



**Evaluación bajo condiciones *ex situ* (bioterio) del invertebrado *Tenebrio molitor* L.  
(Coleoptera: Tenebrionidae) como bioconversor de subproductos orgánicos domésticos  
hacia una perspectiva alimentaria**

Taday León, Sofia Abigail

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología

Neira Mosquera, Juan Alejandro, PhD.

04 de septiembre de 2023

## Reporte de verificación de contenido



### ESCRITO FINAL Sofía.pdf

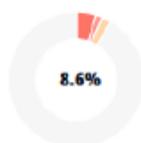
#### Scan details

Scan time:  
August 29th, 2023 at 0:50 UTC

Total Pages:  
96

Total Words:  
23897

#### Plagiarism Detection



Types of plagiarism		Words
Identical	4.8%	1149
Minor Changes	1.5%	351
Paraphrased	2.3%	561
Omitted Words	0%	0

#### AI Content Detection



Text coverage

- AI text
- Human text



JUAN ALEJANDRO  
NEIRA MOSQUERA

.....  
Neira Mosquera, Juan Alejandro Ph.D.

DIRECTOR

C.I. 0501644440



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

### Certificación

Certifico que el trabajo de titulación, denominado “**Evaluación bajo condiciones *ex situ* (bioterio) del invertebrado *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) como bioconversor de subproductos orgánicos domésticos hacia una perspectiva alimentaria**” fue realizado por la señorita Taday León Sofia Abigail; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 21 de agosto del 2023



firmado electrónicamente por:  
JUAN ALEJANDRO  
NEIRA MOSQUERA

---

Neira Mosquera, Juan Alejandro Ph.D.

C.C. 0501644440



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

### Responsabilidad de autoría

Yo, **Taday León, Sofia Abigail**, con cédula de ciudadanía N° 172621398-4, declaro que el contenido, ideas y criterios de trabajo de titulación denominado **"Evaluación bajo condiciones *ex situ* (bioterio) del invertebrado *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) como bioconvertor de subproductos orgánicos domésticos hacia una perspectiva alimentaria"** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 21 de agosto del 2023



Taday León, Sofia Abigail

C.C. 172621398-4



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

### Autorización de publicación

Yo, Taday León, Sofia Abigail, con cédula de ciudadanía N° 172621398-4, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE publicar el trabajo de titulación denominado **“Evaluación bajo condiciones *ex situ* (bioterio) del invertebrado *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) como bioconvertor de subproductos orgánicos domésticos hacia una perspectiva alimentaria”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 21 de agosto del 2023

Taday León, Sofia Abigail

C.C. 172621398-4

## **Dedicatoria**

A mi familia, mis hermanos Oscar, Kevin y a mi madre,  
por su apoyo incondicional; sin ellos nada de esto sería  
posible; y a mi padre que me sigue guiando, inspirando y  
cuidando desde el cielo.

## Agradecimientos

Agradezco a Dios y a la vida por darme los padres que tengo, por la familia de la cual soy parte, por las raíces (comunidades indígenas de los Altos Andinos del Ecuador – San Antonio de Bashalán) con las que nací, ya que su conocimiento ancestral, su idiosincrasia, su valentía, su garra y sus creencias han hecho de mí la mujer que soy ahora.

No puedo expresar en palabras toda la gratitud que tengo hacia mi madre, ya que su lucha constante, sus malas noches, su esfuerzo, y su hermosa sonrisa frente a cualquier situación, ha sido para mí una fuente de inspiración inagotable. Ella junto a mi padre, que me mira desde el cielo, han sido mi principal motivación para seguir adelante y luchar por mis sueños.

A mis hermanos por sus consejos y apoyarme cuando necesito una mano para mis proyectos.

Al Instituto Nacional de Biodiversidad – INABIO por abrirme las puertas para realizar este proyecto de titulación, y permitirme criar mis bichitos en su bioterio.

A Pablito, Julio, y Dani técnicos, jefes y guías incondicionales del Laboratorio de Innovación – INABIO, siempre me apoyaron durante el desarrollo de mi proyecto de titulación, e hicieron de mi estadía en este centro de investigación una experiencia muy agradable.

Al Doctor Juan Neria Ph.D. que después de varias puertas cerradas y rechazos, me permitió hacer uso del Laboratorio de Bromatología y Biociencias de la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE sede Santo Domingo para el desarrollo de mi tesis.

Finalmente, quiero darle mi más fuerte abrazo y agradecimientos a Cecy, Mayra, Luis, Daniel, Sebas, y Pao quienes fueron pasantes y amigos durante este tiempo.

## Índice de Contenido

Dedicatoria	6
Agradecimientos	7
Índice de Contenido	8
Índice de Tablas	14
Índice de Figuras	16
Listado de Abreviaturas	19
Resumen	20
Abstract	21
Capítulo I: Introducción	22
Antecedentes	22
Justificación del problema	24
Objetivos de la investigación	27
Objetivo General	27
Objetivos específicos	27
Hipótesis	27
Capítulo II: Marco referencial	28
Entomofagia y Socio-cultura	28
Insectos Comestibles	29
Valor nutricional de los insectos comestibles	30
Proteínas	31
Grasas	31

	9
Minerales y oligoelementos	32
Bioconversión	32
Marco Legal	33
<i>Tenebrio molitor</i> L.	33
Descripción morfológica y taxonómica	33
Distribución	35
Ciclo de Vida	35
Bromatología	36
Análisis proximales	36
Confiabilidad de los métodos de análisis	37
Análisis microbiológicos	39
Capítulo III: Metodología	41
Responsable del proyecto	41
Periodo de investigación	41
Ubicación del área de investigación	41
Recolección	41
Dietas para <i>T. molitor</i> L.	42
Experimentación ex situ (Bioterio)	42
Diseño experimental	44
Experimento sobre la eficiencia de conversión de los alimentos	47
Análisis bromatológicos	48

	10
Preparación de las muestras	48
Protocolos	48
Determinación de grasas	51
Análisis microbiológicos	51
Análisis Estadístico	52
Análisis de Varianza	52
Capítulo VI: Resultados	53
Resultados Bioconversión, Crecimiento y Tasa de supervivencia	53
Resultados Dieta (sustrato seco & húmedo) vs Bioconversión	53
Prueba Tukey: Sustrato húmedo (factor A) vs FCR	55
Prueba Tukey: Sustrato seco (factor B) vs FCR	56
Diagramas de cajas y bigotes: Sustrato húmedo (factor A) vs FCR	56
Diagramas de cajas y bigotes: Sustrato seco (factor B) vs FCR	57
Gráfico interacciones: Dieta (sustrato húmedo & sustrato seco) vs FCR	58
Resultados Dieta (sustrato seco & húmedo) vs Variación de Peso ( $\Delta P$ ) durante 45 días	60
Prueba Tukey: Sustrato húmedo (factor A) vs Variación de Peso ( $\Delta P$ ) durante 45 días	61
Diagramas de cajas y bigotes: Sustrato húmedo (factor A) y sustrato seco (factor B) vs Variación de Peso ( $\Delta P$ )	62
Gráfico interacciones: Dieta (sustrato húmedo & sustrato seco) vs Variación de Peso ( $\Delta P$ )	63

Resultados Dieta (sustrato seco & húmedo) vs Variación de Área ( $\Delta A$ ) durante 45 días	64
Prueba Tukey: Sustrato húmedo (factor A) vs $\Delta A$	65
Prueba Tukey: Sustrato seco (factor B) vs $\Delta A$	65
Diagramas de cajas y bigotes: Sustrato húmedo (factor A) y sustrato seco (factor B) vs Variación de área ( $\Delta A$ )	66
Gráfico interacciones: Dieta (sustrato húmedo & sustrato seco) vs Variación de Área ( $\Delta A$ )	66
Resultados Dieta (sustrato seco & húmedo) vs %Ts (tasa de supervivencia)	68
Prueba Tukey: Sustrato húmedo (factor A) vs %Ts	68
Diagramas de cajas y bigotes: Sustrato húmedo (factor A) y sustrato seco (factor B) vs %Ts (tasa de supervivencia)	69
Gráfico interacciones: Dieta (sustrato húmedo & sustrato seco) vs %Ts (tasa supervivencia)	70
Análisis Proximales	72
Resultados Dieta (sustrato seco & húmedo) vs % P (proteína bruta)	72
Prueba Tukey: Sustrato húmedo (factor A) vs %P (proteína bruta)	72
Prueba Tukey: Sustrato seco (factor B) vs %P (proteína bruta)	73
Diagramas de cajas y bigotes: Sustrato húmedo (factor A) y sustrato seco (factor B) vs %P (proteína bruta)	73
Gráfico interacciones: Dieta (sustrato húmedo & sustrato seco) vs %P (proteína bruta)	74
Resultados Dieta (sustrato seco & húmedo) vs %G (grasa bruta)	76

	12
Prueba Tukey: Sustrato húmedo (factor A) vs %G (grasa bruta)	76
Prueba Tukey: Sustrato seco (factor B) vs %G (grasa bruta)	77
Diagramas de cajas y bigotes: Sustrato húmedo (factor A) y sustrato seco (factor B) vs %G (grasa bruta)	77
Gráfico interacciones: Dieta (sustrato húmedo & sustrato seco) vs %G (grasa bruta)	78
Resultados Dieta (sustrato seco & húmedo) vs %Humedad	80
Prueba Tukey: Sustrato húmedo (factor A) vs %H (humedad)	80
Diagramas de cajas y bigotes: Sustrato húmedo (factor A) y sustrato seco (factor B) vs %G (grasa bruta)	81
Gráfico interacciones: Dieta (sustrato húmedo & sustrato seco) vs %H (humedad)	81
Resultados Dieta (sustrato seco & húmedo) vs %C (cenizas)	83
Prueba Tukey: Sustrato húmedo (factor A) vs %C (cenizas)	83
Prueba Tukey: Sustrato seco (factor B) vs %C (cenizas)	84
Diagramas de cajas y bigotes: Sustrato húmedo (factor A) y sustrato seco (factor B) vs %C (cenizas)	84
Gráfico interacciones: Dieta (sustrato húmedo & sustrato seco) vs %C (cenizas)	85
Resultados Dieta (sustrato seco & húmedo) vs pH	87
Prueba Tukey: Sustrato húmedo (factor A) vs pH	87
Prueba Tukey: Sustrato seco (factor B) vs pH	88
Diagramas de cajas y bigotes: Sustrato húmedo (factor A) y sustrato seco (factor B) vs pH	88
Gráfico interacciones: Dieta (sustrato húmedo & sustrato seco) vs pH	89

	13
Análisis interacciones entre variables	91
Matriz de componentes	91
Análisis de componentes principales (ACP)	93
Creación de conglomerados entre los tratamientos de estudio	94
Resumen de resultados de Bioconversión y crecimiento	96
Análisis microbiológico	97
Aerobios mesófilos	97
Mohos y levaduras	98
Coliformes totales y E. coli	99
Capítulo V: Discusión	100
Bioconversión, crecimiento y supervivencia	100
Análisis bromatológico	101
Análisis microbiológico	103
Capítulo VI: Conclusiones	104
Capítulo VII: Recomendaciones	106
Referencias	107
Apéndice	119

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1</b> Factores del diseño experimental.....	45
<b>Tabla 2</b> Tratamientos y variables del diseño experimental factorial A*B con el invertebrado conversor <i>T. molitor</i> L. ....	46
<b>Tabla 3</b> Análisis de Varianza ANOVA para FCR Día 15.....	53
<b>Tabla 4</b> Análisis de Varianza ANOVA para FCR Día 30.....	54
<b>Tabla 5</b> Análisis de Varianza ANOVA para FCR Día 45.....	54
<b>Tabla 6</b> Prueba de significancia entre grupos de Tukey: tipo de sustrato húmedo (factor A) vs FCR.....	55
<b>Tabla 7</b> Prueba de significancia entre grupos de Tukey: tipo de sustrato seco (factor B) vs FCR .....	56
<b>Tabla 8</b> Análisis de Varianza ANOVA para $\Delta P$ .....	60
<b>Tabla 9</b> Prueba de significancia entre grupos de Tukey: tipo de sustrato húmedo (Factor A) vs $\Delta P$ .....	61
<b>Tabla 10</b> Análisis de Varianza ANOVA para $\Delta A$ .....	64
<b>Tabla 11</b> Prueba de significancia entre grupos de Tukey: tipo de sustrato húmedo (Factor A) vs $\Delta A$ .....	65
<b>Tabla 12</b> Prueba de significancia entre grupos de Tukey: Tipo de sustrato seco (Factor B) vs $\Delta A$ .....	65
<b>Tabla 13</b> Análisis de Varianza ANOVA para %Ts (tasa supervivencia).....	68
<b>Tabla 14</b> Prueba de significancia entre grupos de Tukey: tipo de sustrato húmedo (factor A) vs %Ts.....	69
<b>Tabla 15</b> Análisis de Varianza ANOVA para Proteína (%).....	72
<b>Tabla 16</b> Prueba de significancia entre grupos de Tukey: Tipo de sustrato húmedo (Factor A) vs Proteína bruta (%).....	73

<b>Tabla 17</b> Prueba de significancia entre grupos de Tukey: Tipo de sustrato seco (factor B) vs Proteína bruta (%) .....	73
<b>Tabla 18</b> Análisis de Varianza ANOVA para Grasa bruta (%) .....	76
<b>Tabla 19</b> Prueba de significancia entre grupos de Tukey: Tipo de sustrato húmedo (factor A) vs Grasa bruta (%) .....	77
<b>Tabla 20</b> Prueba de significancia entre grupos de Tukey: Tipo de sustrato húmedo (factor B) vs Grasa bruta (%) .....	77
<b>Tabla 21</b> Análisis de Varianza ANOVA para humedad (%) .....	80
<b>Tabla 22</b> Prueba de significancia entre grupos de Tukey: Tipo de sustrato húmedo (factor A) vs humedad (%) .....	80
<b>Tabla 23</b> Análisis de Varianza ANOVA para Cenizas (%) .....	83
<b>Tabla 24</b> Prueba de significancia entre grupos de Tukey: Tipo de sustrato húmedo (factor A) vs Cenizas (%) .....	84
<b>Tabla 25</b> Prueba de significancia entre grupos de Tukey: Tipo de sustrato seco (factor B) vs Cenizas (%) .....	84
<b>Tabla 26</b> Análisis de Varianza ANOVA para pH .....	87
<b>Tabla 27</b> Prueba de significancia entre grupos de Tukey: Tipo de sustrato húmedo (factor A) vs pH .....	87
<b>Tabla 28</b> Prueba de significancia entre grupos de Tukey: Tipo de sustrato seco (factor B) vs pH .....	88
<b>Tabla 29</b> Tabla de componentes .....	92

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> <i>Mapa de distribución global del consumo de insectos</i> .....	30
<b>Figura 2</b> <i>Fases insectarias de <i>Tenebrio molitor</i> L.</i> .....	34
<b>Figura 3</b> <i>Clasificación taxonómica de <i>Tenebrio molitor</i> L.</i> .....	35
<b>Figura 4</b> <i>Ubicación geográfica del lugar de recolección de muestras de <i>T. molitor</i> L.</i> ...	41
<b>Figura 5</b> <i>Ubicación geográfica del sitio de Crianza ex situ (bioterio) de <i>Tenebrio molitor</i> L.</i> .....	43
<b>Figura 6.</b> <i>Área de crianza de insectos – Bioterio INABIO</i> .....	44
<b>Figura 7</b> <i>Diagrama de cajas y bigotes: tipo de sustrato húmedo (factor A) vs FCR</i> .....	57
<b>Figura 8</b> <i>Diagrama de cajas y bigotes: tipo de sustrato seco (factor B) vs FCR</i> .....	58
<b>Figura 9</b> <i>Gráfico de interacciones factores &amp; variable 2D y 3D: Sustrato húmedo, seco vs FCR día 15, 30 y 45.</i> .....	59
<b>Figura 10</b> <i>Diagrama de cajas y bigotes: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs Variación de Peso durante 45 días (<math>\Delta P</math>)</i> .....	62
<b>Figura 11</b> <i>Gráfico de interacciones factores &amp; variable 2D y 3D: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs <math>\Delta P</math></i> .....	63
<b>Figura 12</b> <i>Diagrama de cajas y bigotes: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs Variación de área durante 45 días (<math>\Delta A</math>)</i> .....	66
<b>Figura 13</b> <i>Gráfico de interacciones factores &amp; variable 2D y 3D: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs <math>\Delta A</math></i> .....	67
<b>Figura 14</b> <i>Diagrama de cajas y bigotes: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs %Ts (tasa supervivencia)</i> .....	70
<b>Figura 15</b> <i>Gráfico de interacciones factores &amp; variable 2D y 3D: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs %Ts (tasa de supervivencia)</i> .....	71
<b>Figura 16</b> <i>Diagrama de cajas y bigotes: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs Proteína bruta (%)</i> .....	74

<b>Figura 17</b> <i>Gráfico de interacciones factores &amp; variable 2D y 3D: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs Proteína bruta (%)</i> .....	75
<b>Figura 18</b> <i>Diagrama de cajas y bigotes: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs Grasa bruta (%)</i> .....	78
<b>Figura 19</b> <i>Gráfico de interacciones factores &amp; variable 2D y 3D: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs grasa bruta (%)</i> .....	79
<b>Figura 20</b> <i>Diagrama de cajas y bigotes: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs humedad (%)</i> .....	81
<b>Figura 21</b> <i>Gráfico de interacciones factores &amp; variable 2D y 3D: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs Humedad (%)</i> .....	82
<b>Figura 22</b> <i>Diagrama de cajas y bigotes: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs % Cenizas</i> .....	85
<b>Figura 23</b> <i>Gráfico de interacciones factores &amp; variable 2D y 3D: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs Cenizas (%)</i> .....	86
<b>Figura 24</b> <i>Diagrama de cajas y bigotes pH para tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B)</i> .....	89
<b>Figura 25</b> <i>Gráfico de interacciones factores &amp; variable 2D y 3D: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs pH</i> .....	90
<b>Figura 26</b> <i>Matriz de Correlaciones entre variables del diseño experimental</i> .....	91
<b>Figura 27</b> <i>Gráfico de sedimentación</i> .....	93
<b>Figura 28</b> <i>Gráfico de componentes en el espacio rotado (3 dimensiones)</i> .....	94
<b>Figura 29</b> <i>Dendograma: Interacción entre tratamientos, factores y variables</i> .....	95
<b>Figura 30</b> <i>Conteo de colonias en Petrifilm de aerobios mesófilos en tratamiento 3, 7 y 11</i> .....	97
<b>Figura 31</b> <i>Conteo de colonias en Petrifilm de mohos y levaduras en tratamiento 3, 7 y 11</i> .....	98

**Figura 32** *Conteo de colonias en Petrifilm de coliformes totales y E. coli en tratamiento*

11 .....99

### Listado de Abreviaturas

FCR: Índice de conversión de alimentos

Ts: Tasa de supervivencia

$\Delta P$ : Variación de peso

$\Delta A$ : Variación de área

SH: Sustrato húmedo

SH1: 60 g apio pasado

SH2: 60 g cáscaras de nabo

SH3: 60 g cáscaras de remolacha

SS: Sustrato seco

SS1: 25 g harina de trigo más 75 g harina de maíz

SS2: 50 g harina de trigo más 50 g harina de maíz

SS3: 75 g Harina de trigo más 25 g harina de maíz

SS4: 100 g harina de trigo

%P: porcentaje proteína bruta

%C: porcentaje cenizas

%H: porcentaje humedad

## Resumen

La falta de fuentes alternativas sustentables de proteína junto con el crecimiento acelerado de la población mundial, y el cambio climático acrecienta la inseguridad alimentaria convirtiéndolo en uno de los problemas más críticos del último siglo. La entomofagia describe el consumo de insectos promoviendo la reutilización de residuos orgánicos para la fabricación de bioalimentos. El presente estudio evaluó la capacidad de bioconversión de residuos orgánicos domésticos en biomasa a través del invertebrado *Tenebrio molitor* L y su viabilidad de consumo. Se criaron gusanos de la harina amarillo en bioterio (*ex situ*) bajo condiciones controladas de temperatura y humedad, alimentados con doce dietas formadas por subproductos orgánicos domésticos, y proporcionadas en base a la cantidad de materia húmeda y seca. Mediante el pesaje de las larvas y los métodos oficiales de la Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) de Estados Unidos, se evaluaron las siguientes variables: FCR, variación de peso, supervivencia y valores proximales durante 45 días. Los resultados mostraron que el tratamiento 11 (60 g cáscaras de remolacha con 75 g Harina de trigo y 25 g harina de maíz) presentó las tasas más eficientes de bioconversión (FCR ~2), crecimiento (incremento de peso >0,140 g), y supervivencia (>96%). Así mismo, obtuvo los valores más altos de los parámetros proximales, en proteína bruta (>22%), grasa bruta (>32%), humedad (~58%), cenizas (~3%) y un pH ~ 6,101. Por último, en relación a los análisis microbiológicos, realizado mediante cuantificación de unidades formadoras de colonia en medios de cultivo - Petrifilm, se observó crecimiento de aerobios mesófilos, mohos y levaduras, coliformes totales y *E. coli* pero bajo los límites permisibles para consumo que establece la Comisión de la Unión Europea para *T. molitor* L. Este estudio provee información relevante acerca de la viabilidad del consumo humano de *Tenebrio molitor* L en larva y la promoción simultánea de la gestión de residuos orgánicos que se generan en los hogares.

*Palabras clave:* bioconversión, insectos comestibles, índice de conversión alimenticia, residuos orgánicos, análisis proximales

### Abstract

The lack of sustainable alternative sources of protein as well as the accelerated growth of the world's population and the climate change are driving food insecurity, one of the most critical problems of the last century. Entomophagy describes the consumption of insects that promotes the reuse of organic residues as a raw material to produce biofoods. The present research evaluated the capacity of bioconversion of household organic wastes into biomass by the invertebrate *Tenebrio molitor* L. and its viability as food. Yellow mealworms were bred into a biotherium (*ex situ*) under controlled conditions such as temperature and humidity, and fed with twelve different diets formulated based on the amount of wet and dry matter of domestic organic by-products. Through larval weighing and measurements carried out according to the official methods of the Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) of the United States, were evaluated the following parameters: FCR, weight variation, survival and proximal variables during 45 days. The results indicated that treatment 11 (60 g beet peels with 75 g wheat flour and 25 g corn flour) presented the most efficient rates of bioconversion (FCR ~2), growth (weight increase >0.140 g), and survival (>96%). Likewise, it had the highest proximate variables values such as crude protein (>22%), crude fat (>32%), moisture (~58%), ash (~3%) and pH ~ 6.101. Finally, regarding microbiological analysis, performed by quantification of colony forming units (UFC) in culture media – Petrifilm, showed growth of mesophilic aerobes, molds, yeasts, total coliforms and *E. coli* but under permissible limits for consumption established by the Commission of the European Union. Thus, this study provides relevant information about the feasibility of human consumption of *Tenebrio molitor* L. larvae and the simultaneous promotion of organic waste management generated in households.

*Key words:* bioconversion, edible insects, feed conversion ratio, organic residues, proximate analysis

## Capítulo I: Introducción

### Antecedentes

La falta de fuentes alternativas sustentables de proteína es problema global que aqueja a la comunidad científica y se ve agravada por la malnutrición.

La malnutrición humana está presente en todos los países del planeta bajo distintos niveles, siendo América Latina y especialmente en Ecuador, Guatemala y Honduras los países con mayor incidencia de obesidad y retraso en el crecimiento (Global Nutrition Report, 2020; (FAO et al., 2023).

La desnutrición crónica infantil es considerada uno de los principales problemas de salud pública del país, afectando a uno de cada tres niños menores de 2 años (UNICEF, 2020). Esta condición no solo tiene una afección personal, sino que conlleva gastos asociados a todo el estado representando el 4,3% del PIB de Ecuador, en términos de costos de salud, educación, cuidado y pérdida de productividad (ONU Ecuador, 2022).

Históricamente, diversos grupos culturales y étnicos del mundo incluyeron a los insectos en su dieta como suplemento proteico (Meyer-Rochow, 1975). Los primeros testimonios de personas que comieron insectos datan del siglo VIII a.C. en Oriente Medio (Bodenheimer, 1951). Onore (1997) relataba a la entomofagia en el Ecuador como una tradición ancestral existente antes de la colonización europea, y predominante en zonas rurales, alejadas del progreso tecnológico.

Smith & Paucar, (2000) sustentaron esto con un estudio descriptivo sociocultural de *Platycoelia lutescens* Blanchard (Scarabaeidae: Rutelinae: Anoplognathini) conocido como “catzo blanco” y utilizado como fuente alimentaria de la región andina del Ecuador, específicamente de la ciudad de Quito, provincia de Pichincha. Se demostró la importancia cultural del consumo de insectos como una costumbre ancestral arraigada en la población y que estaba relacionada con su estatus socio – económico.

El crecimiento exponencial del establecimiento de criaderos y granjas de insectos debido a la demanda alimentaria del planeta, y el gran potencial bioprospectivo de estos invertebrados en la industria biotecnológica (Hoffmann, 2017), ha incentivado la investigación bromatológica y microbiológica de los mismos en distintas regiones del planeta especialmente Asia, Europa y América. Pero desde un punto de vista económico, las condiciones de cría, como la dieta, la temperatura y el tiempo, y el rendimiento de los insectos, como la mortalidad y el valor nutricional son factores importantes que limitan su industrialización (Harsányi et al., 2020).

En la actualidad, ya se han definido las condiciones de cría *ex situ* de *Tenebrio molitor* L. en regiones tropicales, nórdicas y hasta andinas (Intriago & Valencia, 2014; Ortega & González, 2019). Es decir, la temperatura, porcentaje de humedad relativa, fotoperiodo, y aireación, no representan un reto para la producción de estos coleópteros (Oonincx et al., 2015); siendo su dieta uno de los factores de mayor relevancia para la promoción de su reproducción y obtención de un favorable contenido nutricional (van Broekhoven et al., 2015; (Harsányi et al., 2020).

En Ecuador son escasos los estudios (Espinosa et al., 2019; Velasteguí et al., 2020; Pico - Puma et al., 2020) enfocados en biorrefinería de insectos y no hay reportes acerca del valor nutricional del gusano amarillo de la harina (*Tenebrio molitor* L.) bajo condiciones controladas, y alimentados con subproductos domésticos (Intriago & Valencia, 2014).

Pero se puede tomar como referencia a Intriago & Valencia, (2014) que realizaron estudios acerca de la composición química (antocianinas), proximal y rendimiento crecimiento de *Tenebrio molitor* L. alimentados con sustratos a base de harina de maíz morado al 100 %, 75%, 50 %, y 25 % como materia seca con 5 g de lechuga y 2 g de maní como materia húmeda. En donde las larvas alimentadas con más del 50% de harina de maíz presentaron mayor cantidad de proteína y antocianinas con mejores características físicas de peso y

longitud. En cambio, con una dieta de maíz morado al 100% el ciclo de vida se redujo a 14 semanas, pero tuvo mayor mortalidad.

van Broekhoven y colaboradores (2015) ya han realizado evaluaciones con dietas a base de subproductos orgánicos en Países Bajos. Analizaron el porcentaje de supervivencia, tasa de bioconversión y valoraciones nutricionales de *Tenebrio molitor* L. con dietas basadas en el contenido de proteínas y almidón. Con la dieta alta en proteína y baja en almidón – HPLS obtuvieron mayor supervivencia, menor tiempo de desarrollo, y mayor Índice de Conversión del Alimento (FCR). A su vez, el porcentaje de proteína en biomasa no varió significativamente entre las dietas suministradas (45.1 – 48.6%) y el mayor porcentaje de grasa bruta (27.6 %) se obtuvo con la dieta HPLS.

Respecto a los análisis microbiológicos en *Tenebrio molitor* L., no se han encontrado estudios locales (Espinosa et al., 2019; Velasteguí C. et al., 2020; Pico - Puma et al., 2020), pero sí en el extranjero. La UE en su Reglamento de Ejecución 2022/169 describe los microorganismos presentes en *T. molitor* L. congelado y desecado o pulverizado, notando la presencia de: Colonias aerobias, Enterobacterias, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, anaerobios sulfito-reductores, levaduras y mohos, pero bajo los límites permitidos para alimentos de consumo humano (EUR-Lex, 2022)

### **Justificación del problema**

Está previsto que la población mundial alcance los 9.700 millones en 2050 (ONU, 2019); el crecimiento poblacional en conjunto con el cambio climático genera una mayor demanda de alimentos que agota las fuentes alimentarias convencionales, y promueve la búsqueda de nuevas fuentes de materias primas (FAO, 2008; Palma et al., 2019).

Asimismo, la erosión de los suelos, el uso excesivo de los recursos hídricos, la generación de gases de efecto invernadero y la desenfrenada contaminación ambiental

provocada por la agricultura tradicional, y los procesos de producción de cárnicos, vuelven insostenible e insustentable el consumo de estas fuentes proteicas (van Huis & Oonincx, 2017).

