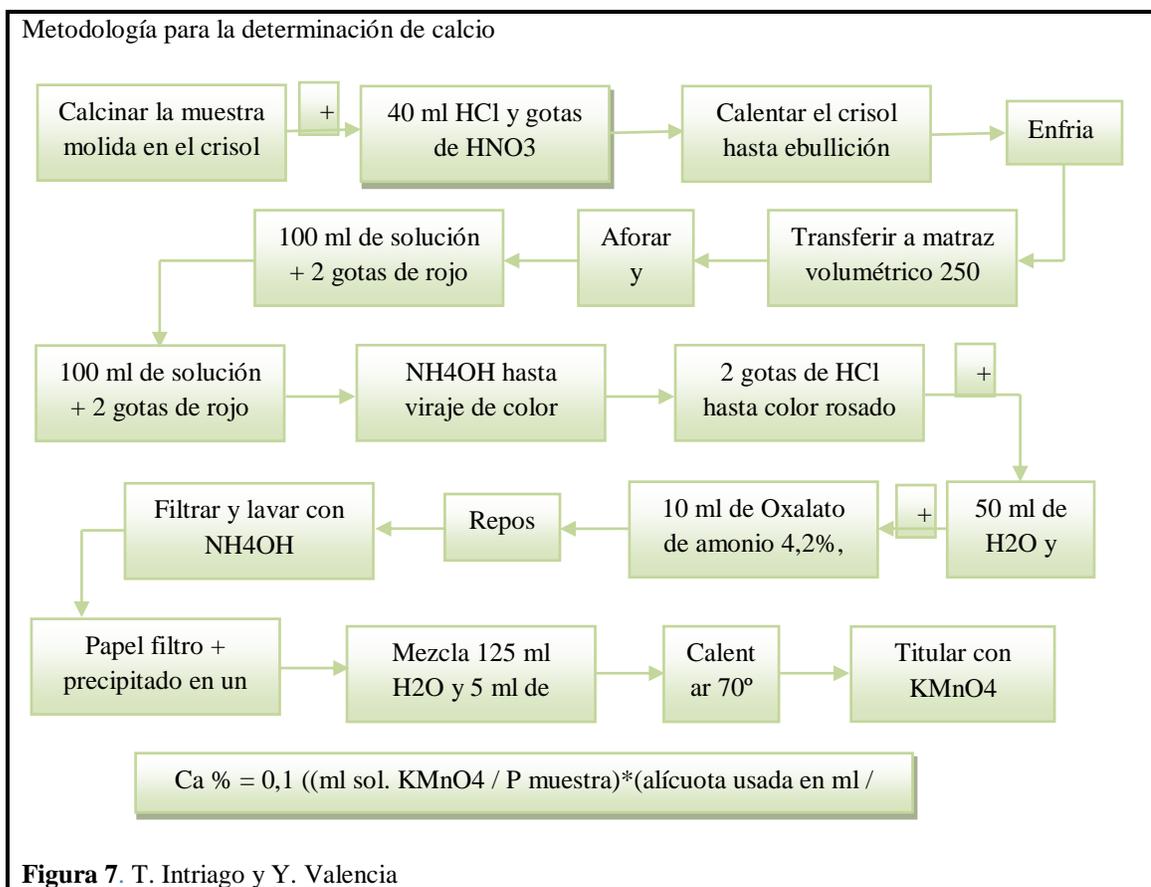
En cuanto al método de determinación de cenizas toda la materia orgánica se oxida en ausencia de flama a una temperatura que fluctúa entre los 550 -600°C; el material inorgánico que no se volatiliza a esta temperatura se conoce como ceniza (López, 2011).



### 3.2.2.2 Calcio

Calcio mediante el método de titulación con permanganato de Potasio, Norma INEN 546 (INEN, 1981).

El Calcio se precipita a pH 4 como oxalato (si hay fosfato presente se puede eliminar con ácido acético), posteriormente el oxalato se disuelve en ácido sulfúrico liberando ácido oxálico el cual se titula con una solución valorada de permanganato de potasio (López, 2011).



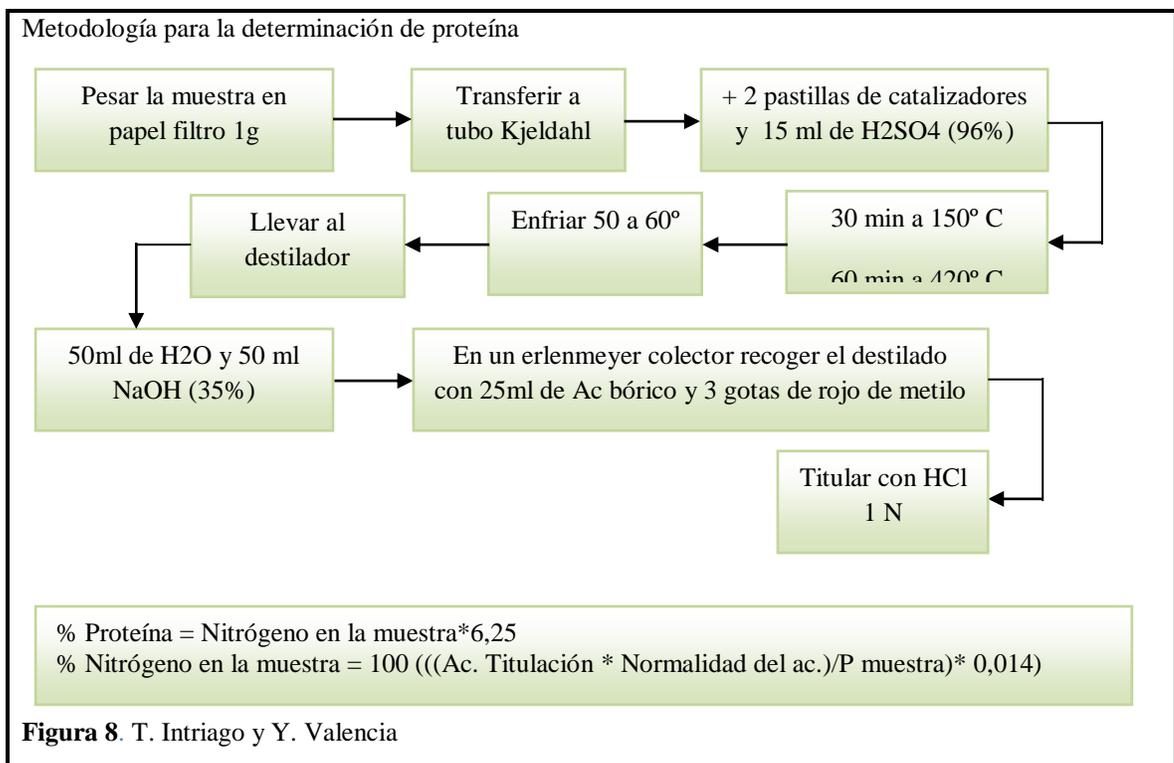
### 3.2.2.3 Proteína

Proteína mediante el método Kjeldahl (AOAC, “Official methods of analysis”, method 978.04).

El método se basa en la determinación de la cantidad de Nitrógeno orgánico contenido en productos alimentarios, compromete dos pasos consecutivos:

a) La descomposición de la materia orgánica bajo calentamiento en presencia de ácido sulfúrico concentrado.

b) El registro de la cantidad de amoniaco obtenida de la muestra (López, 2011).

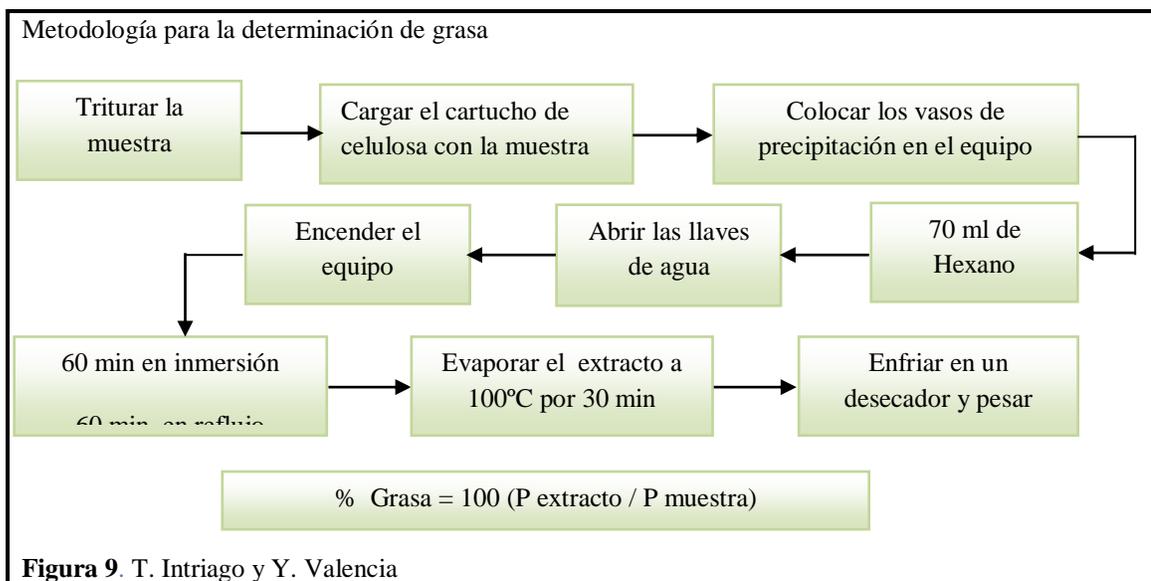


### 3.2.2.4 Grasa

Grasa mediante el método Soxhlet (Method 4, Velp Scientifica SER-148 manual).

El método Soxhlet es un método de extracción sólido-líquido cuyo objetivo es determinar la concentración de la materia grasa cruda o extracto etéreo libre del material vegetal (alimento). El solvente debe ser apolar para que disuelva la grasa y de bajo punto de ebullición para su posterior evaporación.

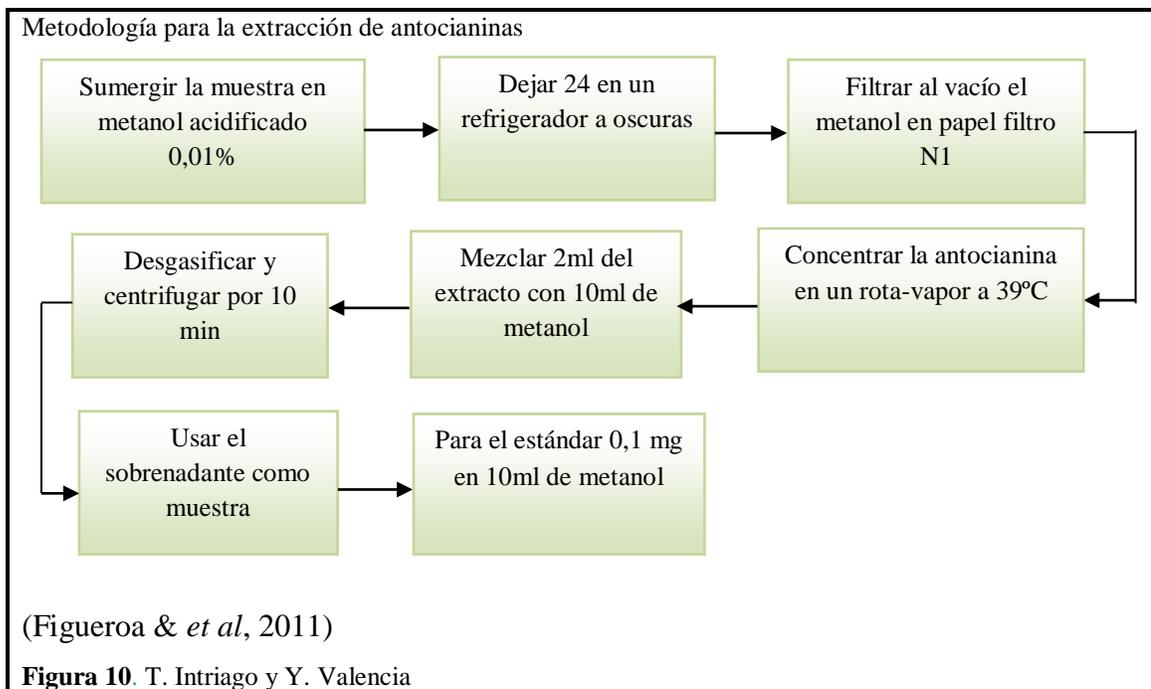
Las etapas del método soxhlet comprenden los procesos físicos de: vaporización, condensación, extracción de la grasa y evacuación.



