



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN
ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
CARRERA DE ALIMENTOS



Concentrados proteicos de Hormigas Santandereanas (*Atta laevigata*): Caracterización y evaluación de su capacidad antiinflamatoria tras el proceso de digestión gastrointestinal *in vitro*

Informe Final de Integración Curricular, Modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingenieros en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autores: Ariel Abel Palma Egas
Emely Mishel Quilambaqui Romero.

Tutor: PhD. Rubén Darío Vilcacundo Chamorro.

Ambato-Ecuador

Marzo-2023

APROBACIÓN DEL TUTOR

Ing. Rubén Darío Vilcacundo Chamorro, PhD.

CERTIFICA:

Que el presente Informe Final de Integración Curricular ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final de Integración Curricular bajo la Modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 14 de febrero del 2023

Ing. Rubén Darío Vilcacundo Chamorro PhD.

C.I. 1802738102

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Nosotros, Ariel Abel Palma Egas y Emely Mishel Quilambaqui Romero, manifestamos que los datos obtenidos en el presente Informe Final de Integración Curricular, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingenieros en Alimentos son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Emely Mishel Quilambaqui Romero

1718604042

AUTORA



Ariel Abel Palma Egas

2200206841

AUTOR

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritores Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final de Integración Curricular, modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato. Para constancia firman:

Presidente del Tribunal

PhD. Mario Daniel García Solís
1103605471

PhD. Irvin Ricardo Tubon Usca
0604250357

Ambato, 07 de marzo del 2023

DERECHOS DE AUTOR

Autorizamos a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final de Integración Curricular o parte de este como un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación según las normas de la institución.

Cedemos los Derechos en la línea patrimoniales de nuestro Informe Final de Integración Curricular, con fines de difusión pública. Además, aprobamos la reproducción de este dentro de las regulaciones de la universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando nuestros derechos de autor.



Emely Mishel Quilambaqui Romero

1718604042

AUTORA



Ariel Abel Palma Egas

2200206841

AUTOR

DEDICATORIA

Ariel Abel Palma Egas

Dedico los resultados de este trabajo a mis padres, Abel y Jenny quienes me apoyaron en los momentos malos y los menos malos. A mis hermanos Emily y Mathias para quienes espero ser un ejemplo. A mi esposa Raiza quien me apoyo y alentó para alcanzar mi meta.

Y, finalmente a quienes no creyeron en nosotros y quisieron aplacarnos, con su actitud lograron que tomáramos más impulso.

Emely Mishel Quilambaqui Romero ♥

A mi amada madre Sandra, a mi increíble hermano Andres, quienes me educaron y me convirtieron en la mujer que soy; a mi sobrino Anthony, que es mi motivo de superación, y a mi tía Margarita por ser mi ángel. Gracias por el apoyo y amor incondicional, los amo tres millones

AGRADECIMIENTO

Ariel Abel Palma Egas

Agradezco a mi Creador, por ser mi inspirador y darme la fortaleza necesaria en mi proceso de formación académica para obtener uno de los anhelos de mi corazón.

A mis padres por haber forjado mi carácter para superar los obstáculos a lo largo de mi carrera profesional.

A mi compañera de vida por creer en mí y ser mi apoyo incondicional.

A mi tutor Ing. Rubén Vilcacundo PhD. principal colaborador, por guiar y ser el impulso para alcanzar nuestros objetivos.

A mi amigo Ing. Giovanni Freire por ser un guía más allá de las aulas.

Ing. Luis Marcial y Ing. Carla Peñafiel Msc. por creer y apoyar nuestra investigación.

A Mily, amiga y compañera de investigación por creer y compartir este proyecto.

Emely Mishel Quilambaqui Romero ♥

A la Universidad Técnica de Ambato en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología que me dio la oportunidad de desarrollar y ejecutar el trabajo de investigación.

Un agradecimiento especial a mi Tutor, Ph.D. Rubén Vilcacundo, por su gran apoyo, quien impartió su valioso conocimiento e hizo posible la culminación de esta investigación. Al Ing. Geovany Freire por su apoyo, tiempo, amistad y motivación.

A mi madre Sandra, que ha sido la mujer más fuerte que conozco, gracias por luchar por mi hermano y por mí, por amarnos infinitamente, gracias por tus sacrificios, por la confianza, por el cuidado, por la entrega. Eres la mejor madre del mundo.

A mi hermano Andresito, por ser mi guía, mi cómplice, por consentirme, gracias por tus sacrificios para cuidarme a mí y a mamá, y por darme el mejor regalo del mundo, a mi Tonicito, que lo amo y lo cuidare siempre.

A mi tía Margarita, que con su apoyo hemos podido salir adelante, a pesar de estar en otro país siempre la tenemos presente, gracias por todas las oportunidades, por la ayuda y por estar en nuestras vidas.

A mi mejor amiga Gisse por estar siempre, y a Ariel por aceptar este reto conmigo.

A mi enamorado Edgar, por el apoyo incondicional, por enseñarme un amor bonito, y gracias a sus padres por la ayuda y por haber criado un hombre excepcional.

ÍNDICE GENERAL

Contenido

APROBACIÓN DEL TUTOR	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	iii
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO	iv
DERECHOS DE AUTOR	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	viii
ÍNDICE DE CONTENIDO	x
ÍNDICE DE TABLAS	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT	xv
CAPÍTULO I - MARCO TEÓRICO	1
1.1. TEMA DE INVESTIGACIÓN	1
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	1
1.3. OBJETIVOS.....	2
1.3.1. Objetivo General	2
1.3.2. Objetivos específicos	2
1.4. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	3
1.4.2. Morfología de la hormiga Santandereanas (<i>Atta laevigata</i>).....	4
1.4.3. Obtención de las hormigas Santandereanas (<i>Atta laevigata</i>).....	5
1.4.4. Harina de hormigas Santandereanas (<i>Atta laevigata</i>).....	6
1.4.5. Análisis proximal.....	8

1.4.6.	Concentrado proteico.....	10
1.4.7.	Simulación gastrointestinal.....	10
1.4.8.	Caracterización.....	11
1.4.9.	Capacidad antiinflamatoria.....	11
CAPÍTULO II - METODOLOGÍA		13
2.1.	MATERIALES.....	13
2.1.1.	MATERIA PRIMA.....	13
2.1.2.	REACTIVOS.....	13
2.1.3.	MATERIAL FUNGIBLE.....	14
2.1.4.	EQUIPOS.....	15
2.2.	MÉTODOS.....	16
2.2.1.	Obtencion de la harina análisis.....	17
2.2.2.	Desarrollo del análisis proximal.....	17
2.2.3.	Obtención del concentrado proteico.....	19
2.2.4.	Simulación gastrointestinal in vitro.....	20
2.2.5.	Caracterización del concentrado proteico y los digeridos obtenidos	22
2.2.6.	Evaluación de la capacidad antinflamatoria <i>in vitro</i>	24
CAPÍTULO III - RESULTADOS Y DISCUSIÓN		26
3.1.	Resultados de cuantificación de cenizas.....	26
3.1.	Resultados de cuantificación de humedad.....	26
3.1.	Resultados de cuantificación de proteina.....	26
3.1.	Resultados de cuantificación de grasa.....	30
3.1.	Resultados de cuantificación de fibra.....	32
3.1.	Resultado final del análisis proximal	33

3.1. Resultados de la extracción de concentrado proteico	33
3.1. Resultados de la simulación gastrointestinal	36
3.1. Resultados de la caracterización.....	38
3.1. Resultados de capacidad antiinflamatoria.....	40
CAPÍTULO IV - CONCLUSIONES Y RECOMEDACIONES	433
4.1 CONCLUSIONES.....	433
4.2 RECOMENDACIONES.....	444
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	455
6. ANEXOS	52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Datos del análisis proximal de ceniza.....	26
Tabla 2. Resultados del análisis proximal de ceniza.....	26
Tabla 3. Datos del análisis proximal de humedad.	27
Tabla 4. Resultados del análisis proximal de humedad.	27
Tabla 5. Datos de cuantificación de proteína.	28
Tabla 6. Resultados del análisis proximal de proteína.....	29
Tabla 7. Datos del análisis proximal de grasa.	30
Tabla 8. Resultados del análisis proximal de grasa.	30
Tabla 9. Datos del análisis proximal de fibra.	31
Tabla 10. Resultados del análisis proximal de fibra.	32
Tabla 11. Análisis proximal final de la harina de hormigas.....	33
Tabla 12. Contenido de proteína en los concentrados proteicos a pH de solubilización y precipitación.....	33

Tabla 13. Contenido de proteína en los concentrados proteicos a Ph 12 de solubilización y pH 4 de precipitación.....	34
Tabla 14. Resultados de pesos moleculares del análisis de electroforesis.....	38
Tabla 15. Resultados de la capacidad antiinflamatoria.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Morfología general de una hormiga.....	4
Figura 2. Organización de un nido de hormigas <i>atta laevigata</i> , siete obreras (izquierda) y dos reinas (derecha).	5
Figura 3. Resultados de electroforesis para digestibilidad.....	36
Figura 4. Resultados de electroforesis	38
Figura 5. Diagrama de barras del porcentaje de protección -capacidad antiinflamatoria	40

ÍNDICE DE ANEXOS

A. Fotografías de la parte experimental realizada durante la investigación	52
B. Fotografía de la obtención del concentrado proteico a pH 12:4 de solubilización y precipitación respectivamente después de centrifugación	56
C. Fotografía de la obtención del concentrado proteico a pH 12:4 de solubilización y precipitación respectivamente después de liofilización	56
D. Graficas obtenidas del contenido de proteína mediante dumas de la harina y del concentrado proteico respectivamente	57
E. Permiso para trabajar con hormigas por parte del ministerio del ambiente.....	65
F. Cálculos.....	71

RESUMEN

La entomofagia es un hábito ancestral que se practica en Ecuador, sin embargo, estudios sobre este tipo de consumo son escasos o incompletos, en nuestro país se consume diversos tipos de insectos entre los más destacados el chontacuro (*Rhynchophorus palmarum*) y la hormiga (*Atta laevigata*), esta actividad en su mayoría es realizada por comunidades indígenas, ya que asocian a dichos insectos a grandes aportes proteicos. De esta manera en el presente trabajo de investigación se realizaron varios análisis para determinar si la harina de hormiga Santandereana (*Atta laevigata*) aporta a la seguridad y soberanía alimentaria. El análisis proximal de la harina demuestra que se trata de un alimento con alta cantidad de proteína, el concentrado proteico se logró obtener mediante la combinación de pHs de solubilización y precipitación de 12 y 4 respectivamente. A partir de las proteínas de la hormiga, la digestión gastrointestinal simulada favorece la liberación de péptidos con actividad antiinflamatoria, mientras que durante la digestión duodenal dicha actividad se pierde por completo. Además, se realizó una caracterización de proteínas por medio de electroforesis SDS-PAGE, la harina de hormiga y su concentrado proteico presentaron 15 tipos de proteínas con pesos moleculares entre 11.97 y 191.06 kDa; en cuanto al digerido gástrico se evidenció 8 proteínas de 35,26 – 191.06 kDa las cuales resistieron la acción de la pepsina, finalmente el digerido intestinal no presentó proteínas. En cuanto a la capacidad antiinflamatoria, los péptidos liberados durante la digestión gástrica son los principales responsables con una protección de 85.64 por ciento.

Palabras claves: Entomofagia, Concentrados Proteicos, Hormigas Santandereanas, Capacidad Antiinflamatoria, Digestión Gastrointestinal.

ABSTRACT

Entomophagy is an ancestral habit that is practiced in Ecuador, however, studies on this type of consumption are scarce or incomplete, in our country various types of insects are consumed, among the most prominent the chontacuro (*Rhynchophorus palmarum*) and the ant (*Atta laevigata*), this activity is mostly carried out by indigenous communities, since they associate these insects to great protein contributions. Thus, in this research work, several analyses were carried out to determine if the Santandereana ant (*Atta laevigata*) flour contributes to food security and food sovereignty. The proximal analysis of the flour shows that it is a food with a high amount of protein, the protein concentrate was obtained through the combination of solubilization and precipitation pHs of 12 and 4, respectively. From ant proteins, simulated gastrointestinal digestion favors the release of peptides with anti-inflammatory activity, while during duodenal digestion such activity is completely lost. In addition, a protein characterization was performed by SDS-PAGE electrophoresis, the ant meal and its protein concentrate presented 15 types of proteins with molecular weights between 11.97 and 191.06 kDa; as for the gastric digest, 8 proteins of 35.26 - 191.06 kDa were evidenced, which resisted the action of pepsin; finally, the intestinal digest did not present any proteins. As for the anti-inflammatory capacity, the peptides released during gastric digestion are the main responsible with a protection of 85.64 percent.

Keywords: Entomophagy, Protein Concentrates, Santander Ants, Anti-inflammatory Capacity, Gastrointestinal Digestion.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. TEMA DE INVESTIGACIÓN

“Concentrados proteicos de Hormigas Santandereanas (*Atta laevigata*): Caracterización y evaluación de su capacidad antiinflamatoria tras el proceso de digestión gastrointestinal in vitro”

1.2. JUSTIFICACIÓN

La Organización de las Naciones Unidas a través de la FAO estima una población territorial de 9 mil millones de habitantes hasta el año 2050, de tal manera que la disponibilidad de alimentos necesarios para suplir esta demanda no será suficiente. Por esta razón se busca incrementar la producción de alimentos, sin una explotación del medio ambiente o daños al mismo (**Viñeta, 2017**). En los Países Bajos se realizó el primer congreso de entomofagia en el año 2014 en el que se reunieron 450 participantes de 45 países del mundo, con el objetivo de analizar la importancia de la inserción de los insectos en la dieta humana. Sin embargo, por un tema cultural y social existe un rechazo de los consumidores a estos productos, no obstante, varios países de Latinoamérica tienen como costumbre ancestral consumir ciertos insectos por su alto valor nutricional (**Vera, 2020**).

De esta manera, la FAO presenta una alternativa de alimentación a base de insectos con un perfil económico, seguro y sustentable, ya que son una fuente alta en proteína, así como por su eficiencia en la conversión de alimento a peso vivo, generando menos gases invernadero en comparación con el ganado: el aporte nutricional puede ser mayor al de la carne y pescado, y por último el riesgo de transmitir enfermedades zoonóticas son

menores, aunque existe la posibilidad de provocar alergias como los crustáceos (**Granja 2021**).

Es así, que el presente trabajo de investigación permitirá encontrar tendencias alimenticias que sirvan como base para elaborar nuevos productos que proporcionen un efecto beneficioso más allá del valor nutricional básico. Para ello, es necesario un análisis de la harina de hormigas Santandereana (*Atta laevigata*) con la finalidad de obtener el análisis proximal , caracterizar el concentrado proteico, simular la digestión gastrointestinal y evaluar la capacidad antiinflamatoria del concentrado proteico y sus digeridos. Dichos estudios permitirán conocer la calidad de la proteína extraída, la capacidad del organismo humano para hidrolizar este macronutriente y los posibles efectos biológicos de los digeridos.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo General

Caracterizar y evaluar la capacidad antiinflamatoria de los concentrados proteicos de hormigas Santandereanas (*Atta laevigata*) tras el proceso de digestión gastrointestinal *in vitro*.

1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar el análisis proximal de la harina proveniente de las Hormigas Santandereanas (*Atta laevigata*).
- Obtener concentrados proteicos de la harina utilizando diferentes pHs de precipitación.

- Simular la digestión gastrointestinal *in vitro* del concentrado proteico.
- Caracterizar el concentrado proteico y sus digeridos obtenidos tras el proceso de simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro*.
- Evaluar la capacidad antiinflamatoria *in vitro* del concentrado proteico y sus digeridos.

1.4. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

La ingesta de insectos, según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura se ha abierto paso en la dieta de millones de personas en la tierra. Mediante estudios realizados en la Universidad de Wageningen, existe más de 1900 especies de insectos idóneas para ser consumidas por el ser humano: 31% escarabajos, 18 % orugas; abejas, avispas y hormigas 14 % y grillos el 13 %.

La hormiga es el insecto más consumido en Colombia, su mayor producción se obtiene en el departamento de Santander (**Infobae, 2021**). Mientras tanto, en Ecuador la hormiga es uno de los insectos más consumidos, después del chontacuro. Estas habitan en la Amazonia ecuatoriana y se las puede encontrar con los nombres de ucuy, “culonas” o añangos, son parte de la dieta indígena shuar, y según la comunidad poseen altos valores de proteína (**el Universo, 2008**).

