

ANÁLISIS DE AMINOÁCIDOS Y PROTEÍNAS DE LA LARVA DE *ANCOGNATHA USTULATA* (COLEOPTERA: MELOLONTHIDAE)

Carolina Cortés-Torres, Diana Torres-Cifuentes & Adis Ayala

Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Grupo de Investigación en Bioquímica y Biología Molecular, Bogotá, Colombia. Autor de correspondencia CCT: caritocortestorres@gmail.com.

Resumen: La dieta de los seres humanos requiere de un alto contenido de carbohidratos, proteínas y ácidos grasos, los cuales son suplidos por vegetales y animales; sin embargo, debido a la situación ambiental y económica enfrentada en el mundo, como sequías e inundaciones, surgen dificultades para conseguir alimentos y por tanto se buscan nuevas fuentes nutricionales. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue identificar cualitativamente aminoácidos y cuantitativamente proteínas presentes en *Ancognatha ustulata* (Coleoptera: Melolonthidae). Se usaron técnicas cualitativas, como cromatografía en capa fina de aminoácidos, y cuantitativas para valorar el contenido de proteína libre y total, por los métodos de Folin-Lowry y Kjendalh respectivamente. Se halló un aporte de proteína libre de 9,25-11,73% y 53,5% de proteína total (peso seco); también 9 aminoácidos esenciales, que hacen de esta especie una importante fuente de alimento para el ser humano.

Palabras clave: Coleoptera, Melolonthidae, *Ancognatha ustulata*, entomofagia, Método de Folin-Lowry, Kjendalh, cromatografía en capa fina.

Analysis of aminoacids and protein of the *Ancognatha ustulata* larva (Coleoptera: Melolonthidae)

Abstract: The diet of human beings requires a high content of carbohydrates, proteins and fatty acids, which are supplied by plants and animals. But, due to the challenging environmental and economic context that the world is facing today, new needs for food emerge and therefore new sources of food are required. Accordingly, the aim of this study was to identify qualitatively the presence of amino acids and quantitatively the presence of proteins in *Ancognatha ustulata* (Coleoptera: Melolonthidae). Qualitative techniques were used, such as thin-layer chromatography on amino acids and assessing the content of free and total protein with, respectively, the methods of Folin-Lowry and Kjendalh. The results showed a free protein content of 9.25 – 11.73 % and 53.5 % of total protein (dry weight); 9 essential amino acids were also found, which make this species an important alternative food supply for humans.

Key words: Coleoptera, Melolonthidae, *Ancognatha ustulata*, entomophagy, Folin-Lowry method, Kjendalh, thin-layer chromatography.

Introducción

Colombia es uno de los países más ricos en biodiversidad de insectos, entre los cuales se encuentran los coleópteros, más conocidos como escarabajos o cucarrones, estos artrópodos cuentan con un desarrollo holometábolo, es decir tienen varias etapas de metamorfosis como son: el huevo, larva de primer, segundo, tercer instar, pupa y adulto, este proceso tiene un tiempo de duración de un año y medio aproximadamente, del cual pasan casi de 6 a 7 meses en etapa larval (Herrera *et al.*, 2000). Estas últimas se encuentra en las raíces de la plantas de *Solanum tuberosum*, de las que se alimentan debido a sus hábitos rizófagos, provocando daños en los cultivos agrícolas (De la Fuente, 1994).

Ancognatha ustulata Burmestier, 1847; tiene gran capacidad de ovoposición, debido a que, después de la cópula la hembra puede poner de 200 a 300 huevos (Herrera *et al.*, 2000), es considerada plaga en cultivos por los daños que causa principalmente en el tercer instar de su etapa larval. Esta especie presenta una amplia distribución geográfica (995 – 2.782 m), no solo en el departamento de Boyacá, sino en Medellín y Tolima (Restrepo-Giraldo & López-Avila, 2000).

En Colombia, se ha observado un aumento de desnutrición por la falta de recursos y un desbalance en la dieta, en relación al aporte proteico-calórico y de micronutrientes como hierro, vitaminas, yodo, zinc, etc. Esta insuficiencia aumenta la aparición de enfermedades crónicas tales como

retardo mental, discapacidades físicas, disminución del aprendizaje o muerte temprana (Cepal, 2005). En la actualidad la desnutrición global se refleja en los niños con aparición de menor peso y talla para la edad y se ha reportado que afecta a 230 477 menores, la encuesta nacional de demografía y salud (ENDS) 2010, realizada por Profamilia y por el Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (ICBF) mostró que para el 2011 la desnutrición crónica llegó en Bogotá al 16,4%, valor que está por encima del porcentaje nacional (13,2%) y registró un aumento de tres puntos frente a lo publicado en el 2005 (Sepulveda, 2011). Por lo tanto, la búsqueda de alternativas para complementar la dieta podría considerar el consumo de insectos, como lo hacían según pruebas arqueológicas nuestros antepasados homínidos, en una práctica conocida como entomofagia (Piojan, 2001).

Actualmente en Colombia muchas especies de artrópodos no se han valorado nutricionalmente y estos podrían constituir una fuente de carbohidratos, proteínas y lípidos que contribuyan a solucionar la problemática de desnutrición o enriquecer el contenido nutricional de especies menores como peces, aves y algunos mamíferos, etc. Estudios en artrópodos han demostrado altas concentraciones proteicas y de otros nutrientes, tales como: ácidos grasos, vitaminas y/o minerales; como por ejemplo algunas especies de la familia Curculionidae (Arango *et al.*, 2004).