### 3.2.3 Concentración de antocianinas

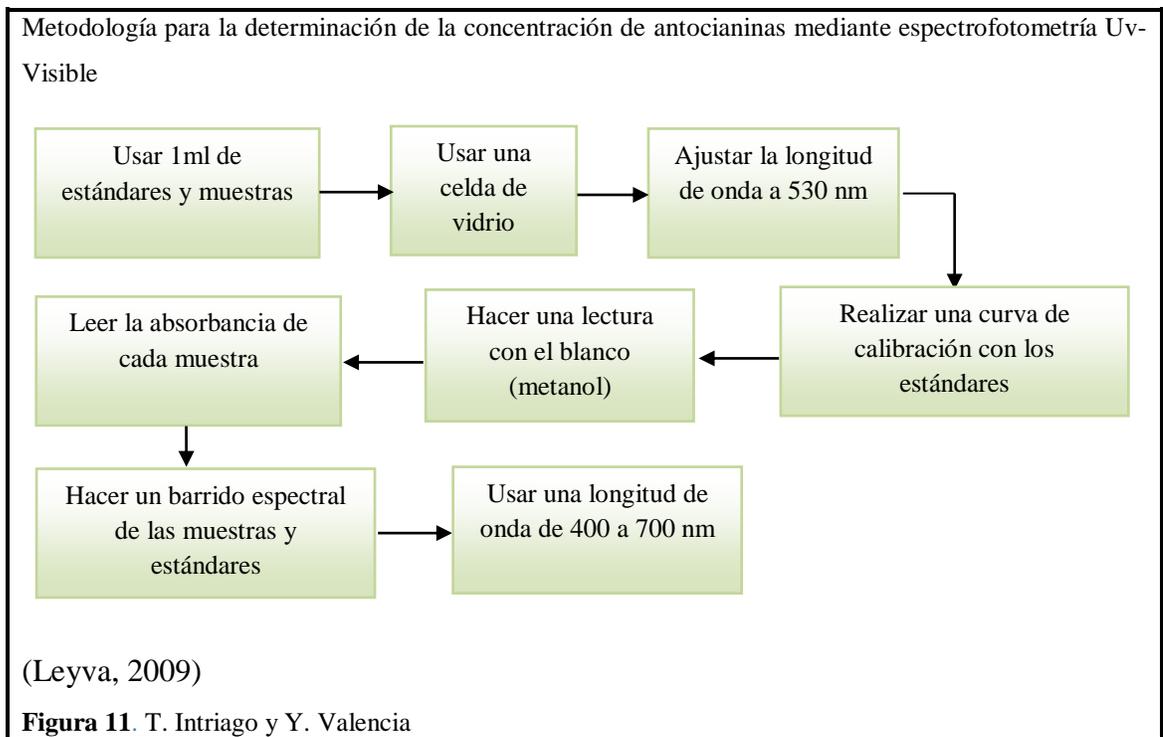
Como estándar se utilizó la Cianidin-3-glucoside chloride (PhytoPlan) (Anexo 3).

### 3.2.3.1 Extracción



### 3.2.3.2 Determinación de la concentración de antocianinas en *Tenebrio molitor* y maíz morado mediante espectrofotometría Uv-Visible

La espectrofotometría de absorción UV-VISIBLE es una de las técnicas de análisis cuantitativo más utilizadas y se basa en la cantidad de radiación UV-VISIBLE absorbida por el analito (muestra).



Para el cálculo se utiliza la ley de BEER en donde se relaciona la absorbancia con la concentración.  $A = \epsilon bC$  donde la constante  $\epsilon$  recibe el nombre de absortividad molar, cuando la concentración se expresa en moles/litro y el camino óptico,  $b$ , en centímetros.

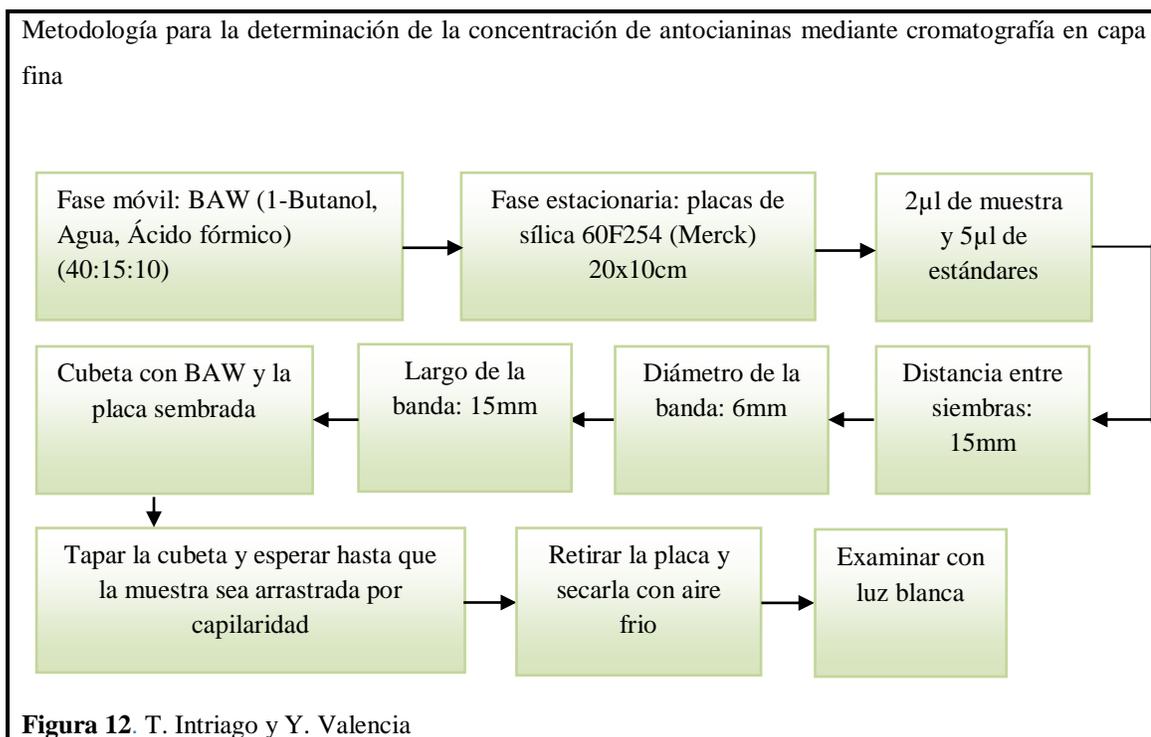
“La absortividad es una propiedad característica de la sustancia absorbente y depende de la longitud de onda” (González & Hernández, 2002, pág. 47). Para el análisis espectrofotométrico de antocianinas se selecciona una longitud de onda de 500-550 nm (Hasegawa, Masahisa, & Deanna, 2002).

### 3.2.3.3 Determinación de la concentración de antocianinas en *Tenebrio molitor* y maíz morado mediante cromatografía en capa fina

La cromatografía en capa fina (TLC) es una de las técnicas más usadas para identificación de pigmentos vegetales, utiliza como fase estacionaria un adsorbente sólido colocado sobre un soporte plano (placa de sílica) y como fase móvil, un disolvente orgánico o una mezcla de ellos (BAW 40:15:10). La muestra líquida o disuelta en un disolvente volátil se aplica

como una mancha o gota sobre la fase estacionaria. Paralelamente se aplica el estándar (analito puro de concentración conocida) (CAMAG, 2007).

El borde inferior de la placa se sumerge en una cámara que contiene la fase móvil, el que migra por capilaridad a través de la placa arrastrando la muestra. Cuando el disolvente alcanza las 3/4 partes de la fase estacionaria, la placa se remueve, se seca en frío y se lleva a la cámara de luz UV-VIS (CAMAG, 2007).

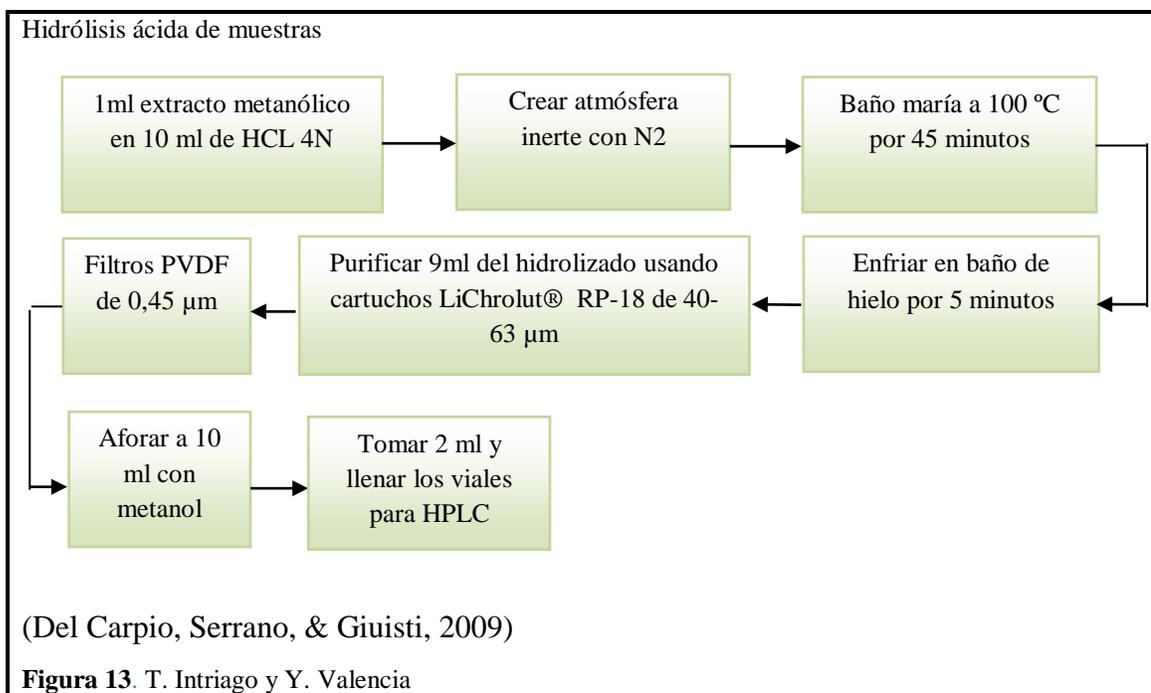


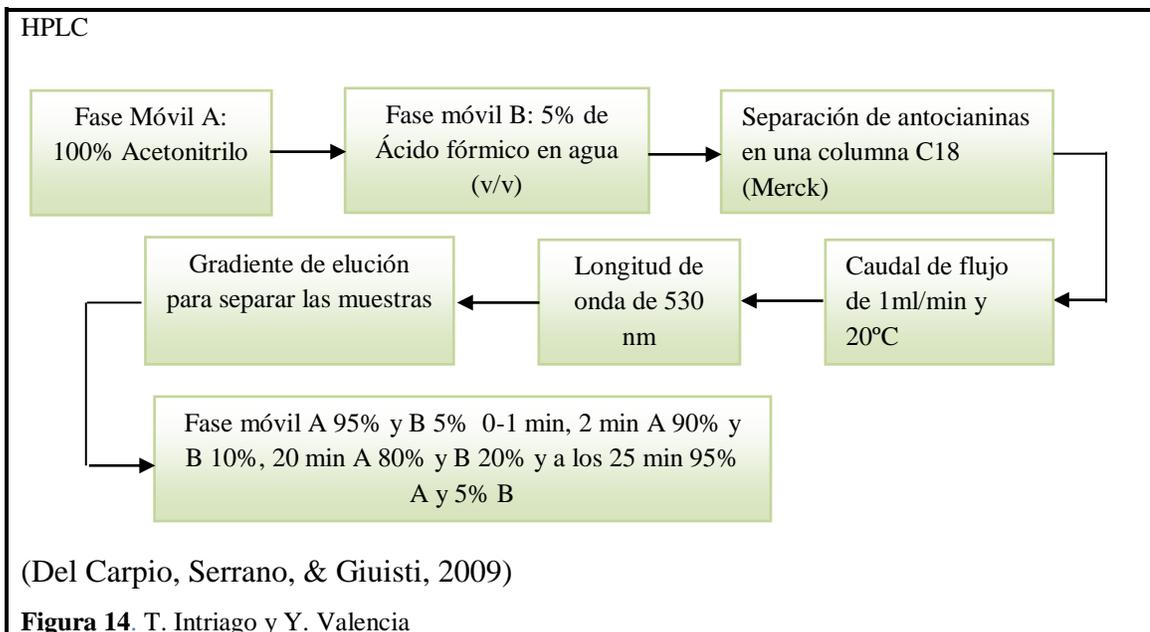
Un analito se caracteriza por su  $R_f$ , que es la relación entre la distancia recorrida por el analito ( $R_{\text{analito}}$ ) y la distancia de migración del disolvente ( $R_{\text{solvente}}$ ) en la placa. ( $R_f = R_{\text{analito}}/R_{\text{solvente}}$ ) (Ronco & Garrido, 2005).

### 3.2.3.4 Determinación de la concentración de antocianinas en Tenebrio molitor y maíz morado mediante HPLC en fase reversa

Una cromatografía se realiza permitiendo que la mezcla de moléculas que se desea separar (muestra) interaccione con un medio o matriz de soporte (fase estacionaria), un segundo medio (la fase móvil) que es inmisible con la fase estacionaria se hace fluir a través de ésta para "lavar" (eluir) a las moléculas en la muestra según su polaridad.

La fase reversa emplea dos fases móviles (Acetonitrilo y solución de Ácido fórmico) y una estacionaria (columna C18) en la cual se retendrán las moléculas menos polares mientras que en la fase móvil seguirán circulando las moléculas más polares, generándose así la separación de los compuestos de interés (Yúfera, 1995).





