



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA EN
ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA



CARRERA DE ALIMENTOS

Análisis de los concentrados proteicos de la Hormiga Santandereana
(*Atta laevigata*)

Informe final de Integración Curricular, Modalidad Proyecto de Investigación,
Previo a la Obtención del Título de Ingeniero en Alimentos, Otorgado por la
Universidad Técnica de Ambato, a Través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería
en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Edgar Gabriel Romero Ortiz

Tutor: PhD. Rubén Darío Vilcacundo Chamorro.

Ambato – Ecuador

Marzo – 2023

APROBACIÓN DEL TUTOR

Ing. Rubén Darío Vilcacundo Chamorro, PhD.

CERTIFICA:

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

Ambato, 14 de febrero del 2023

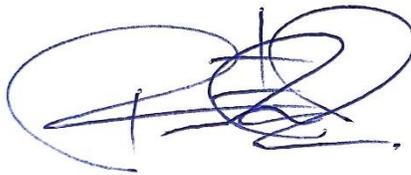
Ing. Rubén Darío Vilcacundo Chamorro PhD.

C.I. 1802738102

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Edgar Gabriel Romero Ortiz, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final de Integración Curricular, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingenieros en Alimentos son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Edgar Gabriel Romero Ortiz

1400876965

AUTOR

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO

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

Para constancia firman:

Presidente del Tribunal

PhD. Mario Daniel García Solís

1103605471

PhD. Irvin Ricardo Tubon Usca

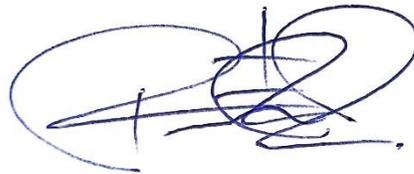
0604250357

Ambato, 07 marzo del 2023

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final de Integración Curricular o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y proceso de investigación según las normas de la Institución.

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



Edgar Gabriel Romero Ortiz

1400876965

AUTOR

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación está dedicado para mi familia.

A mis padres Edgar y María por ser los mejores guías de mi vida.

A mis hermanos Andrés y Jairo por el ejemplo de dedicación y persistencia.

A mis abuelitos paternos y maternos por todo el amor y cariño.

A mis sobrinos Antuan y Elián por toda la felicidad que me han dado.

Edgar Gabriel Romero Ortiz

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica de Ambato y mediante esta, a la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimento y Biotecnología por brindarme la oportunidad de formarme profesionalmente y culminar con esta aspiración académica.

A los docentes que me han acompañado y brindado sus conocimientos durante toda mi estancia en la carrera.

A mi familia por todo el cariño, amor y confianza en especial a mis padres por ser el pilar fundamental durante toda mi vida, apoyarme en todo momento, sacrificar tanto por mí y ser toda la motivación para lograr lo que me propongo alcanzar.

A Mily, por ser mi fiel acompañante durante toda esta travesía, creer en mí, darme ánimos para continuar, ayudarme tanto como hacía falta y darme el apoyo que tanto necesité en esos momentos difíciles.

A Beto, porque algún día nos propusimos culminar con nuestros estudios iguales, fuiste el mejor amigo que alguien pudo tener y ahora eres una motivación más para alcanzar mis metas.

Un agradecimiento especial al PhD. Rubén Vilcacundo quien fue mi tutor y guía fundamental en el desarrollo de mi trabajo de titulación con sus ideas, saberes, tiempo y dedicación.

Edgar Gabriel Romero Ortiz

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	iii
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO	iv
DERECHOS DE AUTOR	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS	viii
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE ANEXOS	xvi
RESUMEN	xvii
ABSTRACT	xviii

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO	1
1.1. TEMA DE INVESTIGACIÓN	1
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	1
1.3. OBJETIVOS.....	2
1.3.1. Objetivo General	2
1.3.2. Objetivos Específicos.....	2
1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	2
1.5. HIPÓTESIS	3
1.5.1. Hipótesis Nula.....	3
1.5.2. Hipótesis Alternativa.....	3
1.6. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	3
1.6.1. Orden Himenóptero.....	4
1.6.2. Género Atta	4
1.6.2.1. Organización social.....	5
1.6.2.2. Importancia	7
1.6.3. Hormigas cortadoras como plaga.....	7

1.6.4.	Entomofagia	8
1.6.5.	Harina	9
1.6.6.	Proteína de insectos.....	9
1.6.7.	Concentrados proteicos	10
1.6.8.	Extracción de proteína purificada (pHs)	10
1.6.8.1.	Punto Isoeléctrico (PI)	11
1.6.9.	Rendimiento porcentual	11
1.6.10.	Determinación de proteína	12
1.6.11.	Caracterización	12