Por lo tanto el objetivo de este estudio fue establecer el contenido de aminoácidos y proteínas de la especie *A. ustulata* (Coleoptera – Melonlonthidae) en el tercer instar de su etapa larvar, con el fin de determinar si puede ser una posible fuente alimenticia.

Material y métodos

Se colectaron 150 larvas en Zipaquirá, departamento de Cundinamarca a 2.652 msnm, estas fueron tomadas directamente de un cultivo orgánico de *Solanum tuberosum* con 50 a 60 cm de profundidad mediante un muestreo aleatorio. Se seleccionaron y separaron los especímenes de primer y segundo instar de las del tercer estadio, llevándolas a un cajón con tierra y plantas del mismo cultivo, se transportaron a Bogotá y mantuvieron vivas hasta su análisis.

Identificación y preparación de las muestras

Se tomaron larvas en tercer estadio de la especie e identificación con claves taxonómicas (Neita-Moreno & Moron, 2008).

Las larvas fueron lavadas, se durmieron con éter etílico y se registró su peso en una balanza Sartorius (BB221S). Para la disección se separó la cabeza del cuerpo, se realizó un corte lateral entre las pleuras y se extrajo el sistema digestivo, quedando la piel junto con el contenido graso digestivo, utilizados para el análisis de: aminoácidos 0,1 g (n 25), proteína libre 50 mg (n 50), proteína total 0,4 g (n 30) y CNHS 1 mg (n 29).

Identificación cualitativa de aminoácidos por cromatografía en capa fina

Para la extracción e identificación de aminoácidos totales se realizó hidrólisis básica y ácida; para la obtención de aminoácidos libres las muestras fueron tratadas con etanol al 70% y estas fueron separadas por cromatografía en capa fina (TLC).

Aminoácidos totales

Para hidrólisis ácida y básica se tomaron 0,1 g de tejido total de la larva *A. ustulata* la cual se hidrolizó con 50 µL de HCl 6 N o 50 µL de NaOH 6 N (Merck un 1823) incubándolas a 100 ° C por 12 h en un baño seco (Thermostar plus Ref. 022670204).

Las muestras fueron centrifugadas a 5.000 rpm por 4 min y se separó el sobrenadante a un tubo nuevo el cual fue neutralizado con 6-12 µL de ácido o base 6 N. Finalmente cada una de las muestras neutralizadas se diluyeron de 1 a 4 con etanol al 70 % y las que no fueron procesadas se almacenaron a - 4 °C hasta su análisis.

Aminoácidos libres

Se trituró 0,1 g de muestra (n 25) con 50 µL de etanol al 70 %, luego se centrifugó a 5.000 rpm por 4 min, se separó el sobrenadante a tubos nuevos y fueron sembrados 4 µL de las muestras y para su identificación se utilizaron 4 µL de 6 estándares de aminoácidos 30 mM en una clomatoaplaca de acetato celulosa 10 L x 20 W cm (aluminio, 25 dc-alufolien 20 x 20 cm 1.055520001 Merck) a 2 cm del origen. Estos fueron separados con una fase móvil de butanol, acetona, ácido acético y agua (14:14:2,8:9,2 v/v). Finalizado el corrido, se retiró la placa y se activó. Sobre la fase móvil se adicionó 2 mL de una mezcla de 0,4625 g de ninhidrina en buta-

nol, acetona (3,1:3,1v/v), esta se homogenizó suavemente y las placas fueron corridas nuevamente hasta alcanzar el frente de corrida. Finalmente estas se revelaron a 100 °C por 10 min.

También fueron separadas las muestras que presentaron aminoácidos solapados en cromatopla de 20 L x 10 W bajo las mismas condiciones descritas anteriormente (Ayala, 2009).