1.4.1. Taxonomía de la hormiga Santandereanas (*Atta laevigata*).

Según **Simões (2017)** la taxonomía de la hormiga santandereana es la siguiente:

- **Reino:** Animalia

- **Filo:** Arthropoda
- **Clase:** Insecta
- **Orden:** Hymenoptera
- **Familia:** Formicidae
- **Subfamilia:** Myrmicinae
- **Tribu:** Attini
- **Género:** *Atta*
- **Especie:** *A. A. laevigata* (F. Smith, 1858)
- **Nombre común:**
 - **Colombia:** “hormiga de Santander-culonas”
 - **Perú:** “sikisapa”
 - **México:** “chicatana”
 - **Ecuador:** “hormiga culona”
 - **Pastaza:** “ukuis”
 - **Morona Santiago:** “añangos”

1.4.2. Morfología de la hormiga Santandereanas (*Atta laevigata*).

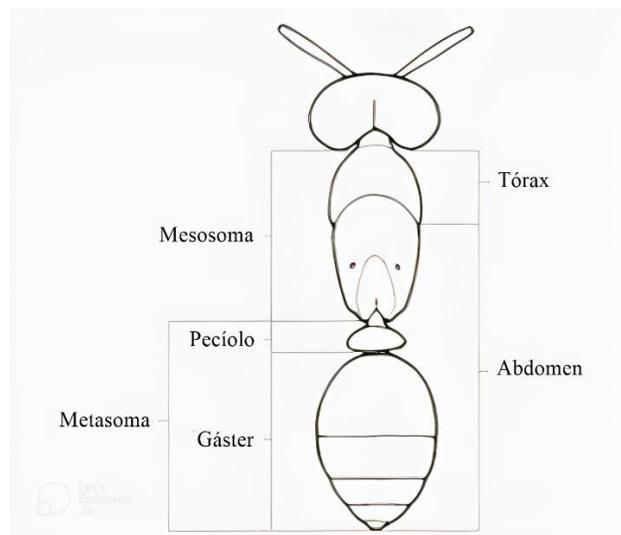


Figura 1. Morfología general de una hormiga.

Fuente: (Gómez & Espadaler, 2016)



Figura 2. Organización de un nido de hormigas (*Atta laevigata*), siete obreras (izquierda) y dos reinas (derecha).

Fuente: (Ruiz, 2019)

1.4.3. Recolección de las hormigas Santandereanas (*Atta laevigata*).

Para la recolección de las hormigas se requiere de un clima específico en la Amazonia ecuatoriana, debe haber lluvia y truenos, por ende, los ríos de la Amazonia crecen y es cuando estos insectos se preparan para volar en horas de la madrugada (a este vuelo se le conoce como vuelo nupcial). Los indígenas shuar preparan trampas en los nidos, una especie de zanja alrededor del mismo, y encima de esta zanja se coloca leña y se preparan fogatas, de esta manera las hormigas vuelan y se quemen las alas y caen en la trampa y así poder ser recolectadas.

1.4.3.1. Reproducción de las hormigas Santandereanas (*Atta laevigata*).

La hormiga *Atta laevigata*, es una especie denominada como cortadora y recolectoras de hojas, como se ha mencionado, dicha hormiga habita en ciertas regiones de Latinoamérica y en Ecuador específicamente en la Amazonia, estos insectos viven en colonias, donde la hormiga reina es quien se encarga de poner huevos (en abundancia durante los meses de agosto y septiembre

hasta enero); una vez que la descendencia alcanza su estado maduro, se reproducen en el llamado vuelo nupcial, hay que tener en cuenta que su reproducción está directamente relacionado con el clima de la zona donde habiten. Cuando las condiciones climáticas son idóneas las hijas de la hormiga reina se aparean hasta con 7 machos de su mismo nido u otros, los machos mueren posterior al acto (**la Republica, 2012**).

Hay que tomar en consideración que en el país son una especie denominada como plaga. En Colombia se ha creado granjas capaces de armonizar varias colonias a condiciones controladas, empleando el sustrato de las hojas que cortan como alimento para hongos que a la vez sirve como alimento de las hormigas, además toman en cuenta la legislación del país y el trato con especies de origen silvestre.

1.4.4. Harina de hormigas Santandereanas (*Atta laevigata*).

1.4.4.1. Ultracongelación

La ultracongelación es el proceso por medio del cual un alimento es congelado en un tiempo relativamente corto (24 horas aproximadamente), esto va a depender del tipo del producto ya que por su estructura puede tardar más tiempo. El alimento alcanza la ultracongelación cuando la temperatura llega a los -18°C en el centro térmico del mismo (**García et al., 2017**).

La principal ventaja de este método es que el alimento se puede conservar por mayor tiempo con sus cualidades propias, sin embargo, también se utiliza para preparar muestras para un tratamiento posterior como es la liofilización.

1.4.4.2. Liofilización

La liofilización es un proceso de secado por medio de la sublimación del agua que contiene el alimento. Para este proceso el alimento o matriz debe estar previamente congelado, ya que el equipo debe alcanzar condiciones de vacío y bajas temperaturas, facilitando que el hielo del alimento congelado se sublime evitando su paso por la fase líquida. Este método es fundamental en varios alimentos, ya que evita la liofilización a temperaturas altas donde se pueden perder o alterar algunos compuestos de estos (**Parzanese, 2012**).

1.4.4.3. Trituración

La trituración es un proceso durante el cual la muestra se reduce a un tamaño de partícula menor, facilitando el manejo de la materia prima y además se tiene una mayor superficie de contacto para los análisis bromatológicos que se realiza a la muestra. Se lo puede realizar en molinos de acuerdo con el tamaño de partícula que se desee obtener (**Castelló et al., 2013**).

1.4.4.4. Congelación

Es un método para conservar alimentos que reduce la velocidad de crecimiento de microorganismos, la actividad enzimática y las reacciones oxidativas, esto gracias a la formación de cristales de hielo, los mismos que modifican la disponibilidad de agua en el alimento y así minimiza las reacciones deteriorativas en el mismo (**Gómez et al., 2007**).

1.4.4.5. Almacenado

El almacenado es un proceso durante el cual el alimento se debe guardar de acuerdo con las condiciones que este amerite. Este proceso final es importante

ya que va a conservar las características que se ha logrado en el alimento en los procesos anteriores (**Salvatierra, 2019**).

1.4.5. Análisis proximal

1.4.5.1. Cenizas

Las cenizas de un alimento hacen enfoque a los residuos inorgánicos que resulta luego de calcinar la materia orgánica. Estas cenizas no suelen ser las mismas sustancias inorgánicas que se conocían de la matriz alimentaria, ya que existen pérdidas por volatilización o interacciones químicas de los constituyentes.

La determinación de estas se realiza en seco, en una mufla entre 550 y 600°C de manera que se cuantifique el total de minerales presentes en la muestra (**Rea, 2017**).

1.4.5.2. Humedad

El contenido de humedad de una matriz alimentaria es un factor de calidad para su conservación y un índice de estabilidad del alimento, ya que la proliferación de microorganismos está relacionada directamente con la cantidad de agua que contenga esta matriz (**Universidad de Zaragoza, 2014**).

Se tiene varios métodos para determinar la humedad (**Rea, 2017**):

- Secado: por diferencia de peso en un horno de secado.
- Destilación: con disolvente inmiscible.
- Químico: de acuerdo el método de Karl Fisher donde se establece que se calcula la humedad por titulación.
- Instrumental: con implementos fundamentados en resistencia eléctrica, su frecuencia y las propiedades dieléctricas.

1.4.5.3. Proteína

Las proteínas son encargadas de un gran número de funciones en las células de todos los seres vivos. Son la estructura básica de los tejidos y también desempeñan funciones metabólicas y reguladoras. Cabe destacar que estas definen la identidad de los seres vivos ya que están presentes en el DNA.

Para determinar el contenido de proteína presente en un alimento se debe analizar el contenido de nitrógeno de la matriz alimenticia, entre los métodos más conocidos se señalan tres grupos (**Rea, 2017**):

- Métodos no extractivos: Kjeldahl, Dumas, NIR-IR, Sorensen.
- Métodos extractivos químicos: Biuret, Lowry, Bradford.
- Métodos extractivos físicos: Absorbancia 280nm, turbidimetría, fluorimetría.

1.4.5.4. Grasa

McKee & McKee, (2016) mencionan que los lípidos son un grupo variado de compuestos que no se disuelven en agua, pero si en disolventes orgánicos como el cloroformo, benceno, acetona o éter. Todos ellos contienen el grupo C, H, O, N, F.

Para determinar el contenido de grasa se realizan procesos de extracción con disolventes orgánicos como el método de Soxhlet, y también con ausencia de estos disolventes como el método Gerber (**Rea, 2017**).

1.4.5.5. Fibra

Se clasifica en fibra cruda, vegetal y dietética:

- La fibra cruda de los alimentos son las sustancias orgánicas no nitrogenadas que no se disuelven tras hidrólisis sucesivas. Entre sus componentes encontramos celulosa (90%), hemicelulosa y lignina (10%).
- La fibra vegetal son los elementos fibrosos de la pared de la célula.
- La fibra dietética engloba todas las sustancias sean o no sean fibrosas.

Para determinar el contenido de fibra en una matriz se hace mediante métodos químicos, enzimáticos y gravimétricos (**Rea, 2017**).

1.4.6. Concentrado proteico

Para **Linden & Loriet (1994)** un concentrado proteico es el resultado de una división de componentes no proteínicos, donde se debe obtener del 25 al 89% de proteína purificada, para su obtención es necesario algunos tratamientos de extracción para separar la proteína de otras macromoléculas.

Actualmente existe una gran variedad de métodos para extraer la proteína, el mejor método dependerá del objetivo de la investigación o del tipo de materia prima.

1.4.7. Simulación de la digestión gastrointestinal

La digestión gastrointestinal es el proceso en que los nutrientes de los alimentos ingeridos por el ser humano se convierten en elementos absorbibles en el intestino delgado. Este es un proceso complejo que conlleva varias etapas y la acción de enzimas y otros compuestos, sin embargo, la comunidad científica ha logrado replicar este proceso mediante técnicas *in vitro* para así determinar la digestibilidad de nutrientes como proteínas, glúcidos y lípidos;

mediante reactivos específicos y condiciones controladas en laboratorios capacitados (Asensio et al., 2021).

1.4.7.1. Digestión gástrica y duodenal *in vitro*

La simulación gastrointestinal por lo general incluye la digestión gástrica e intestinal, las cuales replican las condiciones que el humano realiza en su organismo mediante el uso de enzimas digestivas con sus respectivas concentraciones, pH, tiempo, etc., (Ménard et al., 2014).

1.4.8. Caracterización de proteínas

Para llevar a cabo este estudio es necesario un fraccionamiento, por esta razón se realiza electroforesis SDS, la cual permite “la segregación de macromoléculas basándose en su masa, carga neta o la relación entre ambas, forzándolas a penetrar por una matriz porosa mediante la aplicación de un campo eléctrico” (Córsico et al., 2013).

La electroforesis en gel de poliacrilamida o comúnmente denominada SDS PAGE, trabaja en condiciones desnaturalizantes empleando un detergente y agentes reductores, sometiendo a las muestras de estudio un campo eléctrico, para de esta manera obtener una separación de las moléculas en base al peso molecular, para la visualización de las proteínas se realiza una tinción y posteriormente una comparación de las muestras con un estándar de proteínas con pesos moleculares conocidos (Maldonado-Alconada & Jorriñ-Novó, 2001).

1.4.9. Capacidad antiinflamatoria

La capacidad antiinflamatoria es una actividad biológica, que se puede realizar mediante técnicas *in vitro*, para que exista esta capacidad debe haber un

registro de inflamación en el individuo. Según **Bouhlali et al (2016)** la inflamación es una respuesta de defensa del sistema inmunológico del ser humano causada por factores nocivos como una mala alimentación.

Además, a nivel mundial se emplean fármacos para conseguir efectos antiinflamatorios, sin embargo, el uso de medicamentos trae efectos secundarios como toxicidad gastrointestinal, de ahí la importancia de hallar nuevas fuentes naturales con funciones antiinflamatorias (**Caballero, C., 2019**).

CAPÍTULO II METODOLOGÍA

2.1. MATERIALES

2.1.1. MATERIA PRIMA

- Hormigas Santandereanas (*Atta laevigata*)

2.1.2. REACTIVOS

- Ácido sulfúrico concentrado
- Sulfato de potasio
- Solución alcohólica rojo de metilo
- Éter anhidrido
- NaOH 0.313 N
- NaOH 0.1 M
- NaOH 2M
- Ácido sulfúrico 0.255 N
- Ácido cítrico
- Alcohol etílico 90%
- Cloruro de sodio
- Citrato de sodio
- Solución anticoagulante de humano
- Fenolftaleína
- Agua destilada
- NaOH 2N
- HCl 2N
- HCl concentrado
- n-hexano
- Etanol 80%
- Solución DNS
- HNO₃ 0.14 M
- Invertasa

- Bicarbonato de sodio
- Pepsina gástrica
- Sales
- Mercaptoetanol
- Tris-HCl
- Acrilamida
- SDS
- Temed
- PSA
- Azul de coomasie
- Agua desionizada
- Reactivo BSA
- Metanol 70%
- Pancreatina (100U/mg)
- Bilis
- Diclofenaco
- Cloruro de sodio 90%

2.1.3. MATERIAL FUNGIBLE

- Crisoles
- Desecador
- Pinzas
- Matraces Erlenmeyer
- Buretas
- Piedra pómez
- Pipetas
- Capsulas de porcelana
- Embudos
- Filtros de succión
- Pinceles

- Dedales Soxhlet
- Varillas de agitación
- Balones de aforo
- Micropipetas
- Puntas para micropipetas
- Vasos de precipitación
- Espátulas
- Probetas 100 ml
- Mortero
- Dedales
- Envases de plástico con tapa
- Fundas ziploc
- Tubos Eppendorf
- Jeringas
- Filtros
- Tubos Falcon
- Frascos ámbar
- Frascos de tapa azul

2.1.4. EQUIPOS

- Molino eléctrico
- Plancha eléctrica de calentamiento
- Estufa
- Extractor de grasa
- Extractor de fibra
- Mufla
- Balanza analítica
- Balanza de humedad
- Plancha magnética

- Equipo liofilizador
- Congelador
- Equipo de electroforesis
- Microcentrífuga
- pH-metro
- DUMAS nitrogen analyzer
- Ultra congelador
- Orbital
- Centrifuga
- Extractor de solventes
- Vortex
- Espectrofotometro UV-Visible
- Incubadora
- Baño maría

2.2. MÉTODOS

2.2.1. Obtención de la materia prima

Como se ha mencionado anteriormente, para la obtención de las hormigas, se requiere de un clima específico en la Amazonia ecuatoriana, para que los indígenas shuar puedan realizar trampas y atrapar a las hormigas y de esta manera comercializarlas.

Para la presente investigación se requirió de un permiso otorgado por parte del Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica del Ecuador, que permite tanto a estudiantes como investigadores la recolección de especímenes de la diversidad biológica (sin fines comerciales) (MAATE, 2022).

La harina de hormiga se obtuvo siguiendo cuatro pasos:

2.2.1.1 Ultracongelación

En primera instancia se realizó un lavado de las hormigas con agua y jabón de cocina para eliminar restos de tierra y hojas, posteriormente se retiraron las alas del cuerpo de dicho insecto y se guardó en fundas ziploc alrededor de 2 kilogramos de hormigas lavadas en el ultracongelador a -80°C durante 1 semana para que la estructura física de la matriz se conserve y alcance de manera rápida una baja temperatura.

2.2.1.2 Liofilización

Se empleó un liofilizador marca BenchTop Pro, colocándose en frascos específicos del equipo porciones adecuadas de las hormigas ultracongeladas (**Anexo A**). Se estabilizó el equipo a las condiciones establecidas de presión y temperatura 25 Pa y -50°C respectivamente, produciéndose un secado al vacío durante 2 días aproximadamente.

2.2.1.3 Trituración

Una vez obtenido el liofilizado de hormigas, se procedió a una trituración con un molino eléctrico, realizando dicha actividad con cuidado y homogenizando la muestra con ayuda de una espátula.

2.2.1.4 Congelación

El triturado obtenido se guardó en 3 fundas herméticas con 150 gramos cada funda, con el fin de que se conserven de manera óptima evitando la entrada de suciedad o humedad y llevarlas a almacenar a congelación a -20°C para que no sufran ninguna alteración física ni enzimática.