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA	13
2.1. MATERIALES.....	13
2.1.1. MATERIA PRIMA.....	13
2.1.2. REACTIVOS	13
2.1.3. MATERIAL FUNGIBLE	14
2.1.4. EQUIPOS.....	15
2.2. MÉTODOS.....	15
2.2.1. Obtención de la materia prima (harina de hormiga)	15
2.2.2. Obtención de los concentrados proteicos a partir de la harina de hormigas Santandereanas (<i>Atta laevigata</i>).....	16
2.2.3. Diseño experimental.....	16
2.2.4. Determinación de Proteína por el método Dumas	17
2.2.5. Caracterización de los concentrados proteicos en condiciones reductoras y no reductoras	19

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
3.1. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE DATOS.....	22
3.1.1. Obtención de concentrados proteicos de la harina de Hormiga Santandereano (<i>Atta laevigata</i>) y rendimiento.....	22

3.1.2. Cuantificación de proteína de los concentrados proteicos de Hormigas Santandereanas.....	26
3.1.3. Caracterización de los concentrados proteicos de Hormigas Santandereanas por la técnica de Electroforesis SDS-PAGE	30
3.2. Verificación de hipótesis	34
 CAPÍTULO IV	
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	35
4.1. CONCLUSIONES.....	35
4.2. RECOMENDACIONES	36
 5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
6. ANEXOS.....	42

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diseño factorial A*B completamente al azar.....	17
Tabla 2. Porcentaje de rendimiento de los concentrados proteicos de Hormigas Santandereanas a diferentes valores de pHs de solubilización y precipitación.	23
Tabla 3. Datos obtenidos del equipo en el análisis de la cuantificación de proteína del concentrado proteico de la harina de Hormiga Santandereana, evaluados por el método Dumas.	26
Tabla 4. Porcentaje de Proteína de los concentrados proteicos de Hormigas Santandereanas a diferentes valores de pHs de solubilización y precipitación, evaluados por el método Dumas.	27
Tabla 5. Datos obtenidos del equipo en la caracterización del concentrado proteico de la harina de Hormiga Santandereana, evaluados por el método SDS-PAGE.	31
Tabla 6. Datos obtenidos para la precipitación isoeléctrica de la harina de Hormigas Santandereanas.	75
Tabla 7. Datos de muestras liofilizadas de concentrados proteicos obtenidos a diferentes valores de pHs de solubilización y precipitación.	75
Tabla 8. Resumen Estadístico para el % Rendimiento de los concentrados proteicos de la harina de Hormiga Santandereana por cada 25 g de muestra.	76
Tabla 9. ANOVA para el % de Rendimiento por Tratamiento.	76
Tabla 10. Prueba de rangos múltiples para el % de Rendimiento por Factor A.	76
Tabla 11. Prueba de rangos múltiples para el % de Rendimiento por Factor B.	76
Tabla 12. Prueba de Múltiples Rangos Tukey para % de Rendimiento por Tratamientos.	77
Tabla 13. Resumen estadístico de la cuantificación del % de Proteína de los concentrados proteicos de la harina de Hormiga Santandereana, evaluados por el método Dumas.	77
Tabla 14. ANOVA para el % de Proteína para Tratamientos - Método Dumas.	77
Tabla 15. Prueba de rangos múltiples para el % de Proteína por Factor A – Método Dumas.	78
Tabla 16. Prueba de rangos múltiples para el % de Proteína por Factor B – Método Dumas.	78
Tabla 17. Prueba de Múltiples Rangos Tukey para % de Proteína por Tratamientos – Método Dumas.	78