Cuantificación de proteína libre por el método de Folin - Lowry

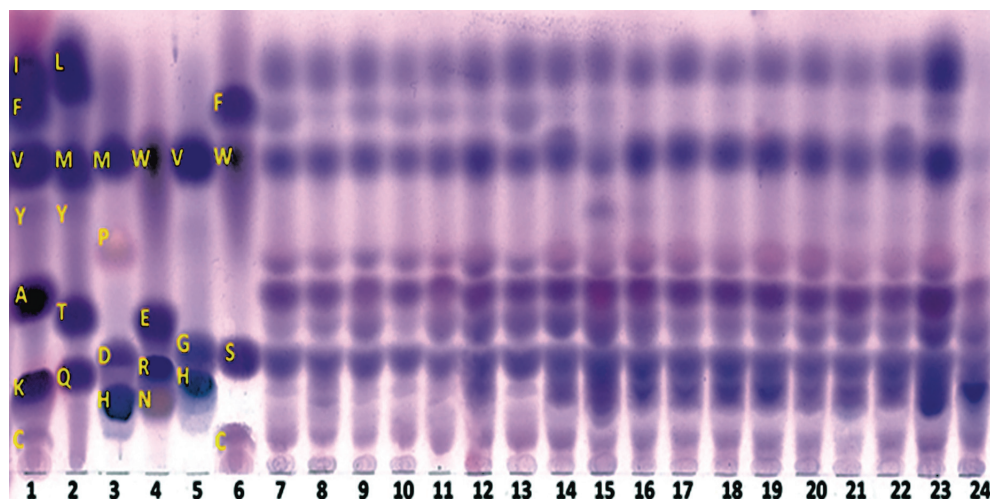
Se pesaron 50 mg de larvas recién sacrificadas (n 50) y fueron procesadas por duplicado para lo cual se realizaron dos extracciones, la primera con 100 µL de agua destilada y la segunda con 100 µL de NaCl 0,85 M (Merk 1064041000), se trituraron con una varilla de polipropileno por 5 min y centrifugaron a 5.000 rpm durante 4 min, luego recuperó el sobrenadante a tubos nuevos y se preparó una dilución de 6,25 para las procesadas con H₂O destilada y para las tratadas con NaCl se aplicó un factor de 12,5 (8 y 4 µL en un volumen final de 50 µL respectivamente). Finalmente se realizó la cuantificación por el método de Folin-Lowry para lo cual se elaboraron 17 curvas de calibración de albúmina sérica bovina (Sigma-Aldrich A2153) con valores de 25 mg/dL - 200 mg/dL y cada uno de los patrones fue normalizado. Las muestras fueron procesadas por triplicado de igual manera que los estándares y las que no fueron procesadas se guardaron a - 4 °C hasta su análisis.

A cada estándar se adicionó 250 µL de dodecil sulfato sódico 1 % (Merck L711160-249), 250 µL de reactivo de cobre (el cual contenía 0,06 g de (CHOHCOONa)₂·2H₂O Merck 34568; 16,5 mg CuSO₄·5H₂O Merck A0233990043; 2,38 mg CaCO₃ Panreac 141212-1211 y 0,6 g NaOH Merck C0765439), se incubaron 10 min a temperatura ambiente y se adicionó 1 mL de reactivo de Folin ciocalteu (Merck 90010500) diluido en un factor 1 a 17 y se llevaron a incubación a 55 °C durante 5 min en un termostato (HAAKE SC 150 Thermo scientific), para la medición de estándares y muestras se elaboró un blanco de reactivos reemplazando la muestra por agua o por NaCl 0,85 M según el protocolo de extracción. Finalmente las muestras y estándares fueron medidas contra el blanco de reactivos a 620 nm en un espectrofotómetro (Genesys 10 UV scanning -Thermo scientific SC 150) (Ayala, 2009).

Determinación de proteína total por el metodo Kjendahl

Se procesaron 30 larvas sin intestino, las cuales fueron secadas a 60 °C por 12 h, se trituraron y pesaron 0,4 g en una balanza analítica (Sartorius, BP221S), luego se colocaron en los tubos del digestor adicionando 1,4 g K₂SO₄ (Merck 782081) y 100 mg de selenio (Merck 1077140050). Posteriormente se agregó 2 ml de H₂SO₄ concentrado (Merck k1830) y 2 ml de H₂O₂ al 35 % (Carlo Erba 412071). Las muestras fueron llevadas a digestión en micro Kjendahl (VELP DK20/26 equipado con digestor DK20/26) a 420°C durante 20 min, terminado el proceso se dejaron enfriar hasta 50 °C. Posteriormente las muestras fueron llevadas a destilación para la valoración del nitrógeno amónico total, este fue recuperado en un matraz 250 ml conteniendo 25 ml de H₃BO₃ al 4 % (Carlo Erba 402767) y a cada una de las muestras se le adicionaron 10 gotas de indicador mixto (el cual fue preparado con 2 g de C₁₅H₁₅N₃O₂ + 1 g de C₃H₁₈N₃SCl en 1 l de CH₃CH₂OH al 96 %) y fueron tituladas con HCl 0,2 N (Haras & Toma, 2007).

Figura 1. Cromatografía en capa fina para aminoácidos muestra 1-17 de la larva *A. ustulata* mediante extracción con etanol al 70%. Se sembraron de izquierda a derecha 2 μ L de patrones de aminoácidos 30 mM en los carriles 1 – 6. 1. I, F, V, Y, A, K, C, 2. L, M, Y, T, Q, 3. M, P, D, H, 4. W, E, R, N, 5. V, G, H, 6. F, W, S, C. 7-24. Se sembraron 4 μ L para todas las muestras de *A. ustulata* analizadas mediante extracción con etanol al 70%.



Reproducibilidad del método de Kjendhal: Para determinar la reproducibilidad y recuperación de proteína en el método se procesaron de igual manera 400 mg de carne de res magra y 400 mg de una muestra pura de BSA (albúmina sérica bovina fracción V Sigma-Aldrich k29182618232).

Repetibilidad del método de Kjendhal: Como control de repetitividad del método se utilizó la larva de *Dynastes neptunus* por su gran tamaño, la cual se secó y trituró para garantizar las mismas condiciones de tejido graso (omitiendo las patas y la cabeza), de esta se obtuvieron 10 muestras de 0,4 g las cuales fueron digeridas en el micro Kjendhal utilizando el mismo protocolo para proteína total, el destilado obtenido fue titulado con HCl 0,2 N y se calculó para cada una de las muestras el porcentaje de nitrógeno total y el valor de proteína total.