2.2.2. Desarrollo del análisis proximal

2.2.2.1. Proteína-Dumas

Para la determinación de proteína se realizó a través del método AOAC 991.2 Ed 20, 2016.

Se utilizó un equipo DUMAS Velp Scientifica NDA series. Se pesó 100mg de cada muestra en tinfoils y se colocaron dentro del disco superior externo del equipo, se seleccionó una curva de calibración con EDTA a concentraciones de 10 a 100 mg, ideal para la muestra y se verificaron los siguientes valores:

- Factor de oxígeno (ml O₂ / mg de muestra): 1,0
- Caudal de oxígeno (ml O₂ / min): 400
- Factor de proteína (% N = xpf PROT): 5,7

(Puruncajas, 2017).

Para la determinación de nitrógeno, el equipo realiza dos etapas principales: la combustión, donde la muestra se calienta a altas temperaturas (1000 °C), ahí se libera CO₂ y óxido de nitrógeno, para posteriormente pasar a la segunda etapa de reducción, donde los productos obtenidos de la combustión se recogen y mediante una mezcla de gases que pasan sobre cobre, los óxidos de nitrógeno se transforman en nitrógeno molecular (**SCIENTIFICA, 2013**).

2.2.2.2. Cenizas

Para determinar el contenido de minerales se utilizó el método NTE INEN 520.

Por diferencia de pesos se calculó el contenido de cenizas del alimento, es decir el contenido de la materia inorgánica presente en el mismo. Esto con ayuda de una mufla a 550°C durante 10 horas.

2.2.2.3. Humedad

Para el porcentaje de humedad se utilizó una balanza infrarroja PMC RAWDAG, donde se pesó 5 g de la muestra y luego de 11 minutos en la pantalla del equipo se reflejó el resultado.

2.2.2.4. Grasa

La determinación de grasa se realizó con un extractor semi-automático SER 148 Velp Scientific según el método AOAC Ed 20, 2016 2003.06, que se basa en los métodos de Randall y Soxhlet. Este procedimiento se puede resumir en 3 pasos: el primero es una inmersión, donde la muestra de estudio se coloca en un dedal, el cual se sumerge en un disolvente hirviendo (60 min), luego se pasa a una eliminación del solvente, realizando un lavado (50 min), donde el solvente que se condensa fluye en la muestra hasta completar la extracción, el tercer y último paso es la recuperación (30 min) de dicho solvente que lo realiza de manera automática el equipo (**Arriaga, 2015**).

2.2.2.5. Fibra cruda

Se utilizó el equipo extractor de fibra semi-automático Velp científico siguiendo el método INEN 522, donde se preparó la muestra y se colocó en 100ml de ácido sulfúrico 0,25N a ebullición durante 30 minutos. En el equipo se filtró esta solución y se colocó agua destilada caliente para lavar la muestra. Posteriormente, se agregó 100ml de hidróxido de sodio 0,31N y se dejó ebullición durante 30 minutos. Nuevamente se filtró el hidróxido de sodio y se lavó el residuo con ácido sulfúrico, de forma que se logró obtener las aguas de lavado sin reacción alcalina, lo cual demostró que el proceso culminó.

Los residuos contenidos en los crisoles previamente pesados se colocaron en una estufa por dos horas a 130°C. Luego se transfirió a un desecador para enfriar los crisoles y así pesarlos, para finalmente incinerarlos en una mufla a 500°C durante 30 min, y así obtener el peso final (**Quinteros, 2018**).

2.2.3. Obtención del concentrado proteico

El concentrado proteico se obtuvo según el método descrito por **Martínez (2010)**, con modificaciones, para ello se requirió:

Harina de hormigas Santandereana, solución de NaOH 2N y 0.1 N, solución de HCl 2N, una balanza analítica de 0,1mg de precisión, una plancha magnética, una probeta de 100mL, un erlenmeyer de 500mL, un ultracongelador, un equipo liofilizador de sobremesa VirTis Bench Top Pro, termómetro y un pHmetro.

La harina se suspendió en agua a una concentración de 25 g de harina por cada 250 mL de agua destilada, a continuación, se llevó a un pH de solubilidad igual a 12 con la ayuda de NaOH 2N bajo agitación intensa durante 40 minutos, controlando el pH regularmente.

Posteriormente se centrifugó la muestra en un equipo marca Eppendorf durante 35 minutos a 4500 RPM. El sobrenadante obtenido, se llevó a pH de 4,0 con una solución HCl 2N para precipitar proteínas, manteniendo durante 40 minutos bajo agitación y luego se llevó a refrigeración para alcanzar una temperatura de 4°C, para posteriormente centrifugar durante 35 minutos a 4500 RPM.

Finalmente, el producto se resuspendió en agua destilada llevando el pH a 7,0 con NaOH 0.1N. Luego se ultracongeló a -86°C y se liofilizó a -50°C. Dicho liofilizado se almacenó en congelación hasta su próximo uso. Por último, el contenido de proteínas se determinó por el método de Dumas en un equipo de Velp Scientific (**Toapanta, 2016**).

2.2.4. Simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro*

Se utilizó la metodología sugerida por **Vilcacundo et al (2018)** donde se estableció las siguientes condiciones:

En primera instancia se elaboraron dos tipos de fluidos, uno gástrico (SGF), y uno intestinal (SIF), preparándose previamente las sales de acuerdo con la siguiente tabla:

Reactivos	Concentración	Peso del reactivo (g)	Peso de agua destilada (ml)	Elaboración del fluido SGF (ml)	Elaboración del fluido SIF (ml)
KCl	0.5 M	7.456	200	6.9	6.8
KH ₂ PO ₄	0.5 M	6.804	100	0.9	0.8
NaHCO ₃	1 M	16.802	200	12.5	42.5
NaCl	2 M	23.378	200	11.8	9.6
M _g Cl ₂ (H ₂ O) ₆	0.15 M	1.525	50	0.4	1.1
(NH ₄) ₂ CO ₃	0.5 M	2.4025	50	0.5	-
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	0.3 M	2.205	50	-	-
HCl	1 M		100	-	-
NaOH	1 M		100	-	-

Nota: se tomó 250 ml de agua destilada, se agregaron las sales necesarias para SGF y SIF respectivamente en frascos de 1000 ml y se completó un volumen de 400 ml con agua destilada para finalmente llevar los fluidos a congelación (-20°C).

2.2.4.1. Digestión gástrica

Se trabajó con 5 ml de muestra, preparando 520 mg de concentrados proteicos obtenidos a pH de solubilización 12 y pH de precipitación 4, con 5 ml de agua destilada en un tubo falcon de 15 ml, previamente se calentó el fluido gástrico a 37 °C en baño maría, a los 5 ml de muestra se agregó 3.57 ml de SGF y 2.5 µl de CaCl₂(H₂O)₂ 0.3 M, a esta primera mezcla se midió el pH y se lo llevó a pH 3 con 1.5 ml de HCl 1M, además se agregó 0.43 ml de la enzima pepsina a concentración 2000 U, disuelta en SGF (40 mg de pepsina en 2.5 ml de SGF). Las muestras se llevaron a un equipo denominado orbital (ependorf 1.5 ml) a una temperatura de 37°C por 120 min a 5000 RPM, posteriormente se desactivó las enzimas en baño

maría a 80°C durante 3 minutos. Finalmente, se congeló a -20°C 3 ml de digerido gástrico, y los 7 ml restantes se utilizó para continuar con la simulación de la digestión intestinal.

2.2.4.2. Digestión intestinal

Se procedió con el resto de la muestra obtenida de la digestión gástrica (7ml) conservada en un tubo falcon de 15 ml, previamente se calentó 15 ml de SIF a 37°C, posteriormente se tomó 4.70 ml de fluido intestinal y se le añadió 15 µl de $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$ 0.3 M al tubo falcon, se midió su pH y se lo llevó a 7 con 0.2 ml de NaOH 1M, luego se añadió 1.25 ml de solución de bilis (1g de bilis en 5 ml de SIF) y por último se agregó 1.28 ml de solución de pancreatina (750 mg de pancreatina disuelta en 2.625 ml de SIF), esta mezcla se llevó al orbital (utilizando eppendorfs de 1.5 ml) a una temperatura de 37°C por un tiempo de 120min a 500 rpm, una vez finalizado este tiempo se llevó a baño maría la muestra durante 3 min a 80°C para inactivar las enzimas y llevar a congelación.

Por último, se realizó un blanco, es decir se siguió todo el procedimiento de digerido gástrico e intestinal sin la muestra a analizar.

2.2.5. Caracterización del concentrado proteico y los digeridos obtenidos

Para realizar la caracterización de la proteína aislada se empleó electroforesis en gel de dodecil sulfato de sodio-poliacrilamida, siguiendo la metodología sugerida por **Laemmli (1970)** con ciertas modificaciones; se usó el equipo Bio-Rad, modelo Mini Protean II.

- Preparación de las muestras

Se pesaron muestras en el siguiente orden: harina de hormiga (20 mg), concentrado proteico obtenido a pHs 12-14 (10 mg), digerido gástrico (20 mg), digerido

intestinal (20 mg) y blanco de la simulación gastrointestinal (20 mg), cada muestra se pesó en tubos eppendorf de 1.5 ml.

➤ Preparación de geles

Se prepararon dos geles:

- Gel inferior al 12% - Resolving Gel

Se utilizó 1.530 ml de agua destilada; 1.125 ml de Tris de pH 8.8; 1.800 ml de acrilamida 30% (mono y bis acrilamida); 0.045 ml de SDS 10%; 2.3 µl de tetrametiletilediamina (Temed); y 22.5 µl de persulfato de amonio (PSA). Luego se añadió agua destilada hasta un volumen de 4.5 ml para luego proceder a colocar en los cristales de 1 ml de espesor para el gel y que comience a gelificarse.

- Gel superior al 4%- Stacking gel

Se utilizó 1.220 ml de agua destilada; 0.5 ml de Tris de pH 6.8; 0.260 ml de acrilamida 30%; 0.020 ml de SDS 10%; 2 µl de Temed; y 10 µl de PSA al 10%. Obteniendo un volumen de 2 ml de gel. Este gel superior se colocó una vez que el gel inferior se haya gelificado, para así proceder a insertar un formador de pocillos, que después de ser retirado se colocó 2.5 µl de cada muestra en cada pocillo formado.

Posteriormente se preparó el buffer de muestra: 3.55 ml de agua destilada; 1.25 ml de tris de pH 6.8; 2.5 ml de glicerol; 2 ml de SDS 10%; y 0.2 ml de azul de bromofenol, obteniéndose un volumen final de 9.5 ml.

En este buffer también se agregó β-mercaptoetanol a razón de 50 µl por 950 µl de buffer de muestra.

De esta manera, a cada muestra se agregó 1 ml de agua destilada, y se procedió a homogeneizar en un Vortex, sin embargo, las muestras no se disolvían por completo por lo que se agregó 0.05 ml de NaOH 4 M para mejorar la disolución,

después se tomaron 200 µl y se colocó en tubos eppendorf de 1.5 ml para agregar 200 µl del buffer de muestra y llevar a calentar a 90 °C por 5 minutos en un orbital.

Una vez obtenido las muestras a analizar, se tomaron los geles colocados en sus celdas, se trasladó al equipo de electroforesis para añadir buffer running (compuesto de Tris, Glicina y SDS) hasta la primera señal de la cámara de electroforesis, y con ayuda de una micropipeta colocar 10 µl de las muestras preparadas en cada pocillo. Una vez colocadas las muestras se procedió a llenar hasta la segunda marca de buffer running dicha camera, en el primer pocillo se colocó el estándar de pesos moleculares Dual Color de Bio Rad (rango 10-250kDa).

La corrida de los geles se realizó a 200 voltios por un tiempo de 30min. Posteriormente los geles se tiñeron con una solución de Coomassie brilliant blue R-250 por un tiempo de 2 horas y luego se sumergió en una solución para desteñirlos, esta solución contiene 50% metanol, 5% ácido acético y 45% agua. Finalmente, se lavaron los geles con agua destilada y se tomaron fotografías de los resultados finales.

2.2.6. Evaluación de la capacidad antiinflamatoria *in vitro*

Se realizó por el método descrito por **Bouhlali et al (2016)** con modificaciones, considerando el potencial de estabilización de la membrana.

Se preparó una solución anticoagulante esterilizada, la misma que contuvo ácido cítrico al 0,05%, cloruro de sodio al 0,42%, citrato de sodio al 0,8% y dextrosa al 2%, en conjunto con agua destilada estéril. Se mezcló en una proporción 1:1 de la solución anticoagulante con la sangre extraída de humanos sanos. Posteriormente, se centrifugó la mezcla a 4000 RPM durante 30min a temperatura ambiente. La

solución de sangre resultante se desechó, mientras que el sedimento celular se lavó con solución salina isotónica (9g/l) la misma que se usó para preparar una suspensión que contenía sedimento celular al 10%.

La mezcla de esta reacción poseía 1ml de tampón fosfato, 1ml de extracto muestra (20mg/ml), 0,5ml de suspensión de sangre (10%) y 2ml de solución salina hipotónica (3,6 g/l). Estas muestras se incubaron por 30 min a una temperatura de 37°C para luego centrifugarlas a 10000 RPM por 10 min. Finalmente se midió mediante un espectrofotómetro a 560nm, el contenido de hemoglobina del sobrenadante.

Los resultados se expresaron como porcentaje de protección (%PP):

$$\%PP = 100 - \frac{Abs\ muestra}{Abs\ control} * 100$$

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE DATOS

3.1.1. Análisis Proximal

Tabla 1. Determinación de ceniza.

Muestra	Replica	Crisol vacío (g)	Muestra (g)	Crisol + muestra incinerada (g)
Harina de hormiga	1	11.761	2	11.807
	2	21.386	2	21.429

Tabla 2. Resultados del porcentaje de ceniza.

Muestra	Replica	Porcentaje de ceniza %	Media	Desviación estándar	Coefficiente de variación %
Harina de hormiga	1	2.3	2.225	0.1060	4.7640
	2	2.15			

En la **Tabla 1**, se puede visualizar los datos obtenidos mediante el análisis de ceniza por el método NTE INEN 520, y como se denota en la **Tabla 2** el valor promedio obtenido de residuos inorgánicos a partir de la calcinación de la muestra en la mufla corresponde a 2.225% con una desviación estándar de 0.1060 (**Anexo F 1.1**).

En un trabajo realizado por **Granados (2013)**, el resultado de cenizas fue 3.06% para la harina de hormiga Santandereana entera y 5.23% en la misma muestra desengrasada. Por otro lado, un estudio realizado por **Vera (2020)** mediante el

método AOAC 923.03 indicó un porcentaje de 3.29% de cenizas en la harina de grillo común (*Gryllus assimilis*).

De acuerdo con los resultados obtenidos en la investigación frente a los datos bibliográficos reportados anteriormente, se puede apreciar diferencias entre sus valores, ya que estos se encuentran por encima del porcentaje de cenizas presentes en la harina de hormiga objeto de estudio (2.225 ± 0.1060), esto va a depender del tratamiento que se le dio a la muestra previo a la incineración en la mufla, la temperatura y el tiempo que se aplicó durante el proceso. En el caso de nuestra harina se obtuvo las cenizas en seco, de forma que previo a la calcinación se quemó la muestra al aire de manera que por la intensidad de la flama se puede perder cenizas, o producirse un cambio de carbonatos a óxidos (Marquez, 2014). Es importante también tomar en cuenta la composición propia del insecto, ya que de acuerdo con su naturaleza va a depender el contenido de minerales que contenga.

Tabla 3. Determinación de humedad.

Muestra	Replica	Humedad %
Harina de hormiga	1	5.5135
	2	5.4139
	3	5.3083

Tabla 4. Resultados del porcentaje de humedad.

Muestra	Replica	Porcentaje de humedad %	Media	Desviación estándar	Coefficiente de variación %
Harina de hormiga	1	5.5135	5.4119	0.1026	1.8958
	2	5.4139			
	3	5.3083			

En cuanto al análisis de humedad, en las **Tabla 3 y 4** se puede observar los valores arrojados tras la elaboración de la metodología empleada, en donde el valor promedio corresponde a 5.4119% y la desviación estándar 0.1026 (**Anexo F.2**).