El cultivo de insectos genera cien veces menos gases de efecto invernadero por kg de peso que el sector porcino, usa cinco veces menos agua, y diez veces menos suelo (Lim, 2022). Estos invertebrados tienen un alto contenido nutricional en proteínas, ácidos grasos esenciales, oligoelementos, y fibra. Además, plantean un riesgo reducido en la transmisión de enfermedades zoonóticas (Azagoh et al., 2015; FAO, 2013; FAO, 2014) y se los considera hasta el momento como el mejor sustituto de la carne (H. J. Lee et al., 2020).

La entomofagia (consumo insectos) se ha convertido en una oportunidad y alternativa a las fuentes proteicas de consumo masivo habituales (FAO, 2008; van Huis, 2016; Palma et al., 2019; FAO, 2021), no sólo por sus beneficios ambientales y socioeconómicos (van Huis, 2013), sino también, porque se perfila como estrategia para prevenir y manejar enfermedades crónicas como la diabetes, la hiperlipidemia, el cáncer, y las enfermedades cardiovasculares, y mejorar la función inmunológica (Nowakowski et al., 2022).

De los estudios realizados por Terry Erwin del Departamento de Entomología del Instituto Smithsonian (1983) se estima que la entomofauna representa la mayor porción de biomasa de los animales terrestres del planeta; hay cerca de 10 trillones de insectos individuales vivos. En el mundo se conocen unas 900 mil clases diferentes de insectos vivos, pero se estima que existen más de 2 millones de especies, lo que representa el 80% de las especies del mundo (Smithsonian, 2020).

Pese a esto, hasta la fecha solo se han descrito un poco más de 2000 especies de insectos comestibles, cientos de las cuales ya forman parte de la dieta alimentaria de muchos países (FAO, 2008; Holland, 2013; Jongema, 2017). La entomofauna se concentra en regiones de Asia, África y América Latina (FAO, 2013), y esta última ha sido un foco histórico del registro de insectos comestibles (Durst & Shono, 2010; Bermúdez-Serrano, 2020).

Los insectos que se consumen actualmente pertenecen a los siguientes órdenes: Coleóptera, Hymenoptera, Lepidoptera, Homoptera, Orthoptera y Odonata (Onore, 1997), siendo el orden Coleóptera el más consumido en Ecuador y el mundo (Jongema, 2017; Gahukar, 2011). Así, la FAO ha descrito al coleóptero *Tenebrio molitor* L. (gusano amarillo de la harina) como uno de los más eficientes en bioconversión de residuos orgánicos mundialmente (van Huis, 2013).

La bioconversión o transformación de subproductos orgánicos a biomasa de valor agregado a través de la semi-domesticación de insectos (Fowles & Nansen, 2019), promueve la gestión ambiental de residuos (Offenberg, 2011). La gran cantidad y diversidad de desechos producidos en el mundo y su incorrecta gestión provocan el deterioro de los ecosistemas y la calidad de vida de sus habitantes (Sánchez, 2015; Harikumar et al., 2018). Al año se desechan 1 300 millones de toneladas de desechos alimentarios (Ojha et al., 2020), de los cuales 42% proviene de los hogares (Varelas, 2019). Además, hasta el 40% de las frutas y verduras producidas se desechan incluso antes de llegar al consumidor (Harikumar et al., 2018). Debido a esta acelerada generación mundial de desechos orgánicos, la principal forma de eliminación es el relleno sanitario, sin embargo, esta disposición final contribuye al cambio climático por la contaminación del suelo, el aire y el agua (Morales Quintana, 2021)

Esta es la razón por la cual varios autores están trabajando en la búsqueda de dietas o sustratos a base de subproductos domésticos que alivien la contaminación ambiental, y promuevan el crecimiento y desarrollo de *Tenebrio molitor* L. con un alto valor nutricional y baja carga microbiológica para el consumo animal o humano (Van Peer et al., 2021).

Sin embargo, aunque la entomofagia tenga múltiples beneficios, está muy poco difundida en la sociedad, principalmente en zonas urbanas en donde el consumo de insectos se asocia a condiciones anti-sanitarias, y limitado a personas de escasos recursos (Lesnik, 2014). Es de gran importancia recuperar estas tradiciones y costumbres, considerando que la alimentación modifica la estructura de una sociedad y, en consecuencia, tiene un impacto en

los moldes conductuales y los conflictos que dan lugar a diversos aspectos de la economía y la cultura (Ramos-Elorduy, 2009).

El presente trabajo determinará si *Tenebrio molitor* L. criado bajo condiciones *ex situ* con sustratos a base subproductos orgánicos domésticos tienen un alto valor nutricional, y es microbiológicamente inocuo para el consumo animal o humano. Estos datos son necesarios para generar un cambio en la política de restauración y establecer un plan adecuado del manejo de la entomofagia y la industria alimentaria.

### **Objetivos de la investigación**

#### ***Objetivo General***

Evaluar bajo condiciones *ex situ* (bioterio) el invertebrado *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) como bioconversor de subproductos orgánicos domésticos hacia una perspectiva alimentaria

#### ***Objetivos específicos***

Determinar el grado de bioconversión de *Tenebrio molitor* L. criado bajo condiciones *ex situ* con dietas a base de subproductos orgánicos domésticos a través de la tasa de bioconversión y tasa de supervivencia.

Caracterizar bromatológicamente a *Tenebrio molitor* L. en estado larvario bajo condiciones *ex situ* mediante valoración de proteína total, grasa cruda, pH, cenizas, y humedad.

Analizar los parámetros microbiológicos de *Tenebrio molitor* L. en larva criado *ex situ* mediante la técnica de recuento en medios de cultivo.

### **Hipótesis**

*Tenebrio molitor* L. en larva criado bajo condiciones *ex situ* con dietas a base de subproductos orgánicos domésticos tiene valores nutricionales y carga microbiana permisibles para el consumo alimentario.

## Capítulo II: Marco referencial

### Entomofagia y Socio-cultura

Históricamente, los fósiles sugieren que hace billones de años antes del origen de los primates, las criaturas tenían que mantener un alto metabolismo para compensar la pérdida de calor utilizada para la conservación de su temperatura corporal (37°C) (Wiemann et al., 2022). Por lo que necesitaban muchos nutrientes y calorías, que era compensado con una dieta a base de insectos como suplemento de micronutrientes y proteínas (Lesnik, 2014). Así también, la necesidad de consumo de insectos se asociaba con las habilidades de caza de los primates y de sus antepasados inmediatos, lo que podría explicar el origen de la preferencia de los humanos por la carne y la grasa. Años después, se vinculó la alimentación a base de invertebrados en el *Homo erectus* como un comportamiento social relacionado al cuidado familiar (Cumo, 2021).

Localmente se conoce que los registros arqueológicos de los museos de Quito indican que la práctica de la entomofagia era muy antigua y ciertamente anterior a la colonización europea (Onore, 1997). Las culturas prehispánicas tenían un amplio conocimiento de los insectos de Ecuador y los involucraron en la mitología, el arte, la cocina y la geografía (Barragan et al., 2009). Existen motivos y diseños de insectos que se encuentran plasmados en piezas de cerámicas en el Museo Antropológico del Banco Central del Ecuador, lo que implica que estas criaturas estaban involucradas en la vida cotidiana de los aborígenes de diferentes culturas que habitaban estas tierras (Melic, 2003).

La entomofagia y la antropoentomofagia hacen referencia al consumo de insectos por los seres humanos (Ramos-Elorduy, 2009). Se practica en muchas partes de todo el mundo; en el Distrito Federal de México, Tokio y Pekín es considerado el recurso nutricional muy importante. Se estima que dos mil millones de personas en 140 países, más de una cuarta parte de la población mundial, comen insectos como parte de su dieta estándar (Durst & Shono, 2010); FAO, 2013; Jongema, 2017). Se los consume de forma directa, elaborada o

como suplemento alimenticio (Costa-Neto, 2004). En las zonas rurales de Latinoamérica, los indígenas y campesinos de Colombia, Venezuela, México, Ecuador, etc. mantienen un alto consumo de insectos (Costa-Neto & Ramos-Elorduy, 2006).

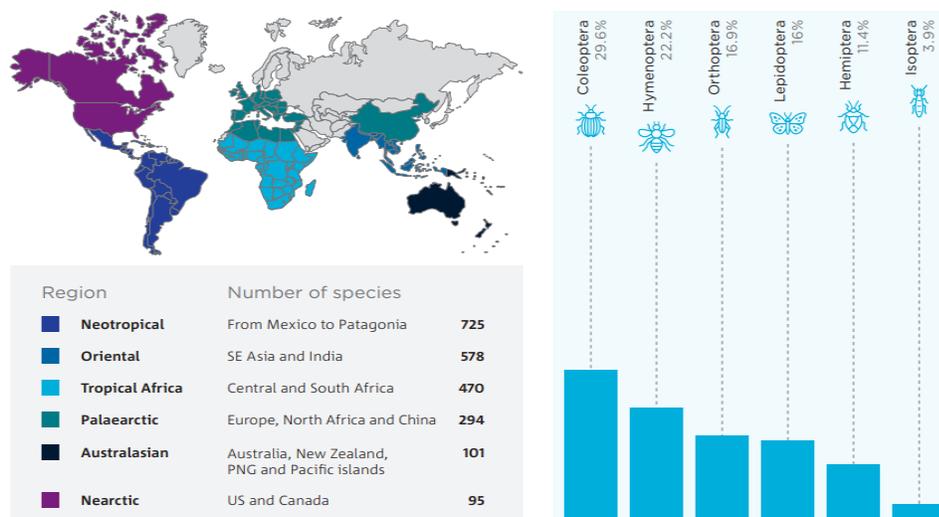
### **Insectos Comestibles**

Los principales órdenes de insectos consumidos en el mundo son los escarabajos (Coleóptera), seguidos de las hormigas, abejas y avispas (Hymenoptera), grillos y saltamontes (Orthoptera), polillas y mariposas (Lepidoptera) y termitas (Isoptera) (**Figura 1**) (Ponce-Reyes & Lessard, 2021).

El orden Coleóptera es el más numeroso de los insectos, con más de 300 familias y más de 300,000 especies conocidas a nivel mundial, que representa el 40% de la entomofauna total; y si nos referimos a los comestibles, la orden coleóptera representa el 29.6% de todos los insectos comestibles (Linsley-Gressitt, 2020).

**Figura 1**

*Mapa de distribución global del consumo de insectos*



*Nota.* A la izquierda concentración de especies de insectos comestibles por regions, y a la derecha porcentaje de especies consumidas de acuerdo a su orden. Tomada de Worldwide list of recorded edible insects por Y. Jongema (2017).

Los insectos comestibles son el mercado de proteínas alternativas de más rápido crecimiento en el mundo. Se espera que la industria mundial de los insectos comestibles alcance un valor total de 1.400 millones de dólares australianos en 2023 y que crezca un 44% anual hasta 2025 (Ponce-Reyes & Lessard, 2021).

### **Valor nutricional de los insectos comestibles**

Los insectos son una importante fuente de alimento tanto para los animales como para los seres humanos y, por esa razón, los informes sobre su composición de nutrientes se encuentran en artículos de disciplinas que van desde la antropología hasta la zoología (Finke, 2008). Dependiendo de la especie del insecto y su dieta, se ha demostrado que contienen altas cantidades de proteínas, grasas y quitina, llegando a tener hasta un 70% en composición en proteínas y grasas en materia seca (Van Peer et al., 2021).

### **Proteínas**

Desde el punto de vista nutricional, los insectos tienen un contenido proteico importante, varía del 13% al 76% de materia seca según el tipo y etapa de desarrollo del insecto (Xiaoming et al., 2010). En México se investigaron ochenta y siete especies de insectos comestibles, la digestibilidad de las proteínas de los insectos es del 76% al 96% (Ramos-Elorduy, 1997). Estos valores son, en promedio, sólo un poco más pequeños que los valores de la proteína del huevo (95%) o de la carne de vacuno (98%) e incluso más altos que en el caso de muchas proteínas vegetales (Kouřimská & Adámková, 2016).

### **Grasas**

El contenido de grasa de los insectos varía entre el 10% y el 70% en base a la materia seca (Bukkens, 1997; Finke, 2013). El contenido total de ácidos grasos poliinsaturados puede representar hasta el 70% del total de ácidos grasos (Oonincx & Finke, 2020)

Diversos estudios han demostrado, que los ácidos grasos poliinsaturados de las familias omega 3 (C18:3) y omega 6 (C18:2) actúan en la prevención del cáncer y de algunas enfermedades cardiovasculares. Dentro de este tipo de ácidos grasos se encuentran el ácido linoleico C18:2n-6 y el ácido linolénico C18:3n-3, ácidos grasos esenciales que no pueden ser sintetizados por los mamíferos y por consiguiente deben ser suministrados en la dieta. Adicionalmente, estos compuestos actúan como precursores de ácidos grasos de cadena larga como el eicosapentanoico-EPA (C20:5n-3), docosahexanoico-DHA (C22:6n-3) y araquidónico-ARA (C20:4n-6) que son esenciales tanto para humanos como animales en funciones de respuesta de transmisión nerviosa y funciones cerebrales, entre otras (Medrano, 2019).

En general, los insectos capturados en la naturaleza contienen cantidades relativamente altas de ácidos grasos y cantidades relativamente altas de ácido linoleico (18:2 n-6) (Shibao et al., 2022). Los insectos criados comercialmente también contienen altos niveles de ácidos grasos, pero niveles más bajos de ácido linolénico que los insectos capturados en la naturaleza, porque su dieta suele contener grandes cantidades de granos y subproductos de

granos, que tienen bajos niveles de ácido linolénico (Dreassi et al., 2017 ; Finke, 2002; Oonincx et al., 2015; Lawal et al., 2021).

### ***Minerales y oligoelementos***

Algunas especies de insectos comestibles contienen una cantidad razonable de minerales (K, Na, Ca, Cu, Fe, Zn, Mn y P), así como vitaminas del grupo B, vitaminas A, D, E, K y C. Sin embargo, su contenido es estacional y depende del alimento (Kouřimská & Adámková, 2016).

### ***Bioconversión***

La bioconversión es la transformación de un compuesto a otro por la acción de organismos vivos o enzimas (European Environment Agency - EEA, s.f.). En las últimas décadas, el aprovechamiento de restos o subproductos de la industria como materia prima para la manufactura de bioproductos de valor agregado se ha convertido en una tendencia en aumento.

Uno de los principales organismos utilizados en los procesos de bioconversión son los insectos por su alto índice de transformación en biomasa, por ejemplo 2 kg de alimento originan 1 kg de biomasa de insecto, mientras que el ganado aumenta 1 kg en peso corporal por 9 kg de alimento (Grau et al., 2017). A medida que los insectos consumen desechos orgánicos, generan múltiples productos valiosos como: proteínas, lípidos esenciales, metabolitos secundarios, biocombustibles, lubricantes y biofertilizantes (Fowles & Nansen, 2019; FAO, 2013).

Las combinaciones de subproductos en proporciones específicas podrían constituir dietas adecuadas para los insectos. La composición de la dieta es la principal variable que determina la eficiencia de conversión del alimento para una determinada especie de insecto (Harsányi et al., 2020).

Existen diferentes indicadores para determinar la eficiencia de conversión del alimento y son los siguientes: el FCR (índice de conversión alimenticia), y ECI (eficiencia de conversión

alimenticia) los dos pueden expresarse en materia seca o fresca. Entre más bajos sean los valores de estos índices mayores serán los beneficios económicos y medioambientales (Harikumar et al., 2018).

En el caso de los animales de producción tradicionales, los índices de conversión de van desde 2.3 en el caso de las aves de corral, 5.0 para la carne de cerdo y 8.8 para la de vacuno (J. H. Lee et al., 2021). Los gusanos de la harina amarillos han reportado un FCR alto (> 3.8) en todas las dietas, sin embargo, cuando las dietas se suplementan con zanahoria los FCR se sitúan entre 1.8 (dieta alta en proteínas y alta en grasas) y 3.1 (dieta alta en proteínas y baja en grasas) (Oonincx et al., 2015).

### **Marco Legal**

El Comité Permanente de Plantas, Animales, Alimentos y Piensos (sección de Nuevos Alimentos y Seguridad Toxicológica), compuesto por representantes de todos los países de la UE y presidido por un representante de la Comisión Europea, emitió el 3 de mayo del 2021 un dictamen a favor del proyecto de acto jurídico que se autoriza la comercialización del gusano amarillo desecado como nuevo alimento. Los nuevos alimentos se definen como aquellos que no habían sido consumidos de forma significativa por los seres humanos en la UE antes del 15 de mayo de 1997. Aunque en el pasado hay pruebas anecdóticas de insectos consumidos, ningún estado miembro ha confirmado el consumo humano en grado significativo antes del 15 de mayo de 1997 para ninguna especie de insecto (EUR-Lex, 2022).

### ***Tenebrio molitor* L.**

#### ***Descripción morfológica y taxonómica***

*T. molitor* L. es un artrópodo que en su forma adulta es mandibulado con un par de antenas en su cabeza, independiente del tórax; además, presenta tres pares de piezas bucales que pueden tener funciones masticadoras, chupadoras, lamedoras o picadoras (Romero, s.f.). Tiene alas anteriores endurecidas que protegen a las alas posteriores y al abdomen. Las alas anteriores forman un caparazón compacto delineado longitudinalmente con bordes casi

paralelos; su tórax está dividido en dos segmentos con seis patas articuladas separadas equidistantemente (López et al., 2018).

Su coloración como adulto joven es café - castaño oscuro y va oscureciendo conforme va madurando; sus dimensiones pueden llegar a ser iguales o menores a 18.0 mm de largo y 4.0 de ancho, especialmente en especies criadas *ex situ*.

Como larva existen seis fases subdivididas acorde a su tamaño y madurez (iniciales, pequeñas, medianas - pequeñas, medianas, medianas - grandes y grandes) véase Figura 2. El gusano amarillo de la harina se parece a los gusanos alambre (*Agriotes* spp.); son cilíndricas, segmentadas de color amarillo, naranja y hasta café cuando su melanización es mayor (Vyavhare & Kerns, 2017). Son dúctiles con pequeñas patas delanteras en el primer segmento cabeza-torác (Medrano, 2019). Las larvas iniciales pueden llegar a pesar 0,001 g o menos y las grandes igual o más a 0.300 g con dimensiones máximas a 3 cm de largo por 0.3 cm de ancho.

## Figura 2

*Fases insectarias de Tenebrio molitor L.*



*Nota.* *Tenebrio molitor* L. en estado larvario de izquierda a derecha (iniciales, pequeñas, medianas y grandes) y en estado adulto (derecha).

### Figura 3

#### Clasificación taxonómica de *Tenebrio molitor* L.

Reino	<a href="#">Animalia</a> – Animal, animales, animales
subreino	<a href="#">Descubridor</a>
Infrareino	<a href="#">protostomia</a>
Superphylum	<a href="#">Ecdisozoos</a>
Filo	<a href="#">Arthropoda</a> - Artrópodo, artrópodos, artrópodos
subfilo	<a href="#">Hexápoda</a> - hexápodos
Clase	<a href="#">Insecta</a> - insectos, hexápodos, insectos, insectos
subclase	<a href="#">Pterygota</a> - insectos ailés, insectos alados
Infraclase	<a href="#">Neoptera</a> : insectos modernos con alas plegables
superorden	<a href="#">holometábola</a>
Ordenar	<a href="#">Coleoptera</a> Linnaeus, 1758 - escarabajos, escarabajos, besouro
Suborden	<a href="#">Esmeril polífago</a> , 1886
Infraorden	<a href="#">Cucujiformia</a> Lameere, 1938
superfamilia	<a href="#">Tenebrionoidea</a> Latreille, 1802
Familia	<a href="#">Tenebrionidae</a> Latreille, 1802 - escarabajos oscuros
Género	<a href="#">Tenebrio</a>
Especies	<i>Tenebrio molitor</i> Linnaeus, 1758 – ténébrion meunier, yellow mealworm

*Nota.* Jerarquía taxonómica de *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758. Tomado de Integrated Taxonomic Information System – ITIS (2002).

### **Distribución**

Los gusanos de la harina amarillos son originarios de Europa y ahora están distribuidos por todo el mundo (Mariod et al., 2017). Es considerado una plaga cosmopolita de productos almacenados que se presenta en una diversidad de instalaciones y productos básicos, principalmente granos y productos amiláceos relacionados, como harinas, salvado y pasta (Barbosa et al., 2021).

### **Ciclo de Vida**

*T. molitor* L., como todos los insectos holometábolos (metamorfosis completa) sigue un ciclo de cuatro estadios diferentes durante su vida: huevo, larva, pupa y adulto (Mancini et al., 2019). En vida silvestre, este ciclo puede variar de 6 a 12 meses, mientras que, bajo condiciones *ex situ* (criadero), con parámetros adecuados de temperatura, humedad, nutrición e iluminación, este ciclo puede reducirse a 10 a 12 semanas (López et al., 2018).

Las hembras oviponen alrededor de 580 – 1000 huevos durante su vida *in situ*, en bioferio llegan a poner 160 huevos; el período de oviposición es variable, puede durar entre 25 y 140 días, con un desarrollo a larvas iniciales después de 5 a 20 días de incubación, dependiendo de la temperatura, y la cantidad de sustrato húmedo con la que dispongan (Argueta & Ramos, 2013). Estas larvas iniciales pueden medir de 1.6 a 2.00 mm al eclosionar y tienen un color amarillento que a las dos semanas empieza a oscurecerse.

Las larvas recién eclosionadas son activas, consumen harina y se desplazan libremente; adquieren su máximo desarrollo entre los 89 y 100 días, después de mudar entre 9 y 18 veces; en este estado permanecen activas consumiendo sustrato hasta convertirse en pupas (Artigas, 1994). La etapa de pupa dura 7 - 9 días a 25 ° C y hasta 20 días a temperaturas más bajas, luego emergen como adultos.

Los productores comerciales de gusanos de la harina a veces incluyen una hormona juvenil en el alimento para evitar que las larvas se conviertan en adultos, lo que resulta en gusanos de la harina "gigantes" que pueden alcanzar una longitud de 2 cm o más y pesar más de 300 mg (Finke, 2002)

## **Bromatología**

La bromatología nos permite determinar la composición y propiedades nutricionales de los alimentos naturales, procesados y sus adulteraciones. Nos permite establecer estándares de higiene, y calidad fisicoquímica (Ramirez, 2015). Los análisis comprendidos dentro del estudio bromatológico son los siguientes:

- Análisis Proximal
- Análisis Microbiológico

### ***Análisis proximales***

El sistema de proximidad para el análisis rutinario de los alimentos para animales se ideó a mediados del siglo XIX en la Estación Experimental de Weende (Alemania) por Henneberg y Stohmann en 1860. Se desarrolló para proporcionar una clasificación de alto

nivel, muy amplia de los componentes de los alimentos enfocado a la bioquímica de los mismos (National Research Council U.S., 2001). Es un modelo general para determinar los componentes de mayor abundancia de los alimentos como: agua (humedad), proteína bruta, grasa bruta (extracto etéreo), cenizas, fibra y carbohidratos.

Ha sufrido ligeros cambios en los últimos años, sin embargo, sigue siendo el enfoque más empleado por la gran cantidad de protocolos estandarizados y validados internacionalmente en base a la naturaleza fisicoquímica de la muestra, y los parámetros a evaluar. Además, sus métodos se enfocan en una determinación en base de tecnología moderna brindando resultados confiables, y rápidos (Greenfield & Southgate, 2003)

### ***Confiabilidad de los métodos de análisis***

Los análisis proximales a insectos comestibles todavía no tienen normas técnicas estandarizadas por el Servicio Ecuatoriano de Normalización - INEN, ni por un ente regulador internacional como la FAO debido a su reciente surgimiento. Pero la mayoría de estudios científicos locales e internacionales enfocados en esta área están guiados por los métodos oficiales de la (Association of Official Agricultural Chemists - AOAC, 2023) de Estados Unidos.

**Humedad.** El porcentaje de humedad en un alimento es frecuentemente un índice de calidad y estabilidad del producto, además, contribuye en la determinación de sólidos totales, por diferencia de la cantidad de agua que se calcula de la materia (Luna-Munoz, 2019). La cantidad de agua determina la perecibilidad de los alimentos procesados o materias primas que van a entrar en una línea de procesamiento, ya que el agua facilita el crecimiento de microorganismos. En algunos procesos operacionales de una cadena de producción alimentaria el agua puede ser un interferente, y su medición sirve como control de calidad de cada etapa. Esta también es la razón por la que el contenido de agua se estudia durante muchos procesos industriales para establecer las condiciones de manejo, transporte, almacenamiento y procesamiento de un alimento (Moore, 2020). La mayoría de los alimentos tienen un contenido alto de agua. Las cifras de contenido en agua varían entre un 60 y un 95%

en los alimentos naturales (Castillo-Flores, 2012) incluso los denominados productos secos presentan un 10% de agua (Morán & Nogales, 2019).

Los métodos más utilizados para la determinación de humedad son los físicos ya que no requieren equipos altamente costosos, los protocolos son relativamente sencillos y se adaptan a la mayoría de tipos de alimentos.

La técnica que se utilizará en este estudio es el Método AOAC 925.09 enfocado en la pérdida de agua de la muestra mediante desecación en estufa (Association of Official Agricultural Chemists - AOAC, 2023)

**Cenizas.** El contenido de cenizas representa el contenido total de minerales en los alimentos. La ceniza es el residuo inorgánico (mineral) que queda tras la combustión o la oxidación completa facilitada por el ácido de la materia orgánica de los alimentos (Castillo-Flores, 2012).

La determinación de las cenizas es también el primer paso en la preparación de una muestra de alimentos para su análisis elemental específico, ya sea para nutrientes esenciales o para metales pesados altamente tóxicos. Dado que algunos alimentos tienen un alto contenido en determinados minerales, el contenido en cenizas puede ser importante desde el punto de vista nutricional, toxicológico y de la calidad de los alimentos (Harris & Marshall, 2017).

**pH.** Es el valor dado por el potenciómetro, mismo que es capaz de producir valores de 0.02 unidades a 14. El pH de los alimentos puede variar durante su vida útil, cuando este se vuelve muy ácido (< 4.5) es notorio encontrar levaduras, mohos y unas pocas bacterias tolerantes a los ácidos (Public Health England, 2020).

**Proteínas.** Son componentes importantes de los alimentos ya que son fuente importante de energía, contienen aminoácidos esenciales, como lisina, triptófano, metionina, leucina, isoleucina y valina, que son fundamentales para la salud humana pero que el cuerpo no puede sintetizar (Hou et al., 2015). Las proteínas son los principales componentes

estructurales de los alimentos, y a menudo determinan su textura general (Loveday, 2019). La determinación de proteínas en un alimento es una medida de su calidad y su valor nutricional.

El método Kjeldahl se utiliza ampliamente para cuantificar el contenido de proteína bruta de los insectos. Este procedimiento evalúa la concentración total de nitrógeno orgánico (N) en la muestra que se convierte en proteína multiplicándose por el factor de conversión de nitrógeno a proteína (factor N) de 6.25 (Boulos et al., 2020).

**Grasas.** El contenido de grasa suele estimarse mediante una extracción que determina el peso total de todas las moléculas solubles en grasa (grasa bruta). Esto incluye los glicéridos, pero también las ceras, los esteroides, las vitaminas liposolubles y otros compuestos liposolubles (Oonincx & Finke, 2020). El método clásico para la extracción de grasas totales se basa en la extracción continua realizada en muestras secas de alimentos en un extractor Soxhlet, a veces precedida por hidrólisis ácida. Esta técnica requiere mucho tiempo y somete los lípidos extraídos a períodos prolongados a altas temperaturas (Greenfield & Southgate, 2003). El extractante utilizado es a menudo alcohol de petróleo o éter de petróleo, que requiere porciones analíticas completamente secas y la eliminación de mono y disacáridos. Esta técnica es rápida, eficaz para muchos alimentos y de bajo costo, pero no se recomienda su uso continuo.

### ***Análisis microbiológicos***

Las directrices de la Ley de Seguridad Alimentaria y sus normas de entes como la FDA, FAO y OMS, dirigen estrategias de control sanitario en la fabricación de alimentos para mantener la seguridad y la calidad de los productos (Institute of Medicine US and National Research Council Committee, 1998; FAO, 2020). Los análisis microbiológicos se destacan en el control biológico de los alimentos, ya que los entes bióticos son los que proliferan con mayor factibilidad.

Existen varias técnicas para detección e identificación de microorganismos como las bioquímicas, moleculares, dependientes del cultivo, etc. pero la técnica más utilizada es el conteo de colonias en Petri film debido a su facilidad de uso, y efectividad. Este método contribuye principalmente a la detección de los siguientes microorganismos: *Escherichia coli*, Salmonella, Estafilococos, mohos y levaduras (Reid et al., 2018), y su límite de detección es de  $10^4$  -  $10^5$  células por ml (Húngaro et al., 2014).

## Capítulo III: Metodología

### Responsable del proyecto

La responsable del proyecto es la señorita Sofia Abigail Taday León, estudiante de la carrera de Ingeniería en Biotecnología de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.

### Periodo de investigación

Este estudio de investigación se desarrolló durante 6 meses entre enero del 2023 y junio del mismo año.