Determinación de carbono, azufre, hidrógeno y nitrógeno

Para la determinación de CHNS se tomaron 25 larvas y se secaron en horno a 60 °C por 12 h, luego se trituraron en un mortero de ágata de 60 mm y para cada una de las muestras se pesó 1 mg en una cápsula de selenio para ser procesadas en el analizador elemental (Flash 2000 Thermo Fisher, Scientific), el equipo fue programado con helio bajo presión de 250 K Pa, oxígeno a 250 K Pa y para el detector una corriente de 1000 μ V. Para la estimación cuantitativa de estos elementos se elaboró una curva de calibración con un estándar de metionina (Thermo Fisher, Scientific) con valores de 0,5; 1,0 y 1,5 mg.

Resultados y discusión

Para la larva *A. ustulata* se encontraron 19 aminoácidos por extracción etanólica, 9 esenciales y 10 no esenciales sin presencia de W (fig. 1 y Tabla I).

Al realizarse la TLC para las 25 muestras de larvas *A. ustulata* usando extracción etanólica se observó un solapamiento entre los aminoácidos M y V (fig. 1). Se ha reportado que la presencia de metionina depende de la síntesis de cisteína y taurina (Balch, 2000). En la larva *A. ustulata* se identificaron aminoácidos con residuos polares como serina, treonina, glutamina, asparagina, tirosina y en mayor grado de polaridad cisteína y glicina, posiblemente se debe a que son empleados en la síntesis del exoesqueleto en la etapa adulta,

Tabla I. Aminoácidos identificados en la larva *A. ustulata* en cromatografía de capa fina. **Rf A:** Rf (placa de 10Lx20W); **Rf B:** Rf (placa de 20Lx10W)

Aminoácidos		Rf A	Rf B	Rf Hidrólisis	
				HCl	NaOH
Esenciales	L	0,77	1,01	0,95	0,95
	I	-	0,95	-	-
	F	0,69	0,91	-	-
	V	0,59	0,77	0,71	0,71
	M	0,58	0,79	-	-
	H	0,15	0,49	-	-
	T	-	0,38	-	-
	R	-	0,34	-	-
No esenciales	K	-	0,32	-	-
	Y	0,50	0,69	-	-
	P	0,42	0,59	-	-
	A	0,34	0,53	0,46	-
	E	0,28	0,47	0,41	0,41
	G	-	0,44	-	0,40
	S	0,21	0,43	-	0,36
	D	-	0,43	0,38	-
	Q	-	0,38	0,34	0,34
	N	-	0,33	-	-
	C	0,06	0,22	-	-

puesto que proporcionan características de dureza como lo reportaron Hackman *et al.* (1976) y Andersen (1979).

Para diferenciar los aminoácidos apolares y polares que presentaron solapamiento de la placa (fig. 1), estas mismas muestras fueron separadas en una cromatopla de 20 L x 10 W cm con lo que se logró identificar claramente la presencia de I, M, T, R, K, G, D, Q y N (fig. 2).

En la TLC de aminoácidos extraídos mediante hidrólisis ácida de *A. ustulata* se identificó L, V, A, E, D y Q (fig. 3 y Tabla I), también se observó una pérdida mediante éste método de W, T, S, M y C, lo cual se ha reportado por Greenfield *et al.* (2006) y Guadix *et al.* (2000).

Con hidrólisis básica se identificó G y S, también se observó la pérdida de W, T, S y D (fig. 3 y Tabla I). La ausencia de triptófano en todas las muestras analizadas con extracción etanólica, por hidrólisis ácida y básica puede ser debida a que no alcance un valor óptimo en los aminogramas para insectos porque la concentración de este aminoácido en las proteínas esta por debajo del límite de detección 4 μ g/ μ L del método utilizado TLC según Ramos-Elorduy *et al.* (2007);

también se ha reportado que en estado larval la especie *A. ustulata* no tiene ojos compuestos formados por omatidios para los cuales es de gran importancia el triptófano ya que es precursor de la síntesis de rodopsina, pigmento fotosensible en los artrópodos (Dale, 2000); por lo tanto debido a la ausencia de estos el coleóptero podría requerir muy bajas cantidades de este aminoácido. También se identificó un aminoácido con un Rf de 0,55 cm de color rosado que posiblemente corresponde al ácido pipécólico, el cual se forma en el metabolismo intermedio de la lisina (Naranjo *et al.*, 2010).

Los aminoácidos hallados M, L, F y V muestran relación con los estudios reportados por Cerda *et al.* (1999) en la especie *R. palmarum* (Coleoptera: Curculionidae), criadas en palmas de moriche en el Amazonas venezolano y con algunas especies de insectos comestibles del orden Lepidoptera como *Laniifera cyclades*, *Synopsisia mexicanaria*, *Catasticta teutila*, *Heliothis zea* en Xochimilco-México, como también con el coleóptero *Metamasius spinolae*, lo cual fue publicado por Melo *et al.* (2010).

Tanto los aminoácidos esenciales y no esenciales hallados en la especie *A. ustulata*, constituyen una fuente primordial de alimentación debido a que la FAO recomienda un aporte de 28 mg/Kg/día de histidina para infantes de 2 – 12 años, leucina 73 mg/Kg/día, fenilalanina 22-27 mg/Kg/día, valina 25-38 mg/Kg/día y dosis más bajas 10 mg/Kg/día para éstos mismos aminoácidos en niños de 8-14 años (WHO/FAO/UNU, 1985).