Según **Granados (2013)**, el contenido de humedad en hormigas sin ningún tipo de proceso es de 22.15%, mientras que en una muestra de harina de hormigas enteras es de 4.94% similar al $5.4119 \pm 0.1026\%$ obtenido en este estudio; así mismo el autor menciona que tras un proceso de tostado de las hormigas en horno a 20 min el porcentaje de humedad bajo a 6.02%.

Además, el valor obtenido se encuentra por encima de la humedad reportada en otros insectos, en el caso de una muestra de harina de grillos común estudiada por **Vera (2020)** menciona que el contenido de humedad de dicha matriz es de 2.74%, dato obtenido por medio de método AOAC 925.10, por otro lado, según **Blanco & Giraldo (2016)**, la humedad de la harina de grillos (*achetta domesticus*) corresponde a 4%, dato logrado por medio de una termobalanza.

Asimismo, **Pérez & Rodas (2012)** analizaron dos tipos de harina de insectos: grillos y cucarachas obteniendo 5.80 % y 6.56 % de humedad respectivamente, dichos valores se acercan al valor de humedad de la harina de hormiga

De igual manera, es importante detallar la norma técnica que rige la humedad en las harinas; (NTE INEN 1235, 1987) estipula que las harinas de granos y cereales deben poseer un contenido de humedad de 9 al 15 %, sin embargo, para harinas de insectos no existe normativa por lo cual no se puede realizar una comparación técnica.

Tabla 5. Determinación de proteína.

Muestra	Replica	Peso de la muestra (mg)	Proteína %
Harina de hormiga	1	100.45	46.610
	2	101.42	47.287
	3	103.38	48.505

Tabla 6. Resultados del porcentaje de proteína.

Muestra	Replica	Porcentaje de proteína %	Media	Desviación estándar	Coefficiente de variación %
Harina de hormiga	1	46.610	47.467	0.9602	2.022
	2	47.287			
	3	48.505			

La determinación de la proteína obtenida mediante el método AOAC 991.2 Ed 20, 2016 se observa en la **Tabla 5**, donde se muestra los valores de las tres réplicas, y en la **Tabla 6** los valores estadísticos correspondientes 47.467% de media y 0.9602 y 2.022 de desviación estándar y coeficiente de variación respectivamente (**Anexo F.3**).

Vera (2020) menciona un valor de 49.55% de proteína en la harina de grillo común (*Gryllus assimilis*), mientras que **Santamaria & Inga (2019)** reportan un valor de 56.7% en el mismo insecto; **Quinteros (2018)** presentó un contenido proteico de 65.4% para grillos. Por otro lado, **Granados (2013)** indica valores de 35.5% en harina de hormiga Santandereana entera, valor que se encuentra por debajo del $47.467 \pm 0.9602\%$ obtenido en esta investigación.

Adicionalmente, **Espinosa (2019)** mediante el método AOAC 981.10 encontró porcentajes de proteína en los chontacuros que van desde 7.03% hasta 9.71% de acuerdo con el lugar donde viven, es decir que los que albergan en la palma morete tiene mayor porcentaje de proteína que los de chonta.

La cantidad de proteína en los insectos está relacionada directamente con la presencia de exoesqueleto y la alimentación, esto se puede observar en estudios donde se toman insectos que han sido criados de una forma personalizada de

manera que su composición es distinta a los insectos que se alimentan aleatoriamente en la selva.

Santamaria & Inga (2019) manifiestan que el aporte proteico de los insectos depende del clima ya que, si el lugar es más cálido, el desarrollo y crecimiento del insecto es favorable, tomando en cuenta en el ranking de aporte proteico de los insectos en los países de América, Ecuador se encuentra en el tercer lugar con un porcentaje de 63%, solo detrás de México y Colombia con 75.3% y 67.1% respectivamente. Cabe destacar que el continente americano es el número 1 en el ranking mundial de aporte proteico. Además, el método de cuantificación de la proteína también puede inferir en el resultado.

Tabla 7. Determinación de grasa.

Muestra	Replica	Peso de muestra (g)	Peso vaso + perlas de ebullición (g)	Peso vaso + perlas de ebullición + grasa extraída (g)	Peso de la grasa extraída (g)
Harina de hormiga	1	1.5025	75.8566	76.3250	0.4684
	2	1.5022	74.8321	75.3202	0.4729
	3	1.5009	73.1772	73.6501	0.4881

Tabla 8. Resultados del porcentaje de grasa.

Muestra	Replica	Porcentaje de grasa %	Media	Desviación estándar	Coefficiente de variación %
Harina de hormiga	1	31.1747	31.7249	0.6851	0.0215
	2	32.4923			
	3	31.5077			

En la **Tabla 7** se visualiza los valores de grasa alcanzados mediante AOAC ed 20,2016 2003.06, representados en la **Tabla 8**, donde de igual manera se trabajó con 3 réplicas obteniendo como media 31.7249%, una desviación estándar de 0.68 y 0,0215 de coeficiente de variación (**Anexo F 4.1**).

Para **Vera (2020)** el porcentaje de grasa en harina de grillos siguiendo el método AOAC 991.36 es de 20.24%, mientras que para **Granados (2013)** el valor de grasa en harina de hormigas santandereanas enteras es de 40.40% por encima del 31.7249±0.6851% que se obtuvo en este trabajo investigativo.

Según **Pérez & Rodas (2012)** en 100 gramos de porción de harinas de grillos y cucarachas el valor de grasa es de 31.21 y 29.57 % respectivamente, en este análisis se siguió la metodología de extracción de grasa por Soxhlet, datos que se asemejan al contenido de grasa de la harina de hormigas 31.7%.

Para **Espinosa (2019)** los valores de grasa en chontacuros va en un rango de 21,11% a 26,11%, datos menores al contenido de grasa de la hormiga, grillos y cucarachas, sin embargo, dependiendo de la procedencia de dicho insecto, dicho rango puede aumentar.

Tabla 9. Determinación de fibra.

Muestra	Replica	Peso de muestra (g)	Peso crisol vacío (g)	Peso crisol+ fibra extraída estufa (g)	Peso crisol + fibra extraída mufla (g)	Peso de la fibra extraída (g)
Harina de hormiga	1	1.0618	30.1595	30.259	30.1258	0.1254
	2	1.021	30.1144	30.206	30.081	0.1224

Tabla 10. Resultados del análisis proximal de fibra.

Muestra	Replica	Porcentaje de fibra %	Media	Desviación estándar	Coefficiente de variación %
Harina de hormiga	1	12.54	12.39	0.2121	0.0171
	2	12.24			

La determinación de fibra cruda se obtuvo mediante el método INEN 522 donde los datos previos a dicho análisis se visualizan en la **Tabla 9**, y de esta manera en la **Tabla 10** se denota la cantidad fibra, con una media de 13,39% de fibra cruda, con una desviación estándar de 0.2121 y coeficiente de variación de 0.0171 (**Anexo F 5.1**).

El contenido de fibra cruda presente en los insectos está relacionado directamente con el exoesqueleto del animal, es así como **Avendaño et al (2020)** afirma que la quitina es uno de sus componentes más abundantes, el mismo que es un polisacárido considerado fibra. En su investigación encontró 29% de fibra cruda en un tipo de polilla llamada *Latebraria amphipyrioides*, mientras que en una larva *Aegiale hesperiaris* encontró un 0.12%.

Por otro lado, **Santamaria & Inga (2019)** encontraron 5.01% de fibra cruda en grillos, mientras que **Quinteros (2018)** asegura que, en dicho insecto se encuentra entre el 5 y 20%.

Granados et al (2012) obtuvo un valor de 15.48% de fibra bruta en la harina de hormiga Santandereana entera, mientras que para la harina desengrasada un 30.22%. Se debe considerar que los valores encontrados en este estudio son más altos que los obtenidos al presente análisis ($12.39 \pm 0.2121\%$), debido probablemente a la diferencia entre metodologías empleadas, el tipo de matriz (desangrada), y el enfoque investigativo.

Tabla 11. Análisis proximal de la harina de hormigas.

Componente	Porcentaje %
Proteína	47.467±0.9602
Grasa	31.7249±0.6851
Fibra	12.39±0.2121
Humedad	5.4119±0.1026
Cenizas	2.225±0.1060

En la **Tabla 11** se puede visualizar el análisis bromatológico de la harina de hormigas santandereanas, los componentes analizados fueron 5: proteína, grasa, fibra, humedad y cenizas. De esta manera se puede nombrar esta matriz alimenticia como un alimento con alta cantidad de proteína (**Beltrán de Heredia, 2016**).

3.1.2. Obtención del concentrado proteico

Tabla 12. Contenido de proteína en los concentrados proteicos

Tratamiento		Replicas	Contenido de proteína %
pH de solubilización	pH de precipitación		
12	4	1	61.711
		2	62.453
		3	62.734
		Total	62.299
10	4	1	59.233
		2	60.812
		3	59.847
		Total	59.964

Tabla 13. Contenido de proteína en los concentrados proteicos a pH 12 de solubilización y pH 4 de precipitación.

Muestra	Replica	Porcentaje de proteína %	Media	Desviación estándar	Coefficiente de variación %
Harina de hormiga	1	61.711	62.299	0.5285	0.008483
	2	62.453			
	3	62.734			

En la **Tabla 12** se alcanza a visualizar el contenido proteico de los concentrados a diferentes pH de solubilización, a través del método Dumas. De esta forma se encontró mayor cantidad de proteína a pH 12 de solubilización y pH 4 de precipitación. Esto se logra con el punto isoelectrico de las proteínas, el mismo que está relacionado directamente con su perfil de aminoácidos, de forma que ha determinado pH la proteína no tiene carga eléctrica y no logra desplazarse en este campo, es así como no existe repulsión electrostática con las otras moléculas de proteínas cercanas y en consecuencia precipitan (**Serpa et al., 2014**).

En un informe realizado en México, se analizaron tres tipos de insectos comestibles: chinches adultos, larvas de avispa, y larvas mosca negra; en donde el porcentaje de proteína concentrada de cada insecto mencionado fue: chinche 49.42 ± 0.04 %; larva de avispa 57.12 ± 0.58 % y larvas de mosca negra 55.18 ± 0.20 %, este análisis del contenido de proteína se realizó mediante Kjeldahl con un factor de corrección de 4.6 (**Baigts-Allende et al., 2021**).

Mientras que, según **Bu ßler et al. (2016)** el contenido de proteína concentrada de la harina de escarabajo (*Tenebrio molitor*) es de $57,8 \pm 1,2$ %. Por otro lado, **González (2019)** evaluó también la proteína bruta (AOAC, 2005) de la harina de escarabajo (*Tenebrio molitor*) 50.9%, escarabajo zofobas (*Zophobas morio*) 37.8%, escarabajo de la hojarasca (*Alphitobius diaperinus*) 64.7% y grillos (*Acheta domesticus*) 69.9%; para su uso en la alimentación de rumiantes; la diferencia entre

valores de una misma especie depende del método de extracción y factor de corrección.

Igualmente, **Carvajal (2022)** analizo el contenido de proteína cruda de harina de larvas *Hermetia Illucens* 55.34%, y harina de grillos 65.07%. Para evaluar el efecto de la sustitución de harina de pescado por harina de dichos insectos para consumo animal (acuicultura), la proteína extraída se realizó mediante el método micro-Kjeldahl (AOAC, 2005).

De acuerdo con el porcentaje de proteína del concentrado proteico obtenido en este estudio $62.299 \pm 0.5285\%$, la mayoría de los valores bibliográficos se encuentran por debajo del valor mencionado, únicamente la harina de grillos y de escarabajo de la hojarasca presentan datos relativamente similares (62 a 69 % de proteína).

En cuanto a concentrados proteicos que se comercializan, son de matrices “comunes” los de peces que posean altos valores nutricionales o de leguminosas con las misma característica mencionada, por ejemplo, según **Carvajal (2022)** el contenido de proteína purificada de harina de sardina es de 65%, para **González (2019)** la torta de soja posee 50,6% de concentrado de proteína y **Vallejos (2018)** afirma que la harina de arveja posee 84,26 % de proteína, los cuales son valores más elevados que de cualquier matriz proveniente de insectos.

Cabe mencionar que no existe investigaciones de la determinación del punto isoelectrico de proteínas de la hormiga *Atta laevigata*.

En la **Tabla 13**, se observa el contenido de proteína de los concentrados proteicos solamente del método de extracción de pH 12 y 4 de solubilización y precipitación respectivamente, debido a que de esta manera se logró los valores más altos de contenido de proteína, obteniendo como media 62.63% de proteína, con un porcentaje de rendimiento más significativo 31.3447 % (**Anexo F 7- Ec.7**), con una desviación estándar de 0.53 y 0.008 % de coeficiente de variación (**Anexo F 6**).

3.1.3. Simulación de la digestión gastrointestinal

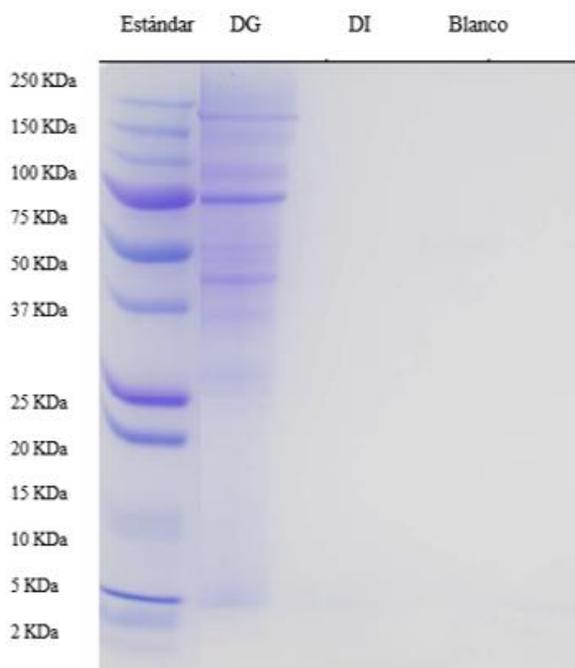


Figura 3. Resultados de electroforesis de la digestibilidad.

Fuente. Laboratorio de Investigación y Vinculación Universidad Estatal de Bolívar- UEB

En la **Figura 3** se perciben bandas de electroforesis SDS PAGE, con las siguientes muestras: simulación gástrica, simulación gastrointestinal y un blanco de la digestión.

La técnica de electroforesis SDS PAGE permite la separación de proteínas por su peso molecular. En los pocillos que se visualiza en la figura, se colocaron las muestras de la simulación gastrointestinal del concentrado proteico obtenido (DG y DI) y en el último pocillo un blanco para verificar que no haya ningún tipo de influencia externa en los resultados.

Como se ha mencionado, la digestibilidad *in vitro* se realiza por medio de dos fases, una gástrica y una intestinal con ayuda de enzimas digestivas, este procedimiento permite la hidrólisis de proteínas.

En la digestión gástrica correspondiente al pocillo DG, se observa una hidrólisis parcial de las proteínas por acción de la pepsina, mientras que en la digestión intestinal DI en presencia de la pancreatina se refleja una hidrólisis total de las mismas, por lo que las proteínas de la harina de hormiga podrían presentar una buena digestibilidad.

Para **Quinteros (2018)** la digestibilidad de las proteínas presentes en matrices de insectos está directamente vinculada con la hidrólisis realizada (metodología aplicada), en su estudio de evaluación de actividades biológicas en harina de grillo, realizó una digestibilidad *in vitro*, en la cual mediante electroforesis SDS PAGE, se presencié una hidrólisis total de proteínas tal como se presencia en las muestras de los digeridos de la hormiga.

La técnica de digestibilidad *in vitro* se ha empleado en varios estudios, por ejemplo, en Indonesia en 2017, se realizó la digestibilidad proteica de harina de grillo con y sin exoesqueleto, en donde este último elevó la digestibilidad, pero redujo la cantidad de proteína. Años atrás, **Bosch et al (2014)** ejecutó una simulación gastrointestinal *in vitro* en harina de cucarachas y grillos, en este estudio se realizó un perfil de aminoácidos de ambos insectos, la harina de cucaracha arrojó una menor digestibilidad en comparación a la harina de grillos y de hormiga.

Cabe destacar que en numerosos estudios se ha evidenciado la generación de péptidos bioactivos tras el proceso de simulación gastrointestinal de proteínas, lo que resulta llamativo para la comunidad científica, ya que dependiendo de la matriz de estudio “presentan actividades biológicas tras su liberación mediante

hidrolisis”, estos péptidos durante la fase gástrica y después de la fase intestinal son capaces de resistir y/o formar nuevos péptidos funcionales (Guerra, L. 2020).