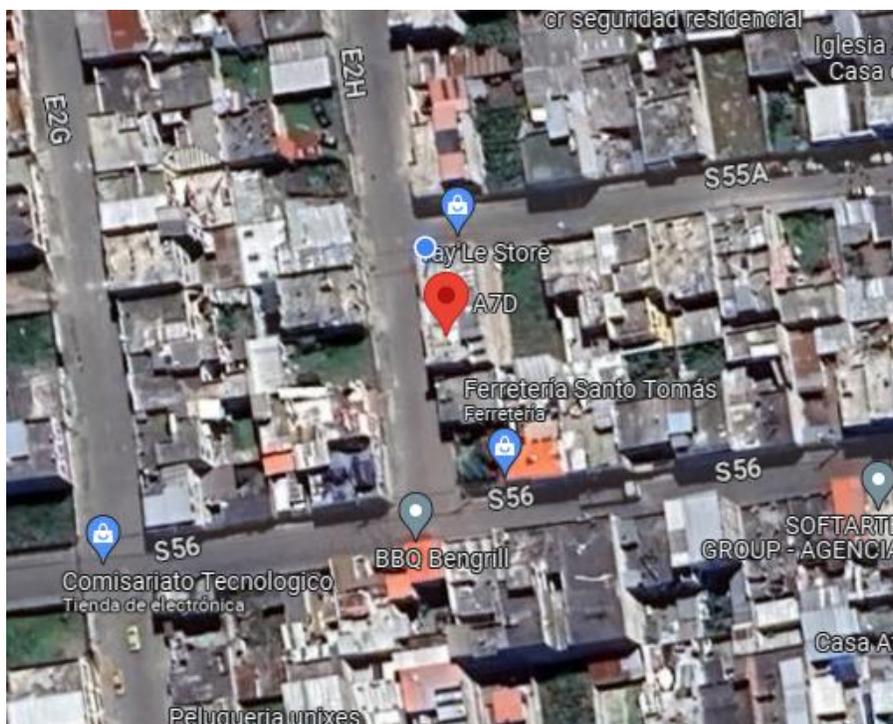
### Ubicación del área de investigación

#### *Recolección*

Las larvas de *Tenebrio molitor* L. se obtuvo de la empresa ALL iFOODS – Allikay FoodTech, ubicado en el sector de Guamaní, cantón Quito, provincia de Pichincha.

### Figura 4

*Ubicación geográfica del lugar de recolección de muestras de T. molitor L.*



*Nota.* ALL iFOODS – Allikay FoodTech, empresa dedicada a la investigación de alimentos del futuro, coordenadas -0.2964295852282531, -78.4602182866189. Tomado de: Google Maps, 2021.

### ***Dietas para *T. molitor* L.***

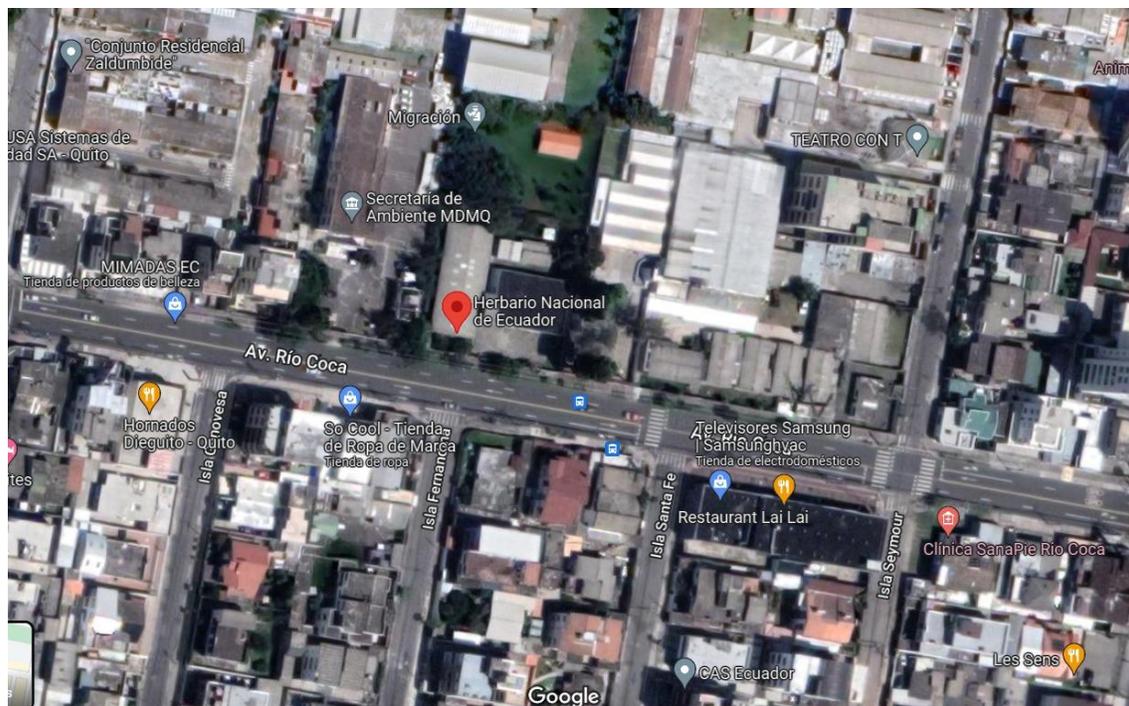
Los subproductos orgánicos domésticos fueron recolectados del Mercado Mayorista, sur de Quito, y fueron los siguientes: apio pasado, cáscaras de papa y cáscaras de remolacha.

### ***Experimentación ex situ (Bioterio)***

La crianza, multiplicación y ensayos de bioconversión del coleóptero *Tenebrio molitor* L. se realizaron en el Instituto Nacional de Biodiversidad - INABIO, Isla Fernandina, Quito 170138. Este estudio se realizó bajo el Contrato Marco de Acceso a Recursos Genéticos del Programa de Investigaciones Científicas denominado: “Biodiversidad Genética del Ecuador” suscrito entre el Ministerio de Medio Ambiente, a través de la Subsecretaría de Patrimonio Natural. Instituto Nacional de Biodiversidad MAE-DNB-CM-2016-0045.

## Figura 5

Ubicación geográfica del sitio de Crianza ex situ (bioterio) de *Tenebrio molitor* L.



Nota. Instituto Nacional de Biodiversidad - INABIO, coordenadas 0.16244205262030223, -78.48044616946457. Tomado de: Google Maps, 2021.

Los individuos se criaron bajo condiciones controladas de temperatura y humedad en el Bioterio de Invertebrados del INABIO. Las condiciones de crecimiento para todos los estadios de *Tenebrio molitor* L. fueron de 21- 26°C con una humedad relativa de 45 - 54%,

El criadero está compuesto por tres áreas: área de preparación de muestras, almacenamiento de sustratos y residuos, y crianza de insectos. En el área de crianza de insectos, que es una cabina con estanterías, se colocaron los recipientes respectivos a los tratamientos diseñados, y cada uno conteniendo las larvas de *Tenebrio*.

**Figura 6.**

Área de crianza de insectos – Bioterio INABIO



En cada recipiente se colocaron 50 individuos (larvas de *Tenebrio molitor* L.) con dietas a base de materia seca (sustrato seco) que fue una combinación de harina de trigo y maíz con materia húmeda (sustrato húmedo) que fueron subproductos orgánicos domésticos. Se llevó un control con la misma proporción de materia seca y húmeda, 62.5 % y 37.5% respectivamente, pero a base de salvado de trigo (sustrato seco) y rodajas de zanahoria (sustrato húmedo).

**Diseño experimental**

Este estudio utilizó un diseño multifactorial A\*B, los factores se detallan en la siguiente tabla.

**Tabla 1***Factores del diseño experimental*

<b>Factores</b>	<b>Niveles</b>
FA. Tipo sustrato húmedo	b1. 60 g apio pasado – SH1  b2. 60 g cáscaras de nabo – SH2  b3. 60 g cáscaras remolacha – SH3
FA. Tipo de sustrato seco	a1. 25 g Harina de trigo + 75 g harina de maíz – SS1  a2. 50 g Harina de trigo + 50 g harina de maíz – SS2  a3. 75 g Harina de trigo + 25 g harina de maíz – SS3  a4. 100 g Harina de trigo – SS4

Las dietas utilizadas para cada tratamiento fueron las combinaciones entre los factores A (sustrato húmedo) y B (sustratos secos) y los cuales se analizó su interacción con las siguientes variables: FCR, Variación de peso, variación de área (crecimiento), tasa de supervivencia, %proteína bruta, %grasa bruta, %humedad, %cenizas, y pH.

**Tabla 2**

*Tratamientos y variables del diseño experimental factorial A\*B con el invertebrado conversor T. molitor L.*

<b>Tratamientos</b>	<b>Factor A (sustrato húmedo)</b>	<b>Factor B (sustrato seco)</b>	<b>Variables</b>
Tratamiento 01		A1. 25 g Harina de trigo + 75 g harina de maíz – SS1	
Tratamiento 02	A1. SH1	A2. 50 g Harina de trigo + 50 g harina de maíz – SS2	
Tratamiento 03		A3. 75 g Harina de trigo + 25 g harina de maíz – SS3	FCR
Tratamiento 04		A4. 100 g Harina de trigo – SS4	$\Delta P$ $\Delta A$
Tratamiento 05		A1. 25 g Harina de trigo + 75 g harina de maíz – SS1	Ts % Proteína bruta
	A2. SH2		% Grasa bruta
Tratamiento 06		A2. 50 g Harina de trigo + 50 g harina de maíz – SS2	% Cenizas % Humedad
Tratamiento 07		A3. 75 g Harina de trigo + 25 g harina de maíz – SS3	pH
Tratamiento 08		A4. 100 g Harina de trigo – SS4	
Tratamiento 09		A1. 25 g Harina de trigo + 75 g harina de maíz – SS1	

---

Tratamiento 10	A3. SH3	A2. 50 g Harina de trigo + 50 g harina de maíz – SS2
Tratamiento 11		A3. 75 g Harina de trigo + 25 g harina de maíz – SS3
Tratamiento 12		A4. 100 g Harina de trigo – SS4

---

*Nota.* FCR: Índice de conversión de alimentos; Ts: Tasa de supervivencia

Se realizaron tres repeticiones por tratamiento. Las larvas se alimentaron *Ad libitum*. La medición de las variables involucradas en determinar la bioconversión, crecimiento y supervivencia se midieron cada 15 días durante 45 días, y las variables del análisis bromatológico se realizó una vez finalizado la parte experimental de bioconversión.

### **Experimento sobre la eficiencia de conversión de los alimentos**

Se utilizaron larvas medianas y pequeñas que fueron alimentadas *Ad libitum* con salvado de trigo previo al inicio del experimento de bioconversión. El periodo experimental elegido fue de dos meses y medio determinado por un pre - ensayo realizado bajo condiciones ideales de alimentación. Las mediciones del consumo de sustrato seco y húmedo de todos los tratamientos y repeticiones se realizaron cada 15 días, en donde en conjunto se midió el peso de las larvas y su tasa de supervivencia.

La eficiencia de conversión de los alimentos se expresa sobre la base de la materia seca como el índice de conversión del alimento (*FCR*), en donde se divide la cantidad del alimento ingerido por la producción neta (peso final menos peso inicial del insecto), calculado con la siguiente ecuación:

Ecuación 1

$$FCR = \frac{\text{peso del alimento ingerido}}{\text{peso ganado del insecto}}$$

$$FCR = \frac{\text{peso del alimento ingerido}}{P_f - P_i}$$

Donde  $P_f$  es peso final,  $P_i$  es peso inicial del insecto. El tiempo de desarrollo ( $T_d$ ) es el número de días desde que inicio el experimento y el día que se cosecha del contenedor. Finalmente, la Tasa de supervivencia ( $T_s$ ) se representa así,

Ecuación 2

$$T_s = \frac{\text{N}^\circ \text{ individuos que llegan a ultima fase del experimento}}{\text{N}^\circ \text{ total de individuos utilizados}}$$

## **Análisis bromatológicos**

### ***Preparación de las muestras***

Tras la finalización del experimento de bioconversión, las larvas no recibieron alimento durante 24 horas, se lavaron con agua destilada para retirar restos de heces y sustratos y se sacrificaron por congelación a - 20 °C. Antes de iniciar con los estudios proximales se trituraron, y homogenizaron.

### ***Protocolos***

Los protocolos y/o métodos definidos por este estudio para el análisis proximal y microbiológico se basó en investigaciones realizadas localmente e internacionalmente, y se rigen a Métodos oficiales de Análisis de la Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) y Normas Técnicas Ecuatorianas NTE del Servicio Ecuatoriano de Normalización – INEN (1999).

Las pruebas que se realizaron fueron de proteína bruta, grasa bruta, cenizas, pH, y humedad que constataron la composición nutricional del gusano de la harina bajo condiciones de crecimiento *ex situ*. Estas técnicas analíticas utilizadas se determinaron en base a las propiedades propias de *T. molitor* L. (Reid et al., 2018).

Los protocolos se definieron en base a los siguientes criterios:

- Naturaleza fisicoquímica de la muestra a analizar
- Rapidez de la determinación
- Disponibilidad y costo del equipo requerido
- Capacitación requerida
- Exactitud deseada

**Determinación de la humedad.** Se utilizó el método oficial AOAC 925.09, que determina la pérdida de peso de la muestra al someterla a calentamiento en estufa u horno de vacío en condiciones determinadas.

En una cápsula de crisol, tarada, enfriada, y pesada previamente, se pesó 2 g de muestra fresca y homogenizada. Se colocó la cápsula en la estufa por 1 hora a  $130 \pm 3^{\circ}\text{C}$  (el período de una hora de secado empieza cuando la temperatura de la estufa es de  $130^{\circ}\text{C}$ ). Al finalizar el tiempo de secado, se transfirió la cápsula con el contenido a un desecador y se pesó tan pronto alcance la temperatura ambiente, el ensayo se realiza por triplicado (AOAC, 2023).

**Determinación de las cenizas.** Se secaron 12 crisoles pequeños en la estufa por 30 min, y se llevaron al desecador para su respectivo pesaje. Se pesó una porción bien mezclada de 2 g de muestra fresca por cada tratamiento y se colocaron en los crisoles secados y pesados. Se colocaron las muestras en una mufla a  $600^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  hasta obtener cenizas libres de partículas de carbón (se obtiene en 3 horas). Finalmente, se dejó enfriar las muestras en un desecador y se procedió a pesar a temperatura ambiente (Método Oficial AOAC 923.03, 2023).

La siguiente ecuación se utilizó para el cálculo del % de cenizas:

Ecuación 3

$$\% \text{ cenizas} = \frac{c_3 - c_1}{c_2 - c_1} * 100$$

Donde:

c1: masa del crisol vacío (g)

c2: masa del crisol con la muestra (g)

c3: masa del crisol con las cenizas (g)

**Determinación pH.** Se pesaron 3 g de muestra fresca y se licuaron con 30 mL de agua destilada durante un minuto. Se estandarizó el pH en el potenciómetro con una solución buffer de fosfatos (pH=6.0). Se filtró la mezcla de la muestra licuada y se procedió a medir el pH en 7.5 mL de mezcla, procurando siempre enjuagar el electrodo con agua destilada antes de medir la siguiente muestra.

**Determinación de proteínas.** La cuantificación de proteínas se realizará mediante el método de Kjeldahl (AOAC. "Official methods of analysis", method 978.04).

De acuerdo con el método 981.10 de la AOAC International, se pesó 0.3 gr. de muestra fresca, se colocó en el micro-tubo digestor con una tableta catalizadora y 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Los tubos de digestión con las muestras se colocaron en el block-digest con el colector de humos funcionando, y se realizó la digestión a una temperatura de 420° C por 30 minutos.

A continuación, se realiza el proceso de destilación con 10 mL de agua destilada en cada micro-tubo, y el matraz de recepción con 50 mL de ácido bórico al 2%, se encendió el sistema adicionó 30 mL de hidróxido de sodio al 40%. Por último, del destilado recogido en el matraz se colocó tres gotas de indicador y se tituló con ácido clorhídrico 0.1 N.

Ecuación 4

$$\%PB = \frac{(VHCL - Vb) * 1.401 * NHCL * F}{m \text{ muestra (g)}}$$

Donde:

1.401: peso atómico del nitrógeno

NHCL: Normalidad de ácido clorhídrico 0.1 N

F: factor de conversión (6.25)

Vb: volumen del blanco (0.3)

### **Determinación de grasas**

La determinación de grasas se obtendrá con el Método Oficial AOAC 991.36, 2023. La muestra a temperatura ambiente se triturará y homogenizará, se pesarán aproximadamente 3 g de muestra en una cápsula de aluminio que contendrá arena y palillo, (previamente secada y tarada), se mezclará bien la arena con la muestra y extraerá el contenido de agua por una hora en una estufa a 125°C. Una vez secada la muestra se sacará de la estufa y se dejará enfriar. Cuidadosamente se transferirá el contenido a un dedal de extracción con una pequeña porción de algodón, se limpiará completamente la cápsula y se colocará 34 en la parte superior del dedal. Posteriormente, se pasará el dedal al equipo de extracción (Sistema Soxhelt), se extraerá el dedal con la mezcla secada con 50 ml de éter dietílico en posición de ebullición por 25 minutos y en posición de enjuague por 30 minutos. La temperatura de extracción de la unidad debe estar ajustada para asegurar una tasa de condensación  $\geq 5$  gotas/s. Al completar la extracción se cerrará las llaves de los condensadores y se recuperará el éter, los vasos se secarán y colocarán 30 minutos en una estufa a 130°C, finalmente una vez enfriados los frascos se pesarán.

### **Análisis microbiológicos**

Las determinaciones microbiológicas se hicieron con enfoque a las Normas Técnicas Ecuatorianas NTE del INEN de harinas vegetales 616:2015 (NTE INEN, 1999). Los análisis realizados fueron los siguientes: recuento total de levaduras, mohos y hongos, coliformes, aerobios mesófilos, y determinación de *Escherichia coli*, y *Salmonella* spp.

Un método sencillo para la enumeración de bacterias, hongos y levaduras se basa en la cuantificación de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por mL o g de muestra.

## **Análisis Estadístico**

### ***Análisis de Varianza***

Se analizaron las varianzas entre los factores (A y B) y las variables mediante un ANOVA multifactorial de StatAdvisor – Software Statgraphics que realizó varias pruebas y gráficas para determinar qué factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la variable. También evaluó la significancia de las interacciones entre los factores, los valores de las pruebas-F en la tabla ANOVA nos permitieron identificar los factores significativos. En los factores que hubo grados de significancia se analizó la diferencia entre grupos (tratamientos) mediante las Pruebas de Rangos Múltiples le dijeron cuales medias son significativamente diferentes de otras, con un porcentaje Tukey HSD del 95%.

Para todas las interacciones entre factores y variables se realizaron Diagramas de cajas y bigotes, representando la media o mediana de los datos, esta herramienta se usó principalmente para analizar la influencia por separado de los factores frente a las variables. En cambio, para la interpretación de la interacción entre la combinación de los factores (A\*B) para cada variable se utilizó ANOVA de interacciones con un intervalo de confianza del 95% y  $p < 0,05$ . Asimismo, se realizaron gráficos 3D XYZ - Surface Plots con el que se definió que tratamiento (A\*B) influyó en mayor grado sobre cada variable. Los gráficos se ejecutaron con el software Statistica.

## Capítulo VI: Resultados

### Resultados Bioconversión, Crecimiento y Tasa de supervivencia

#### *Resultados Dieta (sustrato seco & húmedo) vs Bioconversión*

Según el análisis de varianza ANOVA de la Tabla 3 existe diferencia significativa entre las medias del factor A (sustrato húmedo) y el índice de conversión alimenticia (FCR) del día 15 ( $p < 0,0001$ ). Así también, el factor B (sustrato seco) y la interacción entre el factor A y B (A\*B) tienen efecto sobre el FCR día 15.

**Tabla 3**

*Análisis de Varianza ANOVA para FCR Día 15*

<b>Factores</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
<b>EFFECTOS</b>					
<b>PRINCIPALES</b>					
A: Sustrato húmedo	183,029	2	91,5143	175,95	0,0000
B: Sustrato seco	178,97	3	59,6566	114,70	0,0000
C: Repeticiones	0,453566	2	0,226783	0,44	0,6521
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	142,708	6	23,7847	45,73	0,0000
RESIDUOS	11,4427	22	0,520122		
TOTAL	516,603	35			
<b>(CORREGIDO)</b>					

En la Tabla 4 se observa diferencia significativa entre las medias del factor A (sustrato húmedo) y el índice de conversión alimenticia (FCR) del día 30 ( $p < 0,0001$ ). De la misma manera, el factor B (sustrato seco) y la interacción entre el factor A y B (A\*B) tienen influencia sobre el FCR día 30.

**Tabla 4***Análisis de Varianza ANOVA para FCR Día 30*

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
<b>EFFECTOS</b>					
<b>PRINCIPALES</b>					
A: Sustrato húmedo	161,447	2	80,7233	3135,65	0,0000
B: Sustrato seco	37,3713	3	12,4571	483,89	0,0000
C: Repeticiones	0,0974547	2	0,0487274	1,89	0,1744
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	33,4862	6	5,58103	216,79	0,0000
RESIDUOS	0,566362	22	0,0257437		
TOTAL	232,968	35			
<b>(CORREGIDO)</b>					

El ANOVA de la Tabla 5 también determina la existencia de diferencia significativa entre las medias del factor A (sustrato húmedo) y el índice de conversión alimenticia (FCR) del día 45 ( $p < 0,0001$ ). Adicionalmente, el factor B (sustrato seco) y la interacción entre el factor A y B (A\*B) tuvieron influencia sobre el FCR día 45.

**Tabla 5***Análisis de Varianza ANOVA para FCR Día 45*

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
<b>EFFECTOS</b>					
<b>PRINCIPALES</b>					
A: Sustrato húmedo	323,827	2	161,914	195,72	0,0000
B: Sustrato seco	93,361	3	31,1203	37,62	0,0000
C: Repeticiones	2,80971	2	1,40486	1,70	0,2061

INTERACCIONES					
AB	166,343	6	27,7238	33,51	0,0000
RESIDUOS	18,1998	22	0,827262		
TOTAL	604,54	35			
(CORREGIDO)					

De acuerdo al análisis de varianza para el índice de conversión alimenticia (FCR) de todos los días de medición (15, 30 y 45 días), este presentó diferencia significativa para los dos factores (A y B) y para su interacción A\*B. En cuanto a las réplicas de los datos, las Tablas 3, Tabla 4, y Tabla 5 muestran un valor  $p > 0,005$ , indicando que no se encontraron diferencias significativas entre las réplicas de la variable FCR, lo que demostró que existe normalidad en los datos.

#### ***Prueba Tukey: Sustrato húmedo (factor A) vs FCR***

Al comparar las medias individuales provenientes de los análisis de varianza de los índices de conversión alimenticia – FCR de los días 15, 30 y 45 frente al factor A (sustrato húmedo) muestra diferencias significativas entre grupos. Siendo el grupo a (sustrato húmedo 1), 60 g de apio pasado, el que tuvo valores más bajos de FCR en las larvas para todo el periodo de experimentación con un rango de valores entre 0,81 y 3,35 (observar Tabla 6).

#### **Tabla 6**

*Prueba de significancia entre grupos de Tukey: tipo de sustrato húmedo (factor A) vs FCR*

Factor	FCR Día 15	FCR Día 30	FCR Día 45
SH1	3,35441 <sup>a</sup>	0,813561 <sup>a</sup>	1,91993 <sup>a</sup>
SH2	8,45685 <sup>b</sup>	5,85683 <sup>c</sup>	9,26593 <sup>c</sup>
SH3	7,73658 <sup>b</sup>	4,38634 <sup>b</sup>	5,66763 <sup>b</sup>

### **Prueba Tukey: Sustrato seco (factor B) vs FCR**

La prueba de Tukey generó agrupaciones cuando se compararon las varianzas entre los tipos de sustratos secos (factor B) y el FCR, específicamente se notó que el grupo a y b (ver Tabla 7), es decir el sustrato seco 3 – SS3 (75 g harina de trigo más 25 g harina de maíz) y, el 4 – SS4 (100 g harina de trigo), tienen los valores más bajos de FCR (2,67 – 5,94), lo que refleja la más alta capacidad de convertir el alimento de la dieta en biomasa de todos los tipos de sustratos secos.

**Tabla 7**

*Prueba de significancia entre grupos de Tukey: tipo de sustrato seco (factor B) vs FCR*

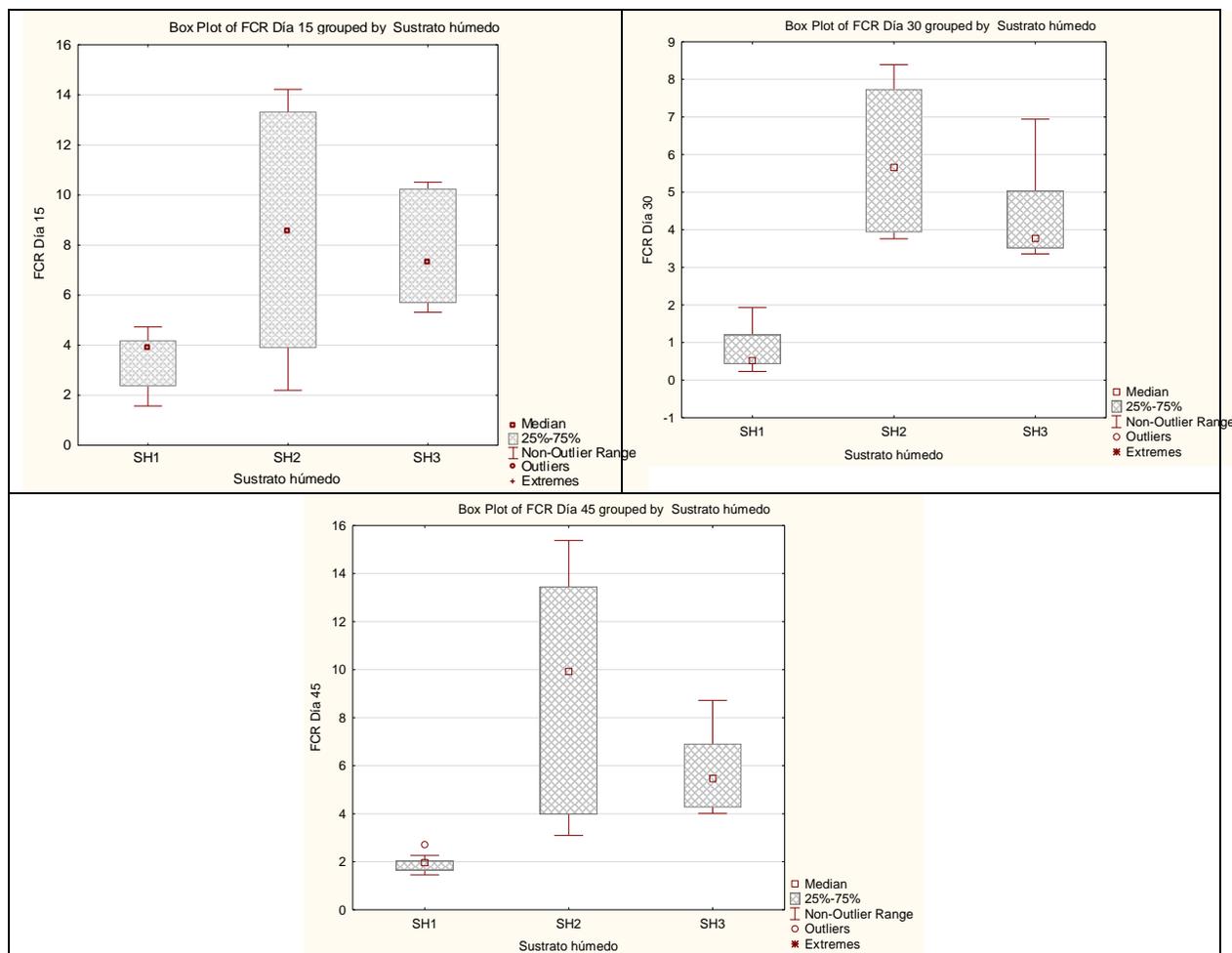
<b>Factor</b>	<b>FCR Día 15</b>	<b>FCR Día 30</b>	<b>FCR Día 45</b>
SS1	8,75235 <sup>c</sup>	5,10818 <sup>c</sup>	8,14269 <sup>c</sup>
SS2	8,25111 <sup>c</sup>	2,76295 <sup>a</sup>	4,80464 <sup>ab</sup>
SS3	3,11833 <sup>a</sup>	4,19464 <sup>b</sup>	5,72956 <sup>b</sup>
SS4	5,942 <sup>b</sup>	2,67653 <sup>a</sup>	3,79443 <sup>a</sup>

### **Diagramas de cajas y bigotes: Sustrato húmedo (factor A) vs FCR**

El diagrama de cajas y bigotes de la Figura 7. nos permitió visualizar la dispersión y simetría de los datos del índice de conversión alimenticia frente al sustrato húmedo. El sustrato húmedo 2 - SH2 (60 g de cáscaras de nabo) presentó el mayor grado de dispersión y los valores más altos de FCR ( $4 > FCR < 15$ ) para todos los días de medición (15, 30, 45 días), lo que muestra ser el menos eficiente para que *T. molitor* L. transforme el alimento en biomasa. Por el contrario, el sustrato húmedo 1 - SH1 (60 g de apio pasado) mostró el menor grado de dispersión, pero fue el menos simétrico; el FCR del escarabajo con este sustrato tuvo los valores más bajos ( $< 5$ ) lo que significó que fue el más eficiente en conversión.