La curva de calibración por el método de Folin – Lowry presentó una precisión de 95 % y una correlación R^2 0,9936 (fig. 4). Se encontró un contenido de proteína libre mediante extracción con H_2O de $9,25 \pm 3,38$ mg/g y con NaCl 0,85 M de $11,73 \pm 3,74$ mg/g que puede ser debido al fenómeno de salting-in. Dentro de las proteínas solubilizadas por sales se han reportado las miofibrilares que contienen una importante cantidad de aminoácidos esenciales, estas pueden ser necesarias en la locomoción de la larva debido a que sólo cuentan con 3 pares de patas muy pequeñas que están ubicadas en el tórax, estas proteínas también han sido reportadas en peces por Rodríguez *et al.* (2012), ya que contribuyen a que los músculos sean contráctiles por su alta retención de agua.

Las muestras almacenadas a 0 °C durante dos meses fueron analizadas por el método de Folin-Lowry presentando una disminución de $0,66$ mg/dl $\pm 1,82$ para la extracción con agua y de $3,17 \pm 2,26$ mg/dl en las obtenidas con NaCl, lo que representa un porcentaje de 0,12% en pérdida de proteína.

Estos resultados sugieren una alta estabilidad, como también una leve degradación de las proteínas en soluciones salinas (Martínez *et al.*, 2001) que puede ser debida a una baja actividad de proteasas las cuales pueden ser inhibidas por bajas temperaturas (-4 °C) como reportó Chefter *et al.* (1989) o también podrían ser debido a la capacidad de retención de lípidos en medios salinos que posiblemente disminuyen la desnaturalización (fig. 5).

Se encontró un valor de nitrógeno total de 8,5% (n 30) y de proteína total de $53,5\% \pm 6,18\%$ (peso seco), los resultados encontrados superan los porcentajes reportados por Carvajal (2001), en diferentes tipos de carnes como: res, pollo y cerdo de 21%, 22% y 18%, respectivamente. El aporte de proteína encontrado en este estudio fue 2,72% y 5,22% menor con relación a especies como el odonato *Anax* sp. (56,22%) y al

ephemeroptero *Ephemera* sp. (58,72%), en comparación se halló un contenido mayor de proteína de 7,65% y 27,7% del valor reportado para las especies *Laniifera cyclades* del orden Lepidoptera (45,85%) y *Aplagiognathus spinosus* del orden Coleoptera (25,80%) (fig. 6) (Ramos-Elorduy *et al.*, 1998).

Por lo tanto la especie analizada constituye una fuente importante de proteína que puede suplir los requerimientos diarios de está recomendados por la FAO, de 0,75 g/Kg de peso para adultos y de 1,5 g/Kg de peso en niños (Cepal, 2005).

Al analizar 400 mg de carne de res se demostró una reproducibilidad para la cuantificación de proteína total por el método de Kjendahl de 98,57%, el protocolo aplicado encontró un 20,77% de proteína total con relación al 21% reportado por diferentes estudios (Huerta-Leindenz *et al.*, 1993 y Esquivel-Font, 1994), además se obtuvo una recuperación de 99,75% del nitrógeno proteico al analizar 400 mg de albúmina sérica bovina pura.

Al analizar la larva *Dynastes neptunus* (Coleoptera: Scarabaeidae) se encontró un porcentaje de proteína de $41,31\% \pm 1,88$ en esta especie, con una precisión del método del 95% lo que permitió validar los resultados de proteína total obtenidos para las larvas *A. ustulata* (Coleoptera: Melolonthidae). Este análisis halló un alto contenido de proteína en el orden Coleoptera, ya que presentó 2,67 veces más en nuestra especie analizada con respecto al valor reportado para la carne de res 20% y con relación al control 2,0 veces más.

Se halló un porcentaje de nitrógeno total en las larvas de $8,35 \pm 1,16\%$ que corresponde a un valor muy cercano al hallado por el método de Kjendahl $8,52 \pm 0,99\%$, esta pequeña diferencia posiblemente se debe a la interferencia del nitrógeno atmosférico en el método Kjendahl (fig. 7).

En artrópodos se ha reportado un valor del 9 – 11,7 % de nitrógeno total, ya que éste es muy importante en la formación de la cutícula. En el estadio analizado para la larva *A. ustulata* se halló un valor relativamente bajo lo cual se puede explicar porque se ha demostrado en otros estudios una disminución de nitrógeno en los últimos instar de desarrollo en comparación con otros estados larvarios tempranos (Cohn, 1963).

Se encontró en la especie estudiada un valor de azufre $0,35\% \pm 0,14$, se ha publicado que este elemento principalmente hace parte de la cutícula de los artrópodos y su bajo porcentaje se explica en los insectos con cutícula no calcificada, lo que está en concordancia con los valores de azufre publicados por otros autores 0,09 – 0,23%. Este bioelemento también hace parte de los aminoácidos azufrados, como en la metionina y cisteína. El porcentaje de azufre observado en este estudio para la larva *A. ustulata* presentó un valor comparativo en relación con otras especies de artrópodos como es el caso del coleóptero *Aphodius howitti* (0,3%) y un 0,05% más con respecto al lepidóptero *Sphinx ligustri* (0,57%) (Hackman, 1971).