3.1.4. Caracterización del concentrado y digeridos

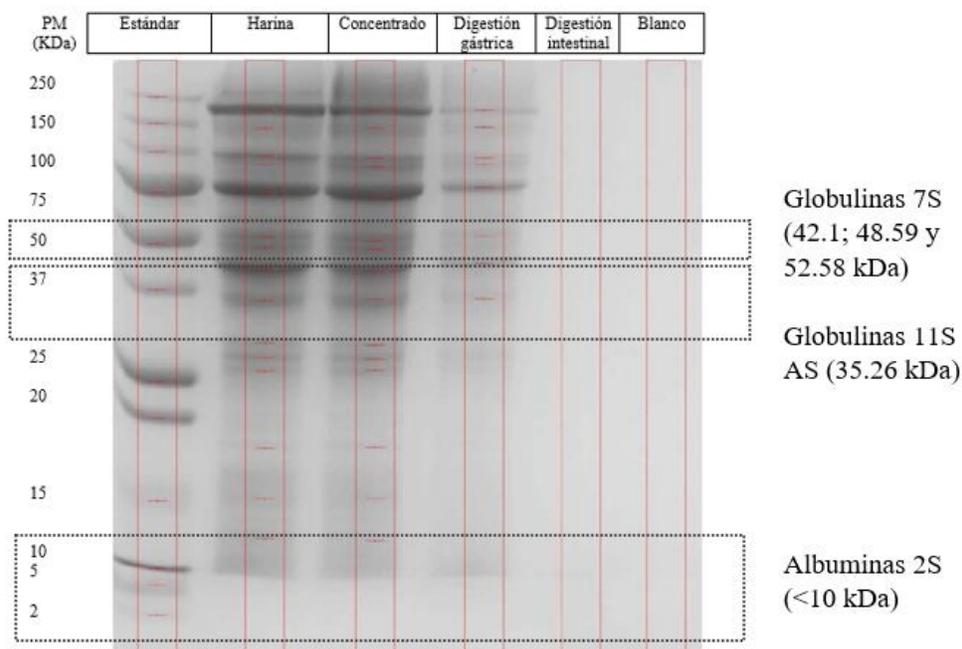


Figura 4. Resultados de electroforesis

Fuente. Laboratorio de Investigación y Vinculación Universidad Estatal de Bolívar- UEB

Tabla 14. Resultados de pesos moleculares del análisis de electroforesis.

Banda	Estándar	Harina de hormigas (kDa)	Concentrado Proteico (kDa)	Simulación Gástrica (kDa)	Simulación Intestinal (kDa)	Blanco (kDa)
1	250	191.06	191.06	191.06	-	-
2	150	138.85	138.85	138.05	-	-
3	100	96.58	96.58	96.58	-	-
4	75	90.95	90.95	90.95	-	-
5	50	74.73	74.73	74.73	-	-
6	37	52.58	52.58	52.58	-	-
7	25	48.59	48.59	42.1	-	-

8	20	42.1	42.1	35.26	-	-
9	15	35.26	35.26	-	-	-
10	10	29.49	29.49	-	-	-
11	5	27.73	27.73	-	-	-
12	2	26.13	26.13	-	-	-
13	-	18.05	18.05	-	-	-
14	-	15.09	15.09	-	-	-
15	-	11.97	11.97	-	-	-

Fuente. Laboratorio de Investigación y Vinculación Universidad Estatal de Bolívar- UEB

Para realizar la caracterización del concentrado proteico de la harina de hormigas tras el proceso de digestibilidad *in vitro* se empleó electroforesis en gel de dodecil sulfato de sodio-poliacrilamida, esta técnica se aplicó en la harina, concentrado proteico 12-4 y los digeridos gástrico e intestinal.

El perfil de proteínas de acuerdo con la **Figura 4** y la **Tabla 14**, revelan distintas bandas proteicas, en un amplio rango de pesos moleculares (kDa), para la harina y el concentrado proteico: 11.97; 15.09; 18.05; 26.13; 27.73; 29.49; 35.26; 42.1; 48.59; 52.58; 74.73; 90.95; 96.58; 138.85; 191.06. Por otro lado, el digerido gástrico presento los siguientes pesos moleculares (kDa): 35.26; 42.1; 52.58; 74.73; 90.95; 96.58; 138.85; 191.06. Y, por último, como se evidencia en dicha figura, la ausencia de bandas proteicas en el digerido intestinal demuestra que las proteínas han sido hidrolizadas totalmente por acción de la pancreatina.

Para **Tarone et al., (2013)** el grupo de glicoproteínas o globulinas 7S poseen pesos moleculares de 42 a 58 kDa. **Vilcacundo et al., (2017)** corrobora dicha información; en comparación a los resultados obtenidos del presente estudio, en cuanto a la harina de hormiga, el concentrado proteico y digerido gástrico se visualiza pesos moleculares de 42.1; 48.59 y 52.58 kDa, indicando la posible presencia de globulinas con coeficiente de sedimentación 7S.

En cuanto a las globulinas 11S, **Vilcacundo et al., (2017)** señala que son un grupo de polipéptidos heterogéneos de diversos tamaños con dos subunidades: naturaleza ácida/AS (30-40 kDa) y naturaleza básica/AB (20-25 kDa). Mientras tanto, **Quinteros et al., (2016)** menciona que las globulinas con coeficiente de

sedimentación 11S son proteínas con pesos moleculares de 28.1 a 30 kDa; en base a estos rangos, las muestras de harina de hormigas, concentrado proteico y digerido gástrico, presentaron proteínas con peso molecular de 35.26 kDa que puede corresponder a globulinas 11S de naturaleza ácida.

Por otra parte, **Quinteros (2018)** detalla que las albúminas 2S son consideradas de bajo peso molecular, indicando que dichas proteínas tienen un peso menor a 10 kDa, por lo que solamente en la harina de hormiga y el concentrado proteico se puede visualizar bandas inferiores al valor mencionado.

3.1.5 Capacidad antiinflamatoria

Tabla 15. Resultados de la actividad antiinflamatoria.

Muestra	Porcentaje de protección %
Blanco de la digestión	-1.20 ± 1.18 ^c
Harina de hormiga	69.23 ± 2.05 ^c
Concentrado proteico	74.70 ± 2.36 ^b
Hidrolizado gástrico	85.64 ± 0 ^a
Hidrolizado intestinal	0.17 ± 1.026 ^d
Diclofenaco sódico	79.49 ± 0 ^b

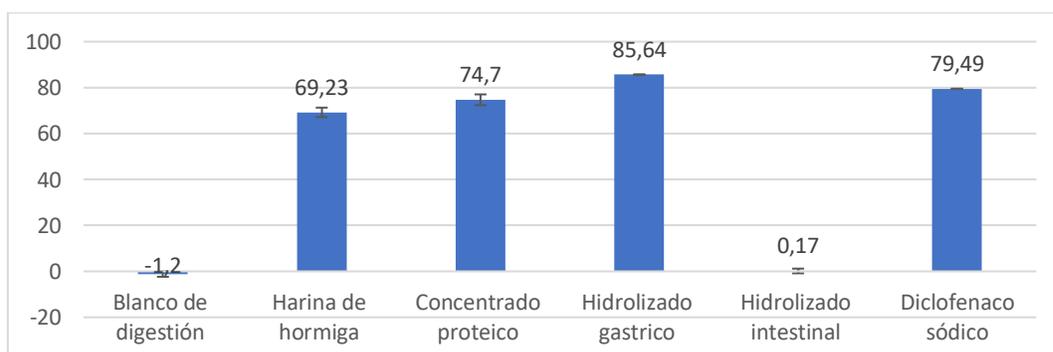


Figura 5. Diagrama de barras del porcentaje de protección -capacidad antiinflamatoria

Fuente. Laboratorio de Investigación y Vinculación Universidad Estatal de Bolívar- UEB

En la **Figura 5** se indica el porcentaje de protección de las muestras estudiadas, el porcentaje más alto correspondiente a 85.64% correspondiente al digerido gástrico (primera fase), el cual es un valor más alto al compararlo con el estándar empleado en el análisis (Diclofenaco sódico - 79.49%), seguido del concentrado proteico 74.7 ± 2.36 %, ambos resultados sin diferencias significativas; la harina de hormiga 69.23 ± 2.05 %, y en cuanto al hidrolizado intestinal y el blanco de la digestión se obtuvieron valores de 0.17 ± 1.026 % y -1.2 ± 1.18 % respectivamente.

La hidrólisis de las proteínas puede formar péptidos bioactivos, en el caso de las muestras analizadas solo se evidencio una mayor capacidad antiinflamatoria en el hidrolizado gástrico, mientras que el hidrolizado intestinal tuvo un valor bajo de 0.17 % de protección, debido a la posible inactivación de los péptidos por falta de resistencia al proceso de digestión duodenal.

Sin embargo, la harina de hormigas *atta laevigata* y el concentrado proteico obtenido a pHs 12-4 de solubilización y precipitación respectivamente, también presentan un alto porcentaje de protección, por lo que es necesario realizar más estudios al respecto para identificar el compuesto que presenta dicha actividad biológica .

Para **Cobo (2016)**, la capacidad antiinflamatoria de la proteína aislada a pH 5 de guayusa obtuvo un porcentaje de 67.89%, este resultado se encuentra por debajo al porcentaje de protección del digerido gástrico del concentrado de hormiga (85.64%)

En la investigación realizada por **Quinteros (2018)**, la actividad antiinflamatoria en concentrados proteicos a partir de harina de grillo (*Gryllus assimilis*) a pH de precipitación 6 y solubilización 10, alcanzo el mayor porcentaje de protección de 93.55%, dicho valor supera al porcentaje de protección de todas las muestras encontradas en bibliografía..

Por otra parte, **Liu (2022)** menciona que para obtener grandes cantidades de péptidos funcionales se requiere la hidrólisis de las proteínas, “estos péptidos suelen ser de origen vegetal o animal, de bajo peso molecular y de fácil absorción”, para verificar su actividad biológica es necesario realizar experimentos de carácter *in vitro* o *in vivo*, sin embargo hay una limitada información de péptidos funcionales en estudios clínicos.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMEDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

- Se realizó el análisis proximal de la harina de Hormiga Santandereana (*Atta laevigata*), cuyos resultados demuestran que se trata de un alimento con alta cantidad de proteína.
- El concentrado proteico proveniente de la harina de hormiga se logró obtener mediante la combinación de pHs de solubilización y precipitación de 12 y 4 respectivamente, con un valor de 62.299 % de proteína.
- A partir de las proteínas de la hormiga, la digestión gastrointestinal simulada favorece la liberación de péptidos con actividad antiinflamatoria, mientras que durante la digestión duodenal dicha actividad se pierde por completo.
- Se realizó una caracterización de proteínas por medio de electroforesis SDS-PAGE, la harina de hormiga y su concentrado proteico presentaron 15 tipos de proteínas con pesos moleculares entre 11.97 y 191.06 kDa; en cuanto al digerido gástrico se evidenció 8 proteínas de 35,26 – 191.06 kDa las cuales resistieron la acción de la pepsina, finalmente el digerido intestinal no presentó proteínas.
- La harina de hormigas y el concentrado proteico (pH 12-4) presentaron actividad antiinflamatoria. Sin embargo, los péptidos liberados durante la digestión gástrica son los principales responsables de esta actividad, debido a su alto valor registrado (85.64%).

4.2 RECOMENDACIONES

- Para establecer un mejor rendimiento en la extracción del concentrado proteico, se debe realizar un diseño experimental de varios pHs de solubilidad y precipitación.
- Realizar un análisis de perfil de aminoácidos para completar la información acerca de la calidad de proteínas presentes en la matriz estudiada.
- Realizar un estudio sobre otras actividades biológicas, esto permite tener un conocimiento más amplio sobre los efectos benéficos de la proteína presente en la harina de hormigas *Atta laevigata*.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Asensio, A., Calvo, J., Heredia, A., & Andrés, A. (2021). *Simulación In Vitro De La Digestión Gastrointestinal De Alimentos*.
- Arriaga, L. (2015). *APPLICATION NOTE Crude Fat Determination in Mayonnaise according to the Randall method CRUDE FAT DETERMINATION IN MAYONNAISE RANDALL METHOD*. 1–3.
- Baigts-Allende, D., Doost, A. S., Ramírez-Rodrigues, M., Dewettinck, K., Van der Meeren, P., de Meulenaer, B., & Tzompa-Sosa, D. (2021). Insect protein concentrates from Mexican edible insects: Structural and functional characterization. *Lwt*, 152(March), 112267. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112267>
- Beltrán de Heredia, M. R. (2016). Alimentos funcionales. *ELSEVIER*, 30(3), 12–14. <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-alimentos-funcionales-X0213932416546681>
- Benavent, M. (2007). *Efecto De La Desglicosilación Enzimática En La Antigenicidad Del Alérgeno B-Conglicinina (7s Globulina) De Soja [UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID]*. <https://digital.csic.es/bitstream/10261/21710/1/Amigo-Benavent%20DEA%20sep07.pdf>
- Blanco, A., & Giraldo, F. (2016). *Desarrollo de una barra tipo granola a base de harina de grillo Acheta domesticus como principal fuente proteica*. <https://ciencia.lasalle.edu.co/>
- Bosch G, Zhang S, Ooninx D, Hendriks W. (2014). Protein quality of insects as potential ingredients for dog and cat foods.
- Bouhlali, E., Sellam, K., Bammou, M., Alem, C., & Filali-Zehzouti, Y. (2016). In vitro Antioxidant and anti-inflammatory properties of selected Moroccan medicinal plants. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 156-162.

- Bußler, S., Rumpold, B. A., Jander, E., Rawel, H. M., & Schluter, O. K. (2016). - functionality of flours and proteins from two edible insect species: Meal worm (*Tenebrio molitor*) and black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. *Heliyon*, 2(12), e00218.
- Caballero, C. (2019). *Toxicidad de los tratamientos oncológicos* . <https://seom.org/guia-actualizada-de-tratamientos/toxicidad-de-los-tratamientos-oncologicos?showall=1>
- Carvajal, K. (2022). Efecto de la sustitución de harina de pescado por harina de insecto (*Hermetia illucens* y *Acheta domesticus*) en el desempeño biológico, digestibilidad, actividad enzimática y perfil de ácidos grasos de juveniles de *Totoaba macdonaldi*. In *Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California*. https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/513/1/Tesis_González_Hermoso_Juan_Pablo_07_dic_2016.pdf
- Castelló, M., Barrera, C., & Pérez, E. (2017). *Reducción del tamaño de partículas y tamizado de sólidos*.
- Cobo, C. (2016). *Determinación de la actividad antioxidante, polifenoles, actividad antiinflamatoria y digestión gastrointestinal in vitro en proteínas de hoja de Ilex guayusa*. <https://www.ptonline.com/articles/how-to-get-better-mfi-results>
- Córsico, B., Falomir, L. L., Franchini, G. y Scaglia, N. (2013). Análisis estructural y funcional de Macromoléculas (E. i. l. R. d. E. U. N. (REUN) Ed. 1a ed.). La Plata. El Universo. (2008). *Hormigas en menú de restaurantes del Puyo | Ecuador | Noticias | El Universo*. <https://www.eluniverso.com/2008/10/24/0001/12/1C46525170274D9E9BA7C7A4B7C93687.html/>
- Espinosa, A. (2019). *Estudio del valor nutricional y caracterización de los ácidos grasos del chontacuro de la especie *Rhynchophorus palmarum* L.*
- Fernández, E., & Galvan, A. (2020). *Métodos para la cuantificación de proteínas*.