## CAPÍTULO 4

### RESULTADOS

#### 4.1 Peso y longitud (Anexo 4)

**Tabla 7**  
ANOVA de una vía para peso (mg)

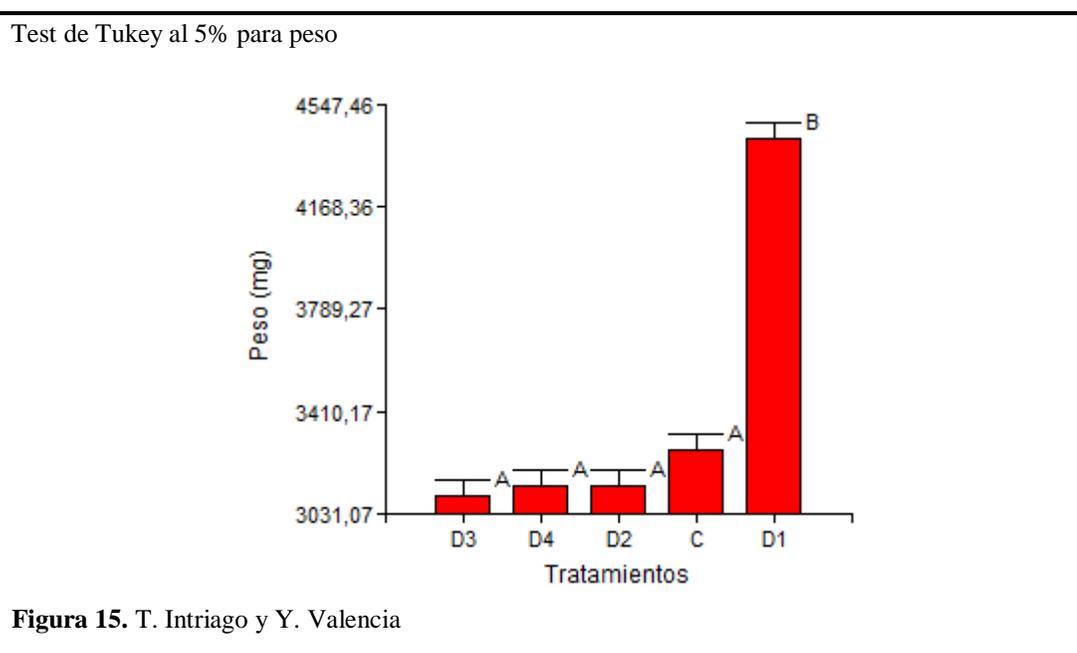
dieta1	dieta2	dieta3	dieta4	control	F	P
4421,67±186,97	3133,33±234,06	3100±202,70	3233,33±117,03	3266,67±117,03	121	0.00

**Nota:** T. Intriago y Y. Valencia

**Tabla 8**  
Test de Tukey al 5% para peso

	Control	Dieta1	Dieta2	Dieta3	Dieta4
Peso	"a"	"b"	"a"	"a"	"a"

**Nota:** T. Intriago y Y. Valencia



**Tabla 9**

ANOVA de una vía para longitud (mm)

dieta1	dieta2	dieta3	dieta4	control	F	P
28±0,84	28±0,52	27±0,77	27±0,15	27,5±1,02	9.96	0.0016

**Nota:** T. Intriago y Y. Valencia

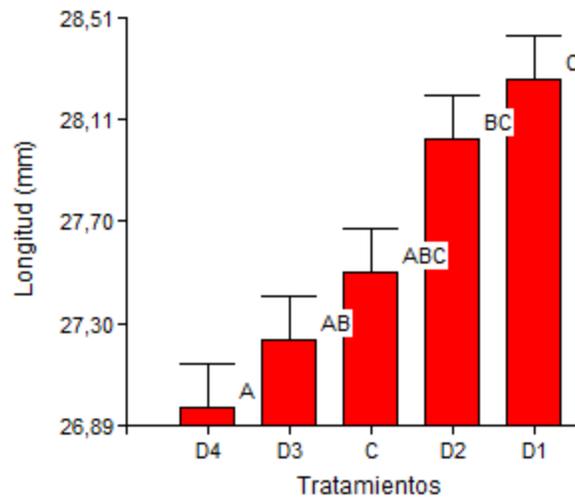
**Tabla 10**

Test de Tukey al 5% para longitud

	Control	Dieta1	Dieta2	Dieta3	Dieta4
Longitud	“ac”	“c”	“bc”	“ab”	“a”

**Nota:** T. Intriago y Y. Valencia

Test de Tukey al 5% para longitud



**Figura 16.** T. Intriago y Y. Valencia

Según el análisis de ANOVA de una vía se acepta la hipótesis alternativa ( $p < 0,01$ ); es decir que las dietas enriquecidas generan un cambio significativo en las variables de peso y longitud de *Tenebrio molitor*; se aplicó la prueba de Tukey al 5% (Anexo 5 y 6) para discriminar el tratamiento o los tratamientos que marcan la mayor diferencia entre sí, siendo en este caso la Dieta 1 que presentó mayor peso y longitud (100% maíz morado) seguido de la dieta 2, control, dieta 3 y dieta 4 en longitud, mientras que en peso no hay variabilidad en el resto de dietas.

## 4.2 Análisis bromatológico I del *Tenebrio molitor*

### 4.2.1 Humedad (Anexo 7)

**Tabla 11**

Porcentaje de humedad de *Tenebrio molitor*

DIETAS	HUMEDAD (%)	MEDIA % HUMEDAD	VALOR REFERENCIA
<b>dieta 1</b>	50,54	50,54	max 58,02 %
	50,52		
	50,56		
<b>dieta 2</b>	51,03	51,03	max 58,02 %
	51,01		
	51,05		
<b>dieta 3</b>	47,82	47,92	max 58,02 %
	48,01		
	47,94		
<b>dieta 4</b>	47,95	47,91	max 58,02 %
	47,87		
	47,90		
<b>control</b>	50,07	50,09	max 58,02 %
	50,09		
	50,11		

**Nota:** T. Intriago y Y. Valencia

Comparando los resultados obtenidos con el artículo publicado por (Soto, 2003) determinamos que en la dieta 3 y 4 existe un menor porcentaje de humedad.

**Tabla 12**

**ANOVA de una vía para humedad (%)**

dieta1	dieta2	dieta3	dieta4	control	F	P
50,54±2,49	51,03±2,49	47,94±2,53	47,91±2,50	50,09±2,49	2733	0.00

**Nota:** T. Intriago y Y. Valencia

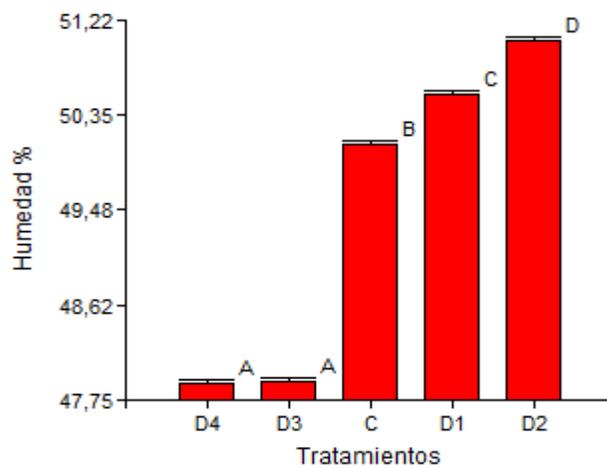
**Tabla 13**

**Test de Tukey al 5% para humedad**

Control	Dieta1	Dieta2	Dieta3	Dieta4
"b"	"c"	"d"	"a"	"a"

**Nota:** T. Intriago y Y. Valencia

Test de Tukey al 5% para humedad



**Figura 17.** T. Intriago y Y. Valencia

Según el análisis de ANOVA de una vía se acepta la hipótesis alternativa ( $p < 0,01$ ); es decir que las dietas enriquecidas generan un cambio significativo en el contenido de humedad de Tenebrio molitor; se aplicó la prueba de Tukey al 5% (Anexo 8), para discriminar el tratamiento o los tratamientos que marcan la mayor diferencia entre sí, siendo la Dieta 2 la que presenta la mayor diferencia, seguida de la Dieta 1 y del Control; dieta 3 y 4 no presentan significancia entre ellas.

#### 4.2.2 Cenizas (Anexo 7)

**Tabla 14**  
**Porcentaje de cenizas en Tenebrio Molitor**

DIETAS	% CENIZAS	MEDIA % CENIZAS	VALOR REFERENCIA
<b>DIETA 1</b>	1,4464	1,3163	max 1,5%
	1,3843		
	1,1181		
<b>DIETA 2</b>	1,4945	1,3878	max 1,5%
	1,3701		
	1,2988		
<b>DIETA 3</b>	1,5277	1,3718	max 1,5%
	1,0599		
	1,5279		
<b>DIETA 4</b>	1,6309	1,5210	max 1,5%
	1,2298		
	1,7022		
<b>CONTROL</b>	1,2856	1,1886	max 1,5%
	1,1093		
	1,1709		

**Nota:** T. Intriago y Y. Valencia

Comparando los resultados obtenidos con el artículo publicado por (Soto, 2003) determinamos que dichos resultados se aproximan al valor de referencia.

**Tabla 15**

ANOVA de una vía para ceniza (%)

dieta1	dieta2	dieta3	dieta4	Control	F	P
1,3163±0,35	1,3878±0,20	1,3718±0,55	1,5210±0,52	1,1886±0,18	1.17	0.3803

Nota: T. Intriago y Y. Valencia

Según el análisis de ANOVA de una vía se acepta la hipótesis nula ( $p > 0,05$ ); es decir que las dietas enriquecidas no generan un cambio significativo en el contenido de cenizas de Tenebrio molitor. No se aplica de test de Tukey al 5% debido a que no hay significancia.

### 4.3 Análisis bromatológico II del Tenebrio molitor (Anexo 9)

#### 4.3.1 Calcio

**Tabla 16**

Porcentaje de calcio en Tenebrio molitor

DIETAS	CALCIO (%)	MEDIA	VALOR REFERENCIA
<b>Dieta 1</b>	10,8050	10,7924	max 57,37%
	12,5979		
	8,9742		
<b>Dieta 2</b>	9,0310	10,2237	max 57,37%
	10,8245		
	10,8157		
<b>Dieta 3</b>	10,7614	12,5363	max 57,37%
	12,4978		
	14,3498		
<b>Dieta 4</b>	18,1192	15,0799	max 57,37%
	16,2411		
	10,8794		
<b>Control</b>	17,8396	17,2855	max 57,37%
	17,9827		
	16,0342		

Nota: T. Intriago y Y. Valencia

Comparando los resultados obtenidos con el artículo publicado por (Soto, 2003) determinamos que dichos resultados son demasiado bajos en relación al valor de referencia para calcio.

**Tabla 17**  
ANOVA de una vía para calcio (%)

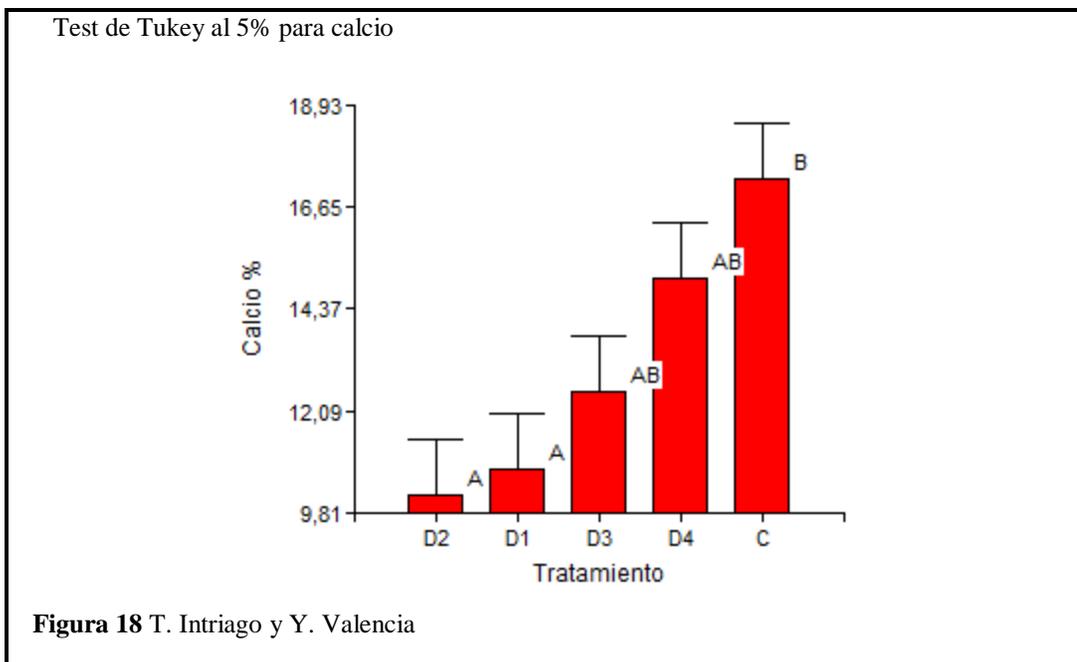
dieta1	dieta2	dieta3	dieta4	control	F	P
10,7924±3,67	10,2237±2,09	12,5363±3,64	15,0799±7,62	17,2855±2,20	5.78	0.0112

**Nota:** T. Intriago y Y. Valencia

**Tabla 18**  
Test de Tukey al 5% para calcio

Control	Dieta1	Dieta2	Dieta3	Dieta4
"b"	"a"	"a"	"ab"	"ab"

**Nota:** T. Intriago y Y. Valencia



Según el análisis de ANOVA de una vía se acepta la hipótesis alternativa ( $p < 0,05$ ); es decir que las dietas enriquecidas generan un cambio significativo en el contenido de calcio de *Tenebrio molitor*; se aplicó la prueba de Tukey al 5% (Anexo 10) para discriminar el tratamiento o los tratamientos que marcan la mayor diferencia entre sí, siendo el Control la que presenta la mayor diferencia.