**Figura 7**

*Diagrama de cajas y bigotes: tipo de sustrato húmedo (factor A) vs FCR*



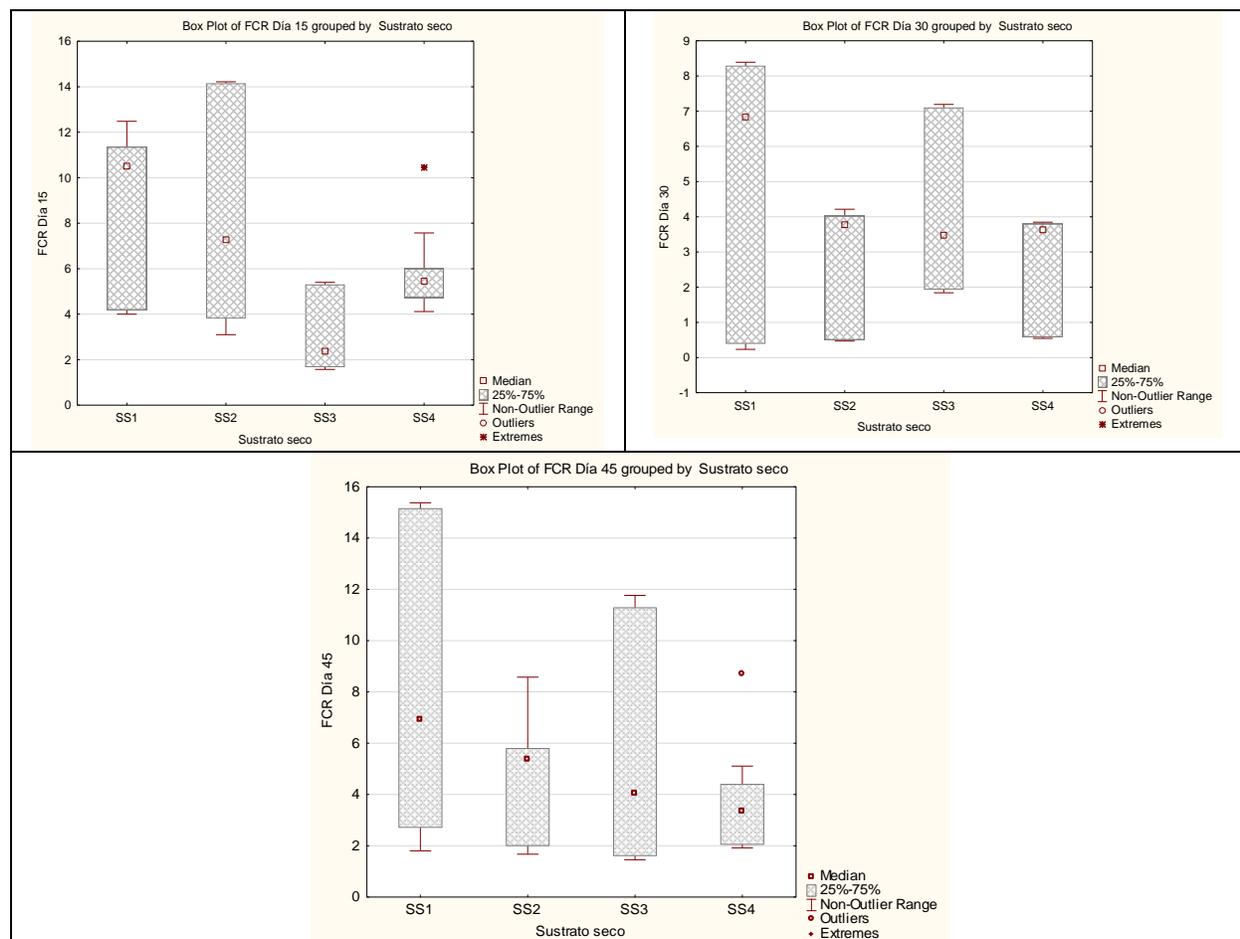
**Diagramas de cajas y bigotes: Sustrato seco (factor B) vs FCR**

El diagrama de cajas y bigotes de la Figura 8. exhibió al sustrato seco 1 – SS1 (25 g harina de trigo más 75 g harina de maíz) frente al FCR del día 30 y día 45 con el mayor grado de dispersión, y los índices FCR más altos (>4 FCR <16), es decir, tuvieron el menor grado eficiencia de conversión. En cambio, el sustrato seco 3 – SS3 (75 g harina de trigo más 25 g harina de maíz) y el SS4 (100 g harina de trigo) tuvieron menos dispersión, y la mayor eficiencia de bioconversión para el día 15 (FCR <10).

En todos los tipos de sustratos secos no hubo simetría, y la mayor concentración de datos se encontró en el cuartil 2 y 3.

### Figura 8

Diagrama de cajas y bigotes: tipo de sustrato seco (factor B) vs FCR



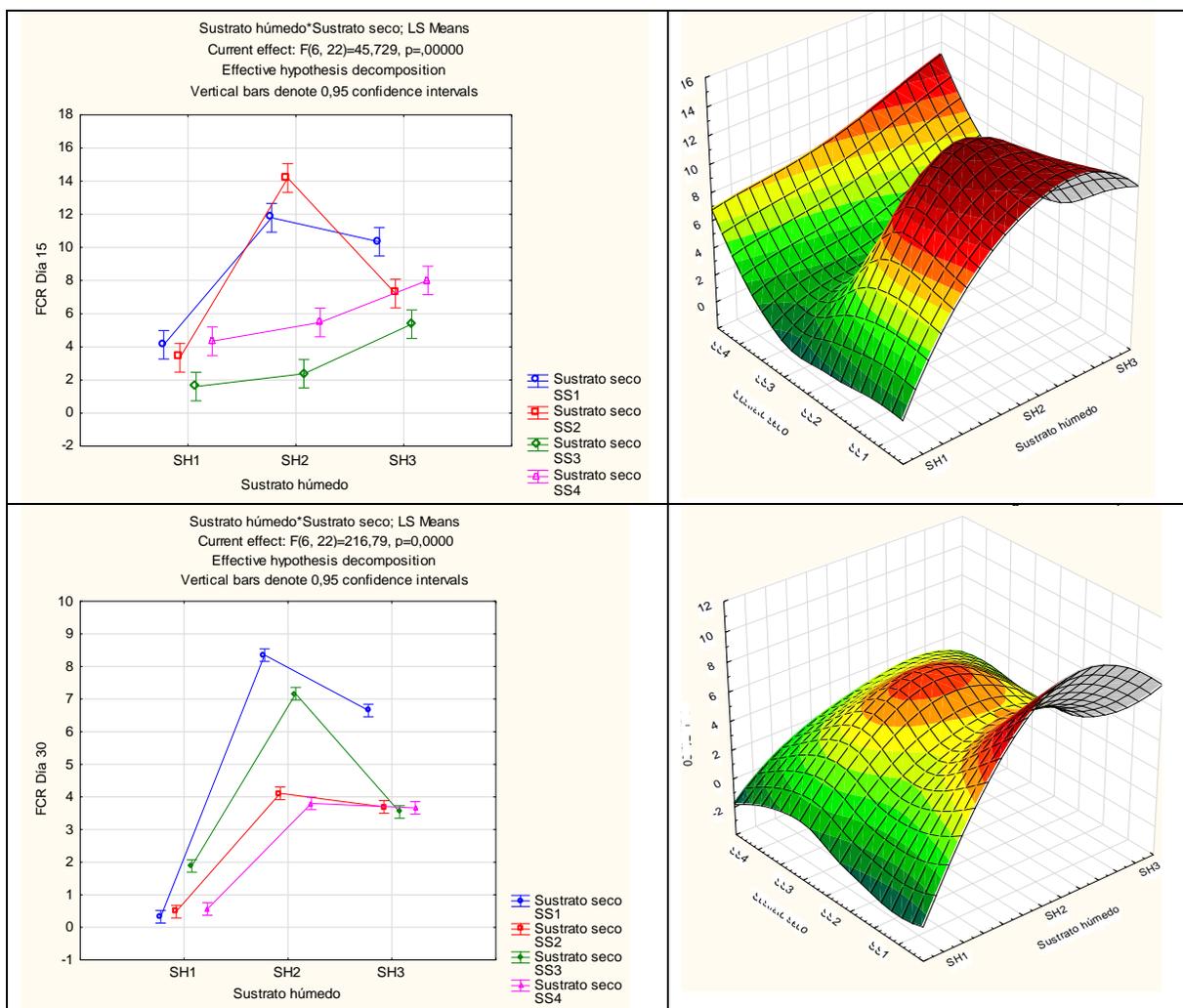
### Gráfico interacciones: Dieta (sustrato húmedo & sustrato seco) vs FCR

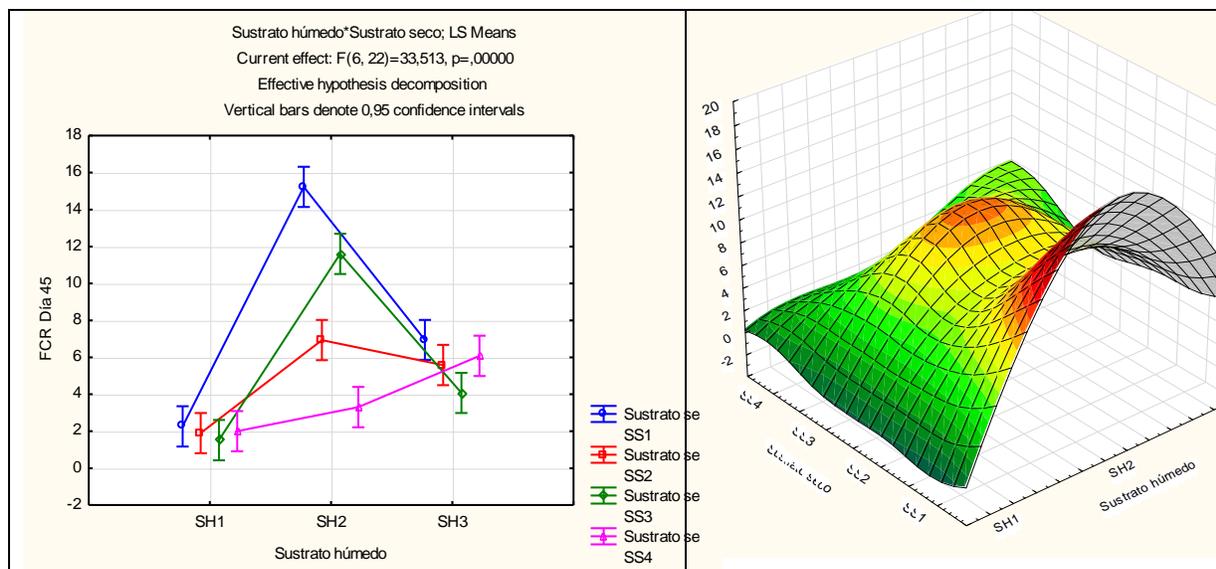
Finalmente, los tratamientos (combinación entre sustrato húmedo y seco) que presentaron un mayor aprovechamiento del alimento ingerido para convertirlo en biomasa (FCR) fueron el 3 (60 g de apio pasado con 75 g harina de trigo más 25 g harina de maíz), 7 (60 g de cáscaras de nabo con 75 g harina de trigo más 25 g harina de maíz) y 11 (60 g de cáscaras de remolacha con 75 g harina de trigo más 25 g harina de maíz), es decir las dietas

formadas por los sustratos húmedos 1, 2 y 3 (SH1, SH2, SH3) con el sustrato seco 3 (SS3). La dieta o tratamiento 3 (SH1 + SS3) tuvo el valor más bajo (<2) como lo muestra la Figura 9.

### Figura 9

Gráfico de interacciones factores & variable 2D y 3D: Sustrato húmedo, seco vs FCR día 15, 30 y 45.





Nota. Del lado izquierdo tenemos el gráfico de interacciones de ANOVA (2D) y a la derecha el gráfico 3D XYZ - Surface Plots creado con el Software STATISTICA.

### Resultados Dieta (sustrato seco & húmedo) vs Variación de Peso ( $\Delta P$ ) durante 45 días

El análisis de varianza ANOVA entre los tipos de sustratos (húmedo y seco), las dietas o tratamientos (combinación entre sustrato húmedo y seco) y la variación de peso ( $\Delta P$ ) mostró diferencia significativa ( $p < 0,0001$ ) entre el sustrato húmedo y la variación de peso ( $\Delta P$ ) como se puede observar en la Tabla 8.

**Tabla 8**

*Análisis de Varianza ANOVA para  $\Delta P$*

Fuente	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Sustrato húmedo	0,0125256	2	0,0062628	32,43	0,0000
B: Sustrato seco	0,00142773	3	0,00047590	2,46	0,0892

C: Repeticiones	0,000218325	2	0,00010916	0,57	0,5763
			2		
INTERACCIONES					
AB	0,000736976	6	0,00012282	0,64	0,7003
			9		
RESIDUOS	0,00424923	22	0,00019314		
			7		
TOTAL (CORREGIDO)	0,0191579	35			

**Prueba Tukey: Sustrato húmedo (factor A) vs Variación de Peso ( $\Delta P$ ) durante 45 días**

En la comparación de las medias de los niveles de los factores (tipos de sustrato) con las medias de todos los tratamientos, se obtuvieron diferencias significativas entre los tipos de sustrato húmedo y la variación de peso ( $\Delta P$ ). Esto generó la formación de agrupaciones, en donde el grupo c (60 g de apio pasado) fue el que obtuvo mayor incremento de peso (0,121 g) por larva de *T. molitor* L. durante los 45 días (véase la Tabla 9)

**Tabla 9**

*Prueba de significancia entre grupos de Tukey: tipo de sustrato húmedo (Factor A) vs  $\Delta P$*

Sustrato húmedo	$\Delta P$ (g)
SH1	0,121529 <sup>c</sup>
SH2	0,0937441 <sup>b</sup>
SH3	0,0762249 <sup>a</sup>

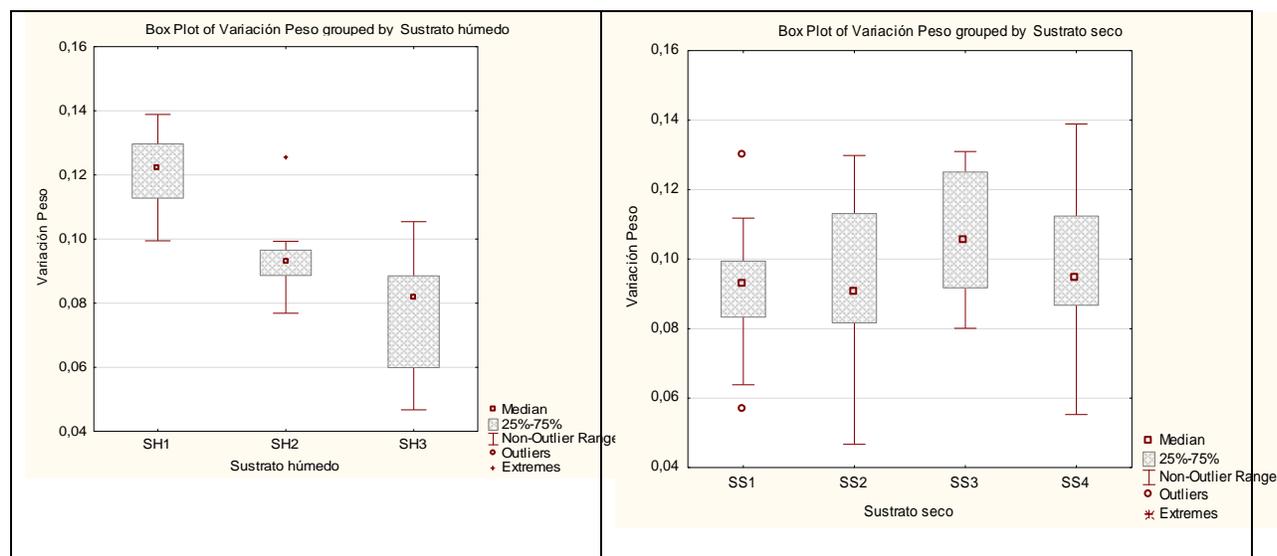
No se realizó la prueba de Tukey para el sustrato seco frente a la variación de peso, ya que en el análisis de ANOVA (véase la Tabla 8) se obtuvo un  $p > 0,05$ , lo que indicó la ausencia de diferencias significativas entre el factor B y la variable, variación de peso.

**Diagramas de cajas y bigotes: Sustrato húmedo (factor A) y sustrato seco (factor B) vs Variación de Peso ( $\Delta P$ )**

En el diagrama de la Figura 10. al lado izquierdo se observa que, para los sustratos húmedos, el SH1 (60 g de apio pasado) existe simetría en los datos y presenta la variación de peso más alta ( $>0,0120$  g); en contraste con el SH3 (60 g cáscara de remolacha) el incremento llegó incluso a ser inferior a 0,060 g por larva. Al lado derecho en cambio se divisa que no existen grandes variaciones entre los tipos de sustrato seco y los datos del incremento de peso, y en particular el sustrato seco 1 - SS1 (25 g harina de trigo más 75 g harina de maíz) tuvo 2 datos atípicos en el extremo inferior y superior de los bigotes.

**Figura 10**

*Diagrama de cajas y bigotes: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs Variación de Peso durante 45 días ( $\Delta P$ )*



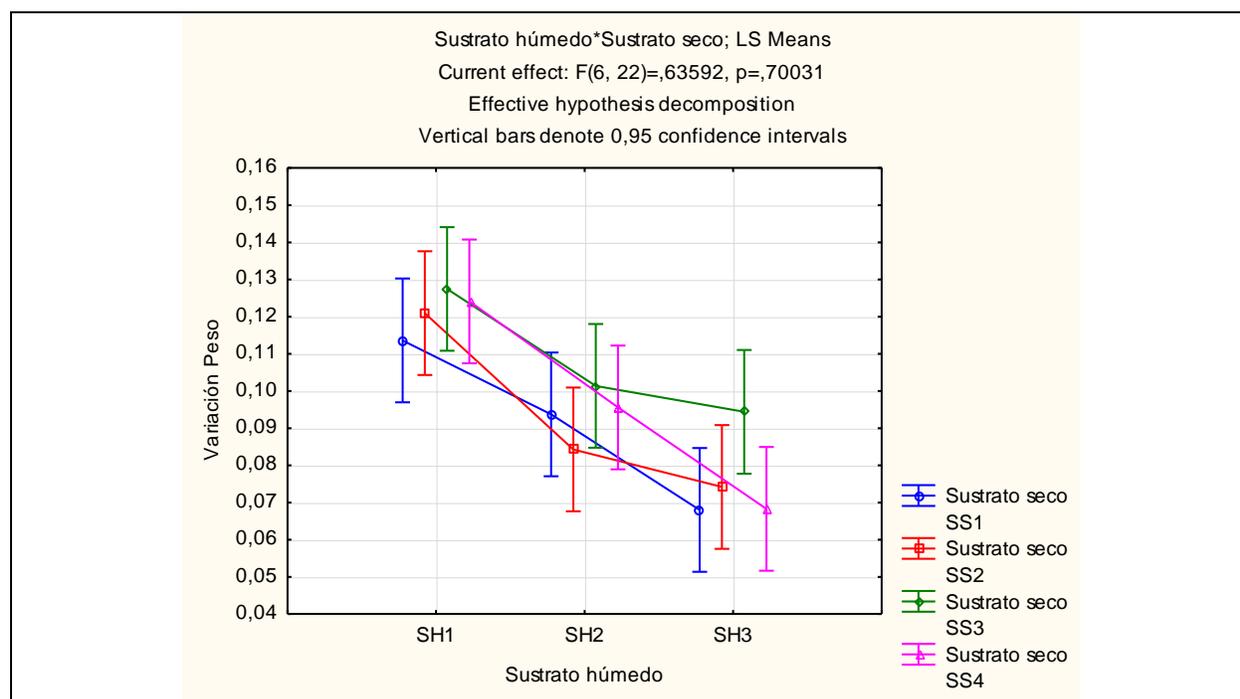
**Gráfico interacciones: Dieta (sustrato húmedo & sustrato seco) vs Variación de Peso**

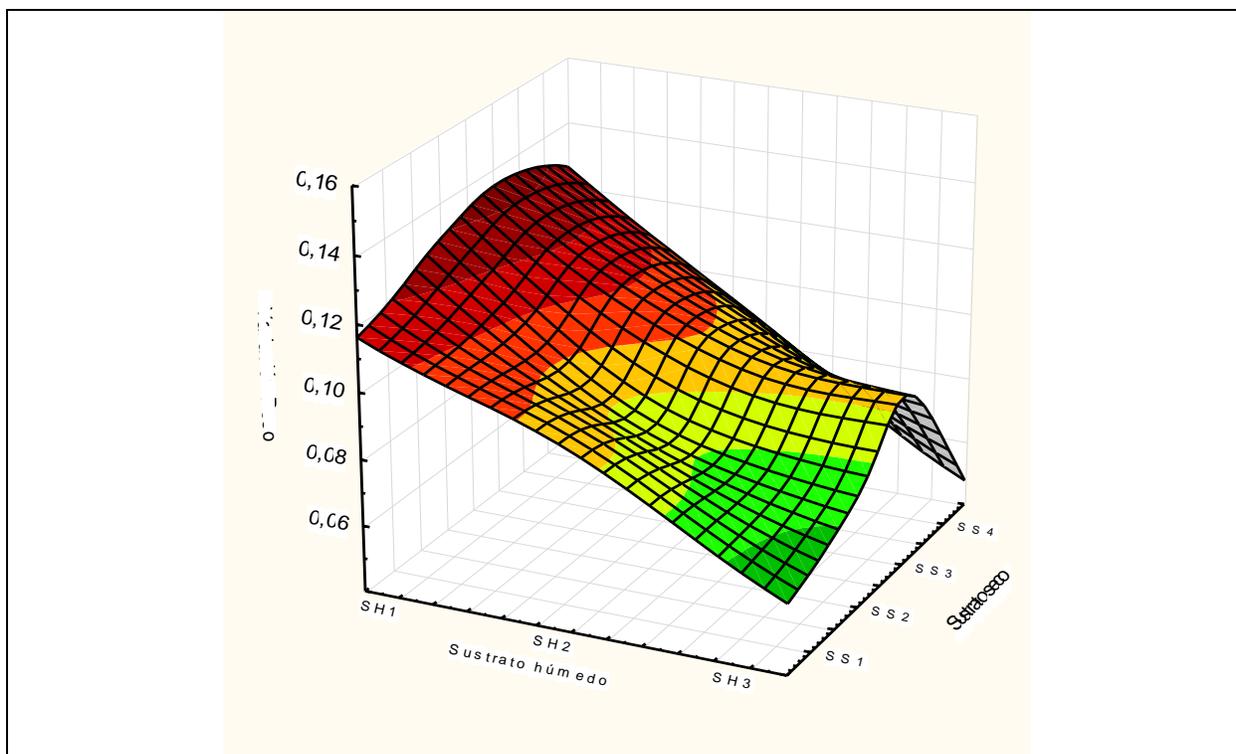
( $\Delta P$ )

En la Figura 11. se pudo notar que todos los tratamientos conformados por el sustrato húmedo 1 - SS1 (60 g de apio pasado) tienen el mayor incremento de peso, y en especial, la dieta o tratamiento 3 (60 g de apio con 75 g Harina de trigo más 25 g harina de maíz) con el mayor aumento ( $>0,130$  g) por larva.

**Figura 11**

Gráfico de interacciones factores & variable 2D y 3D: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs  $\Delta P$





### Resultados Dieta (sustrato seco & húmedo) vs Variación de Área ( $\Delta A$ ) durante 45 días

La comparación de las varianzas entre las medias de los tratamientos (Tabla 10), mostraron diferencias significativas entre los dos tipos de sustratos (húmedo y seco), y su interacción (A\*B) con la variación de área ( $\Delta A$ ) durante los 45 días con un valor de  $p < 0,05$ .

**Tabla 10**

*Análisis de Varianza ANOVA para  $\Delta A$*

Fuente	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS					
PRINCIPALES					
A: Sustrato húmedo	0,0195594	2	0,00977968	4,91	0,0173
B: Sustrato seco	0,0272997	3	0,00909989	4,57	0,0124
C: Repeticiones	0,00357081	2	0,0017854	0,90	0,4224
INTERACCIONES					

AB	0,152119	6	0,0253532	12,73	0,0000
RESIDUOS	0,0438196	22	0,0019918		
TOTAL	0,246369	35			
(CORREGIDO)					

**Prueba Tukey: Sustrato húmedo (factor A) vs  $\Delta A$**

El test de Tukey para el sustrato húmedo genero agrupaciones para los tres tipos de sustratos húmedos (véase la Tabla 11) siendo el sustrato húmedo 1 (grupo b) compuesto por 60 g de apio pasado, el que obtuvo el mayor incremento en área superficial del gusano de la harina amarillo con 0,384 mm<sup>2</sup> promedio.

**Tabla 11**

*Prueba de significancia entre grupos de Tukey: tipo de sustrato húmedo (Factor A) vs  $\Delta A$*

Sustrato húmedo	$\Delta A$ (mm <sup>2</sup> )
SH1	0,383862 <sup>b</sup>
SH2	0,354743 <sup>ab</sup>
SH3	0,326771 <sup>a</sup>

**Prueba Tukey: Sustrato seco (factor B) vs  $\Delta A$**

Para el factor B también se vio la generación de agrupaciones en los tipos de sustratos secos, siendo el grupo b (SS1) constituido por 25 g harina de trigo más 75 g harina de maíz el que mayor aumento en área muestra con 0,398 mm<sup>2</sup> por larva durante los 45 días (véase La Tabla 12).

**Tabla 12**

*Prueba de significancia entre grupos de Tukey: Tipo de sustrato seco (Factor B) vs  $\Delta A$*

Sustrato seco	$\Delta A$
SS1	0,39799 <sup>b</sup>
SS2	0,33923 <sup>a</sup>

SS3	0,324617 <sup>a</sup>
SS4	0,358664 <sup>ab</sup>

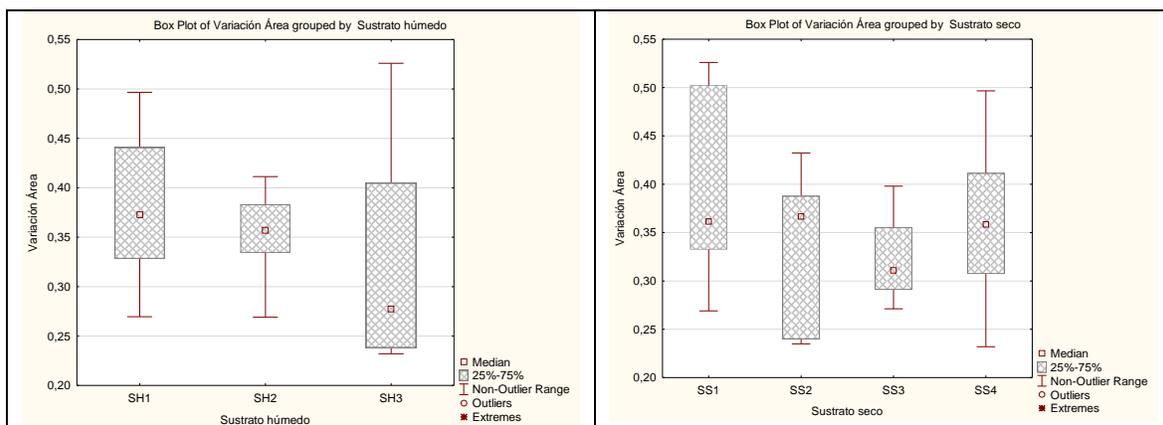
**Diagramas de cajas y bigotes: Sustrato húmedo (factor A) y sustrato seco (factor B) vs Variación de área ( $\Delta A$ )**

En la Figura 12. (izquierda) se observa que el sustrato húmedo 1 – SH1 (60 g de apio pasado) tiene una distribución simétrica de los datos y tiene el más alto incremento de área superficial ( $>0,350 \text{ mm}^2$ ), por el contrario, el sustrato húmedo 3 – SH3 (60 g cáscara de remolacha) tuvo el menor incremento de área superficial por larva ( $<0,250 \text{ mm}^2$ ), el mayor grado de dispersión y asimetría de datos.

En relación con la Figura 12. (derecha) todos los tipos de sustrato seco tiene un alto rango intercuartil, excepto el sustrato seco 3 (75 g harina de trigo más 25 g harina de maíz).