Desde el punto de vista nutricional, este estudio postula a especies de escarabajos como *Ancognata ustulata* para ser una posible fuente de alimentación de animales menores y/o seres humanos, porque no sólo es uno de los recursos renovables que están disponibles para una explotación sostenible, sino que también podrá llegar a disminuir los problemas de desnutrición y hambre en Colombia y en el mundo.

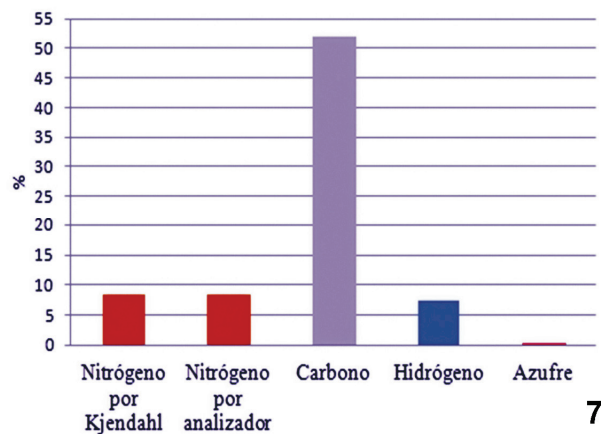
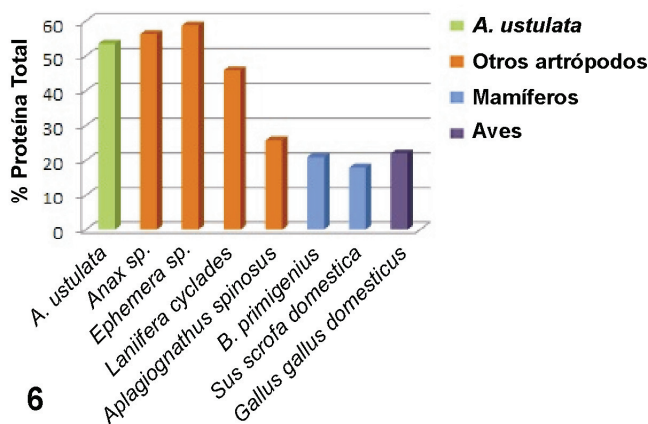
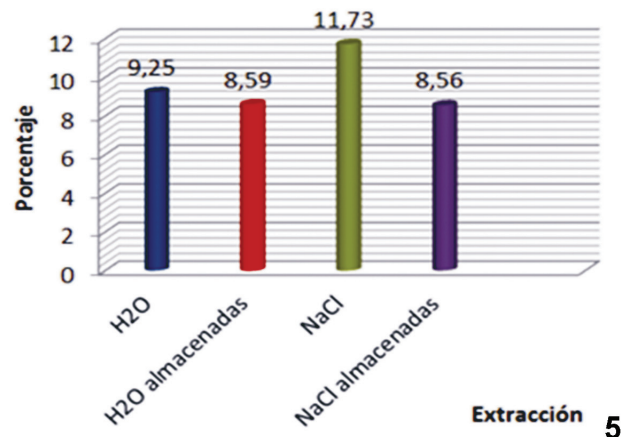
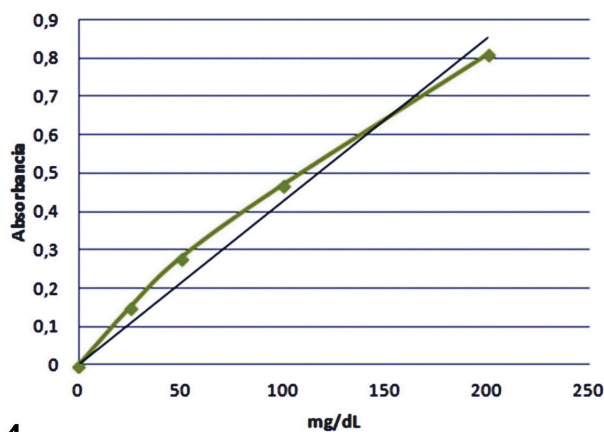
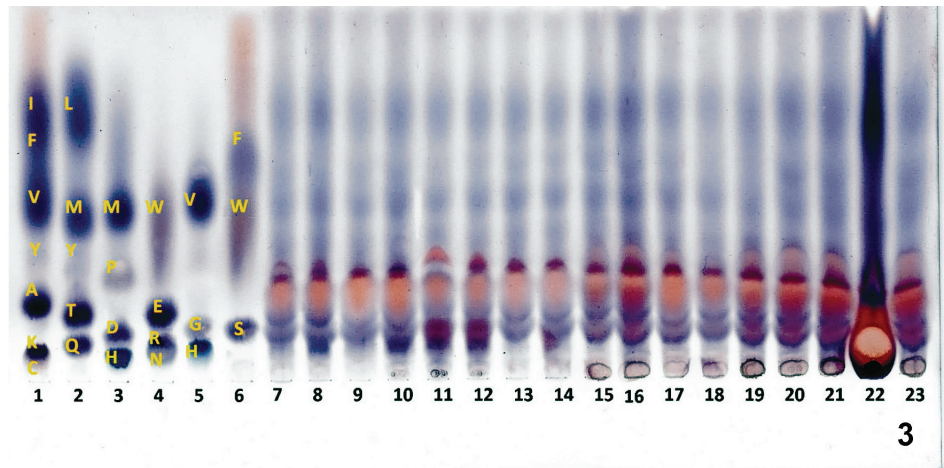
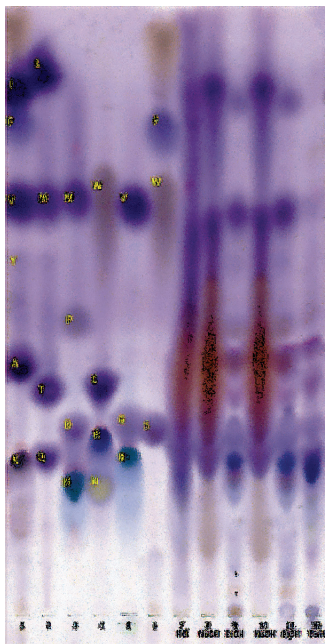