#### 4.3.2 Grasa (Anexo 9)

**Tabla 19**

**Porcentaje de grasa en tenebrio molitor**

DIETAS	GRASAS (%)	MEDIA	VALOR REFERENCIA
<b>Dieta 1</b>	4,6086	5,35	max 16%
	6,1743		
	5,2525		
<b>Dieta 2</b>	6,0403	5,76	max 16%
	4,0870		
	7,1591		
<b>Dieta 3</b>	4,9149	5,71	max 16%
	6,1308		
	6,0748		
<b>Dieta 4</b>	5,5443	6,10	max 16%
	7,3032		
	5,4420		
<b>Control</b>	7,0262	6,17	max 16%
	5,7516		
	5,7388		

**Nota:** T. Intriago y Y. Valencia

Comparando los resultados obtenidos con el artículo publicado por (Soto, 2003) determinamos que dichos resultados son menores en relación al valor de referencia para grasa.

**Tabla 20****ANOVA de una vía para grasa (%)**

<b>dieta1</b>	<b>dieta2</b>	<b>dieta3</b>	<b>dieta4</b>	<b>control</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
5,3451±1,60	5,7621±3,15	5,7068±1,39	6,0965±2,12	6,1722±1,50	0.32	0.8570

**Nota:** T. Intriago y Y. Valencia

Según el análisis de ANOVA de una vía se acepta la hipótesis nula ( $p>0,05$ ); es decir que las dietas enriquecidas no generan un cambio significativo en el contenido de grasa de *Tenebrio molitor*.

#### 4.3.3 Proteína (Anexo 9)

**Tabla 21****Porcentaje de proteína para *Tenebrio molitor***

<b>DIETAS</b>	<b>PROTEINAS (%)</b>	<b>MEDIA % PROTEINAS</b>	<b>VALOR REFERENCIA</b>
<b>Dieta 1</b>	33,8487	32,8701	max 20,23%
	32,8407		
	31,9210		
<b>Dieta 2</b>	20,1179	19,9407	max 20,23%
	20,4908		
	19,7635		
<b>Dieta 3</b>	16,2334	16,6508	max 20,23%
	16,9932		
	17,0682		
<b>Dieta 4</b>	16,9382	15,2526	max 20,23%
	14,4324		
	13,5669		
<b>Control</b>	17,3666	16,9808	max 20,23%
	17,3574		
	16,5950		

**Nota:** T. Intriago y Y. Valencia

Comparando los resultados obtenidos con el artículo publicado por (Soto, 2003) determinamos que la dieta 1 es la única que se sale de los parámetros para proteína, mientras que el resto de dietas están en relación al valor de referencia para proteína.

**Tabla 22**

**ANOVA de una vía para proteína (%)**

dieta1	dieta2	dieta3	dieta4	control	F	P
32,8701±1,95	19,9407±0,87	16,7649±0,94	14,9792±3,55	17,1063±0,90	177	0.00

**Nota:** T. Intriago y Y. Valencia

**Tabla 23**

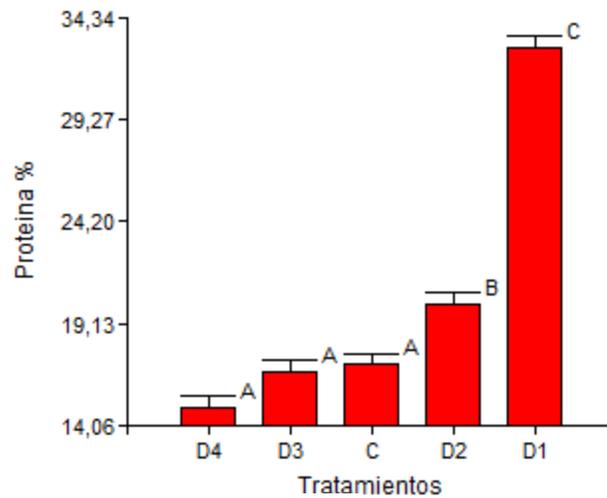
**Test de Tukey al 5% para proteína**

**Tabla 23.** Test de Tukey al 5% para proteína

Control	Dieta1	Dieta2	Dieta3	Dieta4
"a"	"c"	"b"	"a"	"a"

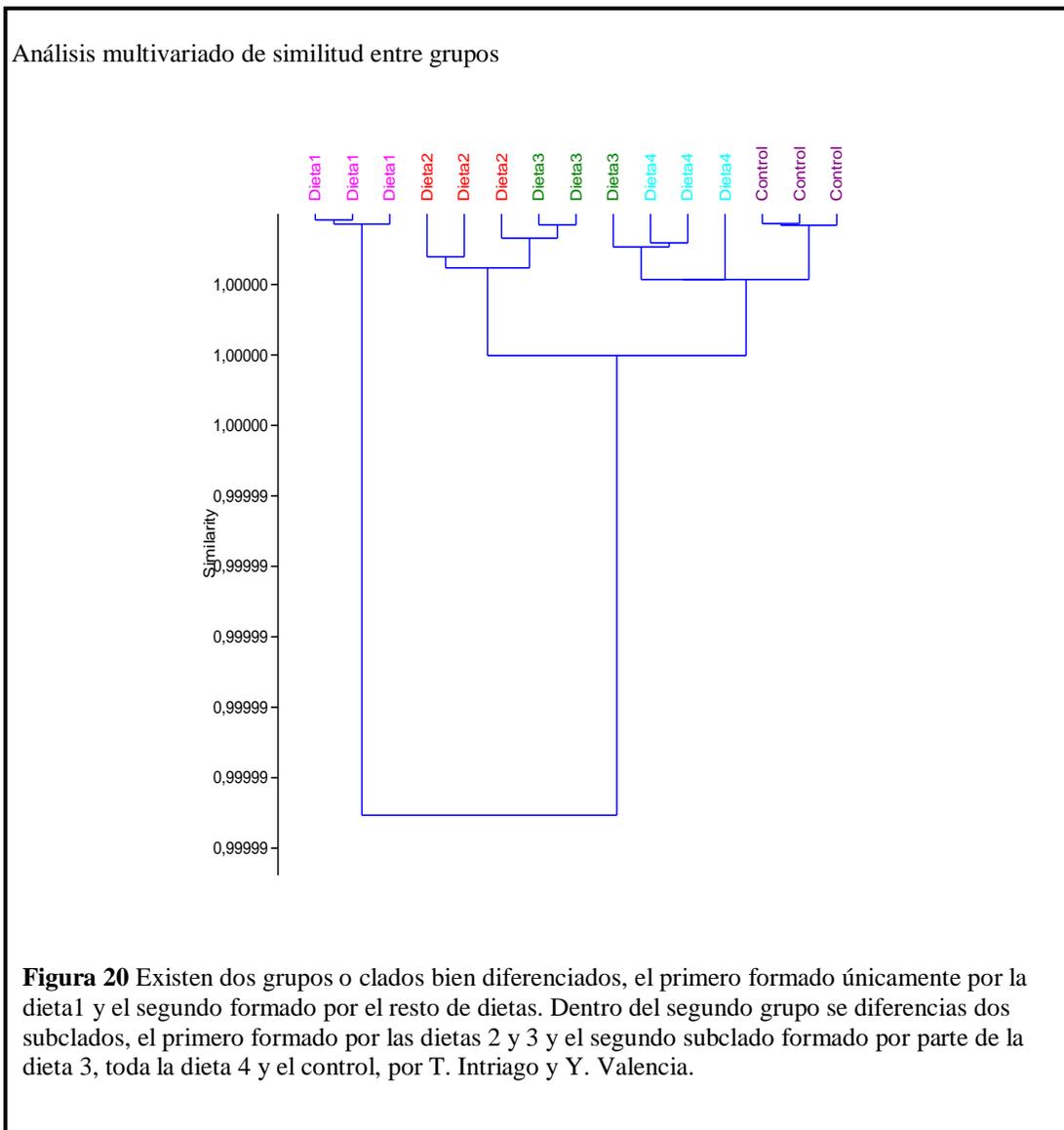
**Nota:** T. Intriago y Y. Valencia

Test de Tukey al 5% para proteína



**Figura 19.** T. Intriago y Y. Valencia

Según el análisis de ANOVA de una vía se acepta la hipótesis alternativa ( $p < 0,01$ ); es decir que las dietas enriquecidas generan un cambio significativo en el contenido de proteína de *Tenebrio molitor*; se aplicó la prueba de Tukey al 5% (Anexo 11) para discriminar el tratamiento o los tratamientos que marcan la mayor diferencia entre sí, siendo las dietas 2 y 1 las que presenta la mayor diferencia, mientras que en el control, dieta 3 y 4 no se observa significancia entre ellas.



#### **4.4 Análisis de asimilación de antocianina en Tenebrio molitor (Anexo 12)**

##### **4.4.1 Mediante técnica TLC**

Al revelar la cromatoplaça se evidenció que solo se presentó dispersión de la mancha en las muestras de las harinas utilizadas en cada una de las dietas pero no en los tenebrios alimentados con dichas dietas (Anexo 13).

##### **4.4.2 Mediante espectrofotometría UV-VIS**

Se realizó la curva de calibración (Anexo 14) con los estándares y un barrido espectral (Anexo 15) para identificar los máximos de absorción de luz y después se procedió a leer las absorbancias para cada una de las muestras a 530nm; dando como resultado absorbancias para todas las muestras.

##### **4.4.3 Mediante HPLC**

Al analizar las muestras en HPLC se obtuvieron los picos cromatográficos de los cuales se analizaron los tiempos de retención y el área bajo la curva (Anexo 16 y 17), dando como resultado que todas las dietas presentan antocianina excepto la dieta control.

Según la tabla 24 no se obtuvieron picos de antocianina para las dietas 4 y 5. Se calculó la concentración de antocianinas para cada una de las dietas, obteniéndose 10,34 ppm para la dieta 1; 7,76 ppm para la dieta 2 y 0,57 ppm para la dieta 3.

**Tabla 24****Concentración antocianinas HPLC-DAD**

<b>Harina morada</b>	2567,90	ppm
	25,68	mg antocianinas
	100396,00	mg muestra
	255,78	ppm (mg/Kg)
<b>Dieta 1</b>	5,18	Ppm
	0,05	mg antocianinas
	5007,10	mg muestra
	10,34	ppm (mg/Kg)
<b>Dieta 2</b>	3,90	Ppm
	0,04	mg antocianinas
	5028,10	mg muestra
	7,76	ppm (mg/Kg)
<b>Dieta 3</b>	0,28	Ppm
	0,00	mg antocianinas
	5032,50	mg muestra
	0,57	ppm (mg/Kg)

**Nota:** T. Intriago y Y. Valencia

#### 4.5 Mortalidad de *Tenebrio molitor* en bioterio

Según las tablas de mortalidad (Anexo 18 y 19) la etapa de interés (larvaria) presenta variaciones en el porcentaje de mortalidad, siendo así que la dieta control es la que menos mortalidad presenta.

## CONCLUSIONES

- El valor nutricional varía según la dieta y la variable que se analice; en la dieta 1 (100% harina de maíz morado) se presentó mayor peso, longitud, contenido de proteína y antocianina; la dieta 2 (75% maíz morado) presentó mayor humedad pero menor contenido de proteína y antocianina que la dieta 1; todo lo contrario sucedió con la dieta 4 (25% maíz morado) y control (100% harina blanca) pues los valores de proteína y antocianina son mínimos mientras que la cantidad de calcio es más elevada.
- Según los resultados obtenidos se comprueba que los tenebrios alimentados a base de 100% de harina de maíz morado (dieta 1) obtienen mejoras en su valor nutricional y alcanzan mejores características morfológicas de peso y longitud.
- Se evidenció que los tenebrios alimentados con dieta 100% a base de maíz morado redujeron su ciclo de vida, de larva a escarabajo a solo 14 semanas.
- Todas las dietas que contienen harina de maíz morado presentan mayor porcentaje de mortalidad debido a que la harina de maíz morado se compacta reduciendo la movilidad de las larvas.
- El TLC o CCF no es una técnica sensible para la identificación de antocianinas en *Tenebrio molitor* debido a las bajas concentraciones de pigmento asimiladas por las larvas.
- Mediante la técnica de HPLC se logró determinar que la concentración de antocianinas en ppm según la dieta empleada en la crianza del *Tenebrio molitor* fue de 10,34 ppm en la dieta 1 (100% harina de maíz morado); 7,76 ppm en la dieta 2 (75% harina de maíz morado); 0,57 ppm en la dieta 3 (50% harina de maíz morado) y 0 ppm en la dieta 4 (25% harina de maíz morado) y control (100% harina blanca).

- Empleando el análisis multivariado de coordenadas principales se concluye que las dietas que presentan más del 75% de harina de maíz morado (dieta 1 y 2) se asemejan entre sí por las variables de peso, longitud, cantidad de proteína y antocianina; mientras que difieren del resto de dietas por el contenido de grasa y calcio.