**Figura 12**

*Diagrama de cajas y bigotes: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs Variación de área durante 45 días ( $\Delta A$ )*

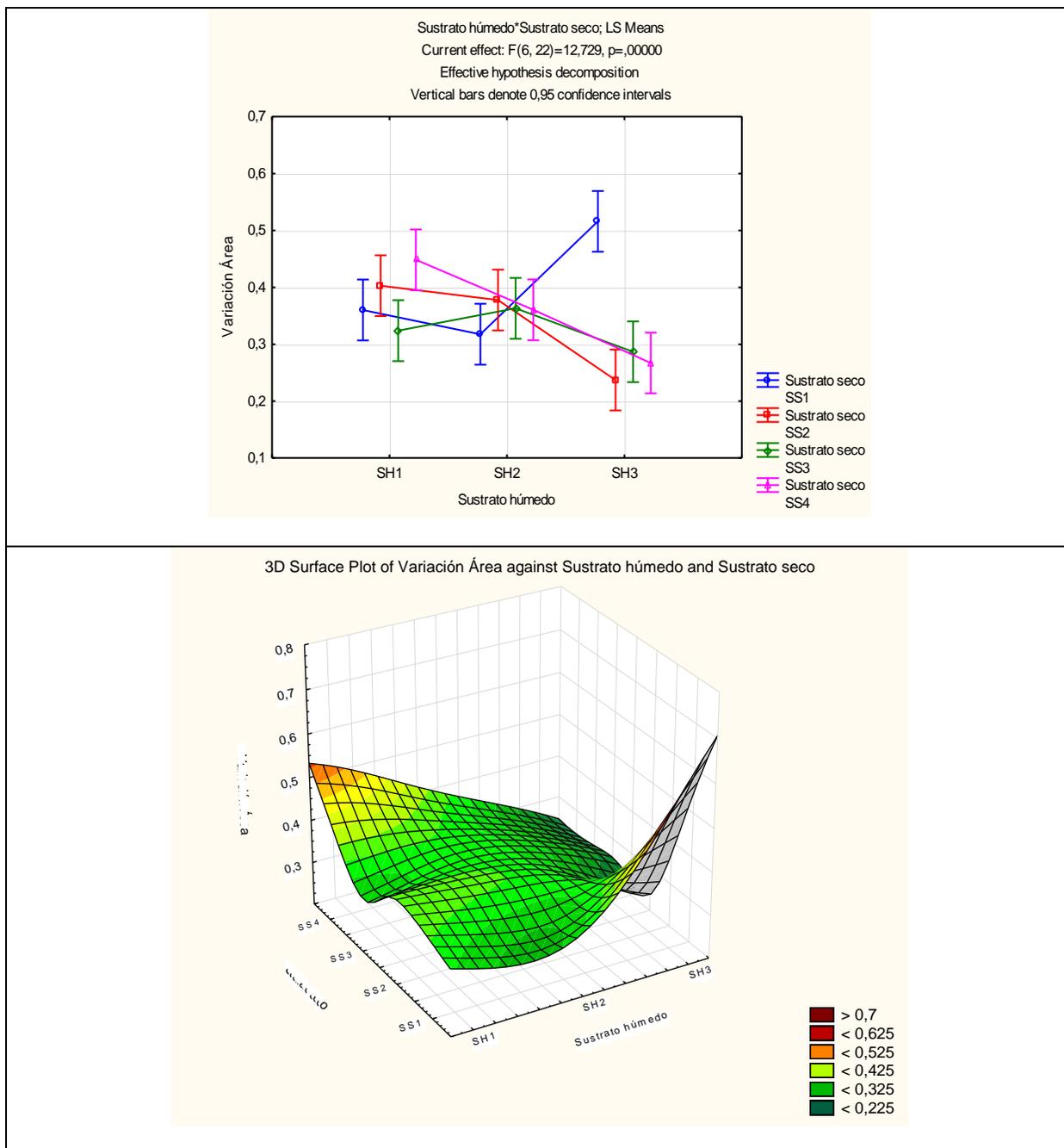


**Gráfico interacciones: Dieta (sustrato húmedo & sustrato seco) vs Variación de Área ( $\Delta A$ )**

La Figura 13 muestra que la combinación de SH3 + SS1 (tratamiento 9) generó el mayor crecimiento superficial de las larvas ( $<0,500 \text{ mm}^2$ ), mientras el que menos influyó fue SH3 + SS2 (tratamiento 10).

Figura 13

Gráfico de interacciones factores & variable 2D y 3D: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs  $\Delta A$



### Resultados Dieta (sustrato seco & húmedo) vs %Ts (tasa de supervivencia)

Según el análisis de varianza ANOVA de la Tabla 13 no existe diferencia significativa entre las medias del factor A (sustrato húmedo) y la tasa de supervivencia (%Ts)  $p > 0,05$ .

Asimismo, el factor B (sustrato seco) y la interacción A\*B ( $p > 0,05$ ) no presentó efecto sobre el %Ts.

**Tabla 13**

*Análisis de Varianza ANOVA para %Ts (tasa supervivencia)*

Fuente	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS					
PRINCIPALES					
A: Sustrato húmedo	44,2222	2	22,1111	1,03	0,3742
B: Sustrato seco	7,55556	3	2,51852	0,12	0,9491
C: Repeticiones	14,8889	2	7,44444	0,35	0,7112
INTERACCIONES					
AB	65,1111	6	10,8519	0,50	0,7982
RESIDUOS	473,111	22	21,5051		
TOTAL	604,889	35			
(CORREGIDO)					

### **Prueba Tukey: Sustrato húmedo (factor A) vs %Ts**

Como se expone en la Tabla 14 no se han generado grupos dentro de los niveles del factor B (sustrato húmedo) en relación con el porcentaje de supervivencia de *T. molitor* L. durante los 45 días del ensayo, ya que todas las medias están en el mismo grupo "a". Se esperaba este resultado tomando en cuenta que la prueba de ANOVA de la Tabla 13 no arrojó diferencias significativas entre los tipos de sustrato y el %Ts. El porcentaje de supervivencia para el factor A (sustrato húmedo) va desde el %93 en adelante.

**Tabla 14**

*Prueba de significancia entre grupos de Tukey: tipo de sustrato húmedo (factor A) vs %Ts*

<b>Sustrato húmedo</b>	<b>%Ts</b>
SH3	93,0 <sup>a</sup>
SH2	95,1667 <sup>a</sup>
SH1	95,5 <sup>a</sup>

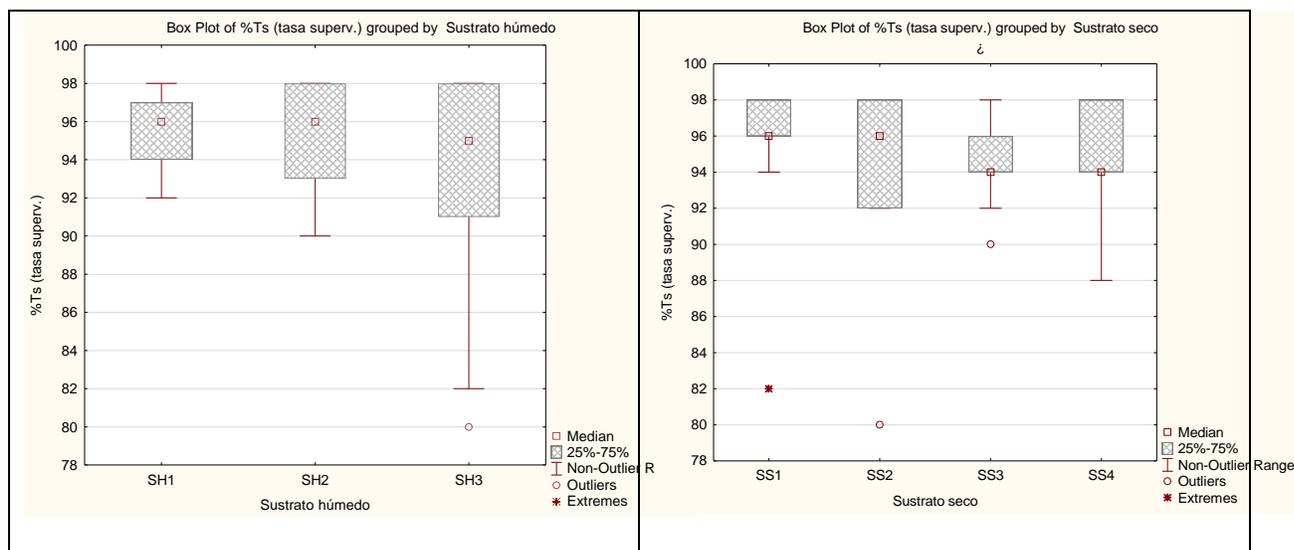
***Diagramas de cajas y bigotes: Sustrato húmedo (factor A) y sustrato seco (factor B) vs %Ts (tasa de supervivencia)***

En el diagrama de la izquierda (Figura 14) ninguno de los niveles del factor A (sustrato húmedo) muestra diferencias significativas entre sus medias; y el sustrato húmedo 3 – SH3, formado por 60 g de cáscaras de remolacha es el que presentó mayor dispersión de datos. De esa misma manera, en el diagrama de la derecha (Figura 14) no se observan grupos diferentes significativamente entre los tipos de sustratos secos y el %Ts, y se observa asimetría en los datos, con una baja dispersión en los cuatro.

La tasa de supervivencia más alta para todos los tratamientos es el sustrato húmedo 3 - SH3 (50 g de apio pasado) >99%, y el más bajo se observa con el sustrato seco 2 - SS2 (50 g harina de trigo más 50 g harina de maíz) ~88%.

Figura 14

Diagrama de cajas y bigotes: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs %Ts (tasa supervivencia)

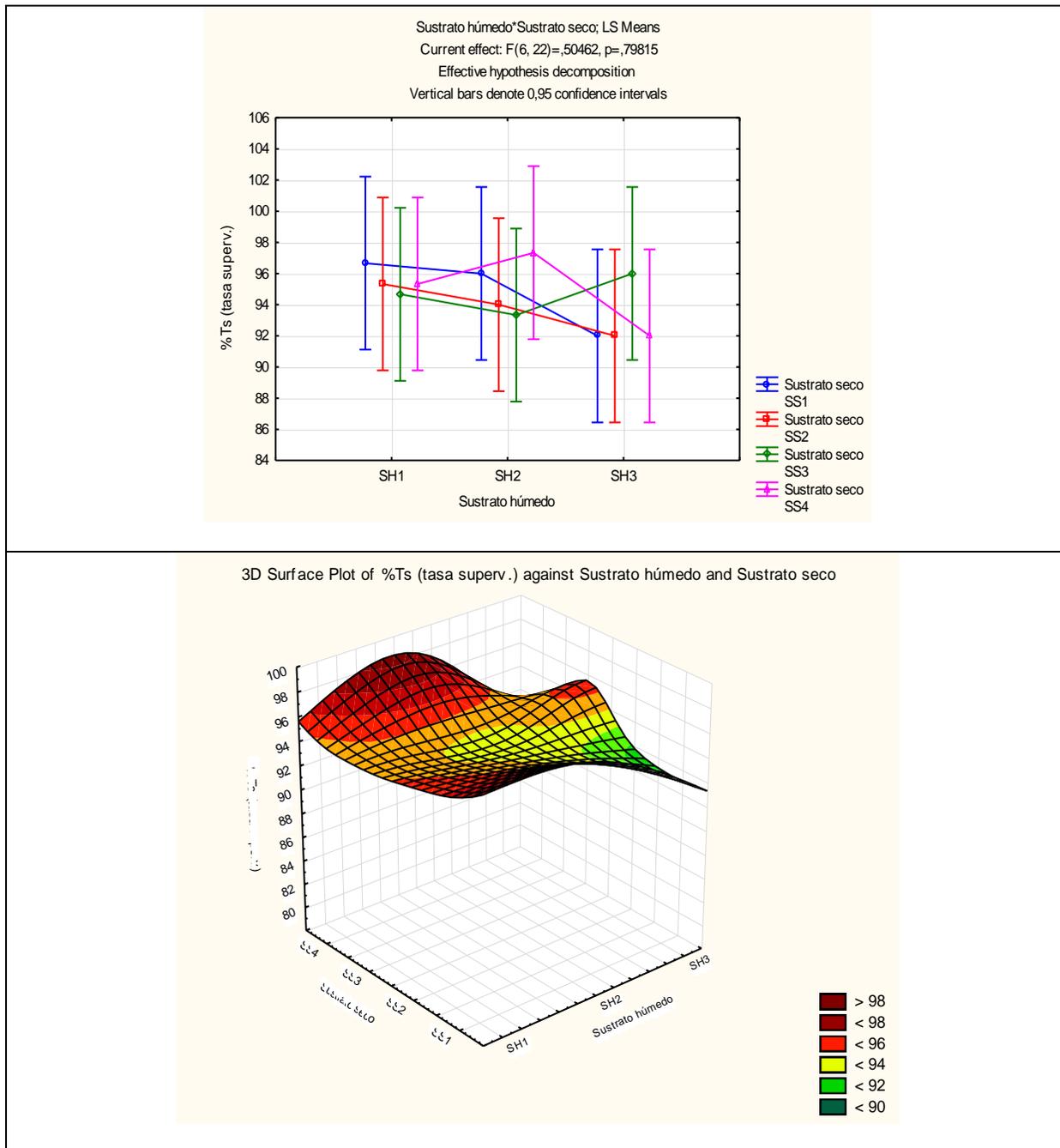


**Gráfico interacciones: Dieta (sustrato húmedo & sustrato seco) vs %Ts (tasa supervivencia)**

En la Figura 5 se vio que las tasas de supervivencia presentan valores altos para todos los tratamientos sin diferencias significativas, siendo el más alto el generado por la combinación de SH2 y SS3 (60 g cáscaras de nabo con 75 g harina de trigo más 25 g harina de maíz) y SH2 + SS4 (60 g cáscaras de nabo con 100 g harina de trigo).

**Figura 15**

Gráfico de interacciones factores & variable 2D y 3D: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs %Ts (tasa de supervivencia)



## Análisis Proximales

### **Resultados Dieta (sustrato seco & húmedo) vs % P (proteína bruta)**

El porcentaje de proteína bruta tuvo diferencias significativas con el factor A (sustrato húmedo), el factor B (sustrato seco) y la interacción entre A\*B con un  $p < 0,0001$  como lo muestra la Tabla 15.

**Tabla 15**

*Análisis de Varianza ANOVA para Proteína (%)*

Fuente	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS					
PRINCIPALES					
A: Sustrato húmedo	114,413	2	57,2065	13854,61	0,0000
B: Sustrato seco	62,3342	3	20,7781	5032,16	0,0000
C: Repeticiones	0,000490186	2	0,000245093	0,06	0,9425
INTERACCIONES					
AB	63,1867	6	10,5311	2550,49	0,0000
RESIDUOS	0,0908393	22	0,00412906		
TOTAL	240,025	35			
(CORREGIDO)					

No hubo efecto entre las repeticiones y el porcentaje de proteína bruta lo que muestra normalidad de los datos.

### **Prueba Tukey: Sustrato húmedo (factor A) vs %P (proteína bruta)**

En la Tabla 16 se observa la constitución de 3 agrupaciones (a, b y c) con los niveles o tipos del factor A (sustrato húmedo) siendo el grupo c (60 g de remolacha) el que obtuvo mayor valor % de proteína bruta (18,27%) y "a" (60 g apio pasado) el más bajo (13,90%).

**Tabla 16**

*Prueba de significancia entre grupos de Tukey: Tipo de sustrato húmedo (Factor A) vs Proteína bruta (%)*

<b>Sustrato húmedo</b>	<b>Proteína (%)</b>
SH1	13,9052 <sup>a</sup>
SH2	16,1359 <sup>b</sup>
SH3	18,2716 <sup>c</sup>

***Prueba Tukey: Sustrato seco (factor B) vs %P (proteína bruta)***

La prueba de Tukey generó agrupaciones cuando se compararon las varianzas entre los tipos de sustratos secos (factor B) y el porcentaje de proteína (%P), específicamente se notó que el grupo a (25 g harina de trigo más 75 g harina de maíz) tuvo el porcentaje más bajo de proteína (14,11%) y el grupo d el mayor (75 g harina de trigo más 25 g harina de maíz) como se muestra en la Tabla 17.

**Tabla 17**

*Prueba de significancia entre grupos de Tukey: Tipo de sustrato seco (factor B) vs Proteína bruta (%)*

<b>Sustrato seco</b>	<b>Proteína (%)</b>
SS1	14,1088 <sup>a</sup>
SS2	16,0436 <sup>b</sup>
SS3	17,7754 <sup>d</sup>
SS4	16,4891 <sup>c</sup>

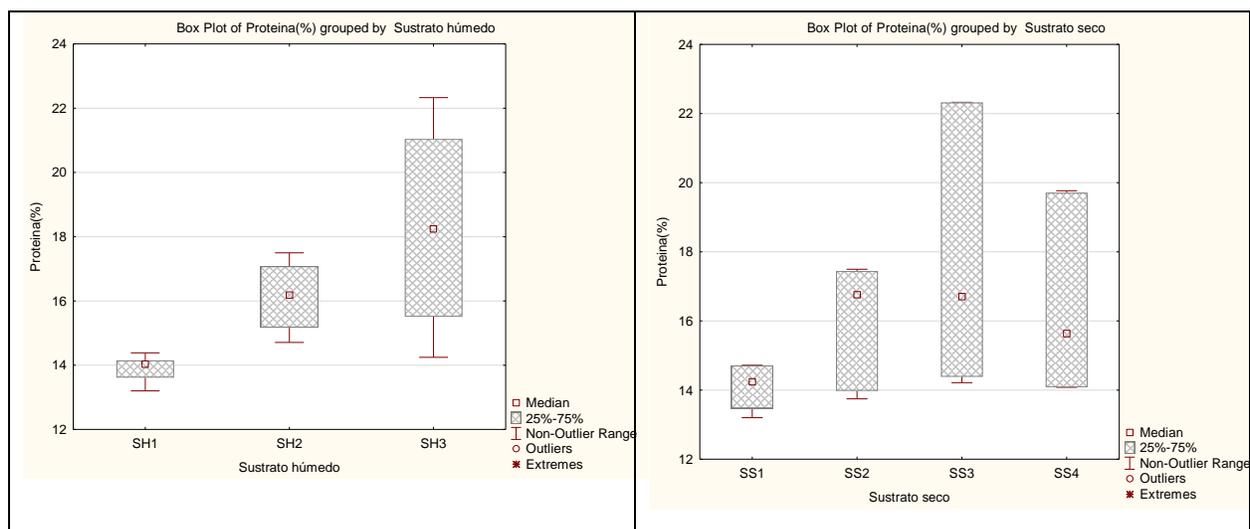
***Diagramas de cajas y bigotes: Sustrato húmedo (factor A) y sustrato seco (factor B) vs %P (proteína bruta)***

En la Figura 16 se observa que el porcentaje de proteína en relación con el factor A (sustrato húmedo), el sustrato húmedo 3 (60 g de cáscaras de remolacha) tuvo mayor

dispersión de los datos, pero con simetría. Y para el sustrato seco (lado derecho) el sustrato seco 3 (75 g harina de trigo más 25 g harina de maíz) tuvo el rango intercuartil más grande pero también representa la media más alta de %P.

**Figura 16**

*Diagrama de cajas y bigotes: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs Proteína bruta (%)*

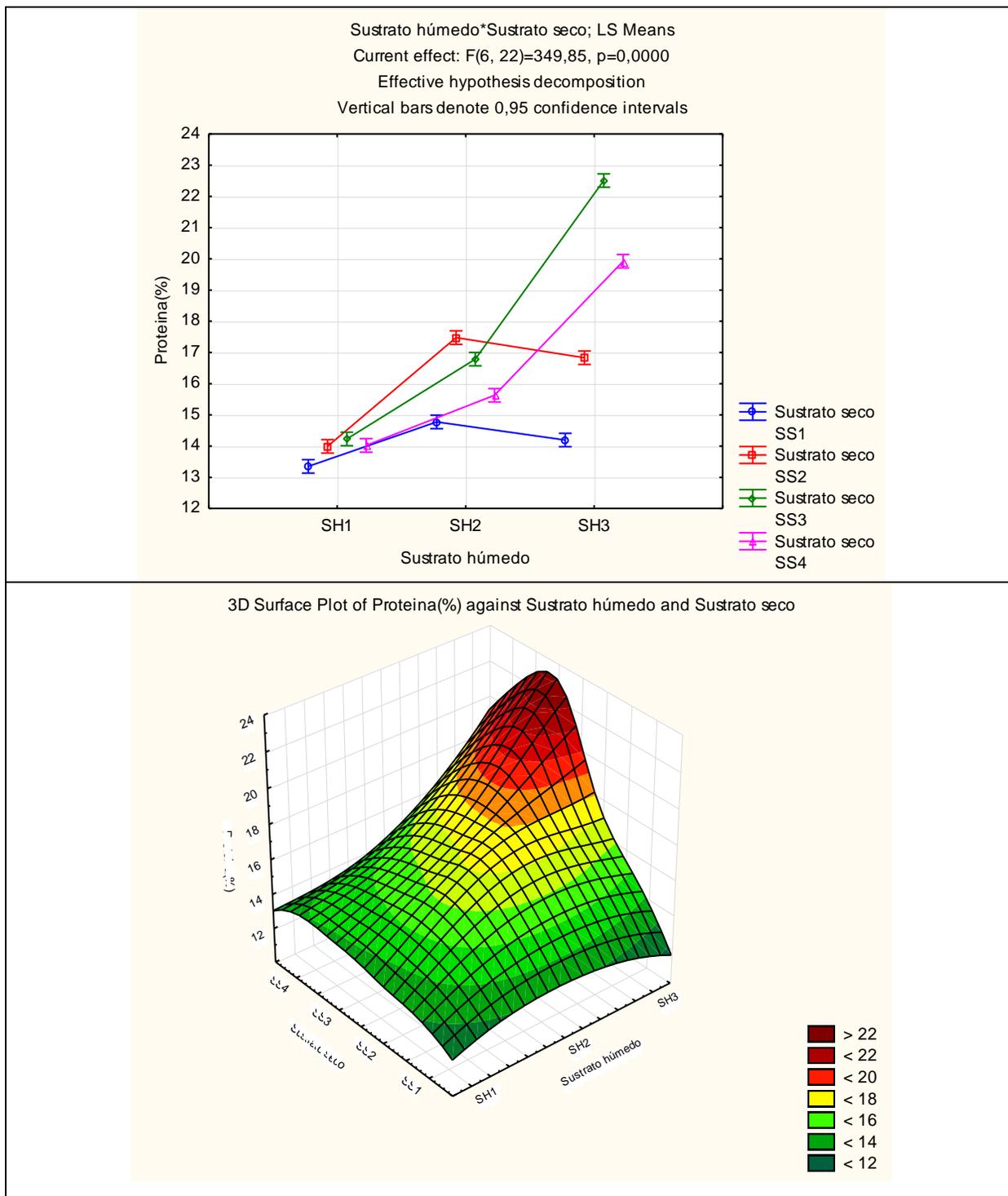


**Gráfico interacciones: Dieta (sustrato húmedo & sustrato seco) vs %P (proteína bruta)**

En La Figura 17 se observa que la el tratamiento 11 (SH3 + SS3) compuesto por 60 g de cáscaras de remolacha con 75 g de harina de trigo más 25 g de harina de maíz, fue la dieta que presentó mayor % de proteína bruta (> 22%) y los tratamientos que se formaron con el sustrato húmedo 1 (60 g apio pasado) tuvieron un menor porcentaje de proteína bruta (<15%).

Figura 17

Gráfico de interacciones factores & variable 2D y 3D: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs Proteína bruta (%)



### **Resultados Dieta (sustrato seco & húmedo) vs %G (grasa bruta)**

El análisis de varianza de ANOVA, presentó influencia ( $p < 0,0001$ ) entre los tipos de sustrato (húmedo y seco) y el porcentaje de grasa bruta. Así también, se observó efecto entre la interacción entre los dos tipos de sustrato (A\*B) y %G (grasa bruta) (véase Tabla 18).

**Tabla 18**

*Análisis de Varianza ANOVA para Grasa bruta (%)*

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
<b>EFFECTOS</b>					
<b>PRINCIPALES</b>					
A: Sustrato húmedo	81,4346	2	40,7173	1296,74	0,0000
B: Sustrato seco	9,81876	3	3,27292	104,23	0,0000
C: Repeticiones	0,0516649	2	0,0258324	0,82	0,4523
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	55,5298	6	9,25497	294,75	0,0000
RESIDUOS	0,690794	22	0,0313997		
TOTAL	147,526	35			
<b>(CORREGIDO)</b>					

### **Prueba Tukey: Sustrato húmedo (factor A) vs %G (grasa bruta)**

Según la Tabla 19, el análisis de Tukey mostró que existen diferencias significativas entre las medias de los niveles del tipo de sustrato húmedo (factor A), porque se generaron grupos, en donde el "c" (60 g cáscaras de remolacha) tuvieron el porcentaje más alto de grasa bruta (30,19%); y el "a" (60 g de apio pasado) el más bajo (26,54%).

**Tabla 19**

*Prueba de significancia entre grupos de Tukey: Tipo de sustrato húmedo (factor A) vs Grasa bruta (%)*

<b>Sustrato húmedo</b>	<b>Grasa bruta (%)</b>
SH1	26,5378 <sup>a</sup>
SH2	28,7781 <sup>b</sup>
SH3	30,1908 <sup>c</sup>

***Prueba Tukey: Sustrato seco (factor B) vs %G (grasa bruta)***

Para el sustrato seco (factor B) también se generaron agrupaciones en el test de Tukey, siendo el grupo c (75 g de harina de trigo más 25 g harina de maíz) el que mostró mayor cantidad de grasa bruta (27,63%). Además, no hubieron variaciones significativas entre las medias del SS1 (25 g harina de trigo más 75 g harina de maíz) y SS4 (100 g Harina de trigo) por lo que se agruparon en el mismo grupo (b), véase Tabla 20.

**Tabla 20**

*Prueba de significancia entre grupos de Tukey: Tipo de sustrato húmedo (factor B) vs Grasa bruta (%)*

<b>Sustrato seco</b>	<b>Grasa bruta (%)</b>
SS1	28,757 <sup>b</sup>
SS2	28,9991 <sup>c</sup>
SS3	27,6281 <sup>a</sup>
SS4	28,6248 <sup>b</sup>

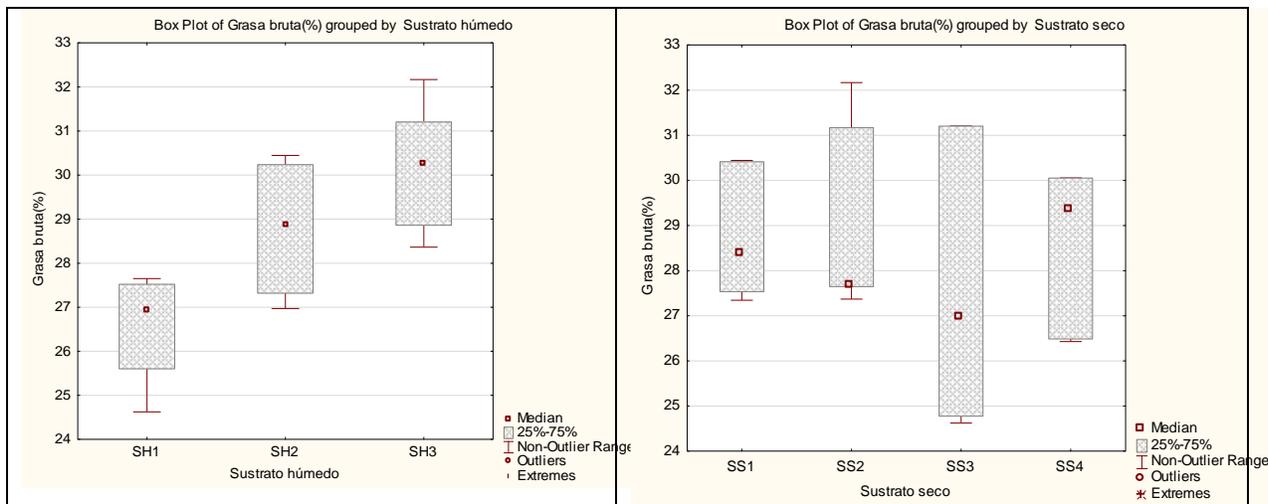
***Diagramas de cajas y bigotes: Sustrato húmedo (factor A) y sustrato seco (factor B) vs %G (grasa bruta)***

La Figura 18 (izquierda) exhibe que en entre los tipos de sustrato húmedo respecto el porcentaje de grasa bruta, la dispersión y simetría de los datos es similar, en cambio para los

tipos de sustrato seco (derecha), la dispersión es mayor en los datos del sustrato seco 3 (75 g harina de trigo más 25 g harina de maíz).