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Anidación de hormigas del género <i>Atta</i>	5
Figura 2. Ciclo biológico hormiga arriera.....	6
Figura 3. Cuantificación del rendimiento de los concentrados proteicos de Hormigas Santandereanas expresado en % de Rendimiento para cada tratamiento a diferentes pH de solubilización (10.0, 12.0) y de precipitación (2.0, 3.0, 4.0, 5.0) Las letras minúsculas diferentes para cada barra indican diferencias significativas entre las muestras (valor-p < 0.05, prueba de Tukey).....	23
Figura 4. Cuantificación de proteína del concentrado proteico de Hormigas Santandereanas expresado en % de Proteína para cada tratamiento a diferentes pH de solubilización (10.0, 12.0) y de precipitación (2.0, 3.0, 4.0, 5.0) Las letras minúsculas diferentes para cada barra indican diferencias significativas entre las muestras (valor-p < 0.05, prueba de Tukey).....	28
Figura 5. Gráfico de interacciones de los factores A: pHs de solubilización (10.0, 12.0) y B: pHs de precipitación (2.0, 3.0, 4.0, 5.0) en función de sus medias del % de proteína extraída.....	30
Figura 6. Electroforesis SDS-PAGE con β -ME de los concentrados proteicos de la harina de Hormigas Santandereanas. Pocillo 1: Estándar, pocillo 2: tratamiento 10-4, pocillo 3: tratamiento 10-5, pocillo 4: tratamiento 12-4, pocillo 5: tratamiento 12-5, pocillo 6: harina (en condiciones reductoras). Pocillo 7: tratamiento 10-4, pocillo 8: tratamiento 10-5, pocillo 9: tratamiento 12-4, pocillo 10: tratamiento 12-5 (en condiciones no reductoras).	32
 Fotografías del proceso experimental del estudio realizado	
Figura 7. Hormigas Santandereanas (<i>Atta laevigata</i>) recolectadas.....	42
Figura 8. Despojo de impurezas.....	42
Figura 9. Almacenado hermético.....	42
Figura 10. Almacenado y congelado.....	42
Figura 11. Hormigas Santandereanas ultracongeladas (-80°C).....	43
Figura 12. Control del equipo liofilizador antes del ingreso de muestras.....	43
Figura 13. Verificación de parámetro del equipo liofilizador BenchTop Pro.	43
Figura 14. Ingreso de muestras al equipo liofilizador.....	43
Figura 15. Proceso de liofilización culminado.....	43
Figura 16. Hormigas Santandereanas liofilizadas.....	43

Figura 17. Molino eléctrico.....	44
Figura 18. Fundas herméticas	44
Figura 19. Proceso de control de impurezas previo al molido.....	44
Figura 20. Reducción de partículas de hormigas liofilizadas.	44
Figura 21. Harina de Hormigas Santandereanas 1.....	44
Figura 22. Harina de Hormigas Santandereanas 2.....	44
Figura 23. Pesado de la harina.	45
Figura 24. Homogeneizado de muestras en agua destilada con un agitador.....	45
Figura 25. Ajuste a pHs de solubilización (10.0 y 12.0).....	45
Figura 26. Muestras solubilizadas y homogenizada en tubos falcon.	45
Figura 27. Centrifugado de muestras solubilizadas.	45
Figura 28. Muestras solubilizadas centrifugadas.	45
Figura 29. Recolección del sobrenadante.	46
Figura 30. Despojo de desecho ajenos al sobrenadante.	46
Figura 31. Ajuste a pHs de precipitación (2.0, 3.0, 4.0 y 5.0).	46
Figura 32. Muestras precipitadas y homogenizadas a 4°C.	46
Figura 33. Centrifugado de muestras precipitadas.	46
Figura 34. Muestras precipitadas centrifugadas.....	46
Figura 35. Recolección del precipitado.....	47
Figura 36. Muestras ultracongeladas (-80°C).....	47
Figura 37. Ingreso de concentrados proteicos al equipo liofilizador.	47
Figura 38. Proceso de liofilización de concentrado proteico culminado.	47
Figura 39. Concentrado proteico liofilizado.	47
Figura 41. Preparación de concentrados para el ingreso al equipo Dumas.....	48
Figura 42. Ingreso de cápsulas contenedoras de los concentrados.	48
Figura 43. Resultados arrojados por tratamiento en el equipo Dumas.	48
Figura 45. Preparación de geles de electroforesis.....	48
Figura 48. Pesado de muestras a analizar.	49
Figura 49. Introducción de peina para formar pocillos.....	49
Figura 50. Retirado de cristales del soporte de geles.	49
Figura 51. Colocación de buffer running en cámara de electroforesis.	49
Figura 52. Muestras en condiciones reductoras y no reductoras.	49

Figura 53. Acondicionado de muestras en Orbital previo al ingreso de electroforesis. .50	50
Figura 54. Retirado de peine de los geles formados.50	50
Figura 55. Ingreso de muestras en los pocillos formados del gel.50	50
Figura 56. Corrida electroforética de las muestras.50	50
Figura 57. Retirado de geles del cristal.....50	50
Figura 58. Teñido de geles.....50	50

Gráficos obtenidos del equipo Dumas durante el proceso de cuantificación proteica de los diferentes tratamientos aplicados a los concentrados proteicos