Figura 2. Cromatografía en capa fina para aminoácidos de la larva *A. ustulata* con extracción etanólica e hidrólisis básica y ácida en placa 20L x 10W cm. Se sembraron de izquierda a derecha 2 μ L de patrones de aminoácidos 30 mM en los carriles 1 – 6. 1. I, F, V, Y, A, K, C, 2. L, M, Y, T, Q, 3. M, P, D, H, 4. W, E, R, N, 5. V, G, H, 6. F, W, S. Se sembraron 4 μ L para todas las muestras de *A. ustulata* analizadas. 7. Aminoácidos obtenidos por hidrólisis ácida (HCl 6 N). 8 y 10. Aminoácidos obtenidos por hidrólisis básica (NaOH 6 N). 9 y 11 Aminoácidos obtenidos por extracción con etanol 70% de la larva de interés. 12. Control no relacionado del orden orthoptera. **Figura 3.** Cromatografía de aminoácidos en capa fina de la larva *A. ustulata* muestras 1-8 para hidrólisis ácida y básica. Se sembraron de izquierda a derecha 2 μ L de patrones de aminoácidos 30 mM en los carriles 1 – 6. 1. I, F, V, Y, A, K, C, 2. L, M, Y, T, Q, 3. M, P, D, H, 4. W, E, R, N, 5. V, G, H, 6. F, W, S, C. En los carriles 7-23 Se sembraron 4 μ L para todas las muestras de *A. ustulata* analizadas mediante hidrólisis ácida HCl 6 N e hidrólisis básica NaOH 6 N. 7-14. Muestras 1-8 hidrólisis ácida. 15-21 y 23. Muestras 1-8 hidrólisis básica. 22. Control no relacionado sin dilución. **Figura 4.** Curva de calibración de albúmina sérica bovina para la cuantificación de proteína libre de la larva de *A. ustulata* por el método de Folin-Lowry. Se analizaron estándares de BSA de 25 – 200 mg/dL los cuales fueron leídos a 620 nm se halló un valor de $a = 0,0465$, $b = 0,0039$ y $R^2 = 0,9936$. **Figura 5.** Porcentaje de proteína libre de la larva *A. ustulata*. Procesadas el mismo día del sacrificio y almacenadas - 4 °C. **Figura 6.** Valor de proteína total en diferentes especies. **Figura 7.** Porcentaje de nitrógeno, carbono, hidrógeno y azufre de la larva *A. ustulata*.

Agradecimiento

A la Universidad Distrital Francisco José de Caldas por su contribución con los materiales necesarios para el desarrollo de esta investigación. A Oscar J. Cadena-Castañeda, por la identificación de las larvas de *A. ustulata*. Al grupo de investigación en Bioquímica y Biología molecular de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas, por el espacio y apoyo.