### Figura 18

*Diagrama de cajas y bigotes: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs Grasa bruta (%)*

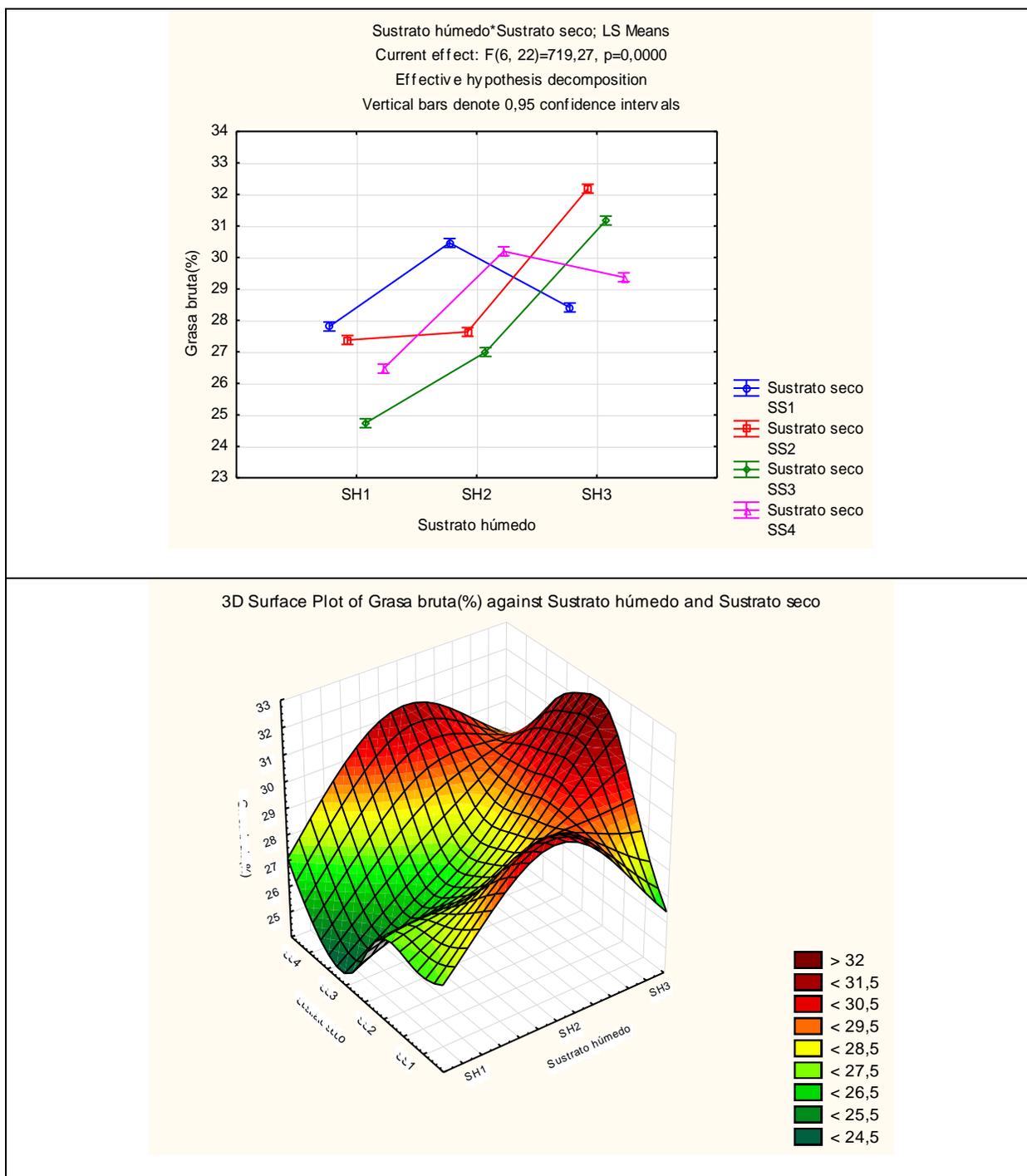


### Gráfico interacciones: Dieta (sustrato húmedo & sustrato seco) vs %G (grasa bruta)

La combinación de 60 g de cáscaras de nabo con 50 g harina de trigo con 50 g harina de maíz (tratamiento 10) y 60 g de cáscaras de remolacha con 75 g harina de trigo más 25 g harina de maíz (tratamiento 11) tienen el mayor porcentaje de grasa bruta (<30%) (véase Figura 19).

**Figura 19**

Gráfico de interacciones factores & variable 2D y 3D: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs grasa bruta (%)



### **Resultados Dieta (sustrato seco & húmedo) vs %Humedad**

El análisis de varianza ANOVA, mostró influencia ( $p < 0,0001$ ) entre el factor A (sustrato húmedo), la interacción A\*B y el porcentaje de humedad como lo indica la Tabla 21.

**Tabla 21**

*Análisis de Varianza ANOVA para humedad (%)*

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
<b>EFFECTOS</b>					
<b>PRINCIPALES</b>					
A: Sustrato húmedo	51,2727	2	25,6363	31,10	0,0000
B: Sustrato seco	4,25457	3	1,41819	1,72	0,1921
C: Repeticiones	0,725323	2	0,362661	0,44	0,6496
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	20,521	6	3,42017	4,15	0,0062
RESIDUOS	18,1373	22	0,824421		
TOTAL	94,9108	35			
<b>(CORREGIDO)</b>					

El % grasa bruta tiene una diferencia significativa en base al sustrato húmedo y las combinaciones entre el sustrato húmedo y seco.

### **Prueba Tukey: Sustrato húmedo (factor A) vs %H (humedad)**

La tabla 22 muestra agrupaciones en los tipos de sustrato húmedo, siendo el grupo c (sustrato húmedo 1) compuesto por 60 g de apio pasado el que tuvo mayor grado de humedad.

**Tabla 22**

*Prueba de significancia entre grupos de Tukey: Tipo de sustrato húmedo (factor A) vs humedad (%)*

<b>Sustrato húmedo</b>	<b>Humedad (%)</b>
SH1	57,3562 <sup>c</sup>

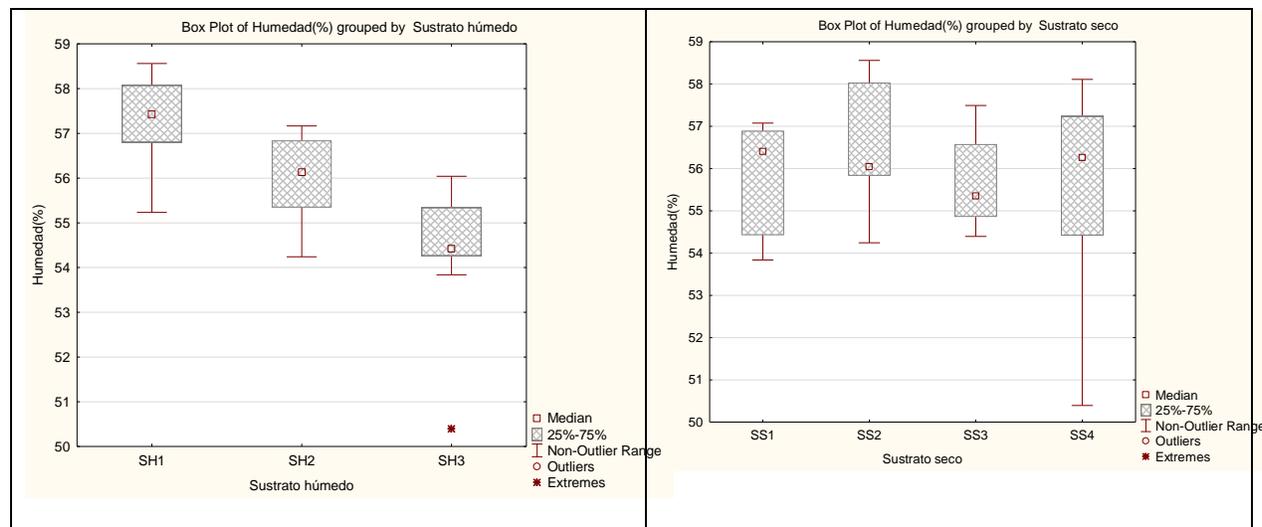
SH2	55,9525 <sup>b</sup>
SH3	54,4337 <sup>a</sup>

**Diagramas de cajas y bigotes: Sustrato húmedo (factor A) y sustrato seco (factor B) vs %G (grasa bruta)**

En el diagrama de la izquierda (Figura 20) se distinguió que los tres tipos de sustrato húmedo tenían una dispersión de datos similar y eran simétricos, excepto el SH3 (60 g de cáscaras de remolacha). A diferencia del diagrama de la derecha misma Figura 20. las cajas para los cuatro tipos de sustrato seco tuvieron rangos similares en el % de grasa bruta (51 – 58%).

**Figura 20**

*Diagrama de cajas y bigotes: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs humedad (%)*

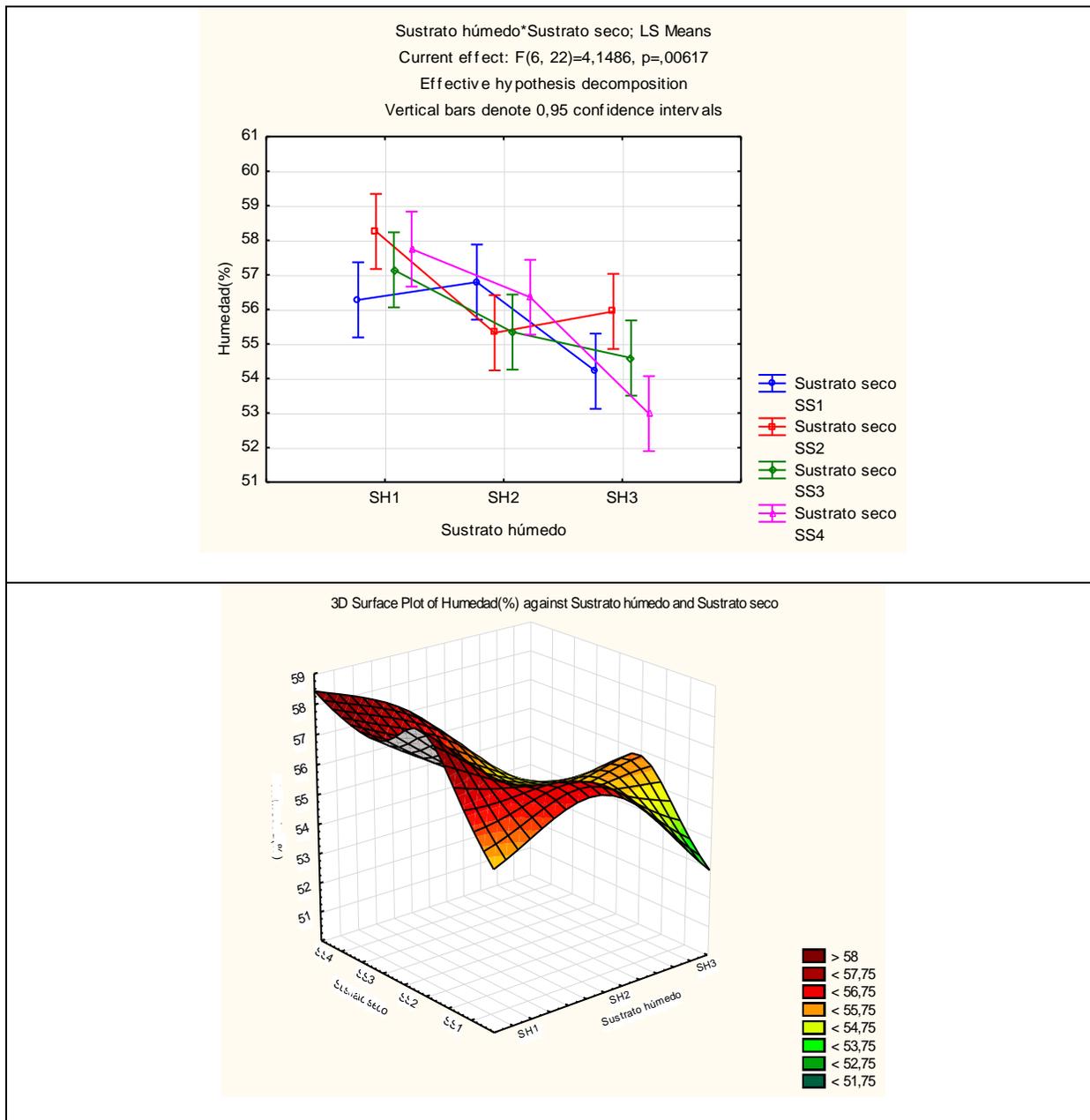


**Gráfico interacciones: Dieta (sustrato húmedo & sustrato seco) vs %H (humedad)**

En la Figura 21 se observa que cualquier tratamiento que incluyó al sustrato húmedo 1 (60 g apio pasado) presentó los datos más altos de %humedad, es decir el tratamiento o dietas 1, 2, 3 y 4.

**Figura 21**

Gráfico de interacciones factores & variable 2D y 3D: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs Humedad (%)



### **Resultados Dieta (sustrato seco & húmedo) vs %C (cenizas)**

Las varianzas entre las medias de los tratamientos frente a las medias dentro de los niveles de cada factor A y B (sustrato húmedo y seco) mostró diferencias significativas entre el porcentaje de cenizas y los dos factores, así como con su interacción A\*B ( $p < 0,0001$ ) (véase Tabla 23).

**Tabla 23**

*Análisis de Varianza ANOVA para Cenizas (%)*

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
<b>EFFECTOS</b>					
<b>PRINCIPALES</b>					
A: Sustrato húmedo	1,72993	2	0,864964	363,11	0,0000
B: Sustrato seco	5,26148	3	1,75383	736,25	0,0000
C: Repeticiones	0,000480607	2	0,000240304	0,10	0,9045
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	9,47537	6	1,57923	662,96	0,0000
RESIDUOS	0,0524062	2	0,0023821		
TOTAL	16,5197	3			
(CORREGIDO)		5			

### **Prueba Tukey: Sustrato húmedo (factor A) vs %C (cenizas)**

Se observó en la Tabla 24 diferencias considerables entre las medias de los tipos de sustrato húmedo en relación con el porcentaje de cenizas (%C), formándose tres grupos, siendo el c (60 g de apio pasado) el que tuvo mayor cantidad de cenizas, es decir mayor porcentaje de oligoelementos.

**Tabla 24**

*Prueba de significancia entre grupos de Tukey: Tipo de sustrato húmedo (factor A) vs Cenizas (%)*

Sustrato húmedo	Cenizas (%)
SH1	1,79973 <sup>c</sup>
SH2	1,27614 <sup>a</sup>
SH3	1,43483 <sup>b</sup>

***Prueba Tukey: Sustrato seco (factor B) vs %C (cenizas)***

Para los tipos de sustrato seco, el SS2 (50 g harina de trigo más 50 g harina de maíz) y el SS1 (25 g harina de trigo más 75 g harina de maíz) no tuvieron variaciones considerables entre sus medias por lo que se agruparon en el mismo grupo, que fue el "a". Además, el SS3 (75 g harina de trigo más 25 g harina de maíz) tuvo el mayor porcentaje de cenizas (2,16%) (Tabla 25).

**Tabla 25**

*Prueba de significancia entre grupos de Tukey: Tipo de sustrato seco (factor B) vs Cenizas (%)*

Sustrato seco	%Cenizas
SS2	1,24279 <sup>a</sup>
SS1	1,25966 <sup>a</sup>
SS4	1,34986 <sup>b</sup>
SS3	2,16196 <sup>c</sup>

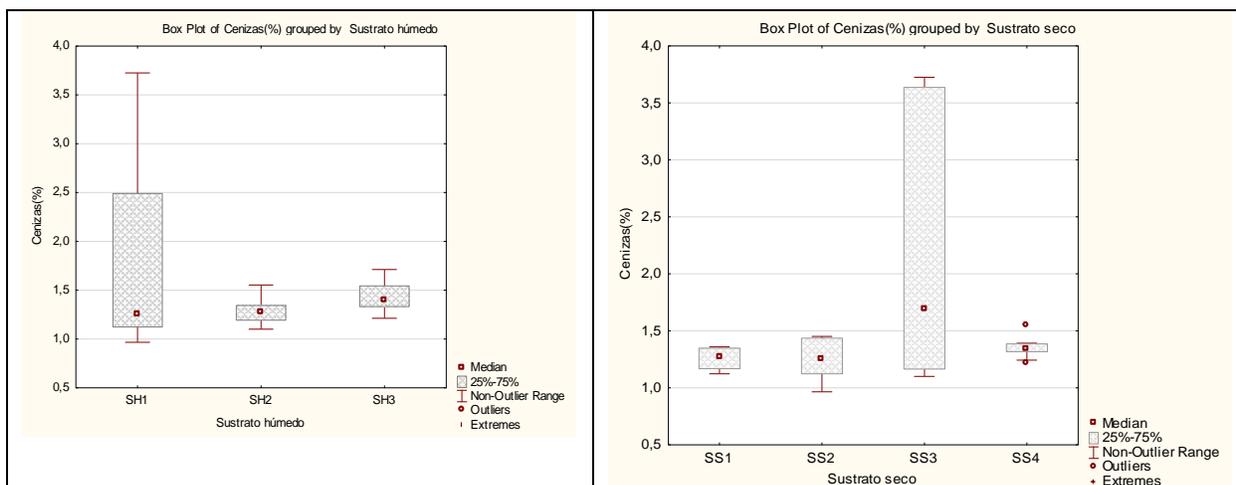
***Diagramas de cajas y bigotes: Sustrato húmedo (factor A) y sustrato seco (factor B) vs %C (cenizas)***

En la Figura 22 (izquierda) se muestra una baja dispersión de datos para el sustrato húmedo 2 - SH2 (60 g de cáscara de nabo) y el SH3 (60 g de cáscaras de remolacha) pero el SH1 (60 g de apio pasado) tuvo el mayor porcentaje de cenizas. Por otro lado, en la misma

figura (derecha) se vio un rango intercuartil mayor para el SS3 (75 g harina de trigo más 25 g harina de maíz) pero tuvo el mayor %C (cenizas).

### Figura 22

Diagrama de cajas y bigotes: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs % Cenizas

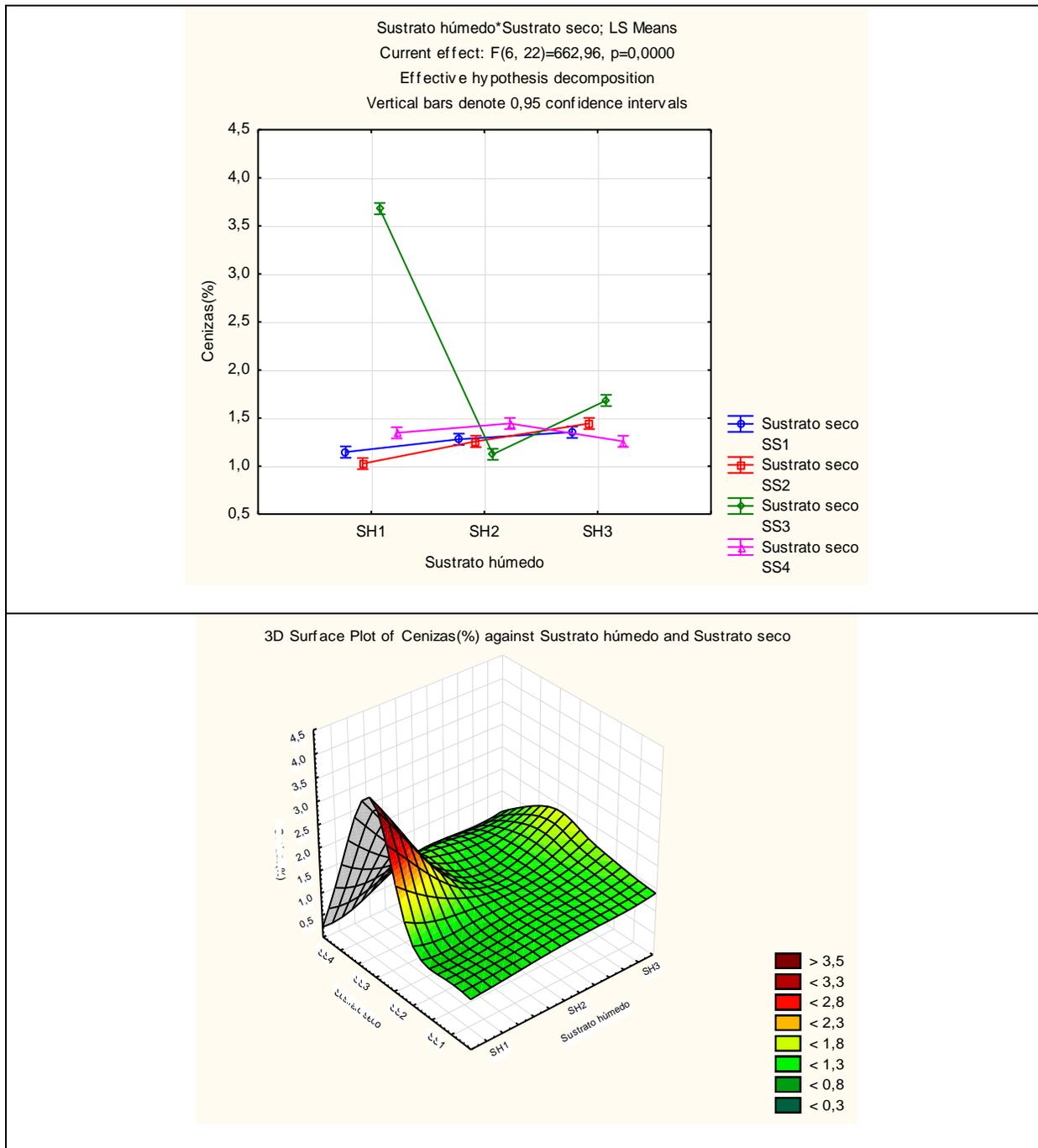


### Gráfico interacciones: Dieta (sustrato húmedo & sustrato seco) vs %C (cenizas)

La Figura 23 exhibe un mayor % de cenizas en las larvas alimentadas con la dieta SH1 + SS3 (60 g de apio pasado con 75 g harina de trigo más 25 g harina de maíz).

**Figura 23**

Gráfico de interacciones factores & variable 2D y 3D: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs Cenizas (%)



### **Resultados Dieta (sustrato seco & húmedo) vs pH**

La Tabla 26 determina que el pH varió según el sustrato húmedo o seco que se utilizó e incluso sus combinaciones A\*B ( $p < 0,0001$ ).

**Tabla 26**

*Análisis de Varianza ANOVA para pH*

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
<b>EFFECTOS</b>					
<b>PRINCIPALES</b>					
A: Sustrato húmedo	15,5674	2	7,78372	2428,11	0,0000
B: Sustrato seco	1,22122	3	0,407072	126,98	0,0000
C: Repeticiones	0,00912081	2	0,0045604	1,42	0,2624
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	2,05536	6	0,34256	106,86	0,0000
RESIDUOS	0,0705249	22	0,00320568		
TOTAL	18,9237	35			
<b>(CORREGIDO)</b>					

### **Prueba Tukey: Sustrato húmedo (factor A) vs pH**

Se formaron 3 agrupaciones con diferencias significativas según el tipo de sustrato húmedo (Tabla 27), el grupo c conformado por las muestras alimentadas con el sustrato húmedo 1 (60 g de apio pasado) tuvieron el pH más alto (5,84).

**Tabla 27**

*Prueba de significancia entre grupos de Tukey: Tipo de sustrato húmedo (factor A) vs pH*

<b>Sustrato húmedo</b>	<b>pH</b>
SH1	5,8435 <sup>c</sup>
SH2	4,41247 <sup>a</sup>
SH3	5,76832 <sup>b</sup>

**Prueba Tukey: Sustrato seco (factor B) vs pH**

Para el sustrato seco se formaron 3 agrupaciones; el SS1 y SS4 no tuvieron diferencias significativas entre sus medias por lo que ambos conformaron el grupo a, con la media más baja de pH (~5,12), en contraste, el SS2 (50 g harina de trigo más 50 g harina de maíz) presentó el pH más alto (5,59).

**Tabla 28**

*Prueba de significancia entre grupos de Tukey: Tipo de sustrato seco (factor B) vs pH*

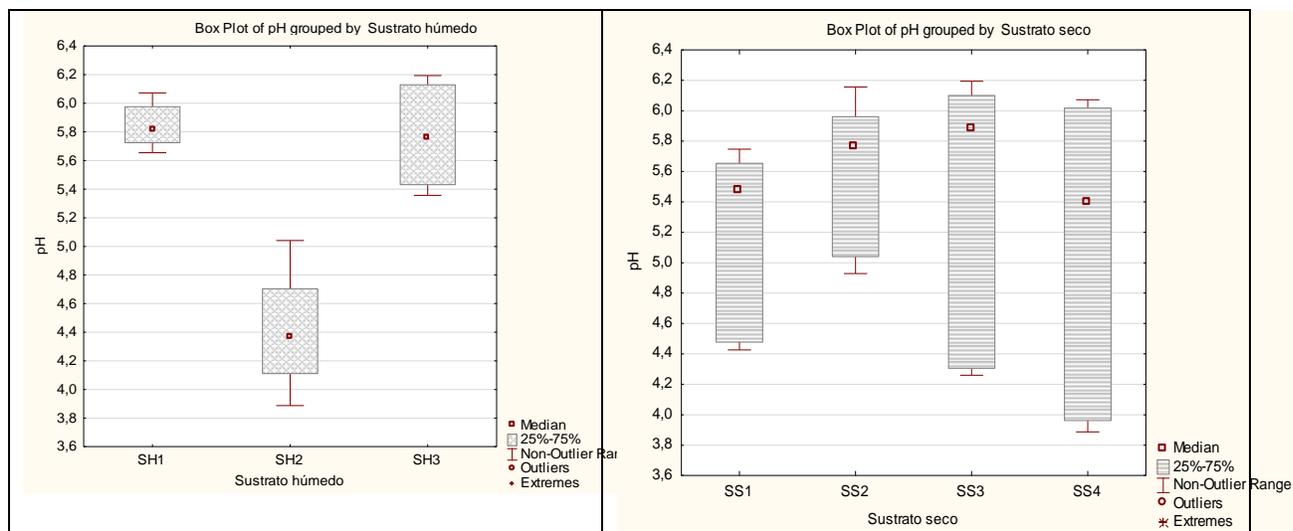
<b>Sustrato seco</b>	<b>pH</b>
SS4	5,13153 <sup>a</sup>
SS1	5,20232 <sup>a</sup>
SS3	5,4405 <sup>b</sup>
SS2	5,59137 <sup>c</sup>

**Diagramas de cajas y bigotes: Sustrato húmedo (factor A) y sustrato seco (factor B) vs pH**

El sustrato húmedo 2 (SH2) tiene una distribución de datos simétrica e influye principalmente en la generación de pH bajos (<5,2). En cambio, los tipos de sustratos secos influyen el pH, pero con una tendencia a la acidez débil (>5,6) (Figura 24).

Figura 24

Diagrama de cajas y bigotes pH para tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B)

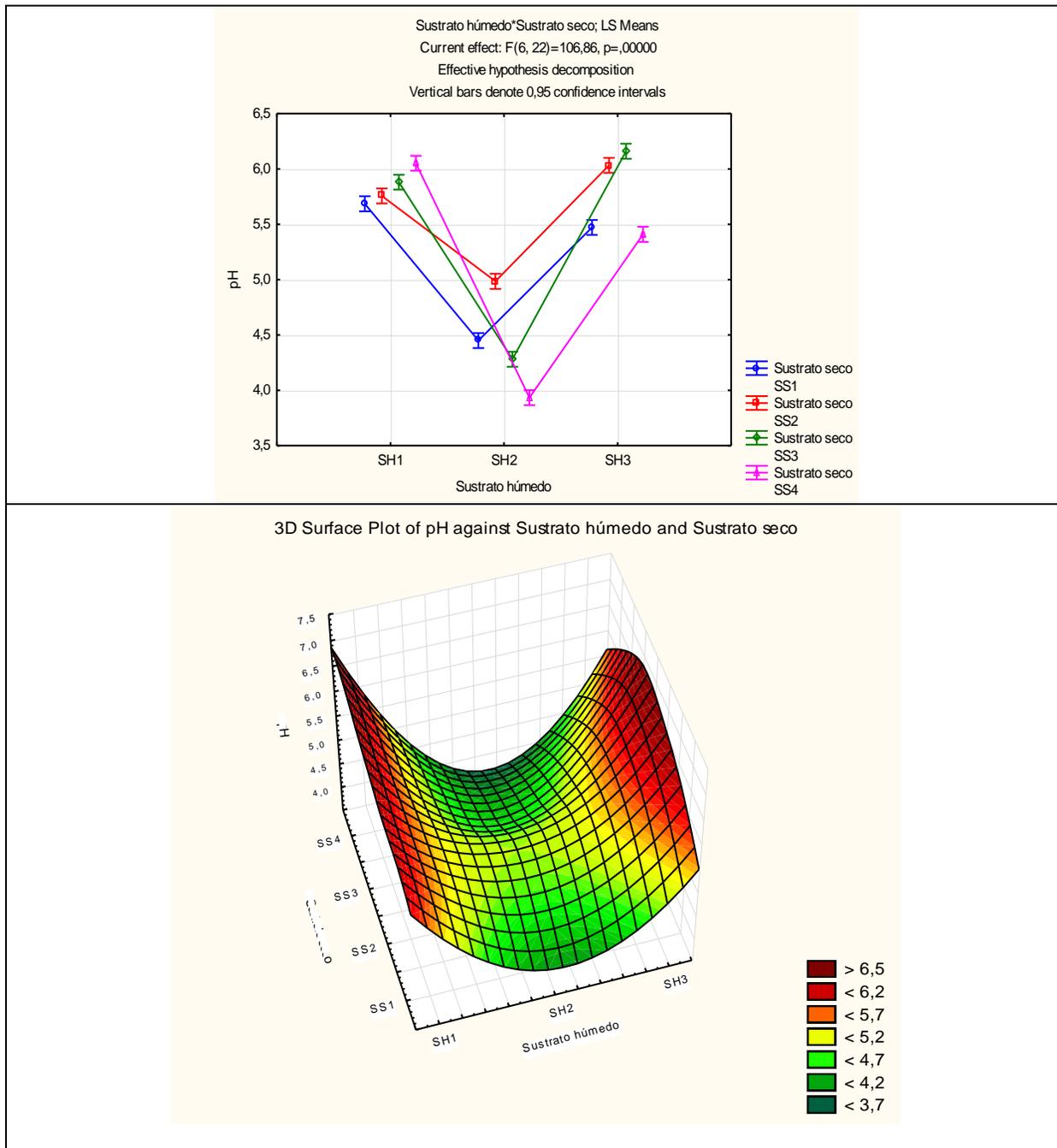


### Gráfico interacciones: Dieta (sustrato húmedo & sustrato seco) vs pH

En la Figura 25 se observa que los valores más altos de pH (>6) se obtuvieron con el tratamiento 12 (SH3 + SS4) y los más bajos (~4) con el tratamiento 7 (SH2 + SS3).