## RECOMENDACIONES

- En futuras investigaciones se recomienda analizar las variables que se desean mejorar en las larvas de *Tenebrio molitor* antes de establecer la dieta ideal para la crianza.
- En el caso de emplear dietas con cantidades elevadas de harina de maíz morado en la crianza de las larvas se recomienda realizar movimientos constantes de la harina para mejorar la movilidad de las larvas y evitar los altos índices de mortalidad.
- Las variables de proteína y contenido de antocianina representan mayor importancia en la nutrición de animales insectívoros por lo cual en futuros trabajos con *Tenebrio molitor* se recomienda el empleo de dietas con una cantidad mayor al 50% de harina de maíz morado.
- Para futuras investigaciones se recomienda que al momento de utilizar los equipos con programas preestablecidos se debe encontrar una técnica que se ajuste a las condiciones del alimento o materia prima que se va a analizar, pues en el caso del *Tenebrio molitor* se utilizó la técnica de semillas y nueces para la determinación de grasa.
- Al trabajar en laboratorio con pigmentos sensibles a la luz se lo debe hacer bajo condiciones de oscuridad para evitar la alteración de las moléculas del pigmento y de esta manera obtener buenos resultados en los equipos cromatográficos.
- El uso de *Tenebrio molitor* como alimento funcional se proyecta como una alternativa interesante no solo para animales insectívoros sino también como complemento en la alimentación humana.

## LISTA DE REFERENCIAS

- Almeida, J. (2012). Extracción y caracterización del colorante natural del maíz negro (*Zea mays* L.) y determinación de su actividad antioxidante. Quito, Pichincha, Ecuador: Escuela Politécnica del Ejército.
- Balbi, C., García, P., Ferrero, A., & Bonilla, J. (2006). Calidad de diferentes híbridos de maíz colorado o flint para industria en la provincia de Corrientes. *Comunicaciones científicas*, A-034.
- Barrientos, J., & Abelló, P. (2004). *Curso Práctico de Entomología*. Barcelona: Servei de Publicacions.
- Barrientos, L., (2009). Riqueza de maíces en el occidente de México. *La Gaceta. Universidad de Guadalajara*.
- CAMAG, L., (19 de Marzo de 2007). *HPLC detection of the azo dye amaranth as an adulterant of Bilberry extract*.
- Carrera, J., (2008). Los colores del maíz. *Red de semillas*, 56.
- Carvajal, E. & Cinturia, L., (2011). *Diseño e implementación de los sistemas de producción de proteína animal viva (Bioterio) en el Ecozoológico San Martín, Baños-Ecuador*. Baños: Ecozoológico San Martín.
- Chávez, A., (2000). Maíz morado peruano. *Instituto Nacional de Investigación Agraria*, 20.
- Cuevas, E., Antezana, A., & Winterhalter, P., (2008). ANÁLISIS Y CARACTERIZACIÓN DE ANTOCIANINAS EN DIFERENTES. *Red Alfa Lagrotech*. Cartagena: Comunidad Europea.
- Damborsky, M., Sandrino-Ybran. T., B. M., & Oscherov, E., (1998). Ciclo de vida de *Tenebrio molitor* (Coleoptera), Tenebrionidae. Corrientes-Argentina: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.
- Del Carpio, C., Serrano, C., & Giusti, M., (2009). Caracterización de las antocianinas de los frutos de *Berberis boliviana* Lechler. *Sociedad Química del Perú*, 3.
- Figueroa, R., & *et al.*, (2011). Actividad antioxidante de antocianinas presentes presentes en cascara de pitahaya (*Hylocereus undatus*). *Revista Iber. Tecnología Postcosecha Vol 12*, 44-50.

Fuentes, B. (21 de 12 de 2012). Uso de tenebrio en la alimentacion de animales silvestres. Chapingo: Dpto. de Zootecnica.

Gonzales, C. & Hernández, C. (2002). Introducción al análisis instrumental. Barcelona: Ariel S.A.

Halloran, A., & Vantomme, P. (Abril de 2013). *FAO*. Recuperado el 27 de Enero de 2014, de [www.fao.org/docrep/018/i3264s/i3264s00.pdf](http://www.fao.org/docrep/018/i3264s/i3264s00.pdf)

Hasegawa., M. M. (2002). Fitoquímica orgánica. Venezuela: Torino.

IICA. (1972). *Curso de comercialización y manejo de granos para técnicos del Ministerio de la Producción del Ecuador*. Quito.

INEN. (1981). *Calcio mediante el método de titulación con permanganato de Potasio*. Quito.

INEN. (1995). Determinación de la pérdida por calentamiento. *Instituto Ecuatoriano de Normalización* .

León, J. (1987). *Botànica de los cultivos tropicales. Gramineas, cereales, maiz*. Costa Rica: IICA.

Leyva, D. (2009). Determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y frutos de mora.

Lizano, A. L. (Diciembre de 2012). Efecto del proceso de fritura en el contenido de antocianinas en empanas elaboradas con mezclas de harina de trigo-maiz morado (*Zea mays* L.). Quito, Pichincha, Ecuador: Universidad San Francisco de Quito.

López, A. (2011). *Técnicas de Análisis instrumental I*.

Manrique, A. (2000). Maíz morado peruano . *Instituto Nacional de Investigación Agraria* , 5,6.

Mayorga., V. (2010). Estudio de las propiedades reológicas y funcionales del maiz nativo "Racimo de uva" (*Zea mays*). Ambato, Tungurahua, Ecuador: Universidad Tecnica de Ambato.

Moreno, A. A. (2005). *Entomologia Agraria*.

Moret, P. (2005). *Los coleópteros Carabidae del páramo en los Andes del Ecuador, Sistemática, Ecología y Biogeografía*. Italia: Gruppo Editoriale il capitulo.

Murias, A., (2010). FIS El salvador (Fish information and services) *Insectos, una posible fuente de proteína para alimentos acuícolas*. Recuperado el 27 de enero de 2014

de

<http://fislatino.com/fis/worldnews/worldnews.asp?monthyear=42010&day=8&id=36129&l=s&country=0&special=aquaculture&ndb=1&df=0>

Noroña, J. (2008). Caracterización y evaluación agromorfológica de 64 accesiones de maíz negro y 27 de maíz chulpi (*Zea mays*), colectadas en la serranía del Ecuador en la EESC-INIAP. Quito, Pichincha, Ecuador: EPN .

*Nutribiota*. (2008). Recuperado el 5 de Mayo de 2013, de [www.nutribiota.net](http://www.nutribiota.net)

PhytoPlan, 2013. Certificate of Analysis. Product name: Cyanidin-3-glucoside chloride.

Pietta, P. (Julio de 2000). Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod* , págs. 1035-1042.

Ramírez, M., & Williams, D. (2005). Culinaria de Cotacachi Ecuador y alrededores. *Guía Agro* , 27, 28.

Risco, M. (Octubre de 2007). El maíz en el Perú. *Conociendo la cadena productiva del maíz morado en Ayacucho* , 362. Ayacucho, Perú: Solid-Perú.

Ronco, A., & Garrido, A. (12 de 05 de 2005). *Guía Laboratorio u-cursos*. Recuperado el 27 de 01 de 2014, de [www.u-cursos.cl/ingenieria/2005/1/BT30A/1/material.../62775](http://www.u-cursos.cl/ingenieria/2005/1/BT30A/1/material.../62775)

Scientifica, V. (s.f.). Kjeldahl's method for protein determination in fodder. *AOAC Official methods of analysis* .

Soto, H. (2003). Gusanos de la Harina (larvas de *Tenebrio molitor*). *El Canario Uruguayo* , 39-40.

Valdez, C. & Untiveros, (2010). Extracción y caracterización del aceite de larvas de *Tenebrio molitor*. *Sociedad Química de Perú* , 407-414.

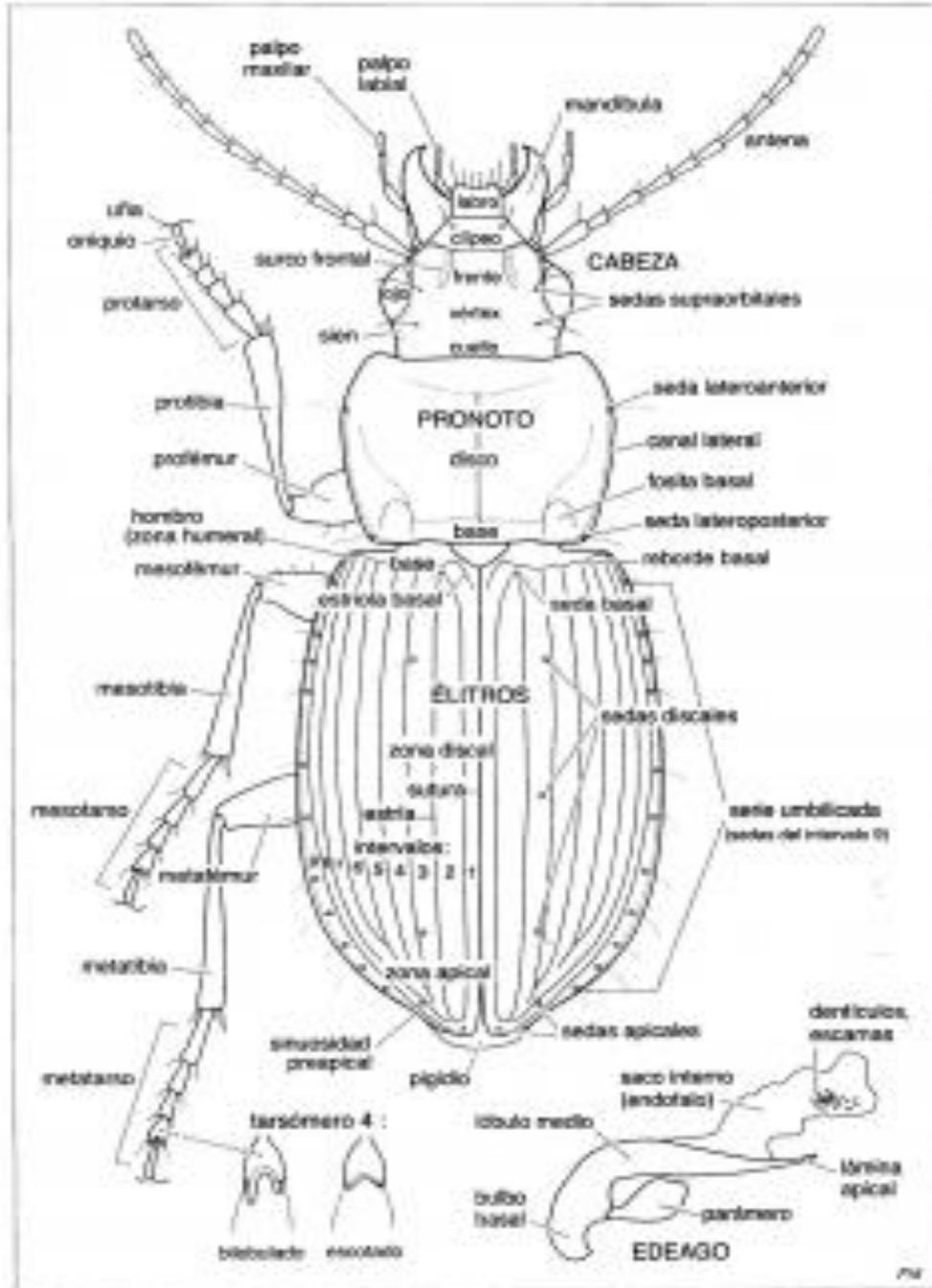
Wrolstad, R. & Guisti, (2001). Extraction, Isolation and Purification of Anthocyanins. . *Protocols in Food Analytical Chemistry* , 1-9.

Yáñez, C., Zambrano, J., Caicedo, M., Sánchez, V., & Heredia, J. (2003). *Catálogo de recursos genéticos de maíces de altura ecuatorianos*. Quito: INIAP, Programa de Maíz.

Yúfera, E. (1995). *Química orgánica básica y aplicada. De la molécula a la industria*. Barcelona: Reverté.

# ANEXOS

## Anexo 1. Morfología del *Tenebrio molitor*



Fuente: (Moret, 2005)

## Anexo 2. Certificado de identificación de especímenes de *Tenebrio molitor*.



Conservando nuestro patrimonio natural

Quito, 27 de marzo de 2014

### CERTIFICADO

A quien interese.

Por medio del presente deseo CERTIFICAR que la Sra. Thalía Cerela Intriago Sánchez con CI. 1721903126 ha ingresado especímenes de insectos del Orden Coleoptera, Familia Tenebrionidae para ser identificados.

Por medio de claves especializadas y uso de la colección se ha logrado **identificar y certificar** que los ejemplares pertenecen a la especie *Tenebrio molitor*, es una especie de distribución cosmopolita, introducida accidentalmente en Argentina (Flores, 1998). Es conocida por los daños ocasionados por larvas y adultos a granos almacenados (Bosq, 1943). Las larvas recientemente mudadas se utilizan como alimento de mascotas: peces tropicales, aves, reptiles y pequeños mamíferos insectívoros. Debido a que su cría en laboratorio es sencilla, es también un insecto adecuado para estudios de fisiología (Nielsen, 1998).

La interesada puede hacer uso de este documento a su bien y conveniencia.