- García, R. J., Pinto, A. D., Rengel, J. E., Torres, J. M., González, J. A., & Pérez, N. A. (2017). Design of fuzzy control strategy applied to food process deep freeze. *Ingeniare. Revista Chilena de Ingeniería*, 25(1), 70–84.
- Gómez, A. I., Cerón, T. G., Rodríguez, V., & Vázquez, M. M. (2007). Aspectos tecnológicos de la congelación en alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 1, 80–96. <http://web.udlap.mx/tsia/files/2012/10/Gomez-Sanchez-et-al-2a-2007.pdf>
- Gómez, K., & Espadaler, X. (2016). *Formicidae, el mundo de las hormigas*. https://lamarabunta.org/formicidae/que_es_una_hormiga.html
- Granados, C., Acevedo, D., y Guzman, L. E. (2013). Tostado y harina de la hormiga santandereana “*Atta laevigata*”. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11(1), 68-74
- Granja, Sandro. 2021. “Caracterización Nutricional de La Larva de Libélula (Anisóptera) Como Alternativa Alimenticia.” UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI, Latacunga.
- Guerra, L. (2020). Detección De Péptidos Bioactivos Generados Durante La Digestión Gastrointestinal In Vitro De Caseína Mediante Hptlc–Bioensayo. In *Universidad de Concepción* (Vol. 2, Issue 1). <http://clik.dva.gov.au/rehabilitation-library/1-introduction-rehabilitation%0Ahttp://www.scirp.org/journal/doi.aspx?DOI=10.4236/as.2017.81005%0Ahttp://www.scirp.org/journal/PaperDownload.aspx?DOI=10.4236/as.2012.34066%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2013.02.0>
- Hermans, W. J. H., Senden, J. M., Churchward-Venne, T. A., Paulussen, K. J. M., Fuchs, C. J., Smeets, J. S. J., van Loon, J. J. A., Verdijk, L. B., & van Loon, L. J. C. (2021). Insects are a viable protein source for human consumption: from insect protein digestion to postprandial muscle protein synthesis in vivo in humans: a double-blind randomized trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 114(3), 934. <https://doi.org/10.1093/AJCN/NQAB115>

- INEN 519. 1980. "Nte Inen 519: Harinas De Origen Vegetal. Determinación De La Proteína." *Nte Inen* 1(2):7.
- INEN 266. 1980. "Determinación del azúcar reductor." *Norma Técnica Ecuatoriana* 1–8.
- Infobae. (2021). Más allá de las hormigas culonas: estos son los insectos que se comen en Colombia - Infobae. <https://www.infobae.com/america/colombia/2021/01/09/mas-alla-de-las-hormigas-culonas-estos-son-los-insectos-que-se-comen-en-colombia/>
- ISO, NTE INEN. 2013. "712:2013." *Inen Instituto Ecuatoriano De Normalización Nte Inen-Iso 3961:2013* Primera Ed.
- Jara, G. (2017). *Expresión De Los Fragmentos Que Componen A La Albúmina 2s De Soya En Escherichia Coli Y Búsqueda De Ortólogos Del Mismo Gen En Vegetales* [INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL]. <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/27223/GUADALUPE%20JARA%20ROMERO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680–685.
- Linden, G., & Loriet, D. (1994). *Bioquímica Agroindustrial*.
- Liu, W., Chen, X., Li, H., Zhang, J., An, J., & Liu, X. (2022). Anti-Inflammatory Function of Plant-Derived Bioactive Peptides: A Review. *Foods*, 11(15), 1–16. <https://doi.org/10.3390/foods1115236>
- MAATE. (2022). *Autorización De Recolección De Especímenes De Especies De La Diversidad Biológica No . 2802 Estudiantes E Investigadores (Sin Fines Comerciales) 1 . - Autorización De Recolecta De Especímenes De Especies La Diversidad MAATE-ARSFC-2022-2802 El Ministerio. 2802*, 1–5.
- Maldonado, A. A. y Jorrín, N. J. (2001). Electroforesis desnaturizante en geles de poliacrilamida. Análisis de proteínas de hojas de *Arabidopsis thaliana*.

- Marquez, M. (2014). *Cenizas Y Grasas*. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTIN. Martínez, N. (2010). Caracterización de Proteínas de Amaranto, . (Tesis Doctoral), Universidad Nacional de La Plata., Argentina.
- McKee, T., & McKee, J. R. (2016). *Bioquímica. Las bases moleculares de la vida*. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1960§ionid=147707411>
- Ménard, O., Cattenoz, T., Guillemin, H., Souchon, I., Deglaire, A., Dupont, D., & Picque, D. (2014). Validation of a new in vitro dynamics system to simulate infant digestion. *Food Chemistry*, 15(145), 1039-1045.
- NTE INEN 1235. (1987). *Granos y Cereales. Determinación del contenido de humedad* . <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1235.pdf>
- NTE INEN 520. 2013. “Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 520 : 2013 Primera Revisión Harinas de Origen Vegetal . Determinación de Ceniza.”
- NTE INEN 523. 1980. “Harinas de Origen Vegetal. Determinación de Grasa.” *Instituto Ecuatoriano de Normalización* 1–6.
- Parzanese, M. (2012). Tecnologías para la Industria Alimentaria Liofilización de alimentos. *Alimentos Argentinos*, 1–12. www.alimentosargentinos.gob.ar
- Pérez, R., & Rodas, R. (2012). *Elaboración Y Caracterización De Harinas Para Consumo Humano A Partir De Achetas Domesticus Y Periplanetas Americanas*.
- Puruncajas, Yosmahara. 2017. “Método de Secado En Frío (Liofilización) y Secado En Calor (Spray Dryer) Para La Obtención de Concentrados Proteicos de Haba (Vicia Faba).” UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO, Ambato.
- Quinteros, M. (2018). Evaluación de las actividades biológicas in vitro de los aislados proteicos obtenidos a partir de la harina de grillo (*Gryllus assimilis*). *Universidad Técnica De Cotopaxi Facultad, I*, 101. <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/4501/1/PI-000727.pdf>

- Quinteros, MF., Vilcacundo, R., Carpio, C. y Carillo, W. (2016). Digestibilidad y actividad antiinflamatoria in vitro de Sacha Inchi (*Plukenetia Volubilis L.*). *Revista Asian J Pharm Clin Res*, 9(3), 303-306.
- Ruiz, M. (2019). *Evolución, seguimiento y control de la hormiga arriera, una vía compleja para la construcción de los protocolos de una política pública para el manejo, prevención e inactividad.*
[https://repository.usc.edu.co/bitstream/handle/20.500.12421/2794/EVOLUCIÓN SEGUIMIENTO Y CONTROL.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repository.usc.edu.co/bitstream/handle/20.500.12421/2794/EVOLUCIÓN%20SEGUIMIENTO%20Y%20CONTROL.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Salvatierra, M. (2019). Manual conservación de alimentos. *Inacap*, 5–10.
http://www.inacap.cl/web/material-apoyo-cedem/profesor/Gastronomia/Manuales/Manual_Conservacion_de_Alimentos.pdf
- Santamaria, W., & Inga, J. (2019). *Determinación de la digestibilidad proteica in vitro de harina de grillo “Gryllus assimilis.”* Universidad Peruana Unión.
- SELECTA. (2019). *Extractor de grasa. October.*
- SCIENTIFICA, V. (2013). *APPLICATION NOTE N / Protein Determination in Feed according to the Kjeldahl method. 2–4.*
- Serpa, A., Llano, G., & Álvarez, C. (2014). Determinación del punto isoeléctrico de las proteínas presentes en cuatro fuentes foliares: yuca (*Manihot esculenta Crantz*) variedades verónica y tai, jatropha (*Jatropha curcas L.*) y gmelina (*Gmelina arborea*). *Prospect*, 12, 30–39.
- Simões, F. (2017). *TAXONOMIA, DISTRIBUIÇÃO E INFERÊNCIAS FILOGENÉTICAS DE DUAS ESPÉCIES DE FORMIGAS CORTADEIRAS (FORMICIDAE: MYRMICINAE)* .
https://www.repositorio.ufop.br/bitstream/123456789/13089/1/DISSERTAÇÃO_TaxonomiaDistribuiçãoInferências.pdf
- Tarone, A.G., Fasolin, L.H., Perrechil, F.A., Hubinger, M.D., y Cunha, R.L. (2013). Influence of drying conditions on the gelling properties. *Food and Bioproducts.*, 111-120.
- Toapanta, M. (2016). *Caracterización de aislados proteicos de quinua (Chenopodium quinoa Willd.) y su digestibilidad gástrica y duodenal (in vitro*

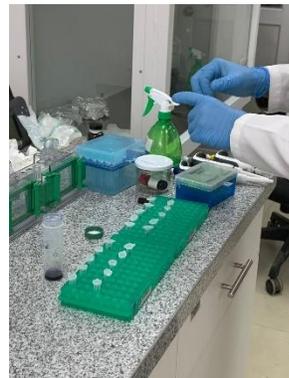
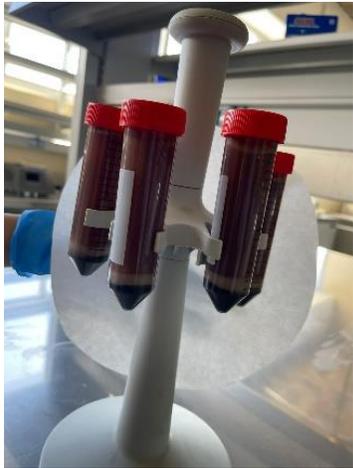
- Universidad de Zaragoza. (2014). Determinación de la humedad en alimentos. *Planta Piloto de Ciencia y Tecnología de Los Alimentos*, 1–7. https://ppcta.unizar.es/sites/ppcta.unizar.es/files/users/ARCHIVOS/Videos_y_otros/Documentos/PRACTICAS_ANALISIS/practica_1_humedad.pdf
- Vallejos, Y. (2018). *Obtención de concentrados proteicos de la harina de arveja (Pisum sativum) y determinación de su actividad antioxidante por el método del ácido tiobarbitúrico (TBA)*. <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/29735/1/AL705.pdf%0Ahttps://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/27136/1/AL657.pdf>
- Vera, Henry. 2020. “Caracterización de La Composición Nutricional de La Harina Del Grillo Común (Gryllus Assimilis).” Universidad Central del Ecuador, Quito.
- Vilcacundo, R., Miralles, B., Carrillo, W., & Hernández-Ledesma, B. (2018). In vitro chemopreventive properties of peptides released from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) protein under simulated gastrointestinal digestion. *Food Research International*, 105, 403-411.
- Vilcacundo, R. (2017). Liberación de péptidos multifuncionales durante la digestion gastrointestinal simulada de proteínas de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) y Amaranto (*Amaranthus caudatus*). [Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Madrid]. https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/683691/vilcacundo_chamorro_ruben_dario.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Viñeta, J. (2017). Diseño y acondicionamiento de una nave para la producción de insectos como piensos alimentarios. Retrieved from http://repositori.uji.es/xmlui/bitstream/handle/10234/174558/Viñeta_Valdelvira_TFG_final.pdf?sequence=1&isAllowed=y

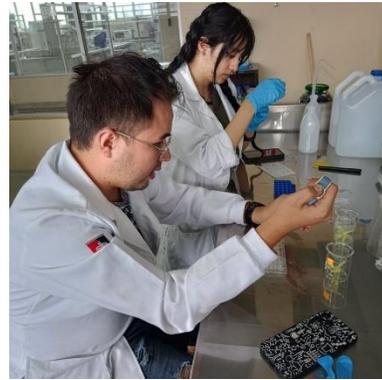
6. ANEXOS

A. Fotografías de la parte experimental realizada durante la investigación









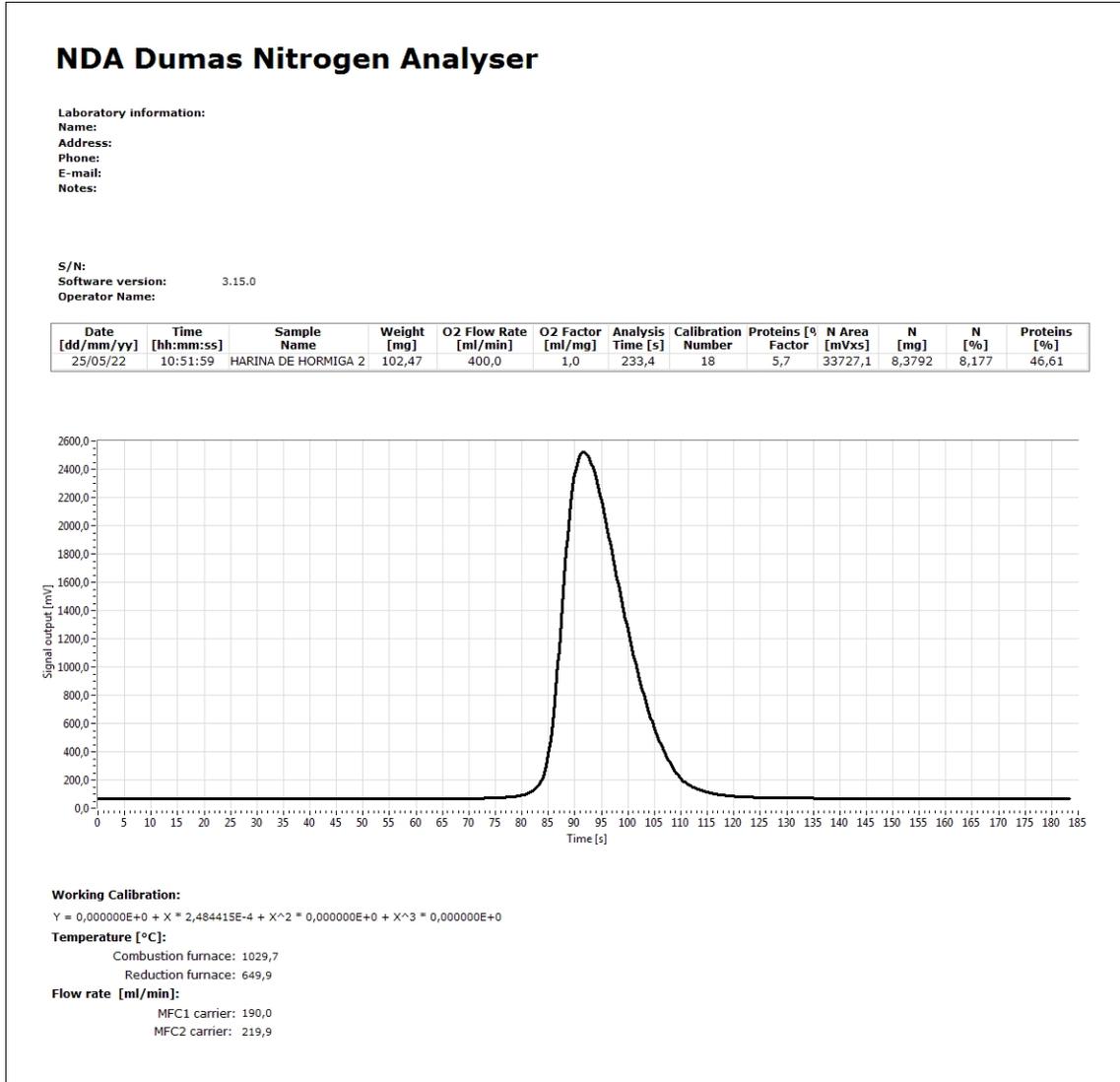
B. Fotografía de la obtención del concentrado proteico a pH 12:4 de solubilización y precipitación respectivamente después de centrifugación



C. Fotografía de la obtención del concentrado proteico a pH 12:4 de solubilización y precipitación respectivamente después de liofilización



D. Graficas obtenidas del contenido de proteína mediante dumas de la harina y del concentrado proteico respectivamente



Nota: grafica de Dumas-harina de hormiga muestra 1.

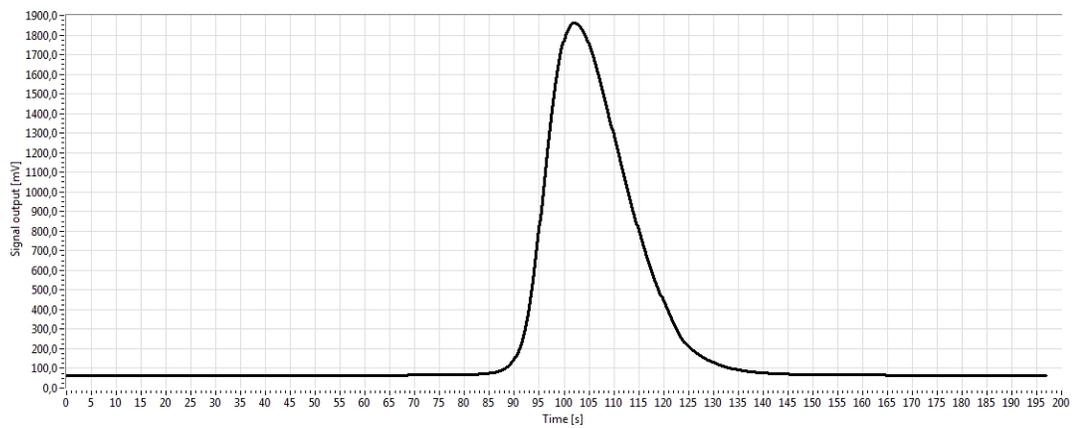
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

Name:
Address:
Phone:
E-mail:
Notes:

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
25/05/22	10:56:57	HARINA DE HORMIGA 3	102,97	400,0	1,0	247,0	18	5,7	34383,5	8,5423	8,296	47,267



Working Calibration:

$$Y = 0,000000E+0 + X * 2,484415E-4 + X^2 * 0,000000E+0 + X^3 * 0,000000E+0$$

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1029,0
Reduction furnace: 650,3

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 189,1
MFC2 carrier: 219,4

Nota: grafica de Dumas-harina de hormiga muestra 2.