**Figura 25**

Gráfico de interacciones factores & variable 2D y 3D: tipo de sustrato húmedo (factor A) y seco (factor B) vs pH



## Análisis interacciones entre variables

Además, de conocer el grado de influencia de los factores sobre las variables, es importante conocer el efecto de las variables entre sí. Las variables de este estudio fueron: FCR,  $\Delta P$ ,  $\Delta A$ , %Ts, % Proteína bruta, % Grasa bruta, % Cenizas, % Humedad y el pH.

En la Figura 26 se observan los grados de correlación variables vs variables, evidenciándose que existe correlación ( $>0,700$ ) entre los índices de conversión alimenticia (FCR) de los días 15, 30 y 45. Esto infiere en que la capacidad de *T. molitor* L. para transformar el alimento (dieta) en biomasa se ve influenciada por el tiempo en su periodo de crecimiento.

### Figura 26

*Matriz de Correlaciones entre variables del diseño experimental*

		Matriz de correlaciones <sup>a</sup>										
		FCR Día 15	FCR Día 30	FCR Día 45	%Ts (tasa superv.)	Variación Área	Variación Peso	Proteína(%)	Grasa bruta (%)	Humedad(%)	Cenizas(%)	pH
Correlación	FCR Día 15	1,000	,507	,497	-,087	,063	-,576	,169	,402	-,342	-,345	-,233
	FCR Día 30	,507	1,000	,894	-,125	-,022	-,506	,198	,366	-,391	-,176	-,614
	FCR Día 45	,497	,894	1,000	-,086	-,107	-,407	,117	,308	-,280	-,315	-,581
	%Ts (tasa superv.)	-,087	-,125	-,086	1,000	-,001	,263	-,088	-,043	,167	,028	-,120
	Variación Área	,063	-,022	-,107	-,001	1,000	,238	-,501	-,443	,191	-,173	-,060
	Variación Peso	-,576	-,506	-,407	,263	,238	1,000	-,418	-,554	,656	,319	,166
	Proteína(%)	,169	,198	,117	-,088	-,501	-,418	1,000	,524	-,604	-,064	,090
	Grasa bruta(%)	,402	,366	,308	-,043	-,443	-,554	,524	1,000	-,332	-,410	-,094
	Humedad(%)	-,342	-,391	-,280	,167	,191	,656	-,604	-,332	1,000	,145	,074
	Cenizas(%)	-,345	-,176	-,315	,028	-,173	,319	-,064	-,410	,145	1,000	,268
	pH	-,233	-,614	-,581	-,120	-,060	,166	,090	-,094	,074	,268	1,000

*Nota.* Obtenido mediante el Software IBM SPSS

### Matriz de componentes

La Tabla 29. expresa las variables que han incidido en mayor grado sobre el resto de variables, siendo los primeros tres componentes los que presentan mayor variabilidad con un acumulado de 65,918%. Es decir que la eficiencia con la que el gusano de la harina amarillo convierte los subproductos orgánicos domésticos en biomasa afecta el valor nutricional y el desarrollo del escarabajo.

**Tabla 29***Tabla de componentes*

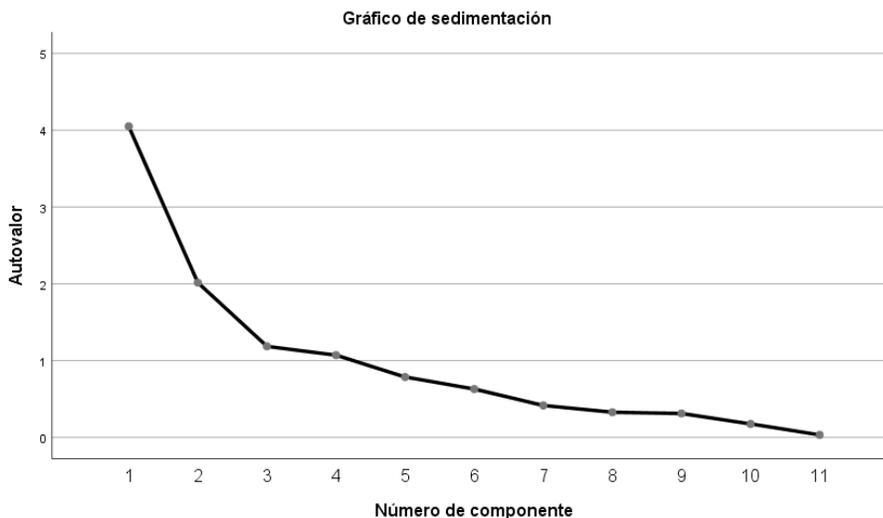
Variable	Componente		
	1	2	3
FCR Día 15	,689	,197	-,276
FCR Día 30	,799	,398	,181
FCR Día 45	,753	,450	,219
%Ts (tasa superv.)	-,191	,147	,610
Variación Área	-,276	,630	-,542
Variación Peso	-,813	,203	,252
Proteína (%)	,527	-,671	,139
Grasa bruta (%)	,690	-,337	,095
Humedad (%)	-,663	,357	,161
Cenizas (%)	-,448	-,253	,328
pH	-,449	-,633	-,371

*Nota.* Método de extracción: análisis de componentes principales. Obtenido mediante el Software IBM SPSS

Los tres componentes principales también se los puede identificar mediante el gráfico de sedimentación (Figura 27), en donde se observa a los tres primeros componentes (FCR días 15, 30 Y 45) como las variables que más influyen sobre el resto. El resto de variables ( $\Delta P$ ,  $\Delta A$ , %Ts, % Proteína bruta, % Grasa bruta, % Cenizas, % Humedad y el pH) tuvieron una proporción muy pequeña de la variabilidad (cercana a cero) y probablemente carezcan de importancia.

## Figura 27

### Gráfico de sedimentación

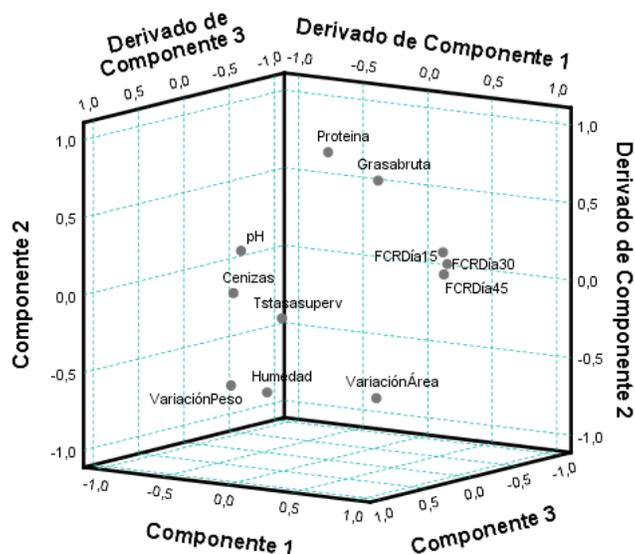


### Análisis de componentes principales (ACP)

En la Figura 29 se observa una agrupación de puntos que representan a las variables de índice de conversión alimenticia - FCR de los días 15, 30 y 45 determinando que existe una alta correlación entre las mismas. Con un menor grado de correlación, es decir menor influencia o efecto entre variables, vemos la agrupación: pH y contenido de ceniza, y la agrupación: variación de peso y %humedad. El porcentaje de proteína, y la tasa de supervivencia tuvieron una nula correlación entre las otras variables, esto se dedujo ya que se observa a estas variables distantes del resto y casi en el punto de origen de esta figura en 3D.

Figura 28

Gráfico de componentes en el espacio rotado (3 dimensiones)

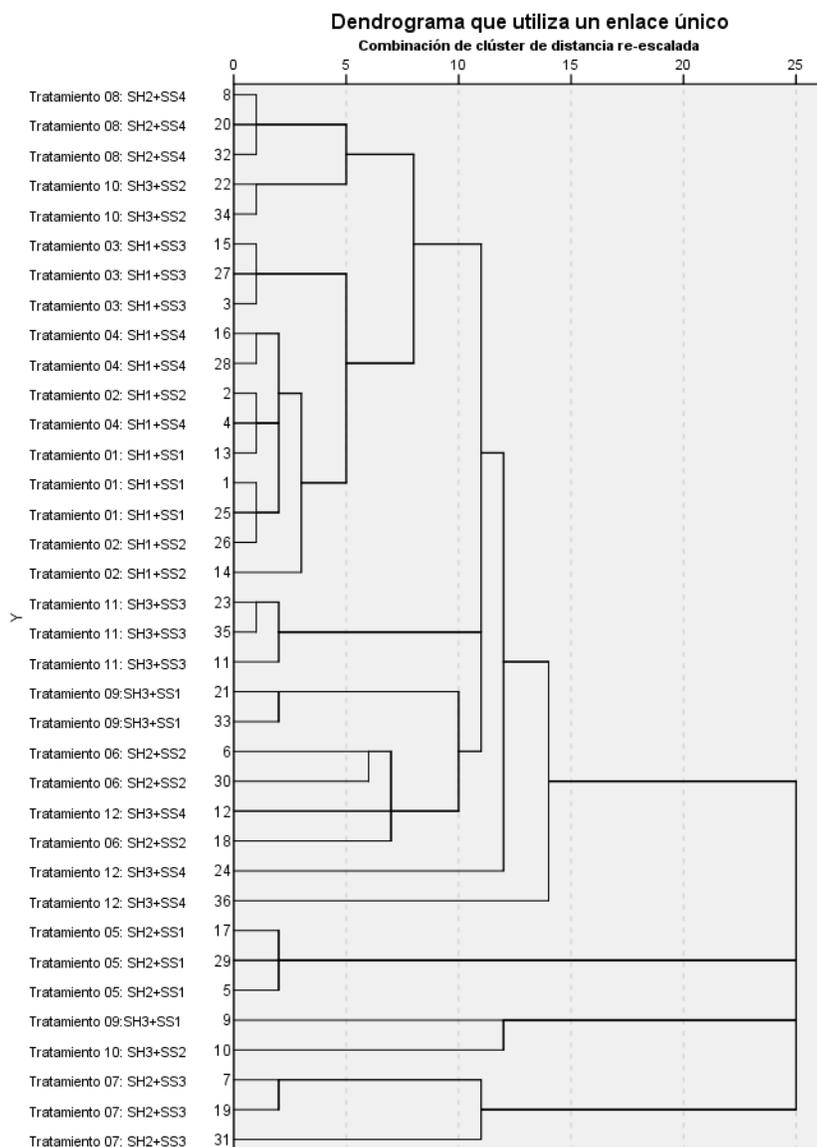


### Creación de conglomerados entre los tratamientos de estudio

En el dendograma de la Figura 29 vemos la generación de varios clusters; de arriba hacia abajo se agruparon los tratamientos con mayor similitud en cuanto a su comportamiento con todas las variables. Claramente se notó la formación de clusters entre las repeticiones de los tratamientos, lo cual nos confirma la normalidad de los datos.

Figura 29

Dendrograma: Interacción entre tratamientos, factores y variables



Con el análisis de varianza y Tukey pudimos elegir el tratamiento que influye de manera más eficiente y beneficiosa a los parámetros de crecimiento, supervivencia, y valor nutricional, siendo el tratamiento 11 (60 g de cáscaras de remolacha con 75 g Harina de trigo más 25 g harina de maíz), el más adecuado. Se pudo observar en el dendrograma que el tratamiento 3 (60 g de apio pasado con 75 g Harina de trigo más 25 g harina de maíz), y 2 (60 g de apio

pasado con 50 g harina de trigo más 50 g harina de maíz) se encuentran en mayor cercanía por lo que son parecidos en eficiencia.

### **Resumen de resultados de Bioconversión y crecimiento**

Todas las variables analizadas (FCR, variación de área, % proteína, %grasa cruda, %humedad, %cenizas y pH) se vieron afectadas significativamente por el sustrato húmedo (factor A), sustrato seco (factor B) y su interacción (A\*B); excepto la variación de peso, el cual solo se vio influenciada por el sustrato húmedo, y el porcentaje de supervivencia sobre el cual ningún factor influyó significativamente. Cada variable que cambió con los factores de estudio tuvo grupos estadísticamente distintos (a, b, c, d) corroborando la inexistencia del error tipo I y II mediante la prueba de Tukey.

En el Figura 10 el sustrato seco (factor B) vs la variación de peso ( $\Delta P$ ) las cajas de los cuatro niveles no se diferencian, al contrario de lo que sucede con el sustrato húmedo (factor A) con las tres agrupaciones formadas (Tabla 11), es decir solo el sustrato húmedo influyó en el incremento de peso durante los 45 días de experimentación, los sustratos secos no tuvieron una diferencia significativa entre sus grupos.

Respecto al crecimiento o variación de área, el factor A (sustrato húmedo) y el factor B (sustrato seco) presentaron diferencias significativas en sus grupos (Tabla 12) por lo que los dos sustratos influyeron en el crecimiento de la larva.

Por otro lado, en el porcentaje de supervivencia (%Ts) no existió diferencias significativas con el tipo de sustrato (húmedo o seco) y tampoco sus combinaciones.

Finalmente, los gráficos de interacción de variables mostraron la existencia de un conglomerado altamente relacionado entre el FCR día 15, 30 y 45. También, existe una leve correlación entre el % de cenizas - pH, y la variación de peso - % humedad. El tratamiento con datos más eficientes de las variables (FCR,  $\Delta P$ ,  $\Delta A$ , %Ts, % Proteína bruta, % Grasa bruta, % Cenizas, % Humedad y pH) es el 11 (60 g de cáscaras de remolacha con 75 g Harina de trigo más 25 g harina de maíz), y el menos eficiente es el 6 (60 g de cáscaras de nabo con 50 g

harina de trigo más 50 g harina de maíz), y todos los tratamientos exponen normalidad en sus datos.

### **Análisis microbiológico**

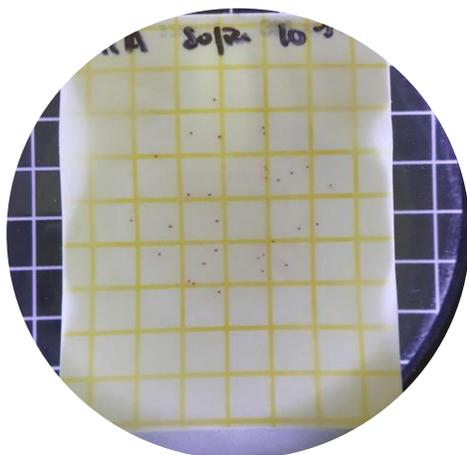
Se realizó el conteo de unidades formadoras de colonias en los tratamientos con valores nutricionales adecuados para el consumo, mayor tasa de crecimiento, desarrollo y bioconversión más efectiva, por lo que se analizó el tratamiento 3, 11, y adicionalmente, se analizó el tratamiento 7, que sirvió como un control negativo.

### ***Aerobios mesófilos***

#### **Figura 30**

*Conteo de colonias en Petrifilm de aerobios mesófilos en tratamiento 3, 7 y 11*

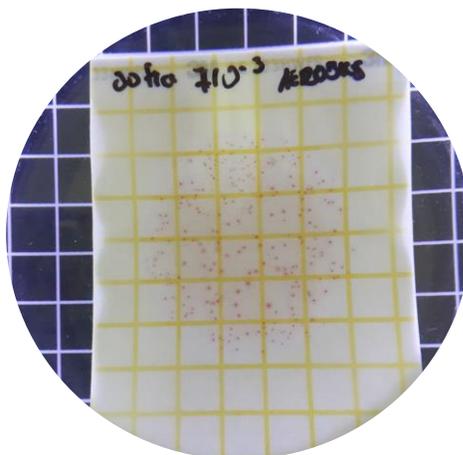
**Tratamiento 3: SH1 + SS3**



$1 \cdot 10^{-3}$  UFC/mL = 0,001 UFC/mL

Presencia / Permissible

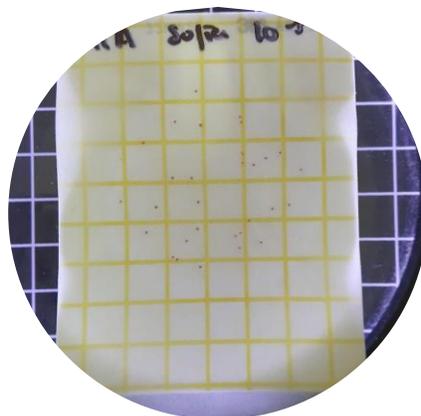
**Tratamiento 7: SH2 + SS3**



0,245 UFC/mL = 0,123 UFC/g

Presencia / Permissible

**Tratamiento 11: SH3 + SS3**



$$673 \cdot 10^{-3} \text{ UFC/mL} = 0,673 \text{ UFC/mL}$$

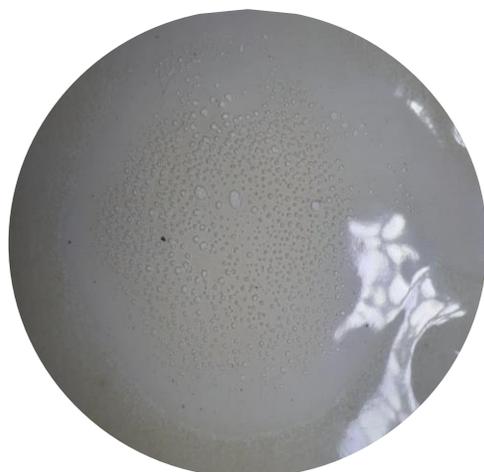
Presencia / Permissible

### ***Mohos y levaduras***

#### **Figura 31**

*Conteo de colonias en Petrifilm de mohos y levaduras en tratamiento 3, 7 y 11*

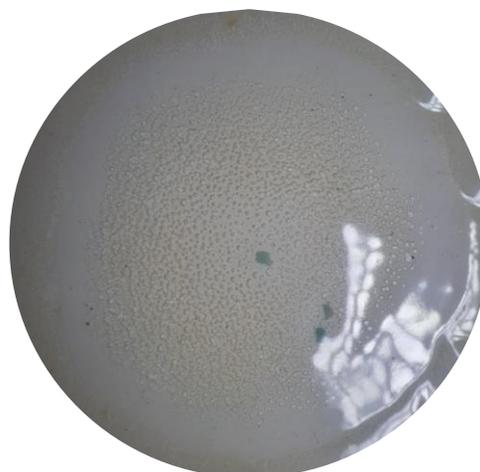
#### **Tratamiento 3: SH1 + SS3**



$$1 \cdot 10^{-3} \text{ UFC/mL} = 0,001 \text{ UFC/mL}$$

Presencia / Permissible

#### **Tratamiento 7: SH2 + SS3**



$$4 \cdot 10^{-3} \text{ UFC/mL} = 0,004 \text{ UFC/mL}$$

Presencia / Permissible

#### **Tratamiento 11: SH3 + SS3**



$1 \cdot 10^{-3}$  UFC/mL = 0,003 UFC/mL

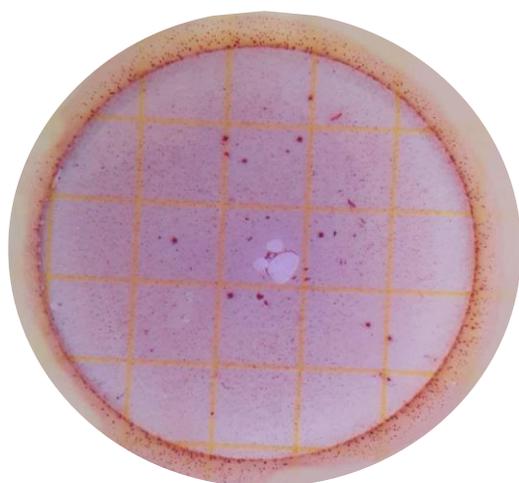
Presencia / Permisible

### ***Coliformes totales y E. coli***

#### **Figura 32**

*Conteo de colonias en Petrifilm de coliformes totales y E. coli en tratamiento 11*

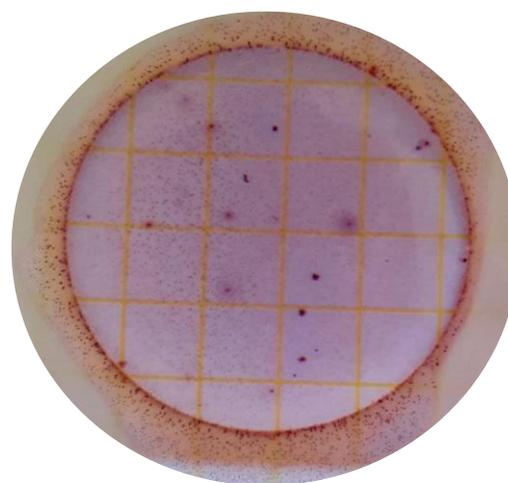
**Tratamiento 11: SH3 + SS3**



$10272 \cdot 10^{-3}$  UFC/mL = 10,272 UFC/mL

Presencia / Permisible

**Tratamiento 11: SH3 + SS3**



$493 \cdot 10^{-3}$  UFC/mL = 0,493 UFC/mL

Presencia / Permisible

*Nota. Del lado izquierdo Coliformes totales y del derecho, E. coli*

## Capítulo V: Discusión

### ***Bioconversión, crecimiento y supervivencia***

El tratamiento 3 (60 g apio pasado con 25 g Harina de trigo y 75 g harina de maíz) promueve un índice de conversión alimenticia - FCR más bajo (~2), que indica un alto grado de eficiencia de bioconversión en comparación con otros estudios. Investigaciones realizadas con el mismo organismo y dietas a base de subproductos tuvieron los siguientes índices de conversión alimenticia - FCRs,  $>3.8 \pm 0.63$  (Oonincx et al., 2015),  $>2.62$  (van Broekhoven et al., 2015), y  $\sim 3.22$  (Bordiean et al., 2022). Más aún los valores obtenidos en este estudio corrobora que el gusano de la harina amarillo tiene índices de conversión inferiores a los del sector porcino (~5), avícola (~ 3) y vacuno (~10) (Csiro, 2021).

Por otro lado, no se han encontrado estudios que indaguen sobre crecimiento de *T. molitor* L. en relación a su área de superficie, sin embargo, datos bibliográficos mencionan que el tamaño promedio de *T. molitor* L. no supera los 2,5 cm de largo (Vyavhare & Kerns, 2017), que es superior al que cuantificamos en todos los tratamientos y control (1,9 mm).

En la ganancia en peso, el tratamiento con mayor incremento fue el 3 (60 g apio pasado con 25 g Harina de trigo y 75 g harina de maíz); se obtuvo un incremento promedio de  $> 0,130$  g muy parecido al valor obtenido por Bordiean y colaboradores (2022) con una dieta a base de salvado de trigo.

Adicionalmente, el tiempo de desarrollo para los mismos autores antes mencionados fueron los siguientes, 79 a 168 días (van Broekhoven et al., 2015), 83 a 227 (van Broekhoven et al., 2015) y el más bajo fue de 74 a 81 días, valores que duplican y hasta triplican el periodo de desarrollo obtenido en este estudio (45 días).

Es importante mencionar que los tratamientos 7 (60 g de cáscaras de nabo con 75 g Harina de trigo más 25 g harina de maíz), 8 (60 g de cáscaras de nabo con 100 g harina de trigo), 9 (60 g de cáscaras de remolachas con 25 g Harina de trigo más 75 g harina de maíz), y 10 (60 g de cáscaras de remolacha con 50 g harina de trigo más 50 g harina de maíz) tuvieron

un tiempo de desarrollo más corto a los 45 días, ya que del 10 al 50% de las larvas pasaron a la siguiente etapa (pupa) para esta fecha; lo que se ha atribuido a la edad de las larvas.

Cuando inició el estudio se escogieron larvas pequeñas y medianas – pequeñas con pesos y tamaños muy similares, sin embargo, Bordiean et al. (2022) menciona que, aunque los tamaños sean parecidos la edad puede variar en un amplio rango. La edad era una variable que no pudimos controlar, por lo que posiblemente algunas larvas eran más viejas que otras pese a su peso y tamaño similar.

Finalmente, en relación a la tasa de supervivencia no existieron diferencias significativas con las dietas de las larvas (factores de estudio); el porcentaje de supervivencia iba desde el 86% al >99%, valores más altos a los de Oonincx et al. (2015) y similares al de van Broekhoven et al. (2015) y Kim et al. (2016). Esto indica que para todos los tratamientos utilizados existe una tasa nula de riesgo en cuanto a generar la muerte de los individuos.

### **Análisis bromatológico**

Los estudios citados a continuación utilizaron las mismas condiciones de temperatura y humedad que las empleadas en esta investigación durante la fase experimental; además, sus dietas también se componen a base de subproductos orgánicos, que incluyen a los residuos domésticos.

Los porcentajes de proteína cruda mostraron valores desde 13 a 22,5% en materia fresca, siendo el tratamiento 11 (60 g cáscaras de remolacha con 75 g Harina de trigo y 25 g harina de maíz) el que mostró mayor cantidad, esto se asemeja con los valores de Mancini et al. (2019) que fue de 17,98%, (Oonincx et al., 2015) con 17,5 %, y Costa et al. (2020) con 17.4 –22.0%. El contenido de proteína de la carne de res, cerdo y ave de corral tiene valores cercanos a los que se alcanzaron, a veces incluso son inferiores (Costa et al., 2020; Hong et al., 2020).

En cuanto al porcentaje de grasa cruda se obtuvo un rango del 24,5 – 32%, siendo el tratamiento 10 (60 g cáscaras de remolacha con 75 g Harina de trigo y 25 g harina de maíz) y

11 (60 g apio pasado con 75 g Harina de trigo y 25 g harina de maíz) los que poseyeron mayor concentración. Estos valores de grasa bruta adquiridos se encuentran en el rango de otros estudios como el de Oonincx et al. (2015) con 23,6 – 30,9%, van Broekhoven et al. (2015) con 18,9 – 26,3% y Hong et al. (2020) con 19,1% a 36,7%. Las larvas con mayor contenido de grasa bruta fueron alimentadas con dietas ricas en carbohidratos y lípidos (Oonincx et al., 2015), y está influenciada por la cantidad de agua de la mismas; esto se corroboró al ver un alto grado de correlación entre el % de humedad y el porcentaje de grasa bruta.

Por último, los porcentajes de grasa cruda para las larvas de *T. molitor* L. fueron mayores que los de la harina de soja (1,4%) y la harina de pescado (10,4%) informados por el Consejo Nacional de investigación (NRC) de Estados Unidos (2012).

Continuando con el siguiente parámetro que fue el porcentaje de humedad, las muestras de todos los ensayos variaron entre el 51,75 – 58% en donde todos los tratamientos contaron con sustrato húmedo. En el estudio de Kröncke & Benning (2022) el contenido de humedad de las larvas de *T. molitor* varió entre el  $60,8 \pm 0,1$  y el  $72,9 \pm 0,5\%$  y fue significativamente menor ( $p < 0,05$ ) en los grupos A y C que no tenían fuente de agua. Esta diferencia se puede deber a que sus dietas no fueron a base de subproductos, sino salvado de trigo (sustrato seco) y zanahoria (sustrato húmedo al 75 y 50% de humedad). Nuestro grupo control fue alimentado con esta misma dieta, pero a diferentes proporciones (62,5 % sustrato seco y 37,5% húmedo) por lo que el porcentaje de humedad varió a ~ 51,679%.

Los porcentajes de cenizas fueron entre 0,991 y 3,726%, con la mayor cantidad cuantificada en las larvas alimentadas con la dieta o tratamiento 3 (60 g apio pasado con 25 g Harina de trigo y 75 g harina de maíz). Bordiean et al. (2022) alcanzaron datos entre 4,16 – 7,33, con dietas a base pan molido y salvado de trigo, así como Riaz et al. (2023)~7,71% con la misma dieta.

La cantidad de cenizas también expuso correlación con el pH, a mayor contenido de cenizas mayor valor del pH, esto podría inferir en que los escarabajos tendrían altos valores en

oligoelementos como calcio, magnesio y potasio (ceniza básica) (Molnár et al., 2022). Se cree que la ceniza ácida aumenta el riesgo de sufrir enfermedades, mientras que una ceniza alcalina se considera protectora, ya que reduce la morbilidad y la mortalidad de enfermedades crónicas (Schwalfenberg, 2012).