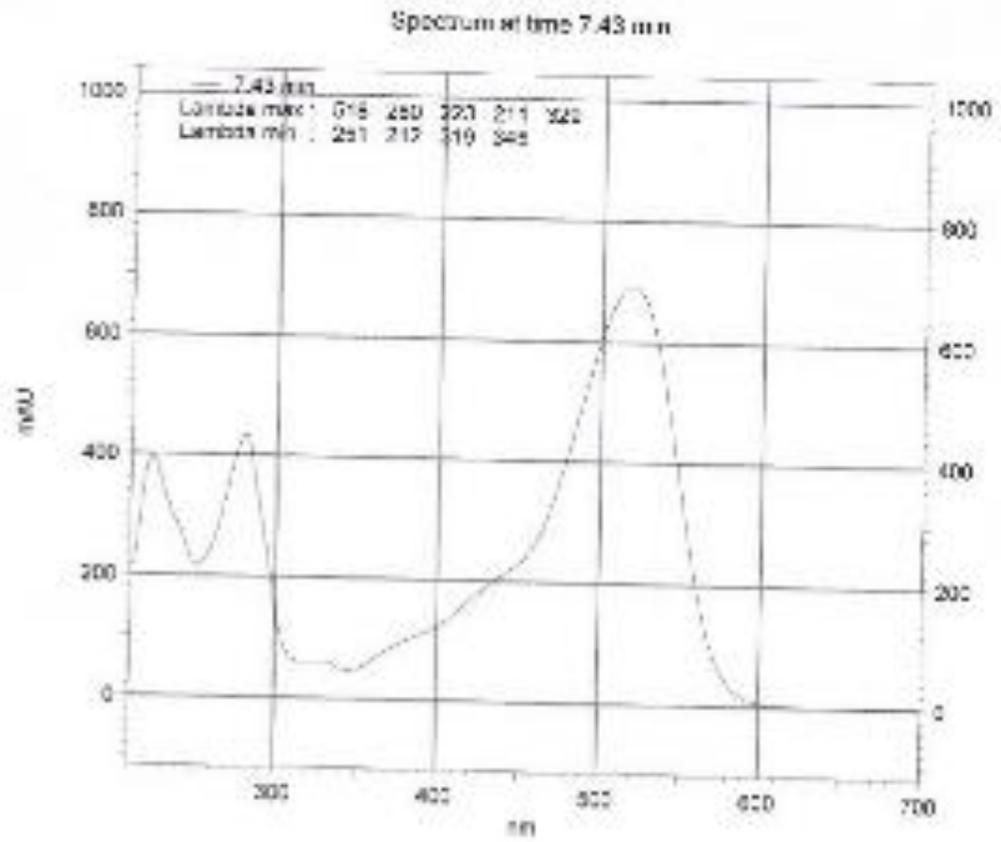
Atentamente:

Lcdo. Santiago Villamarín-Cortez MSc (C)  
Curador de Invertebrados  
Sección Invertebrados



### Anexo 3. Curva espectrofotométrica del estándar Cianidina-3-G.

DAD UV-Spectrum



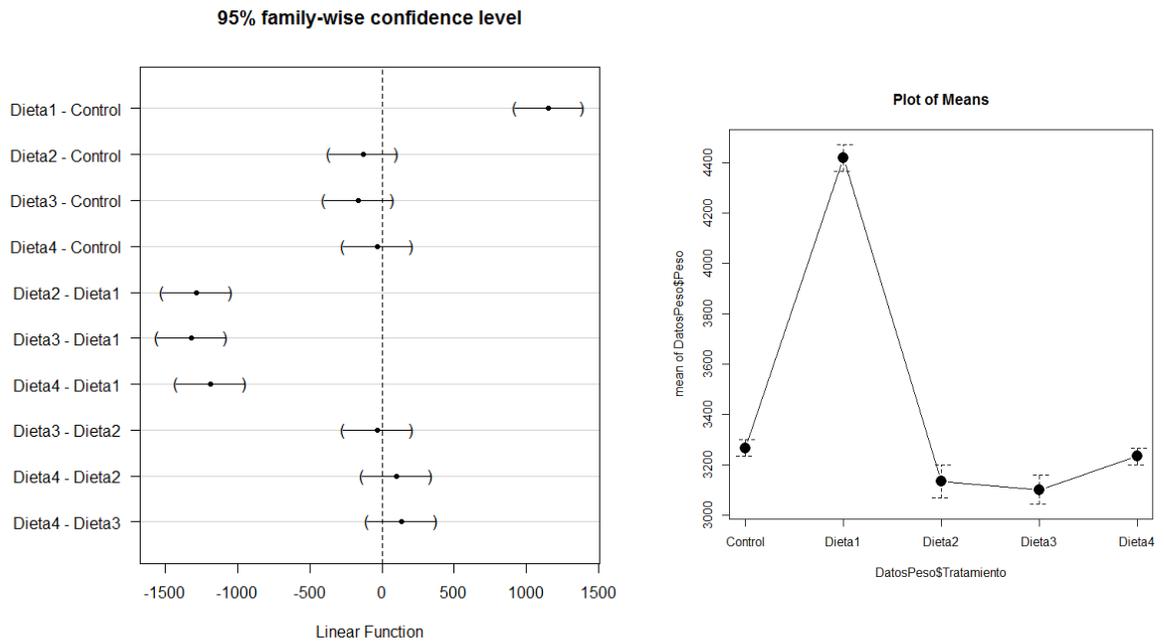
Fuente: (PhytoPlan, 2013)

**Anexo 4. Peso y longitud del *Tenebrio molitor* a las 14 semanas.**

<b>Tratamiento</b>	<b>Peso (mg)</b>	<b>Longitud (mm)</b>
Dieta1	4500	28,3
	4320	28
	4445	28,5
Dieta2	3200	28
	3000	27,8
	3200	28,3
Dieta3	3100	27
	3000	27,2
	3200	27,5
Dieta4	3200	27
	3200	26,9
	3300	27
Control	3300	27,5
	3200	27
	3300	28

**Fuente:** Las autoras

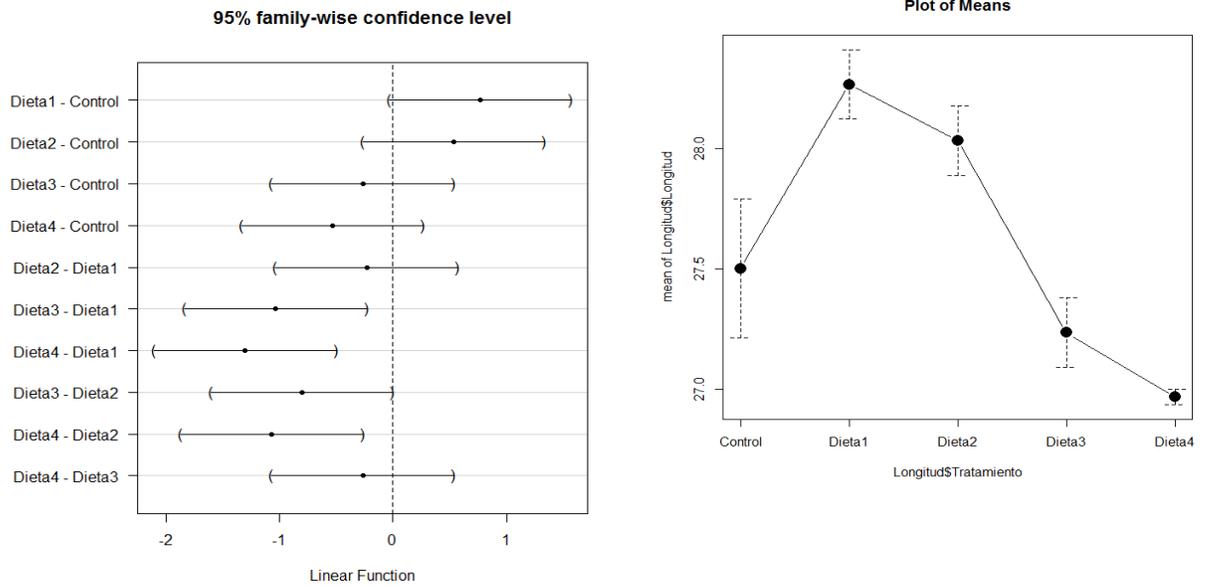
**Anexo 5. Gráfico de la media (Test de Tukey al 5%) del peso del *Tenebrio molitor*.**



Control	Dieta1	Dieta2	Dieta3	Dieta4
“a”	“b”	“a”	“a”	“a”

**Fuente:** Las autoras

**Anexo 6. Gráfico de la media (Test de Tukey al 5%) de la longitud del *Tenebrio molitor*.**



Control	Dieta1	Dieta2	Dieta3	Dieta4
“ac”	“c”	“bc”	“ab”	“a”

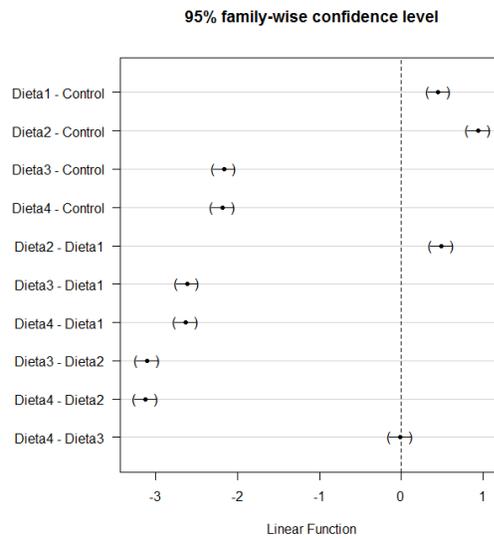
**Fuente:** Las autoras

**Anexo 7. Humedad y Ceniza del *Tenebrio molitor*.**

<b>Tratamiento</b>	<b>Humedad (%)</b>	<b>Cenizas (%)</b>
Dieta1	50,54	1,4464
	50,52	1,3843
	50,56	1,1181
Dieta2	51,03	1,4945
	51,01	1,3701
	51,05	1,2988
Dieta3	47,82	1,5277
	48,01	1,0599
	47,94	1,5279
Dieta4	47,95	1,6309
	47,87	1,2298
	47,9	1,7022
Control	50,07	1,2856
	50,09	1,1093
	50,11	1,1709

**Fuente:** Las autoras

**Anexo 8. Gráfico de la media (Test de Tukey al 5%) de la humedad del *Tenebrio molitor*.**



Control	Dieta1	Dieta2	Dieta3	Dieta4
"b"	"c"	"d"	"a"	"a"

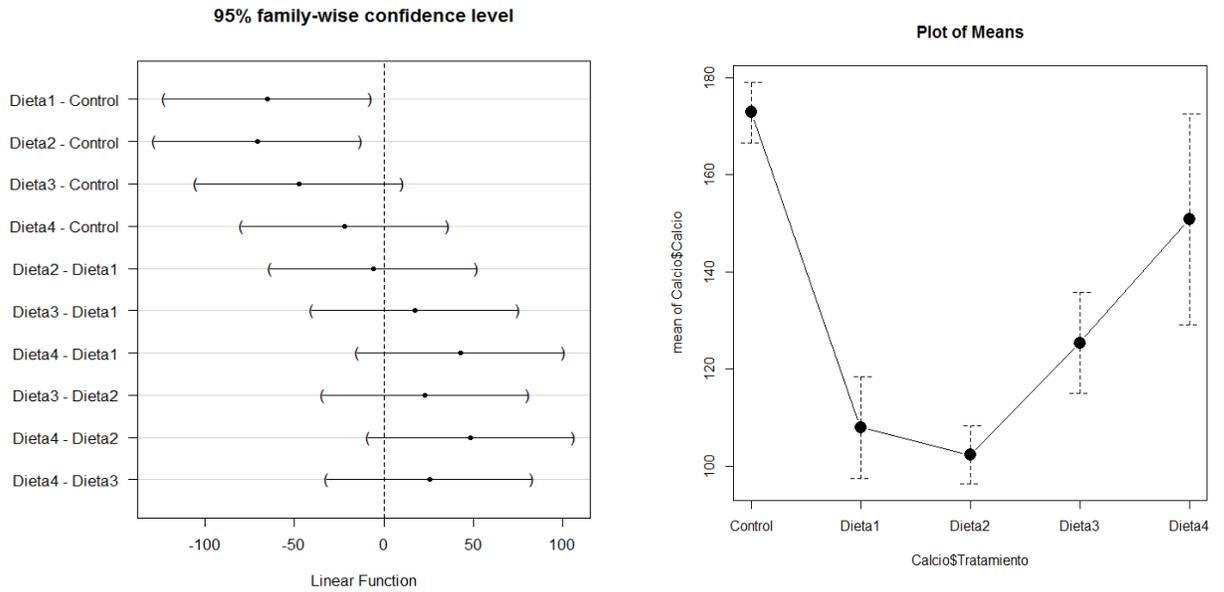
**Fuente:** Las autoras

**Anexo 9. Análisis bromatológico del *Tenebrio molitor*.**

<b>Tratamiento</b>	<b>Calcio (%)</b>	<b>Grasa (%)</b>	<b>Proteína (%)</b>
Dieta1	10,805	4,6086	33,8487
	12,5979	6,1743	32,8407
	8,9742	5,2525	31,921
Dieta2	9,031	6,0403	20,1179
	10,8245	4,087	20,4908
	10,8157	0,7159	19,7635
Dieta3	10,7614	4,9149	16,2334
	12,4978	6,1308	16,9932
	14,3498	6,0748	17,0682
Dieta4	18,1192	5,5443	16,9382
	16,2411	7,3032	14,4324
	10,8794	5,442	13,5669
Control	17,8396	7,0262	17,3666
	17,9827	5,7516	17,3574
	16,0342	5,7388	16,595