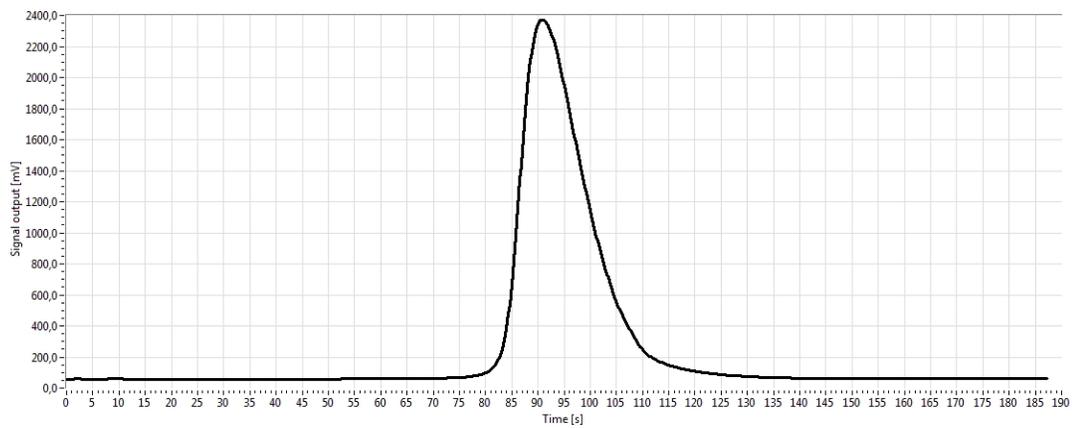
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

Name:
Address:
Phone:
E-mail:
Notes:

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
25/05/22	11:38:17	HARINA DE HORMIGA 4	100,36	400,0	1,0	237,2	18	5,7	34375,5	8,5403	8,51	48,505



Working Calibration:

$$Y = 0,000000E+0 + X * 2,484415E-4 + X^2 * 0,000000E+0 + X^3 * 0,000000E+0$$

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1027,9
Reduction furnace: 650,2

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 190,0
MFC2 carrier: 219,8

Nota: grafica de Dumas-harina de hormiga muestra 3.

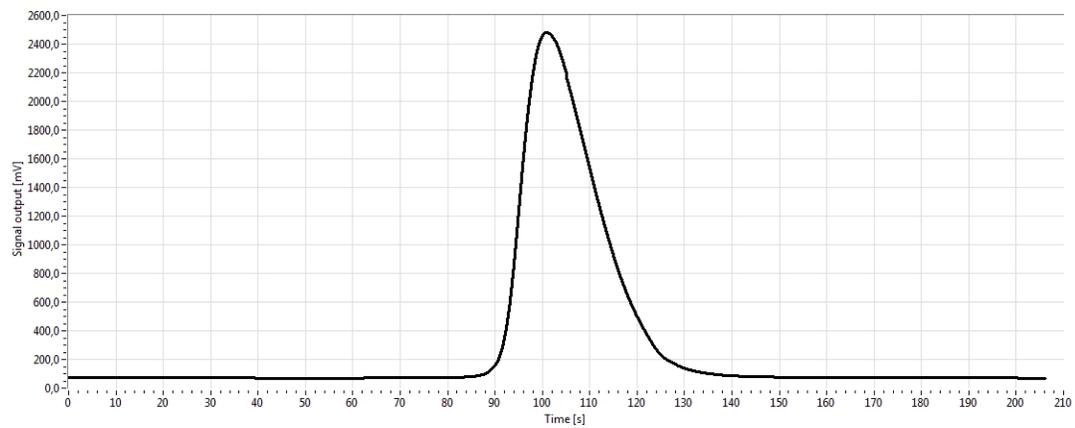
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

Name:
Address:
Phone:
E-mail:
Notes:

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
20/07/22	10:59:20	CONCENTRADO pH12 R1	101,54	400,0	1,0	256,2	18	5,7	44248,7	10,9932	10,826	61,711



Working Calibration:

$$Y = 0,000000E+0 + X * 2,484415E-4 + X^2 * 0,000000E+0 + X^3 * 0,000000E+0$$

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1029,2
Reduction furnace: 651,2

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 189,9
MFC2 carrier: 220,0

Nota: grafica de Dumas-concentrado proteico pH 12:4 solubilización y precipitación respectivamente, muestra 1.

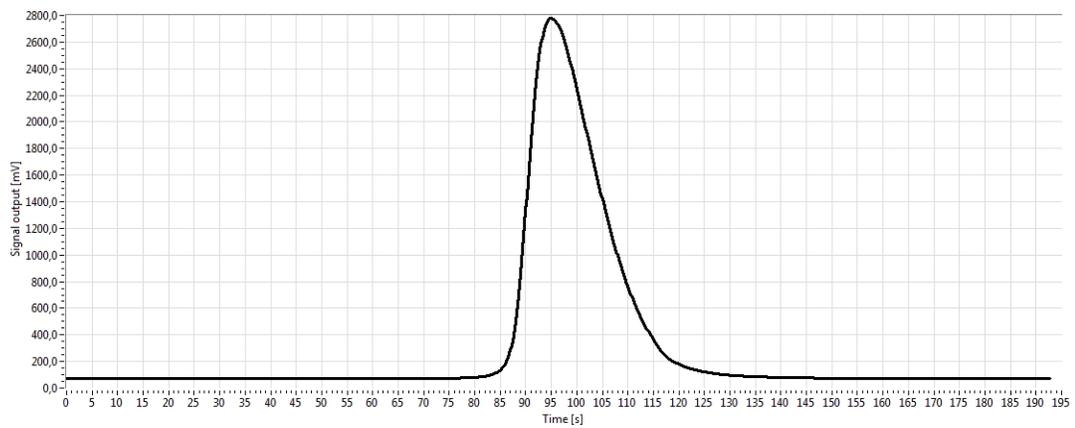
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

Name:
Address:
Phone:
E-mail:
Notes:

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
20/07/22	11:04:24	CONCENTRADO pH12 R2	100,13	400,0	1,0	242,8	18	5,7	44159,2	10,971	10,957	62,453



Working Calibration:

$$Y = 0,000000E+0 + X * 2,484415E-4 + X^2 * 0,000000E+0 + X^3 * 0,000000E+0$$

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1028,5
Reduction furnace: 649,9

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 190,0
MFC2 carrier: 219,8

Nota: grafica de Dumas-concentrado proteico pH 12:4 solubilización y precipitación respectivamente, muestra 2.

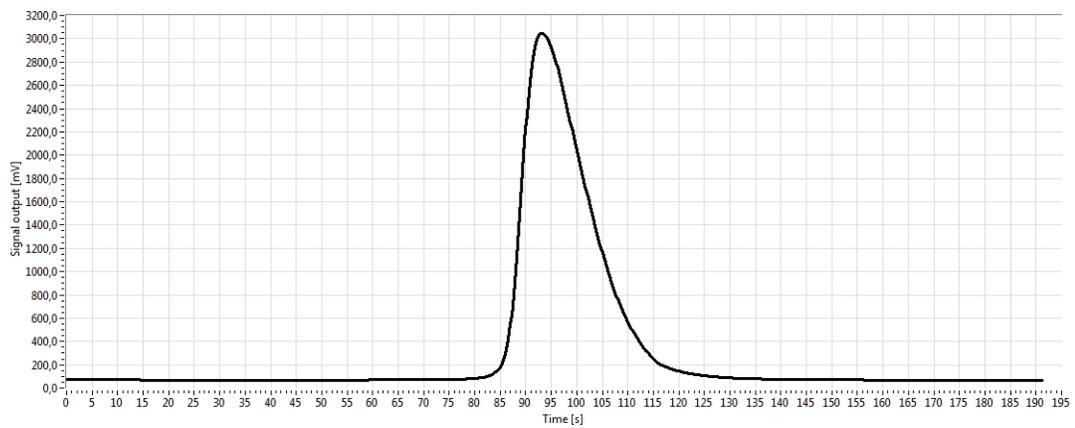
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

Name:
Address:
Phone:
E-mail:
Notes:

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
20/07/22	11:09:30	CONCENTRADO pH12 R:	101,67	400,0	1,0	241,2	18	5,7	45039,5	11,1897	11,006	62,734



Working Calibration:

$$Y = 0,000000E+0 + X * 2,484415E-4 + X^2 * 0,000000E+0 + X^3 * 0,000000E+0$$

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1028,1
Reduction furnace: 650,7

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 190,0
MFC2 carrier: 219,9

Nota: grafica de Dumas-concentrado proteico pH 12:4 solubilización y precipitación respectivamente, muestra 3.

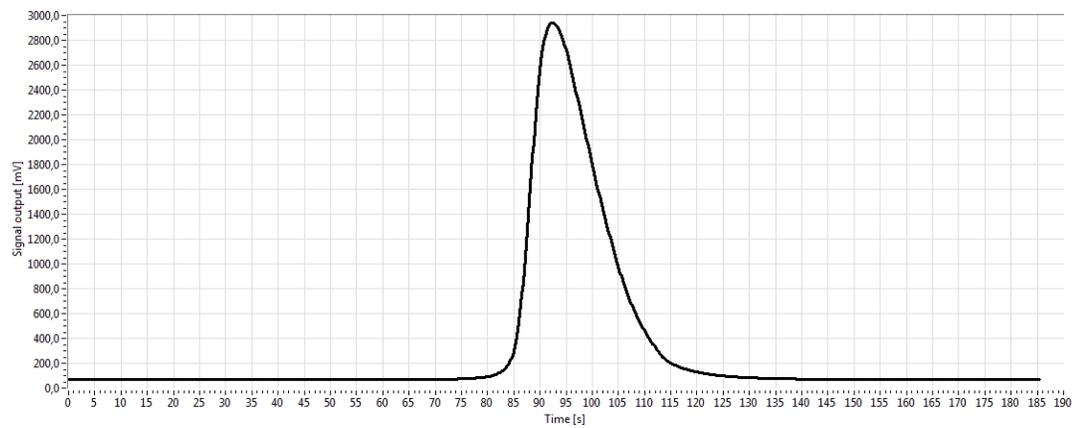
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

Name:
Address:
Phone:
E-mail:
Notes:

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
20/07/22	11:18:36	CONCENTRADO pH10 R1	103,73	400,0	1,0	235,4	18	5,7	43388,1	10,7794	10,392	59,233



Working Calibration:

$$Y = 0,000000E+0 + X * 2,484415E-4 + X^2 * 0,000000E+0 + X^3 * 0,000000E+0$$

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1030,6
Reduction furnace: 649,8

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 190,0
MFC2 carrier: 219,8

Nota: grafica de Dumas-concentrado proteico pH 10:4 solubilización y precipitación respectivamente, muestra 1.

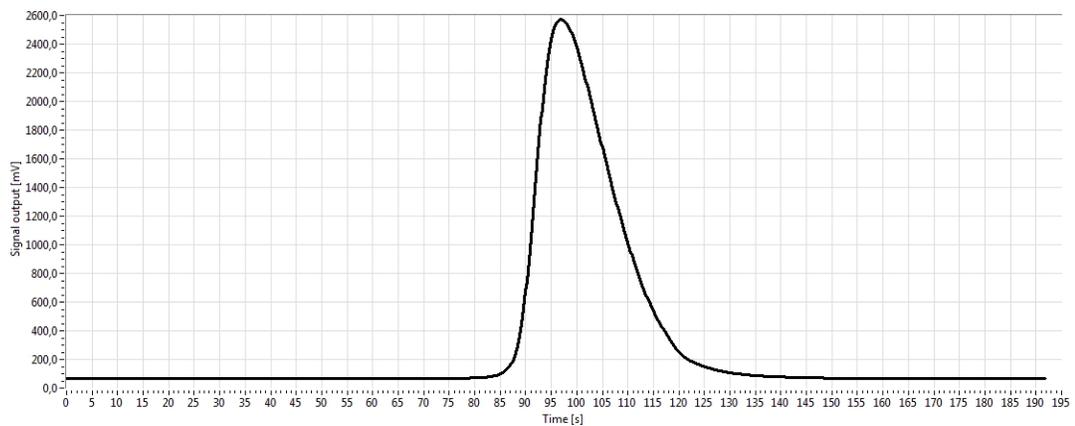
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

Name:
Address:
Phone:
E-mail:
Notes:

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
20/07/22	11:23:31	CONCENTRADO pH10 R2	101,92	400,0	1,0	241,8	18	5,7	43767,5	10,8736	10,669	60,812



Working Calibration:

$$Y = 0,000000E+0 + X * 2,484415E-4 + X^2 * 0,000000E+0 + X^3 * 0,000000E+0$$

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1027,7
Reduction furnace: 650,8

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 189,8
MFC2 carrier: 219,7

Nota: grafica de Dumas-concentrado proteico pH 10:4 solubilización y precipitación respectivamente, muestra 2.

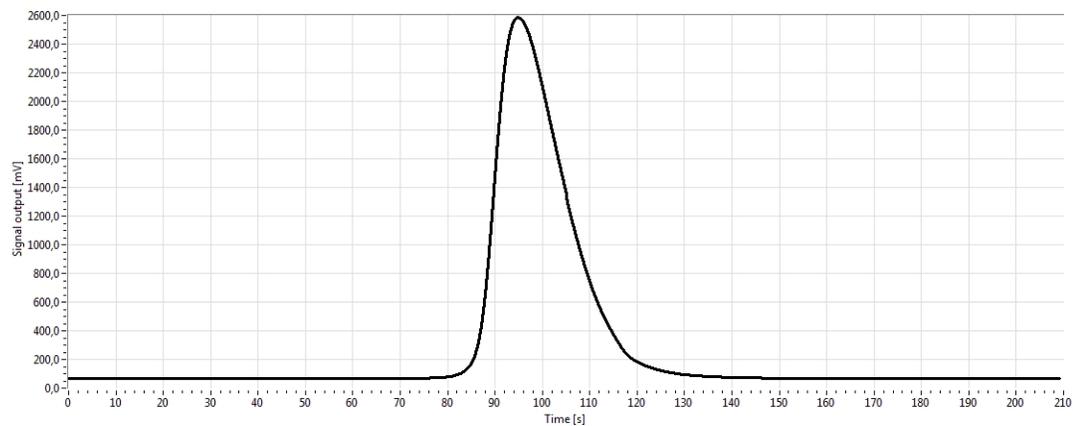
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

Name:
Address:
Phone:
E-mail:
Notes:

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
20/07/22	11:28:19	CONCENTRADO pH10 R:	102,08	400,0	1,0	259,2	18	5,7	43140,7	10,7179	10,5	59,847



Working Calibration:

$$Y = 0,000000E+0 + X * 2,484415E-4 + X^2 * 0,000000E+0 + X^3 * 0,000000E+0$$

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1029,5
Reduction furnace: 650,6

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 190,1
MFC2 carrier: 219,9

Nota: grafica de Dumas-concentrado proteico pH 10:4 solubilización y precipitación respectivamente, muestra 3.

E. Permiso para trabajar con hormigas (*Atta laevigata*) por parte del ministerio del ambiente

AUTORIZACIÓN DE RECOLECCION DE ESPECIMENES DE ESPECIES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA No. 2802

ESTUDIANTES E INVESTIGADORES (SIN FINES COMERCIALES)

1.- AUTORIZACIÓN DE RECOLECTA DE ESPECÍMENES DE ESPECIES LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA

2.- CÓDIGO

MAATE-ARSFC-2022-2802

3.- DURACIÓN DEL PROYECTO

FECHA INICIO	FECHA FIN
2023-01-06	2023-07-06

4.- COMPONENTE A RECOLECTAR

Animal

El Ministerio del Ambiente y Agua, en uso de las atribuciones que le confiere la Codificación a la Ley Forestal y de Conservación de Áreas Naturales y Vida Silvestre autoriza a:

5.- INVESTIGADORES /TÉCNICOS QUE INTERVENDRÁN EN LAS ACTIVIDADES DE RECOLECCION

Nº de C.VPasaporte	Nombres y Apellidos	Nacionalidad	Nº REGISTRO SENESECYT	EXPERIENCIA	GRUPO BIOLÓGICO
1802738102	VILCACUNDO CHAMORRO RUBEN DARIO	Ecuatoriana	7241125699	Docente Investigador	Insecta
1718604042	QUILAMBAQUI ROMERO EMELY MISHEL	Ecuatoriana	No aplica	Estudiante egresado	Insecta
2200206841	ARIEL ABEL PALMA EGAS	Ecuatoriana	No aplica	Estudiante egresado	Insecta

6.- PARA QUE LLEVEN A CABO LA RECOLECCION DE ESPECIMENES DE ESPECIES LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA:

Nombre del Proyecto: Concentrados proteicos de Hormigas Santandereanas -Atta laevigata-

Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica

Dirección: Calle Madrid 1159 y Andalucía

Código postal: 170525 / Quito-Ecuador

Teléfono: +593-2-398 7600

www.ambiente.gob.ec

Caracterización y evaluación de su capacidad antiinflamatoria tras el proceso de digestión gastrointestinal in vitro.