Bibliografía

- ANDERSEN, S. 1979. Biochemistry of insect cuticle. *Annu. Rev. Entomol.*, **24**: 29-59.
- ARANGO, G., R. VERGARA & H. MEJÍA 2004. Análisis composicional, microbiológico y digestibilidad de la proteína de larvas de *Hermetia illuscens* L. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, **57**, 3: 2491-2499.
- AYALA, A. 2009. *Prácticas de laboratorio de Bioquímica*. Universidad Distrital Francisco José de Caldas. [No publicado].
- BALCH, P. 2000. *Recetas nutritivas que curan*. 2a. Edición. Penguin group. EE.UU. 652 pp.
- CARVAJAL, G. 2001. *Valor nutricional de la carne de: res, cerdo y pollo*. Corporación de fomento ganadero. Costa Rica. 55 pp.
- CERDA, H., R. MARTINEZ, N. BRICEÑO, L. PIZZOFERRATO, D. HERMOSO & M. PAOLETTI 1999. Cría, análisis nutricional y sensorial del picudo del cocotero *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera: Curculionidae), insecto de la dieta tradicional indígena amazónica. *Ecotropicos*, **12**(1): 25-32.
- CHEFTER, J., J. CUQ & D. LORIET 1989. *Proteínas alimentarias*. Acirbia S. A. España. 205 pp.
- COHN, W. 1963. *Advances in insect physiology*. Vol. I. 1a. Edición. Academic press inc. New York. 512 pp.
- COMISIÓN ECONÓMICA PARA AMÉRICA LATINA. 2005. Determinación de las necesidades de energía y proteínas de la población. <http://www.eclac.cl/deype/mecovi/docs/TALLER4/10.pdf> [Consultado el 15-12-2013]
- DALE, W. 2000. Anatomía y fisiología de insectos. Versión 01.T08. http://www.lamolina.edu.pe/profesores/wdale/anat_fisio_insect/2/ANATOM%CDA%20FISIOLOG%CDA%20INSECTOS.%20NUTRICI%D3N.%20VERSION%2001.T08.WILLIAM%20E.%20DALE%20PHD.pdf [Consultado 21-12-2013]
- DE LA FUENTE, J. 1994. *Zoología de Artrópodos*. Interamericana McGraw-Hill. 1a. Edición. New York. 354 pp.
- ESQUIVEL, O. 1994. *Visual evaluations, cooking characteristics and tenderness profiles of ten muscles from Bos indicus and Bos taurus cattle*. Master of Science in Food Science. Kansas State University.
- GREENFIELD, H. & D. SOUTHGATE 2003. *Datos de composición de alimentos: Obtención, gestión y utilización*. Roma: FAO.
- GUADIX, A., E. GUADIX, M. PAÉZ-DUEÑAS, P. GÓNZALEZ-TELLO & F. CAMACHO 2000. Procesos tecnológicos y métodos de control en la hidrólisis de proteínas. *Ars Pharmaceutica*, **41**(1): 79-89.
- HACKMAN, R. & M. GOLDENBERG 1976. Comparative chemistry of arthropod cuticular proteins. *Camp. Biochem. Physiol.*, **55**(B): 20: 1-6.
- HACKMAN, R. 1971. *Chemical Zoology*. 1a. Edición. Vol. VI. Academic Press. New York and London. 484 pp.
- HARAS, A. & O. TOMA 2007. Determination of total proteins in some meat products. *Analele Științifice ale Universității*, **8**: 71-74.
- HERRERA, C., L. FIERRO, J. MORENO & L. FIERRO 2000. *Manejo Integrado del cultivo de papa*. 1a ed, Corpoica: Cundinamarca. 197 pp.
- HUERTA, N., H. CROSS, J. SAVELL, D. LUNT, J. BAKER, L. PELTON & S. SMITH 1993. Comparison of the Fatty acid composition of subcutaneous adipose tissue from mature Brahman and Hereford cows. *Journal of Animal Science*, **71**: 625-630.
- MARTINEZ, V. 1973. *Vida de las hormigas culonas santanderianas*. 2a. Edición. S.N. Bucaramanga. 41 pp.
- MELO, V. & O. CUAMATZI 2007. *Bioquímica de los procesos metabólicos*. 2a. Edición. Reverté, S.A. Barcelona. 409 pp.
- NARANJO, L., D. ROJAS-TORTOLERO, H. GONZÁLEZ, R. TORRES, J. ZEGARRA, L. SENA-D'ANNA & D. SOSA DEL CASTILLO 2010. *Arthrospira platensis* como biofactoría de metabolitos secundarios de interés farmacológico: el ácido pipercolico. *Latiino-am Biotecnol Amb Allgall*, **1**(1): 64-90.
- NEITA-MORENO, J. & M. MORÓN 2008. Estados inmaduros de *Anconatha ustulata* (Coleoptera: Melolonthidae: Dynastinae: Cyclocephalini). *Revista Mexicana de Biodiversidad*, **79**: 355-361.
- PIJOAN, M. 2001. El consumo de insectos, entre la necesidad y el placer gastronómico. *OFFARM*. 150-161.
- RAMOS-ELORDUY, J. & J. VIEJO 2007. Los insectos como alimento humano: Breve ensayo sobre la entomofagia con especial referencia a México. *Boln. R. Soc. Esp. Hist. Nat. Sec. Biol.*, **102**(1-4): 61-84.
- RAMOS-ELORDUY, J., J. PINO & V. MARTÍNEZ 2009. Edible aquatic Coleoptera of the world with an emphasis on Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, **5**(11): doi: 10.1186/1746-4269-5-11.
- RESTREPO-GIRALDO, H. & A. LÓPEZ-ÁVILA 2000. *Especies de Chisas (Coleoptera: Melolonthidae) de Importancia Agrícola en Colombia*. 1a ed, Corpoica: Bogotá. 62 pp.
- RODRÍGUEZ, S., R. RODRÍGUEZ, L. PASTRANA & A. SABROSA 2012. *Procedimiento para la obtención de un extracto miofibrilar gelificables a partir de restos de pescado*. Oficina española de patentes y marcas. España. A23J 1/04.
- ROZO, C. 1987. Recomendaciones de consumo de calorías y nutrientes para la población colombiana, Informe presentado a la Junta de Acuerdo de Cartagena. <http://www.icbf.gov.co/portal/page/portal/PortalICBF/Bienestar/Beneficiarios/Nutricion-SeguridadAlimentaria/tabla-recomendaciones.pdf> [Consultado el 22-12-2013].
- SEPULVEDA, R. 2011. La desnutrición afecta a cerca de 230.000 niños. EL TIEMPO. <http://www.eltiempo.com/archivo/documento/CMS-9176293> [Consultado el 22-04-2011].
- WHO/FAO/ONU 1985. *Report: energy and protein requirements*. World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations, United Nations University. Ginebra, Suiza : Who technical Reports Series N°724 220 pp.