**Fuente:** Las autoras

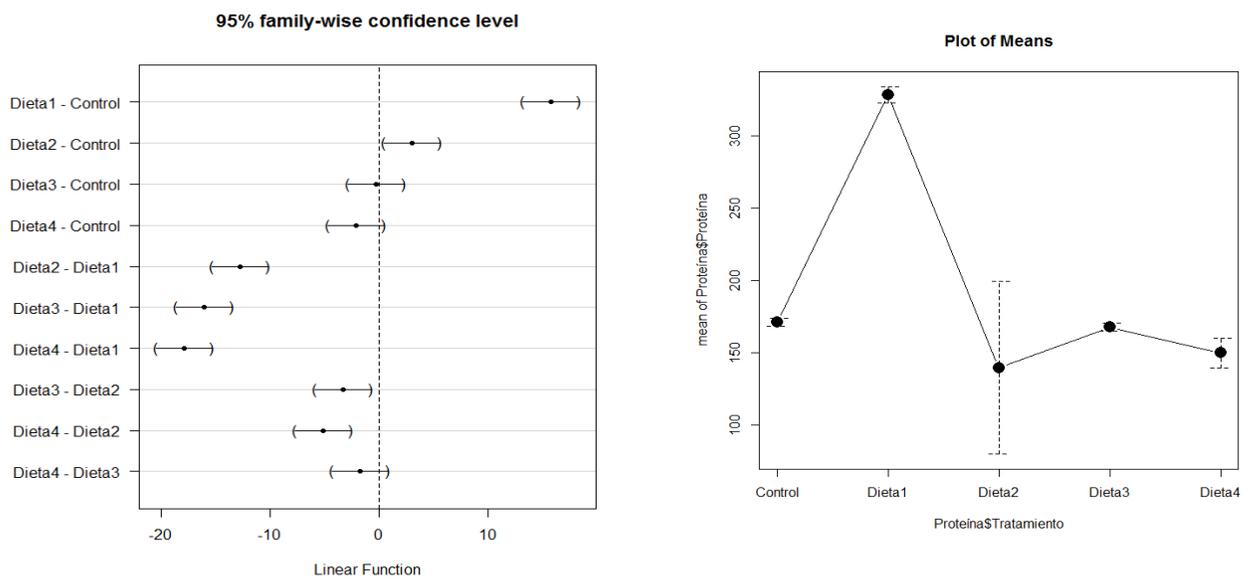
**Anexo 10. Gráfico de la media (Test de Tukey al 5%) del contenido de calcio en tenebrios**



Control	Dieta1	Dieta2	Dieta3	Dieta4
"b"	"a"	"a"	"ab"	"ab"

**Fuente:** Las autoras

**Anexo 11. Gráfico de la media (Test de Tukey al 5%) del contenido de proteína en tenebrios.**



Control	Dieta1	Dieta2	Dieta3	Dieta4
"a"	"c"	"b"	"a"	"a"

**Fuente:** Las autoras

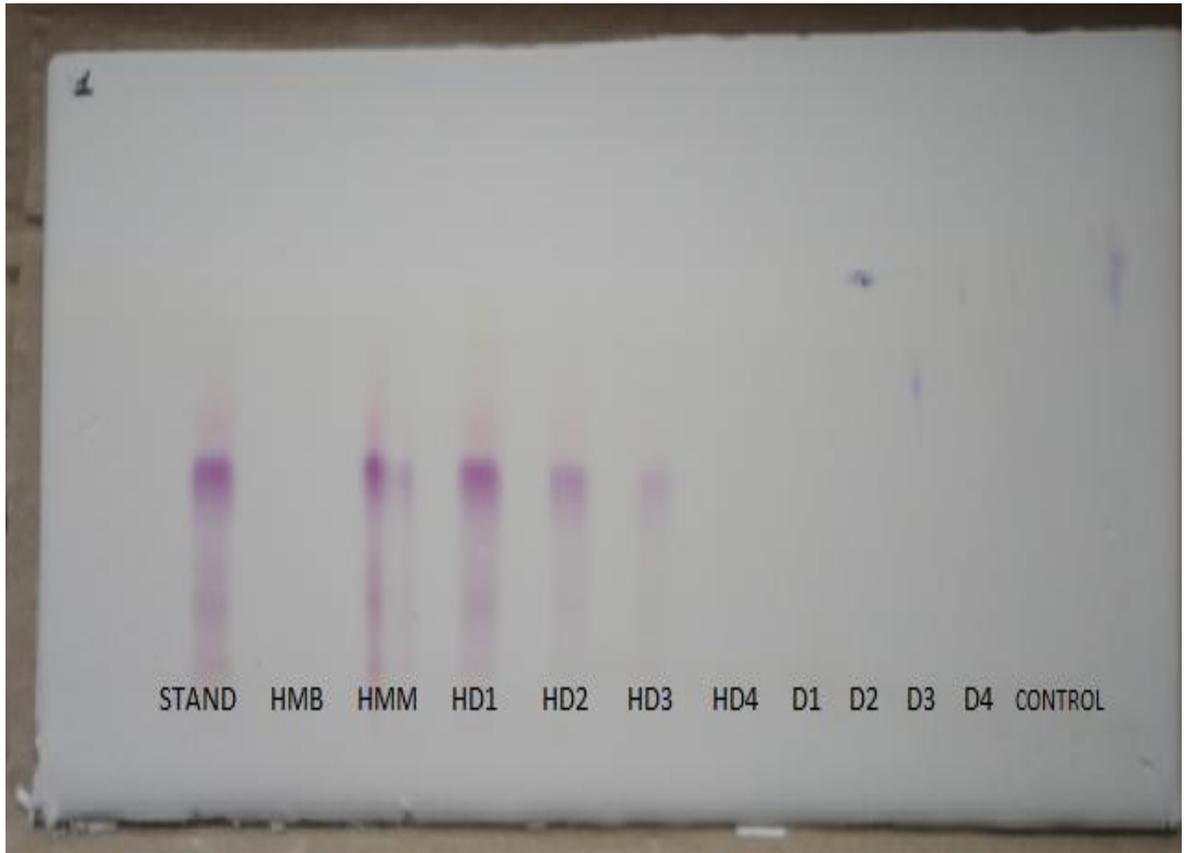
**Anexo 12. Preparación de los extractos para Espectrofotometría y HPLC.**

<b>PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS</b>								
	<b>Vacío</b>	<b>Lleno</b>	<b>PESO antoc (g)</b>	<b>Volumen (L)</b>	<b>PM antoc</b>	<b>Molaridad</b>	<b>PESO mg</b>	<b>PPM</b>
<b>HMM</b>	95	98,2684	3,2684	0,01	484,9	0,6740	326,84	32684
<b>HMB</b>	95	98	3	0,01	484,9	0,6187	300	30000
<b>HD1</b>	95	97	2	0,01	484,9	0,4125	200	20000
<b>HD2</b>	95	98	3	0,01	484,9	0,6187	300	30000
<b>HD3</b>	95	98	3	0,01	484,9	0,6187	300	30000
<b>HD4</b>	95	97	2	0,01	484,9	0,4125	200	20000
<b>HD5</b>	95	97	2	0,01	484,9	0,4125	200	20000
<b>D1</b>	95	98	3	0,01	484,9	0,6187	300	30000
<b>D2</b>	95	97	2	0,01	484,9	0,4125	200	20000
<b>D3</b>	95	97	2	0,01	484,9	0,4125	200	20000
<b>D4</b>	95	98	3	0,01	484,9	0,6187	300	30000
<b>D5</b>	95	97	2	0,01	484,9	0,4125	200	20000