Figura 59. Resultado Dumas para harina de hormiga – réplica 1.....51	51
Figura 60. Resultado Dumas para harina de hormiga – réplica 2.....52	52
Figura 61. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 10 y precipitación 2 – réplica 1.....53	53
Figura 62. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 10 y precipitación 2 – réplica 2.....54	54
Figura 63. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 10 y precipitación 3 – réplica 1.....55	55
Figura 64. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 10 y precipitación 3 – réplica 2.....56	56
Figura 65. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 10 y precipitación 4 – réplica 1.....57	57
Figura 66. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 10 y precipitación 4 – réplica 2.....58	58
Figura 67. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 10 y precipitación 5 – réplica 1.....59	59
Figura 68. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 10 y precipitación 5 – réplica 2.....60	60
Figura 69. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 12 y precipitación 2 – réplica 1.....61	61
Figura 70. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 12 y precipitación 2 – réplica 2.....62	62
Figura 71. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 12 y precipitación 3 – réplica 1.....63	63
Figura 72. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 12 y precipitación 3 – réplica 2.....64	64

Figura 73. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 12 y precipitación 4 – réplica 1.....	65
Figura 74. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 12 y precipitación 4 – réplica 2.....	66
Figura 75. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 12 y precipitación 5 – réplica 1.....	67
Figura 76. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 12 y precipitación 5 – réplica 2.....	68
Figura 77. Curva de calibración para determinación de proteína.	69

ÍNDICE DE ANEXOS

A. Fotografías del proceso experimental del estudio realizado	42
B. Gráficos obtenidos del equipo Dumas durante el proceso de cuantificación proteica de los diferentes tratamientos aplicados a los concentrados proteicos	51
C. Autorización de recolección de Hormigas Santandereanas (<i>Atta laevigata</i>) por parte del Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica.....	70
D. Datos obtenidos del proceso experimental.....	75

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se enfocó en la obtención de concentrados proteicos a partir de la harina de Hormigas Santandereanas (*Atta laevigata*), a fin de evaluar el rendimiento y, cantidad y perfil de proteínas presentes en los mismos. Los concentrados se obtuvieron por medio de precipitación isoelectrica a pHs de solubilización de 10.0 y 12.0 y de precipitación de 2.0, 3.0, 4.0 y 5.0; logrando el mayor porcentaje de rendimiento y contenido proteico mediante solubilización de las proteínas a pH 12.0 y posterior precipitación de estas a pH 5.0, con valores de 31.10 y 71.29 por ciento respectivamente. Se caracterizó los concentrados proteicos mediante electroforesis SDS-PAGE en condiciones reductoras (con β -ME) y no reductoras (sin β -ME). El perfil proteico en ambos casos mostró bandas similares, evidenciando la presencia de quince tipos de proteínas con pesos moleculares entre 15.02 y 191.51 kDa.

Palabras clave: Hormigas Santandereanas, concentrados proteicos, pH, precipitados, Dumas, caracterización, electroforesis.

ABSTRACT

The present research work focused on obtaining protein concentrates from the flour of Santanderean Ants (*Atta laevigata*), in order to evaluate the yield and quantity and profile of proteins present in them. The concentrates were obtained by means of isoelectric precipitation at pHs of solubilization of 10.0 and 12.0 and of precipitation of 2.0, 3.0, 4.0 and 5.0; achieving the highest percentage of yield and protein content through protein solubilization at pH 12.0 and subsequent precipitation of these at pH 5.0, with values of 31.10 and 71.29 percent respectively. Protein concentrates were characterized by SDS-PAGE electrophoresis under reducing (with β -ME) and non-reducing (without β -ME) conditions. The protein profile in both cases showed similar bands, evidencing the presence of fifteen types of proteins with molecular weights between 15.02 and 191.51 kDa.

Keywords: Santanderean Ants, protein concentrates, pH, precipitates, dumas, characterization, electrophoresis.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. TEMA DE INVESTIGACIÓN

“Análisis de los concentrados proteicos de la Hormiga Santandereana (*Atta laevigata*)”

1.2. JUSTIFICACIÓN

La crisis alimentaria es uno de los problemas más preocupantes a nivel mundial, manifestándose a través de los años con la limitada accesibilidad a alimentos con alto valor nutricional o por la inseguridad alimentaria a consecuencia de factores de desigualdad social (**Delgado & Gonzáles, 2019**). En Ecuador se afronta continuamente problemas de inequidad que resulta en una inestabilidad social, política y económica trayendo como consecuencia la pobreza y con ello, el hambre y la malnutrición, por lo que se vuelve imperante buscar soluciones que aporten al mejoramiento de las condiciones actuales de la seguridad y soberanía alimentaria (A. Fernández et al., 2017).