7.- SE AUTORIZA LA RECOLECCION CON EL PROPOSITO DE:

Caracterizar y evaluar la capacidad antiinflamatoria de los concentrados proteicos de hormigas Santandereanas (<i>Atta laevigata</i>) tras el proceso de digestión gastrointestinal in vitro.
Evaluar la capacidad antiinflamatoria in vitro del concentrado proteico y el digerido.
Obtener concentrados proteicos de la harina utilizando diferentes pHs de precipitación.
Determinar el análisis proximal de la harina proveniente de las Hormigas Santandereanas (<i>Atta laevigata</i>).
Caracterizar el concentrado proteico y el digerido obtenido tras el proceso de simulación de la digestión gastrointestinal in vitro.
Simular la digestión gastrointestinal in vitro del concentrado proteico.

8.- ÁREA GEOGRÁFICA QUE CUBRE LA RECOLECCIÓN DE LAS ESPECIES O ESPECÍMENES:

PROVINCIAS	SNAP	BOSQUE PROTECTOR
ORELLANA	PARQUE NACIONAL YASUNÍ	ESTACION CIENTIFICA PAYAMINO

9.- INFORMACIÓN DE LAS ESPECIES A RECOLECTAR

CLASE	ORDEN	FAMILIA	GENERO	ESPECIE	TIPO MUESTRA	N° MUESTRA	N° LOTE
Insecta	Hymenoptera	Formicidae	NA	NA	Hormiga Entera		10

10.- METODOLOGÍA APLICADA EN CAMPO

FASE DE RECOLECCIÓN:	El método de recolección se realizara de acuerdo a la forma tradicional impuesta por las comunidad Shuar, donde se debe cavar una zanja alrededor del nido de hormigas y se colocara cerca de la salida del agujero una mecha con fuego, de forma que las hormigas al salir de su nido, sus alas se quemen y caigan en la zanja. De esta forma se procederá a recolectarlas para luego trasladarlas.
FASE DE PRESERVACIÓN:	Una vez que se las recolecta y se limpian, se deberá ultracongelar las muestras de forma que no se vea afectado su composición por la muerte del insecto.

11. METODOLOGIA APLICADA EN LABORATORIO

MÉTODOS EMPLEADOS EN EL LABORATORIO:	El uso de un liofilizador para secar las muestras y que no interfiera en los resultados la gran cantidad de agua que lo contienen
---	---

Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica

Dirección: Calle Madrid 1159 y Andalucía
Código postal: 170525 / Quito-Ecuador
Teléfono: +593-2-398 7600
www.ambiente.gob.ec

12.- SE AUTORIZA LA UTILIZACIÓN DE LOS SIGUIENTES MATERIALES Y/O EQUIPOS PARA LA REALIZACIÓN DE ESTA RECOLECCION.

Grupo Biológico a Recolectar	Descripción	Tipo de Equipamiento
Insecta	HORMIGAS ENTERAS	Material en Campo

13.- COLECCIONES NACIONALES DEPOSITARIAS DEL MATERIAL BIOLÓGICO

Insecta	Colección de Lepidopteros Fundación Biblioteca Ecuatoriana Aurelio Espinoza Pott
---------	--

14.- RESULTADOS ESPERADOS

Harina de hormigas Santandereanas con una concentración de proteína elevada.

15.- CONTRIBUCIÓN DEL ESTUDIO PARA LA TOMA DE DECISIONES A LA ESTRATEGIA NACIONAL DE BIODIVERSIDAD 2011-2020.

METAS	DESCRIPCIÓN
Meta04.19.01 Para el 2021, el Ecuador implementa a agenda nacional de investigaciones, con el involucramiento de la academia, sector público, privado, pueblos y nacionalidades.	Contribuir con información de entomofagia al Ecuador en base a esta hormiga que no existen estudios previos

DE ACUERDO A LAS SIGUIENTES ESPECIFICACIONES

1. Solicitud de: **ARIEL ABEL PALMA EGAS**
2. Institución Nacional Científica : **UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO U.T.A.**
3. Fecha de entrega del informe final o preliminar: **2023/06/21**
4. Valoración técnica del proyecto: **AULESTIA CORDOVA DARWIN PAUL**
5. Esta Autorización **NO HABILITA LA MOVILIZACIÓN DE FLORA, FAUNA, MICROORGANISMOS Y HONGOS.**
6. Esta Autorización **NO HABILITA EXPORTACIÓN DE FLORA, FAUNA, MICROORGANISMOS Y HONGOS**, sin la correspondiente autorización del Ministerio del Ambiente y Agua.

7. Los especímenes o muestras recolectadas no podrán ser utilizadas en actividades de BIOPROSPECCIÓN, NI ACCESO AL RECURSO GENÉTICO.

8. Los resultados que se desprendan de la investigación, no podrán ser utilizados para estudios posteriores de Acceso a Recurso Genéticos sin la previa autorización del Ministerio del Ambiente y Agua.

OBLIGACIONES DEL/ LOS INVESTIGADOR/ES.

9. Ingresar al sistema electrónico de recolecta de especímenes de especies la diversidad biológica del ministerio del ambiente y agua, el o los informes parciales o finales en formato PDF, en el formato establecido.

Con los siguientes anexos:

- Escaneado de el o los certificados originales del depósito o recibo de las muestras, emitidas por las Colecciones Científicas Ecuatorianas como Internacionales depositarias de material biológico.
- Escaneado de las publicaciones realizadas o elaboradas en base al material biológico recolectado.
- Escaneado de material fotográfico que considere el investigador pueda ser utilizados para difusión. (se mantendrá los derechos de autor).

10. Citar en las publicaciones científicas, Tesis o informes técnicos el número de Autorización de Recolección otorgada por el Ministerio del Ambiente y Agua, con el que se recolecto el material biológico.

11. Depositar los holotipos en una institución científica depositaria de material biológico.

12. Los holotipos solo podrán salir del país en calidad de préstamo por un periodo no más de un año.

13. Las muestras biológicas a ser depositadas deberán ingresar a las colecciones respectivas siguiendo los protocolos emitidos por el Curador/a custodio de los especímenes.

14. Las muestras deberán ser preservadas, curadas y depositadas de lo contrario, se deberán sufragar los gastos que demanden la preparación del material para su ingreso a la colección correspondiente.

Del incumplimiento de las obligaciones dispuestas en los numerales, 9, 10, 11, 12, 13 y 14 se responsabiliza a ARIEL ABEL PALMA EGAS.



GUILLERMO LASSO
PRESIDENTE

DIRECTOR DE BIODIVERSIDAD
LAGLA CHIMBA BYRON ADRIAN
2022-12-09

 escaneado para el seguimiento por:
Ministerio de Ambiente y Transición Ecológica
Dirección: Calle **LAGLA CHIMBA**
Código postal: 170327 Quito-Ecuador
Teléfono: +595-2-398 7600
www.ambiente.gob.ec



F. Cálculos

F 1. Cálculos de cantidad de ceniza

$$C_1\% = \frac{P_1 - P_0}{P} * 100 \quad (\text{Ec.1})$$

$$C_1\% = \frac{11.807 - 11.761}{2} * 100$$

$$C_1\% = 2.3\%$$

$$C_2\% = \frac{P_1 - P_0}{P} * 100$$

$$C_2\% = \frac{21.429 - 21.386}{2} * 100$$

$$C_2\% = 2.15\%$$

P_1 =peso del crisol + muestra incinerada en gramos

P_0 = peso del crisol vacío en gramos

P= peso de la muestra en gramos

%C= porcentaje de cenizas obtenido de la muestra en gramos

F 1.1 Cálculos estadísticos en la cantidad de ceniza

- Media

$$X = \frac{\sum xi}{n} \quad (\text{Ec.2})$$

$$X = \frac{2.3 + 2.15}{2}$$

$$X = 2.225$$

- Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum(xi-X)^2}{n-1}} \quad (\text{Ec.3})$$

$$S = \sqrt{\frac{(2.3 - 2.225)^2 + (2.15 - 2.225)^2}{2 - 1}}$$

$$S = 0.1060$$

- Coeficiente de variación

$$C.V = \frac{S}{X} * 100 \quad (\text{Ec. 4})$$

$$C.V = \frac{0.1060}{2.225} * 100$$

$$C.V = 4.7640\%$$

F 2. Cálculos estadísticos en la cantidad de humedad

- Media

$$X = \frac{\sum xi}{n}$$

$$X = \frac{5.5135 + 5.4139 + 5.3083}{3}$$

$$X = 5.4119$$

- Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum(xi - X)^2}{n - 1}}$$

$$S = \sqrt{\frac{(5.5135 - 5.4119)^2 + (5.4139 - 5.4119)^2 + (5.3083 - 5.4119)^2}{3 - 1}}$$

$$S = 0.1026$$

- Coeficiente de variación

$$C.V = \frac{S}{X} * 100$$

$$C.V = \frac{0.1026}{5.4119} * 100$$

$$C.V = 1.8958\%$$

F 3. Cálculos estadísticos en la cuantificación de proteína

- Media

$$X = \frac{\sum xi}{n}$$

$$X = \frac{46.610 + 47.287 + 48.505}{3}$$

$$X = 47.467$$

- Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum (xi - X)^2}{n - 1}}$$

$$S = \sqrt{\frac{(46.610 - 47.467)^2 + (47.287 - 47.467)^2 + (48.505 - 47.467)^2}{3 - 1}}$$

$$S = 0.9602$$

- Coeficiente de variación

$$C.V = \frac{S}{X} * 100$$

$$C.V = \frac{0.9602}{47.467} * 100$$

$$C.V = 2.022\%$$

F 4. Cálculo de cuantificación de grasa

$$G\% = \frac{P_2 - P_0}{P_1} * 100 \quad (\text{Ec.5})$$

G: contenido de grasa del alimento en base seca, expresado como porcentaje

P₀: es el peso en g de balón seco + las perlas (g)

P₁: peso en g de la muestra seca (g)

P₂: peso del balón + las perlas+ la grasa (g)

- Calculo para la determinación de grasa

$$G_1\% = \frac{76.3250 - 75.8566}{1.5025} * 100$$

$$G_1\% = 31.1747 \%$$

$$G_2\% = 32.4923 \%$$

$$G_3\% = 31.5077 \%$$

F 4.1 Cálculos estadísticos en la cuantificación de grasa

- Media

$$X = \frac{\sum xi}{n}$$

$$X = \frac{31.1747 + 32.4923 + 31.5077}{3}$$

$$X = 31.7249$$

- Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum (xi - X)^2}{n - 1}}$$

$$S = \sqrt{\frac{(31.1747 - 31.7249)^2 + (32.4923 - 31.7249)^2 + (31.5077 - 31.7249)^2}{3 - 1}}$$

$$S = 0.6851$$

- Coeficiente de variación

$$C.V = \frac{S}{X} * 100$$

$$C.V = \frac{0.6851}{31.7249} * 100$$

$$C.V = 0.0215\%$$

F 5. Cálculo de cuantificación de fibra

$$\% \text{ fibra cruda} = \frac{m_{seco} - m_{ceniza}}{m_{muestra}} * 100 \quad \text{(Ec.6)}$$

$m_{muestra}$ = peso de la muestra

m_{seco}

= peso del crisol con fibra y ceniza (después de secado en estufa a 130°C)

m_{ceniza} = peso del crisol con cenizas después de la mufla a 525°C

$$\% \text{ fibra cruda } 1 = \frac{30.259 - 30.1258}{1.0618} * 100$$

$$\% \text{ fibra cruda } 1 = 12.54$$

$$\% \text{ fibra cruda } 2 = \frac{30.206 - 30.081}{1.021} * 100$$

$$\% \text{ fibra cruda } 2 = 12.24$$

F 5.1 Cálculos estadísticos en la cantidad de fibra

- Media

$$X = \frac{\sum xi}{n}$$

$$X = \frac{12.54 + 12.24}{2}$$

$$X = 12.39$$

- Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum (xi - X)^2}{n - 1}}$$

$$S = \sqrt{\frac{(12.54 - 12.39)^2 + (12.24 - 12.39)^2}{2 - 1}}$$

$$S = 0.2121$$

- Coeficiente de variación

$$C.V = \frac{S}{X} * 100$$

$$C.V = \frac{0.2121}{12.39} * 100$$

$$C.V = 0.0171\%$$

F 6. Cálculos estadísticos en la obtención de concentrados proteicos

- Media

$$X = \frac{\sum xi}{n}$$

$$X = \frac{61.711 + 62.453 + 62.734}{3}$$

$$X = 62.299$$

- Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum (xi - X)^2}{n - 1}}$$

$$S = \sqrt{\frac{(61.711 - 62.299)^2 + (62.453 - 62.299)^2 + (62.734 - 62.299)^2}{3 - 1}}$$

$$S = 0.5285$$

- Coeficiente de variación

$$C.V = \frac{S}{X} * 100$$

$$C.V = \frac{0.5285}{62.299} * 100$$

$$C.V = 0.0084832\%$$

F 7. Cálculo de rendimiento entre concentrados proteicos

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{peso final del concentrado}}{\text{peso inicial de la harina}} * 100 \quad (\text{Ec.7})$$

$$\% \text{ Rendimiento}_{pH\ 10-4} = \frac{6.2327}{25.0012\ g} * 100$$

$$\% \text{ Rendimiento}_{pH\ 10-4} = 24.9296\ \%$$

$$\% \text{ Rendimiento}_{pH\ 12-4} = \frac{7.8369}{25.0023\ g} * 100$$

$$\% \text{ Rendimiento}_{pH\ 12-4} = 31.3447\ \%$$

F 8. Datos de porcentaje de protección para análisis de capacidad antiinflamatoria

Muestra	Replicas % de protección	Media del % de protección	Desviación estándar
Blanco	-0.51	-1.20	1.18
	-0.51		
	-2.56		
Harina de hormiga	71.28	69.23	2.05
	69.23		
	67.18		
Concentrado proteico (12-4)	77.44	74.70	2.36
	73.33		
	73.33		
Hidrolizado gástrico	85.64	85.64	0
	58.64		
	85.64		
Hidrolizado intestinal	1.54	0.17	1.026
	-0.51		
	-0.51		
Diclofenaco sódico	79.49	7	0
	79.49	9.49	
	79.49		

F 8.1. Cálculos estadísticos para el porcentaje de protección

Harina de Hormiga:

- Media

$$X = \frac{\sum xi}{n}$$

$$X = \frac{71.28 + 69.23 + 67.18}{3}$$

$$X = 69.23$$

- Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum (xi - X)^2}{n - 1}}$$

$$S = \sqrt{\frac{(71.28 - 69.23)^2 + (69.23 - 69.23)^2 + (67.18 - 69.23)^2}{3 - 1}}$$

$$S = 2.05$$

- Coeficiente de variación

$$C.V = \frac{S}{X} * 100$$

$$C.V = \frac{2.05}{69.23} * 100$$

$$C.V = 0.029\%$$

Concentrado proteico:

- Media

$$X = \frac{\sum xi}{n}$$

$$X = \frac{77.44 + 73.33 + 73.33}{3}$$

$$X = 74.70$$

- Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum (xi - X)^2}{n - 1}}$$

$$S = \sqrt{\frac{(77.44 - 74.70)^2 + (73.33 - 74.70)^2 + (73.33 - 74.70)^2}{3 - 1}}$$

$$S = 2.37$$

- Coeficiente de variación

$$C.V = \frac{S}{X} * 100$$

$$C.V = \frac{2.37}{74.70} * 100$$

$$C.V = 0.031\%$$