<b>ST</b>				0,01			2	200
1				15				3000
2				15				1500
4				15				750

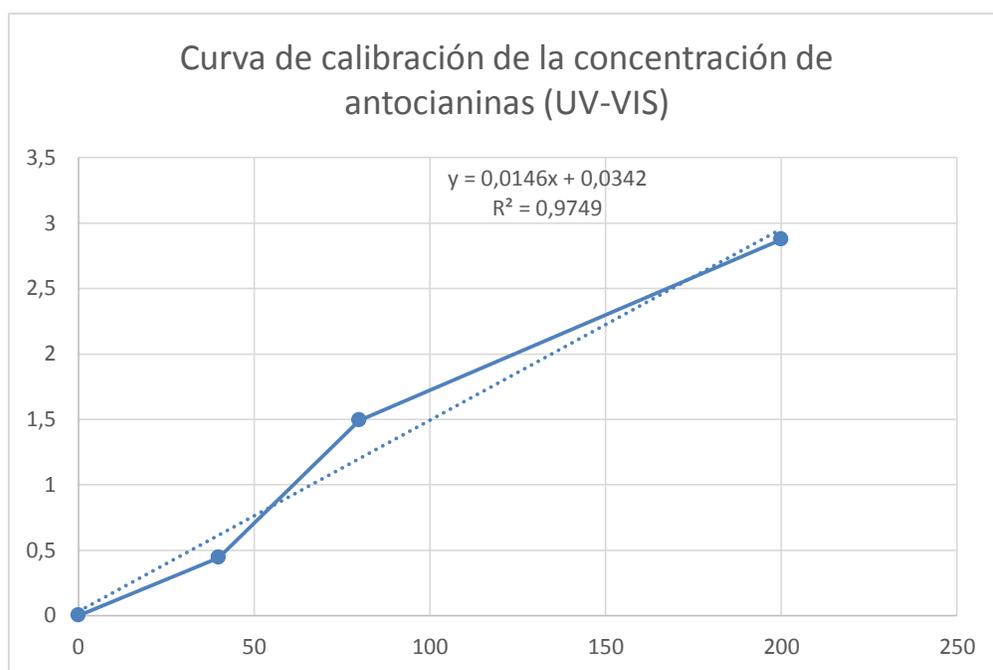
**Fuente:** Las autoras

**Anexo 13. Cromatograma (HP-TLC) del contenido de antocianina.**



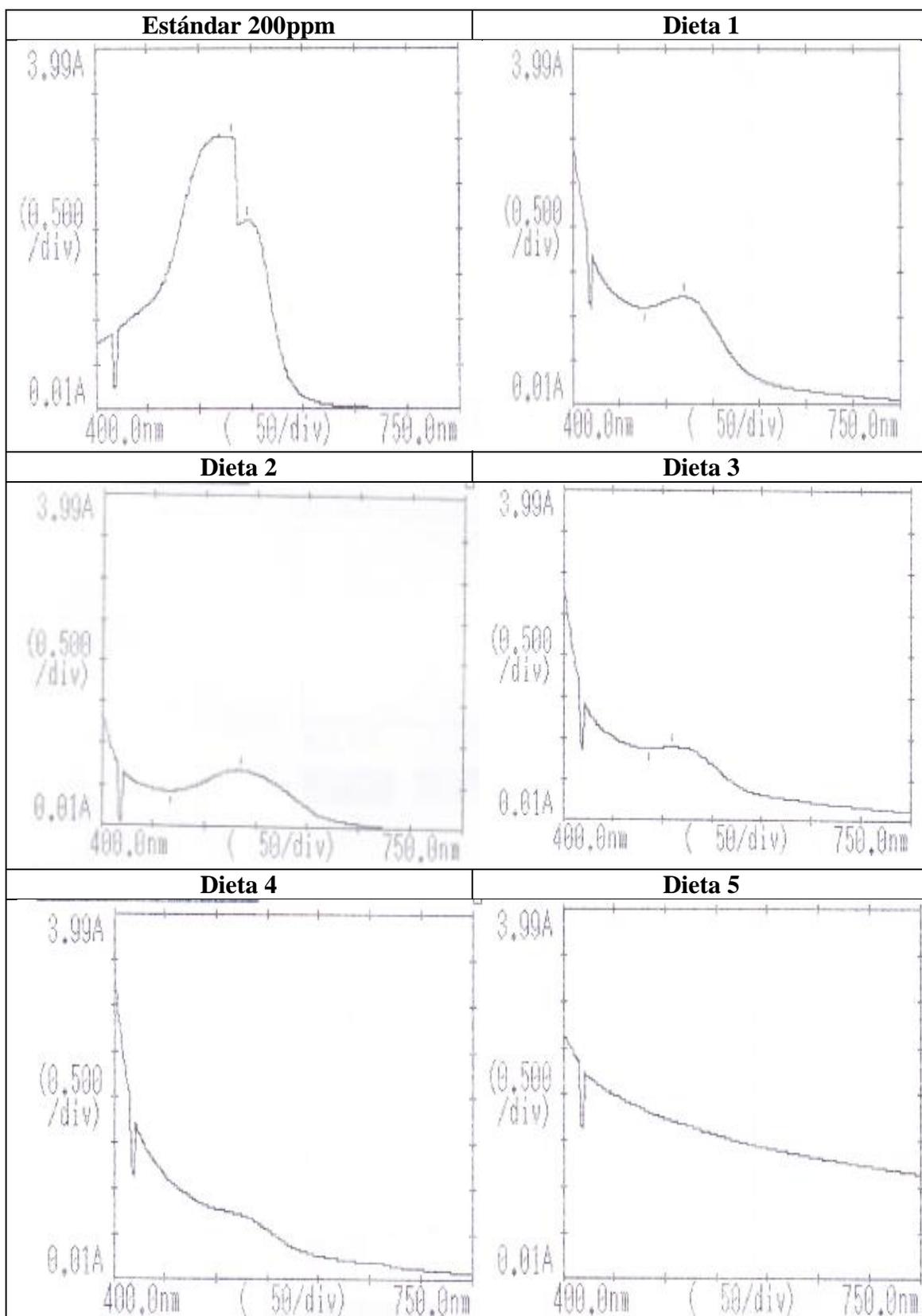
**Fuente:** Las autoras

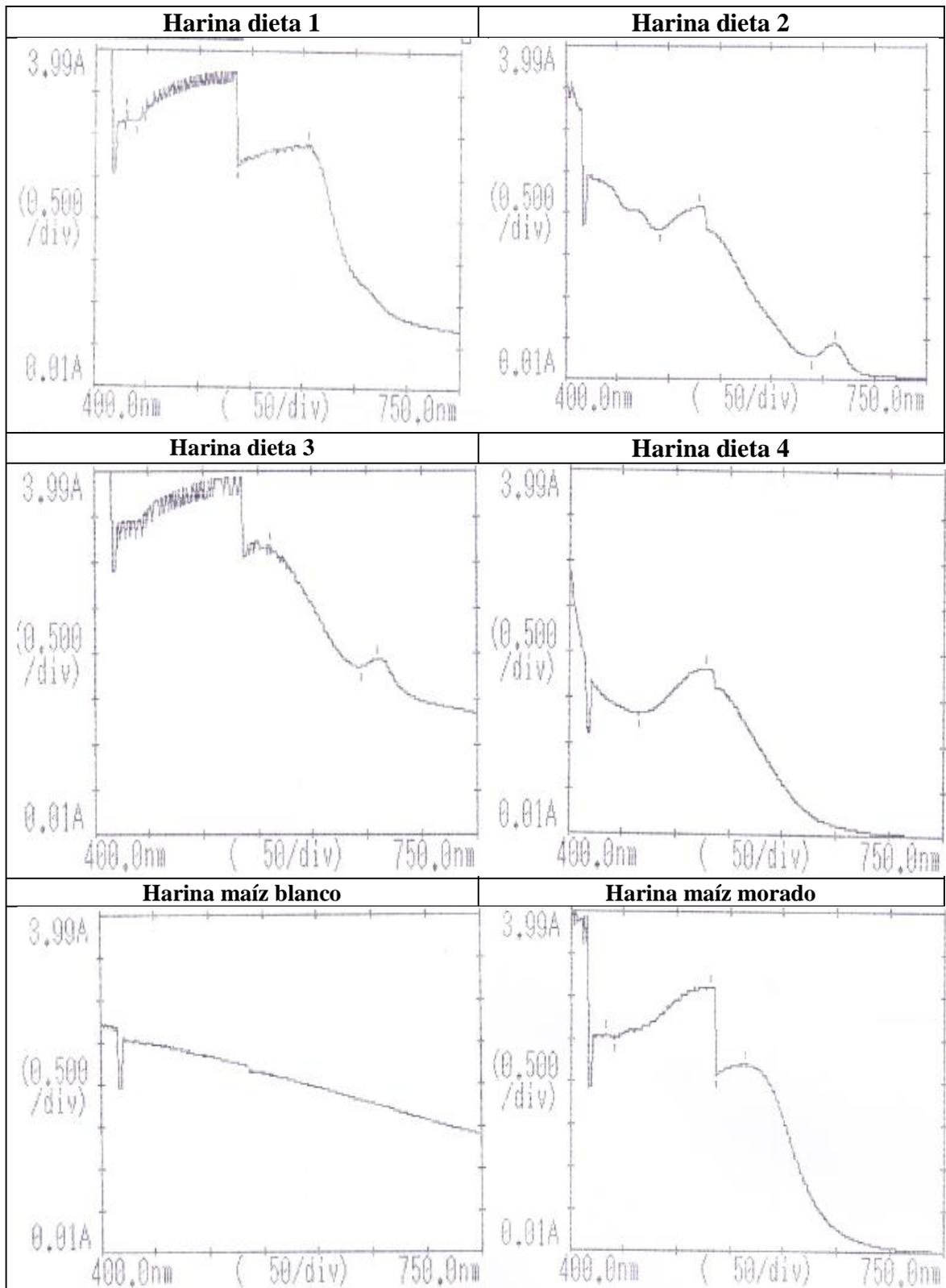
**Anexo 14. Curva de calibración para el contenido de antocianinas en el *Tenebrio molitor* (Espectrofotometría UV-VIS).**



**Fuente:** Las autoras

**Anexo 15. Barrido espectral de antocianinas de los tenebrios y las dietas.**





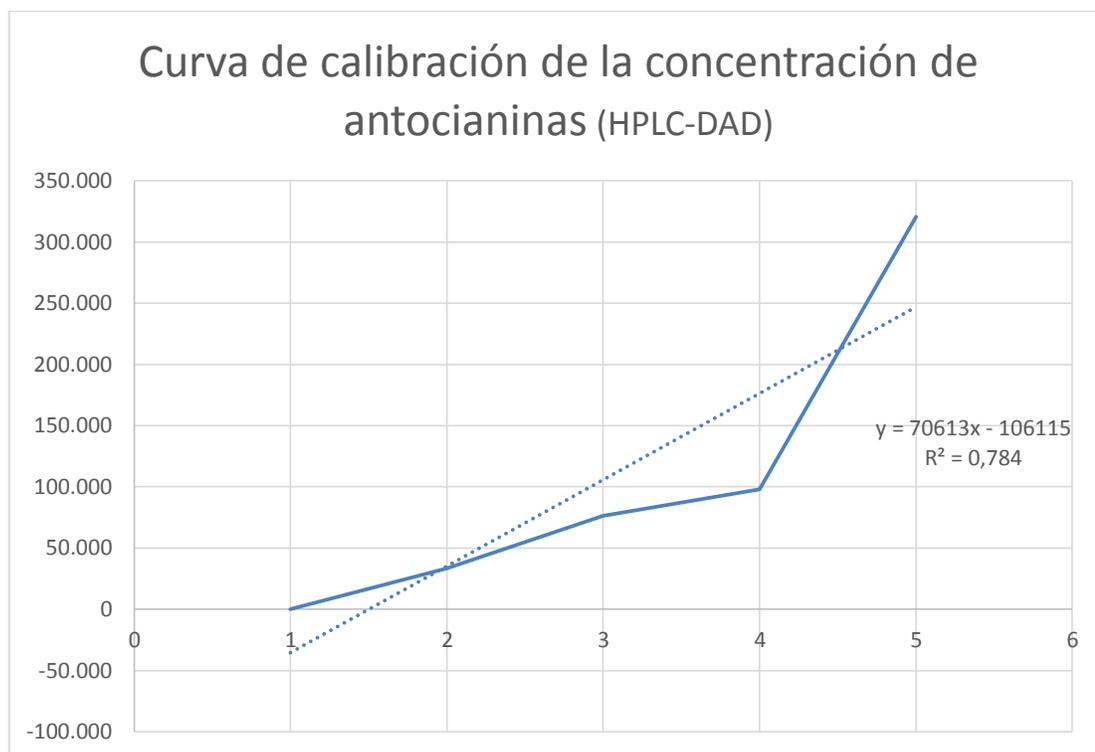
**Fuente:** Las autoras

**Anexo 16. Concentraciones de antocianinas en *Tenebrio molitor* (HPLC-DAD).**

<b>530 nm</b>			
	<b>Tr</b>	<b>Área</b>	<b>C ppm</b>
<b>ST 1</b>	12905,000	33389	10,000
<b>ST 2</b>	12896,000	76545	40,000
<b>ST 3</b>	12929,000	97841	80,000
<b>ST 4</b>	12854,000	320837	200,000
<b>HMM</b>	12805,000	3955651	2567,904
<b>HMB</b>	0,000	0	-2,703
<b>HD1</b>	12774,000	186888	118,747
<b>HD2</b>	12770,000	563306	363,365
<b>HD3</b>	12710,000	471393	303,635
<b>HD4</b>	12708,000	485434	312,759
<b>HD5</b>	0,000	0	-2,703
<b>D1</b>	12669,000	12128	5,178
<b>D2</b>	12,710	10164	3,902
<b>D3</b>	12675,000	4598	0,285
<b>D4</b>	12725,000	2484	-1,089
<b>D5</b>	0,000	0	-2,703

**Fuente:** Las autoras

**Anexo 17. Curva de calibración para el contenido de antocianinas en *Tenebrio molitor* (HPLC-DAD).**



**Fuente:** Las autoras

**Anexo 18. Registro de la conservación y mortalidad de los tenebrios a 4°C**

<b>SEMANA 13 (24/11/2013)</b>						
<b>DIETAS/ ETAPA DEL CICLO</b>	<b>LARVA</b>		<b>PUPA</b>		<b>ESCARABAJO</b>	
	<b>vivos</b>	<b>muertos</b>	<b>vivos</b>	<b>muertos</b>	<b>vivos</b>	<b>muertos</b>
<b>control</b>	72	4	5		9	
<b>dieta 1</b>	85	6	5		4	
<b>dieta 2</b>	91	4	2		3	
<b>dieta 3</b>	87	4	8		1	
<b>dieta 4</b>	96	3	1		0	

<b>SEMANA 14 (10/12/2013)</b>						
<b>DIETAS/ ETAPA DEL CICLO</b>	<b>LARVA</b>		<b>PUPA</b>		<b>ESCARABAJO</b>	
	<b>vivos</b>	<b>muertos</b>	<b>vivos</b>	<b>muertos</b>	<b>vivos</b>	<b>muertos</b>
<b>control</b>	57	1	5		1	8
<b>dieta 1</b>	63	3	4	1	3	1
<b>dieta 2</b>	82	4	1		4	
<b>dieta 3</b>	75	3			9	
<b>dieta 4</b>	91	4	1			

**Fuente:** Las autoras

**Anexo 19. Porcentaje de mortalidad de los tenebrios.**

<b>SEMANA 10 (24/11/2013)</b>			
<b>DIETAS/ ETAPA DEL CICLO</b>	<b>LARVA</b>	<b>PUPA</b>	<b>ESCARABAJO</b>
	<b>% mortalidad</b>	<b>% mortalidad</b>	<b>% mortalidad</b>
<b>control</b>	5,556	6,944	12,500
<b>dieta 1</b>	7,059	5,882	4,706
<b>dieta 2</b>	4,396	2,198	3,297
<b>dieta 3</b>	4,598	9,195	1,149
<b>dieta 4</b>	3,125	1,042	0,000

<b>SEMANA 11 (10/12/2013)</b>			
<b>DIETAS/ ETAPA DEL CICLO</b>	<b>LARVA</b>	<b>PUPA</b>	<b>ESCARABAJO</b>
	<b>% mortalidad</b>	<b>% mortalidad</b>	<b>% mortalidad</b>
<b>control</b>	1,754	8,772	1,754
<b>dieta 1</b>	4,762	6,349	4,762
<b>dieta 2</b>	4,878	1,220	4,878
<b>dieta 3</b>	4,000	0,000	12,000
<b>dieta 4</b>	4,396	1,099	0,000

**Fuente:** Las autoras

## ANEXO FOTOGRÁFICO

	
<p style="text-align: center;">Escarabajos reproductores, Zoológico San Martín</p>	<p style="text-align: center;">Escarabajos Reproductores</p>
	
<p style="text-align: center;">Larvas de <i>Tenebrio molitor</i></p>	<p style="text-align: center;">Elaboración de tuppers</p>
	
<p style="text-align: center;"><i>Tenebrio molitor</i> donación Zoológico</p>	<p style="text-align: center;">Medición de las larvas para iniciar crianza</p>
	
<p style="text-align: center;">Conteo de tenebrios donados</p>	<p style="text-align: center;">Elaboración de las dietas</p>

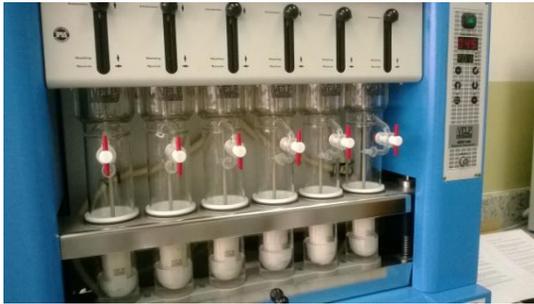
	
<p>Dietas</p>	<p>Incubadora</p>
	
<p>Estado larval, Semana 11</p>	<p>Dieta 1, larvas, pupas y escarabajos</p>
	
<p>Dieta 2, larvas, pupas y escarabajos</p>	<p>Dieta 3, larvas, pupas y escarabajos</p>
	
<p>Dieta 4, larvas y pupas</p>	<p>Dieta 5, larvas</p>



Determinación de Humedad



Determinación de Calcio



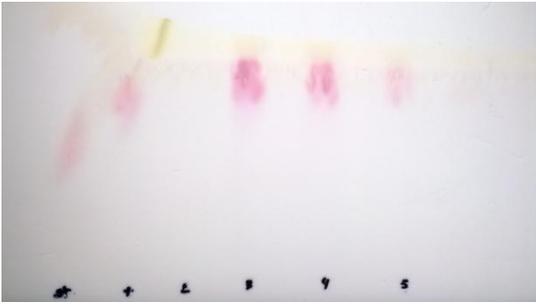
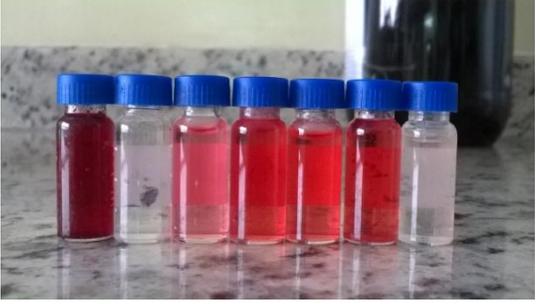
Determinación de Grasa



Determinación de Proteína



Extracción de Antocianina

	
<p>TLC Harinas</p>	<p>Estándares de Antocianidina 3G 10, 40, 80 y 200 ppm</p>
	
<p>Hidrolizados de HMM, HMB, HD1, HD2, HD3, HD4, HD5</p>	<p>Hidrolizados de tenebrio D1, D2, D3, D4, D5</p>