Finalmente, el pH de las larvas estuvo entre 3,887 y 6,157. Los tratamientos que incluían el sustrato húmedo 2 (cáscaras de nabo) poseían pH más ácidos, y eventualmente, durante la fase de experimentación eran los que más se contaminaban. Song et al. (2021) obtuvo un pH ~5,6 a lo que le atribuían propiedades coagulantes importantes para la industria alimentaria, y la digestibilidad animal.

### **Análisis microbiológico**

Acorde al Servicio Ecuatoriano de Normalización – INEN (1999) y la Comisión de la Unión Europea (2021) las concentraciones de unidades formadoras de colonias por mL (UFC/mL) encontradas en los análisis microbiológicos (aerobios mesófilos, mohos, Coliformes totales y *E. coli*) de los tratamientos 3 (60 de apio pasado con harina de trigo (75%) y harina de maíz (25%)), 7 (60 de cáscaras de nabo con harina de trigo (75%) y harina de maíz (25%)) y 11 (60 de cáscaras de remolacha con harina de trigo (75%) y harina de maíz (25%)) de este estudio no representan riesgos (<100 UFC/mL) y son permisibles para el consumo humano (EUR-Lex, 2022).

## Capítulo VI: Conclusiones

Se determinó el grado de bioconversión de *Tenebrio molitor* L. criado bajo condiciones ex situ con dietas a base de subproductos orgánicos domésticos a través de la tasa de bioconversión y tasa de supervivencia, evidenciando valores más eficientes que la de estudios previos y por lejos, demostrando ser más eficaz que la carne de origen bovino, porcino y aviar.

Se caracterizó bromatológicamente a *Tenebrio molitor* L. en estado larvario bajo condiciones ex situ mediante valoración de proteína total, grasa cruda, pH, cenizas, y humedad, mostrando una tabla nutricional más alta que la de carne de origen bovino, porcino y aviar, especialmente en valor proteico.

Se demostró la influencia de los sustratos húmedos y secos de las dietas para *T. molitor* L. sobre el crecimiento, desarrollo, y contenido nutricional del insecto; siendo de los pocos estudios que cuantifican el nivel de importancia de la composición seca y húmeda de las dietas a base de residuos orgánicos domésticos (van Broekhoven et al. 2015) por lo que esta investigación es un importante referente para la nutrición entomológica.

Ningún tratamiento (dieta) representó un riesgo para la crianza de *T. molitor* L según los datos de supervivencia (>88%), y todos se desarrollaron en un periodo de tiempo más corto a la de estudios previos con las mismas condiciones.

La dieta compuesta por 60 g cáscaras de remolacha con 75 g Harina de trigo y 25 g harina de maíz (tratamiento 11) obtuvo valores más eficientes y beneficiosos para la crianza, desarrollo y valor nutricional del gusano de la harina amarillo.

Se analizaron los parámetros microbiológicos de *Tenebrio molitor* L. en larva criado ex situ mediante la técnica de recuento en medios de cultivo, estableciendo que todos los tratamientos producen extractos de *T. molitor* L. permisibles para el consumo humano.

Aunque el tratamiento 11 mostró ser el más eficiente, los tratamientos 3 (60 de apio pasado con harina de trigo (75%) y harina de maíz (25%)), y 7 (60 de cáscaras de nabo con

harina de trigo (75%) y harina de maíz (25%)) también generan larvas de *T. molitor* L. que se pueden producir eficientemente para el consumo humano.

Finalmente, se ha demostrado que la harina a base de *T. molitor* L. representa una de las principales fuentes de super alimentos del futuro, que promueve una industria alimentaria sustentable que promueve el reuso de residuos domésticos a base de la bioeconomía, y mostraría mayor rentabilidad en comparación a las fuentes de consumo convencional como el sector bovino, porcino, acuícola y aviar

## Capítulo VII: Recomendaciones

Utilizar el tratamiento 11 (60 g cáscaras de remolacha con 75 g Harina de trigo y 25 g harina de maíz) para pruebas de manufactura de *Tenebrio molitor* L a mayor escala, ya que la utilización de dietas de bajo costo como las diseñadas en este estudio podrían representar una alta tasa de rentabilidad en el sector alimentario animal y humano.

Testear el tratamiento 11 (60 g de cáscaras de remolacha con 75 g Harina de trigo más 25 g harina de maíz) combinado con sustratos húmedos de otros tratamientos que obtuvieron mayor incremento en peso, y % de cenizas, para mejorar su rendimiento.

Testear el tratamiento 11 frente a variaciones de altitud, con el objetivo de probar si esta dieta es funcional para distintas regiones del país.

Los tratamientos compuestos por el sustrato húmedo 2 (cáscaras de nabo) combinados con todos los tipos de sustrato seco eran propensos a contaminarse, lo que pudo bajar su eficiencia de bioconversión, crecimiento y desarrollo por lo que se podría sustituir este sustrato húmedo por otro tipo de cáscaras de alguna leguminosa rica en almidón para incrementar su rendimiento.

Analizar, adicionalmente otros parámetros durante el crecimiento y desarrollo de *T. molitor* L. que puedan influir en la eficiencia de producción, como edad, medición volumétrica de las larvas, secuenciación de la microbiota, etc.

## Referencias

- Argueta Leonardo, & Ramos Glenda. (2013). *Argueta & Ramos, 2013*.
- Artigas, J. (1994). Entomología económica: Insectos de interés agrícola, forestal, médico y veterinario (nativos, introducidos y susceptibles de ser introducidos). In *Rev. Sociedad Entomológica de Argentina* (2da ed., Vol. 1). Universidad de Concepción.
- Association of Official Agricultural Chemists - AOAC. (2023). Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. In *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL* (22nd ed.). Oxford University Press New York.  
<https://doi.org/10.1093/9780197610145.001.0001>
- Azagoh, C., Hubert, A., & Mezdour, S. (2015). Insect biorefinery in Europe: “DESIGNING the Insect bioRefinery to contribute to a more sustainABLE agro-food industry”. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1(2), 159–168. <https://doi.org/10.3920/JIFF2014.0009>
- Barbosa, L. (2021). Enhanced Reader. *Journal of Insect Science*, 21(1), 1–1.
- Barragan, Á., Dangles, O., Cardenas, R., & Onore, G. (2009). The History of Entomology in Ecuador. *Annales de La Société Entomologique de France (N.S.)*, 45(4), 410–423.  
<https://doi.org/10.1080/00379271.2009.10697626>
- Bermúdez-Serrano, I. M. (2020). Challenges and opportunities for the development of an edible insect food industry in Latin America. *Journal of Insects as Food and Feed*, 6(5), 537–556.  
<https://doi.org/10.3920/JIFF2020.0009>
- Bodenheimer, F. S. (1951). *Insect Consumption from Pre-History to the Present day* (F. S. Bodenheimer, Ed.; 1st ed., pp. 7–8). Springer Dordrecht.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-94-017-6159-8>
- Bordiean, A., Krzyżaniak, M., Aljewicz, M., & Stolarski, M. J. (2022). Influence of Different Diets on Growth and Nutritional Composition of Yellow Mealworm. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11(19). <https://doi.org/10.3390/FOODS11193075>

- Boulos, S., Tännler, A., & Nyström, L. (2020). Nitrogen-to-Protein Conversion Factors for Edible Insects on the Swiss Market: *T. molitor*, *A. domesticus*, and *L. migratoria*. *Frontiers in Nutrition*, 7, 89. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2020.00089>
- Bukkens, S. G. F. (1997). The nutritional value of edible insects. *Ecology of Food Nutrition*, 36(2–4), 287–319. <https://doi.org/10.1080/03670244.1997.9991521>
- Castillo-Flores, C. (2012). *Evaluación de materia seca total para la estimación de la cantidad agua libre en diferentes alimentos* [Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro]. <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/505/62338s.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Costa, S., Pedro, S., Lourenço, H., Batista, I., Teixeira, B., Bandarra, N. M., Murta, D., Nunes, R., & Pires, C. (2020). Evaluation of *Tenebrio molitor* larvae as an alternative food source. *NFS Journal*, 21, 57–64. <https://doi.org/10.1016/J.NFS.2020.10.001>
- Costa-Neto, E. M. (2004). Estudos etnoentomológicos no estado da Bahia, Brasil: uma homenagem aos 50 anos do campo de pesquisa. *Biotemas*, 17(1), 117–149.
- Costa-Neto, E. M. C., & Ramos-Elorduy, J. (2006). Los Insectos Comestibles de Brasil: Etnicidad, Diversidad e Importancia en la Alimentación. *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa*, 38, 423–442.
- Csiro. (2021). *Edible insects A roadmap for the strategic growth of an emerging Australian industry*. <https://research.csiro.au/edibleinsects>
- Dreassi, E., Cito, A., Zanfini, A., Materozzi, L., Botta, M., & Francardi, V. (2017). Dietary fatty acids influence the growth and fatty acid composition of the yellow mealworm *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Lipids*, 52(3), 285–294. <https://doi.org/10.1007/s11745-016-4220-3>
- Durst, P. B., & Shono, K. (2010). Edible forest insects: Exploring new horizons and traditional practices. In *Forest insects as food: humans bite back* FAO Regional Office for Asia and

- the Pacific* (pp. 1–4). Food and Agriculture Organization of the United Nations, Regional Office for Asia and the Pacific.
- Espinosa, A., Hidalgo, A., & Mayorga, E. (2019). Valor nutricional y caracterización de los ácidos grasos del Chontacuro *Rhynchophorus palmarum* L. *InfoANALÍTICA* 8(1). 127-139. doi: 10.26807/ia.v8i1.122
- EUR-Lex, C. E. (2022). *REGLAMENTO DE EJECUCIÓN (UE) 2022/169 DE LA COMISIÓN*. [https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/ALL/?uri=uriserv:OJ.L\\_.2022.028.01.0010.01.SPA](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/ALL/?uri=uriserv:OJ.L_.2022.028.01.0010.01.SPA)
- European Environment Agency - EEA. (s.f.). *CHM Biodiversity: Glossary*. <https://www.eea.europa.eu/help/glossary/chm-biodiversity/bioconversion>
- FAO. (2008). *El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo 2008: los precios elevados de los alimentos y la seguridad alimentaria; amenazas y oportunidades*. <http://www.oda-alc.org/documentos/1307477716.pdf>
- FAO. (2013). *La contribución de los insectos a la seguridad alimentaria, los medios de vida y el medio ambiente*. <https://www.fao.org/3/i3264s/i3264s00.pdf>
- FAO. (14 enero 2014). *Insects for food and feed: Nutrition*. <http://www.fao.org/edible-insects/84625/en/>
- FAO. (2020). *Food control systems*. <https://www.fao.org/food-safety/food-control-systems/en/>
- FAO. (2021). *Looking at edible insects from a food safety perspective*. <https://doi.org/10.4060/cb4094en>
- FAO, IFAD, UNICEF, WFP, & WHO. (2023). *The State of Food Security and Nutrition in the World 2023. Urbanization, agrifood systems transformation and healthy diets across the rural–urban continuum*. <https://doi.org/10.4060/cc3017en>
- Finke, M. D. (2002). Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biology*, 21(3), 269–285. <https://doi.org/10.1002/zoo.10031>

- Finke M.D. (2008) Nutrient Content of Insects. In: Capinera J.L. (eds) *Encyclopedia of Entomology*. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6359-6\\_2274](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6359-6_2274)
- Finke, M. D. (2013). Complete nutrient content of four species of feeder insects. *Zoo Biology*, 32(1), 27–36. <https://doi.org/10.1002/ZOO.21012>
- Fowles, T. M., & Nansen, C. (2019). Insect-based bioconversion: Value from food waste. In *Food Waste Management: Solving the Wicked Problem* (pp. 321–346). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-20561-4\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-030-20561-4_12)
- Gahukar, R. T. (2011). Entomophagy and human food security. *International Journal of Tropical Insect Science*, 31(3), 129–144. <https://doi.org/10.1017/S1742758411000257>
- Global Nutrition Report. (2020). Action on equity to end malnutrition. In *Global Nutrition Report* (Issue June). [http://www.segeplan.gob.gt/2.0/index.php?option=com\\_content&view=article&id=472&Itemid=472](http://www.segeplan.gob.gt/2.0/index.php?option=com_content&view=article&id=472&Itemid=472)
- Grau, T., Vilcinskis, A., & Joop, G. (2017). Sustainable farming of the mealworm *Tenebrio molitor* for the production of food and feed. In *Zeitschrift für Naturforschung - Section C Journal of Biosciences* (Vol. 72, Issues 9–10, pp. 337–349). Walter de Gruyter GmbH. <https://doi.org/10.1515/znc-2017-0033>
- Greenfield, H., & Southgate, D. A. T. (2003). Chapter 7: Review of methods of analysis. In B.A. Burlingame & U.R. Charrondiere (Eds.), *Food composition data PRODUCTION, MANAGEMENT AND USE* (pp. 207–245). FAO. <https://www.fao.org/3/y4705e/Y4705E00.htm>
- Harikumar, S., Helwig, A., & Banhazi, T. M. (2018a). *Converting Food Waste to animal nutrition using black soldier fly* [University of Southern Queensland]. <https://www.researchgate.net/publication/328551486>
- Harsányi, E., Juhász, C., Kovács, E., Huzsvai, L., Pintér, R., Fekete, G., Varga, Z. I., Aleksza, L., & Gyuricza, C. (2020a). Evaluation of organic wastes as substrates for rearing

- Zophobas morio*, *Tenebrio molitor*, and *Acheta domesticus* larvae as alternative feed supplements. *Insects*, 11(9), 1–18. <https://doi.org/10.3390/insects11090604>
- Hoffmann, K. H. (2017). Insect biotechnology – a major challenge in the 21st century. *Zeitschrift Für Naturforschung C.*, 72(9-10), 335–336. doi:10.1515/znc-2017-0145
- Holland, J. (14 mayo del 2013). *U.N. Urges Eating Insects; 8 Popular Bugs to Try*. National Geographic. <https://www.nationalgeographic.com/animals/article/130514-edible-insects-entomophagy-science-food-bugs-beetles>
- Hong, J., Han, T., & Kim, Y. Y. (2020). Mealworm (*Tenebrio molitor* Larvae) as an Alternative Protein Source for Monogastric Animal: A Review. *Animals : An Open Access Journal from MDPI*, 10(11), 1–20. <https://doi.org/10.3390/ANI10112068>
- Hou, Y., Yin, Y., & Wu, G. (2015). Dietary essentiality of “nutritionally non-essential amino acids” for animals and humans. *Experimental Biology and Medicine*, 240(8), 997. <https://doi.org/10.1177/1535370215587913>
- Húngaro, H. M., Peña, W. E. L., Silva, N. B. M., Carvalho, R. V., Alvarenga, V. O., & Sant’Ana, A. S. (2014). Food Microbiology. In *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems* (pp. 213–231). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52512-3.00059-0>
- Integrated Taxonomic Information System – ITIS. (2002). *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758. <https://www.usgs.gov/products/web-tools/apis>
- Intriago, T., & Valencia, Y. (2014). *Determinación de Antocianinas y valor nutricional de los Tenebrios (Tenebrio molitor) alimentados con dietas enriquecidas con maíz morado (Zea mays L.)* [Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito]. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/7261/1/QT06033.pdf>
- Jongema, Y. (2017). *Worldwide list of recorded edible insects word*. <https://www.wur.nl/en/research-results/chair-groups/plant-sciences/laboratory-of-entomology/edible-insects/worldwide-species-list.htm>

- Kim, S. Y., Kim, H. G., Lee, K. Y., Yoon, H. J., & Kim, N. J. (2016). Effects of Brewer's spent grain (BSG) on larval growth of mealworms, *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *International Journal of Industrial Entomology*, 32(1), 41–48.  
<https://doi.org/10.7852/ijie.2016.32.1.41>
- Kouřimská, L., & Adámková, A. (2016). Nutritional and sensory quality of edible insects. *Society of Nutrition and Food Journal*, 4, 22–26. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2016.07.001>
- Kröncke, N., & Benning, R. (2022). Determination of Moisture and Protein Content in Living Mealworm Larvae (*Tenebrio molitor* L.) Using Near-Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS). *Insects*, 13(6). <https://doi.org/10.3390/insects13060560>
- Lawal, K. G., Kavle, R. R., Akanbi, T. O., Miroso, M., & Agyei, D. (2021). Enrichment in specific fatty acids profile of *Tenebrio molitor* and *Hermetia illucens* larvae through feeding. *Future Foods*, 3. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100016>
- Lee, H. J., Yong, H. I., Kim, M., Choi, Y. S., & Jo, C. (2020). Status of meat alternatives and their potential role in the future meat market - A review. In *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* (Vol. 33, Issue 10, pp. 1533–1543). Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. <https://doi.org/10.5713/ajas.20.0419>
- Lee, J. H., Kim, T. K., Jeong, C. H., Yong, H. I., Cha, J. Y., Kim, B. K., & Choi, Y. S. (2021). Biological activity and processing technologies of edible insects: a review. *Food Science and Biotechnology*, 30(8), 1003–1023. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s10068-021-00942-8>
- Lesnik, J. J. (2014). *Entomophagy and Evolution: Eating Insects Past, Present and Future*. Wayne State University.
- Lim, X. (2022). *Bugs and the Future of Meat*. American Chemical Society.  
<https://www.acs.org/content/dam/acsorg/education/resources/highschool/chemmatters/issues/2021-2022/april-2022/bugs-future-of-meat.pdf>
- Linsley-Gressitt, J. (2020). *Coleopteran*. <https://www.britannica.com/animal/beetle/Importance>

- Loveday, S. M. (2019). Food Proteins: Technological, Nutritional, and Sustainability Attributes of Traditional and Emerging Proteins. *Annual Review of Food Science and Technology*, 10, 311–339. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032818>
- Luna Munoz, Z. (2019). *Determinación de humedad en alimentos, balance de materia y energía, costos de calidad* [Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa]. <https://repositorio.unsa.edu.pe/items/00037047-529a-4401-8682-d3fdb9de9255>
- Mancini, S., Fratini, F., Turchi, B., Mattioli, S., Dal Bosco, A., Tuccinardi, T., Nozic, S., & Paci, G. (2019). Former Foodstuff Products in *Tenebrio Molitor* Rearing: Effects on Growth, Chemical Composition, Microbiological Load, and Antioxidant Status. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 9, 484–496. <https://doi.org/10.3390/ani9080484>
- Mariod, A. A., Saeed Mirghani, M. E., & Hussein, I. (2017). *Tenebrio molitor* Mealworm. In *Unconventional Oilseeds and Oil Sources* (pp. 331–336). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809435-8.00050-0>
- Medrano, L. (2019). *Larvas de gusano de harina (Tenebrio molitor) como alternativa proteica en la alimentación animal* [Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD]. [https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/28001/lcmedranov.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=Son%20ricos%20en%20proteínas%20\(47,animales%20de%20bajo%20valor%20nutritivo.](https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/28001/lcmedranov.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=Son%20ricos%20en%20proteínas%20(47,animales%20de%20bajo%20valor%20nutritivo.)
- Melic, A. (2003). De los jeroglíficos a los tebeos: Los artrópodos en la cultura. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, 32, 325-357.
- Meyer-Rochow, V. B. (1975). Can insects help to ease the problem of world food shortage? *Search*, 6(7), 261–262.
- Molnár, Á., Odunayo Abigeal, T., & Fehér, M. (2022). Investigation of the production parameters, nutrient and mineral composition of mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae grown on different substrates. *Acta Agraria Debreceniensis*, 1, 129–133. <https://doi.org/10.34101/actaagrar/1/10418>

Moore, S. (2020). *Why is Moisture Content Analysis of Food Important?* New Medical.

<https://www.news-medical.net/life-sciences/Why-is-Moisture-Content-Analysis-of-Food-Important.aspx>

Morales Quintana, J. F. (2021). *Biotransformación de residuos orgánicos a partir del manejo ex situ de Hermetia illucens (L., 1758) (Diptera: Stratiomyidae) como una alternativa para la gestión sostenible de los desechos sólidos en el Distrito Metropolitano de Quito*

[Universidad Central del Ecuador].

<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/23015/1/UCE-FCB-MORALES%20JONNATHAN.pdf>

Morán, M. C., & Nogales, M. J. (2019). *Estudio de Aflatoxinas en dos variedades de maní (Arachis hypogaea L.) INIAP-381 Rosita e INIAP-382 Caramelo mediante Análisis*

*bromatológicos en la cadena agroalimentaria.* [Universidad de las Fuerzas Armadas –

ESPE]. <http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/handle/21000/21408>

National Research Council (U.S.). (2001). *Dietary reference intakes : proposed definition of dietary fiber.* National Academy Press.

Nowakowski, A. C., Miller, A. C., Miller, M. E., Xiao, H., & Wu, X. (2022). Potential health benefits of edible insects. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 62, Issue 13, pp. 3499–3508). Taylor and Francis Ltd.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1867053>

NTE INEN. (1999). *Norma Técnica Ecuatoriana Nte Inen 1 529-2:99: Control Microbiológico De Los Alimentos Toma, Envío Y Preparación De Muestras Para El Análisis Microbiológico.*

Offenberg, J. (2011). Oecophylla smaragdina food conversion efficiency: Prospects for ant farming. *Journal of Applied Entomology*, 135(8), 575–581. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2010.01588.x>

- Ojha, S., Bußler, S., & Schlüter, O. K. (2020). Food waste valorisation and circular economy concepts in insect production and processing. In *Waste Management* (Vol. 118, pp. 600–609). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.09.010>
- Onore, G. (1997). A brief note on edible insects in Ecuador. *Ecology of Food Nutrition*, 36(2–4), 277–285. <https://doi.org/10.1080/03670244.1997.9991520>
- ONU. (2019, June 17). *Desafíos Globales Población*. <https://www.un.org/es/global-issues/population#:~:text=Est>
- ONU Ecuador. (2022). *Juntos llegamos más lejos: la ONU en Ecuador, trabajando contra la desnutrición crónica infantil*. <https://ecuador.un.org/es/213134-juntos-llegamos-m%C3%A1s-lejos-la-onu-en-ecuador-trabajando-contra-la-desnutrici%C3%B3n-cr%C3%B3nica>
- Oonincx, D. G. A. B., & Finke, M. D. (2020). Nutritional value of insects and ways to manipulate their composition. *Journal of Insects as Food and Feed*, 7(5), 639–659. <https://doi.org/10.3920/JIFF2020.0050>
- Oonincx, D. G. A. B., Van Broekhoven, S., Van Huis, A., & Van Loon, J. J. A. (2015). Feed conversion, survival and development, and composition of four insect species on diets composed of food by-products. *PLoS ONE*, 10(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144601>
- Ortega, B. & González, K. (2019). *El cultivo del gusano de harina (Tenebrio molitor) como herramienta didáctica para disminuir el impacto ambiental del uso del poliestireno expandido (EPS) potenciando el uso del abono orgánico producto de su biodegradación con estudiantes de 6° de la institución educativa Alfonso Builes Correa*. [Universidad de Córdoba]. <https://repositorio.unicordoba.edu.co/handle/ucordoba/2997>
- Palma, L., Fernandez-Bayo, J., Niemeier, D., Pitesky, M., & Vandergheynst, J. S. (2019). Managing high fiber food waste for the cultivation of black soldier fly larvae. *Npj Science of Food*, 15. <https://doi.org/10.1038/s41538-019-0047-7>

- Pico - Puma, J., Sarabia, D., Sancho, D., Pintado, P., Saravia, D., & Landivar, D. (2020). Evaluation of the quality of larval proteins of *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera curculionidae), through the calculation of chemical score of proteins. *La Técnica: Rev. de Las Agrociencias*, 24, 73–86.
- Ponce-Reyes, R., & Lessard, B. D. (2021). *Edible insects: A roadmap for the strategic growth of an emerging Australian industry*. <https://research.csiro.au/edibleinsects>
- Public Health England. (2020). *Determination of pH in food and water samples: Food Water and Environmental Microbiology Standard Method*.  
[https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/867410/Determination\\_of\\_pH\\_in\\_food\\_and\\_water\\_samples.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/867410/Determination_of_pH_in_food_and_water_samples.pdf)
- Ramos-Elorduy, J. (1997). Insects: A sustainable source of food? *Ecology of Food Nutrition*, 36(2–4), 247–276. <https://doi.org/10.1080/03670244.1997.9991519>
- Ramos-Elorduy, J. (2009). Anthro-entomophagy: Cultures, evolution and sustainability. *Entomological Research*, 39(5), 271–288. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5967.2009.00238.x>
- Riaz, K., Iqbal, T., Khan, S., Usman, A., Al-Ghamdi, M. S., Shami, A., El Hadi Mohamed, R. A., Almadiy, A. A., Al Galil, F. M. A., Alfuhaid, N. A., Ahmed, N., & Alam, P. (2023). Growth Optimization and Rearing of Mealworm (*Tenebrio molitor* L.) as a Sustainable Food Source. *Foods*, 12(9). <https://doi.org/10.3390/foods12091891>
- Romero, P. (s.f.). *Escarabajo molinero Tenebrio molitor*.  
<https://animalandia.educa.madrid.org/ficha-taxonomica.php?id=613&nivel=Clase&nombre=Insecta>
- Sánchez M. 2015. ¿Le apuestan los sistemas de manejo de residuos sólidos en el mundo al Desarrollo Sostenible?. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (1). 445-450

- Schwalfenberg, G. K. (2012). The alkaline diet: Is there evidence that an alkaline pH diet benefits health? *Journal of Environmental and Public Health*.  
<https://doi.org/10.1155/2012/727630>
- Shibao, H., Kutsukake, M., Matsuyama, S., & Fukatsu, T. (2022). Linoleic acid as corpse recognition signal in a social aphid. *Zoological Letters*, 8(1).  
<https://doi.org/10.1186/s40851-021-00184-w>
- Smith, A. B. T., & Paucar, A. C. (2000). Taxonomic review of *Platycoelia lutescens* (Scarabaeidae: Rutelinae: Anoplognathini) and a description of its use as food by the people of the Ecuadorian highlands. *Annals of the Entomological Society of America*, 93(3), 408–414. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2000\)093\[0408:TROPLS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2000)093[0408:TROPLS]2.0.CO;2)
- Smithsonian. (2020). *Numbers of Insects (Species and Individuals)*.  
<https://www.si.edu/spotlight/buginfo/bugnos>
- Song, Z., Zhang, Y., Wen, P., Wang, Y., Qiao, H., Zhang, W., y Zhang, W. (2021). Effect of pH on the coagulation properties of *Tenebrio molitor* coagulant. *Food Science + Technology* 3(57), pg. 1630 – 1643. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15525>
- UNICEF. (2020). *Desnutrición Crónica Infantil: Uno de los mayores problemas de salud pública en Ecuador*. <https://www.unicef.org/ecuador/desnutrici%C3%B3n-cr%C3%B3nica-infantil>
- van Broekhoven, S., Oonincx, D. G. A. B., van Huis, A., & van Loon, J. J. A. (2015). Growth performance and feed conversion efficiency of three edible mealworm species (Coleoptera: Tenebrionidae) on diets composed of organic by-products. *Journal of Insect Physiology*, 73, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2014.12.005>
- van Huis, A. (2013). Potential of insects as food and feed in assuring food security. In *Annual Review of Entomology* (Vol. 58, pp. 563–583). <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153704>
- van Huis, A. (2016). Edible insects are the future? *Proceedings of the Nutrition Society*, 75(3), 294–305. <https://doi.org/10.1017/S0029665116000069>

- van Huis, A., & Oonincx, D. G. A. B. (2017). The environmental sustainability of insects as food and feed. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 37(5).  
<https://doi.org/10.1007/s13593-017-0452-8>
- Van Peer, M., Froominckx, L., Coudron, C., Berrens, S., Álvarez, C., Deruytter, D., Verheyen, G., Van Miert, S., Savoldelli, S., & Spranghers, T. (2021). Valorisation Potential of using Organic side streams as feed for *Tenebrio molitor*, *Acheta domesticus* and *Locusta migratoria*. *Insects Access from MDPI*, 12(9), 796–800. <https://doi.org/10.3390/insects>
- Varelas, V. (2019). Food wastes as a potential new source for edible insect mass production for food and feed: A review. In *Fermentation* (Vol. 5, Issue 3). MDPI AG.  
<https://doi.org/10.3390/fermentation5030081>
- Velasteguí C., C., Batallas Z., K., Hidalgo A., A., & Mayorga LI., E. (2020). Determinación Proximal de los Componentes Nutricionales y Caracterización del tipo de ácidos grasos en el contenido lipídico del Catzo (*Platycoelia lutescens*). *InfoANALÍTICA*, 8(1), 113–125.  
<https://doi.org/10.26807/ia.v8i1.120>
- Wiemann, J., Menéndez, I., Crawford, J. M., Fabbri, M., Gauthier, J. A., Hull, P. M., Norell, M. A., & Briggs, D. E. G. (2022). Fossil biomolecules reveal an avian metabolism in the ancestral dinosaur. *Nature*, 606(7914), 522–526. <https://doi.org/10.1038/S41586-022-04770-6>
- XiaoMing, Ch., Ying, F., Hong, Z., & ZhiYong, Ch. (2008). Review of the nutritive value of edible insects. In Durst, P., Johnson, J., Leslie, R. & Shono, K. *Forest insects as food: humans bite back*, FAO. 85-92.

## Apéndice