El elevado impacto ambiental que conlleva la producción de leche y carne es uno de los aspectos desconocidos por la mayoría de sus consumidores. Según la FAO, los productos animales a nivel mundial aportan el 30% de las proteínas totales en la dieta, pero este porcentaje cambia según la zona geográfica: en los países en desarrollo baja a un 26% mientras que en los países industrializados asciende al 56%. Por ende, la tendencia de consumo de productos de origen animal por parte de países de primer mundo, se convierte en un modelo de referencia para los países de economía emergente (**Steinfeld et al., 2006**).

Halloran & Vantomme (2015) afirman que el consumo de insectos, puede ser una alternativa para garantizar la seguridad alimentaria. La carne de insectos posee componentes nutritivos importantes para el consumo del ser humano, llegando a ser incluso más nutritiva que la roja o la de aves de corral; por otro lado **Flores et al (2020)** mencionan que, si bien los insectos son conocidos por sus diversas propiedades

nutricionales, especialmente asociadas a su alto porcentaje de proteína y/o alto contenido de ácidos grasos, también son ricos en minerales y vitaminas.

Por lo señalado anteriormente se ha propuesto una investigación que pretende encontrar nuevas tendencias alimenticias que lleve al desarrollo de nuevos productos con un elevado valor nutricional. Esta investigación se realizará con el fin de determinar el método más eficiente para la extracción de los concentrados proteicos a partir de la harina de hormigas Santandereanas (*Atta laevigata*), así como la caracterización de dichos concentrados.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo General

Analizar los concentrados proteicos de Hormigas Santandereanas (*Atta laevigata*).

1.3.2. Objetivos Específicos

- Obtener concentrados proteicos a partir de las hormigas Santandereanas a diferentes pHs de solubilidad y precipitación.
- Determinar el rendimiento y contenido de proteína en los diferentes concentrados proteicos.
- Caracterizar los concentrados proteicos en condiciones reductoras y no reductoras.

1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Existe influencia del pH de solubilización y precipitación en el porcentaje de proteína de los concentrados proteicos obtenidos a partir de la harina de Hormiga Santandereana (*Atta laevigata*)?

1.5. HIPÓTESIS

1.5.1. Hipótesis Nula

El pH de solubilización y precipitación no influye en el porcentaje de proteína de los concentrados proteicos obtenidos a partir de la harina de Hormiga Santandereana (*Atta laevigata*).

1.5.2. Hipótesis Alternativa

El pH de solubilización y precipitación sí influye en el porcentaje de proteína de los concentrados proteicos obtenidos a partir de la harina de Hormiga Santandereana (*Atta laevigata*).

1.6. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Los insectos son el grupo de seres vivos más diversos del planeta según **Zumbado & Azofeifa (2018)**, llegan a formar el 54% de todas las especies conocidas y un 75% del total de especies animales. Pertenecen a la mayor cantidad de biomasa sobre la Tierra debido a sus elevadas tasas de reproductividad y a su larga estancia en el planeta. Históricamente, a los insectos se los ha ligado ampliamente con el ser humano, ya sea por los productos obtenidos de los mismo o por formar parte de su dieta desde tiempos remotos.

Existen reportes en los que se evidencia el consumo de insectos por parte de los ancestros del hombre en comunidades primitivas, **Broom (1938)** menciona que *Australopithecus robustus* consumía hormigas, termitas, larvas de coleópteros, garrapatas, ácaros entre otros. Reconociéndose de esta manera, que el hombre, desde mencionados tiempos ha distinguido a los insectos en cualquier ecosistema como una fuente alimenticia con alto valor nutricional.

Su masa corporal se encuentra compuesta en gran parte por proteína (60 -70%), además de grasas, vitaminas y minerales (**DeFoliart, 1992**). Es debido a ello, que la FAO considera a esta biomasa como una fuente nutricional de alto valor biológico. Por otro

lado, la forma en la que son consumidos, no se delimita por su fase de desarrollo, ya que se consumen como huevos, larvas, ninfas, pupas y adultos. Según la FAO se consumen principalmente insectos de los órdenes coleópteros (escarabajos), lepidópteros (orugas), himenópteros (abejas, avispas, hormigas), ortópteros (saltamontes, langostas, grillos), hemípteros (cigarras, fulgoromorfos, cochinillas, chinches), isópteros (termitas) entre otros (**Halloran & Vantomme, 2013**).

1.6.1. Orden Himenóptero

Es considerado el grupo de insectos más avanzados evolutivamente debido a su desarrollado comportamiento social. Constituye uno de los órdenes más grandes de insectos con más de 100 000 especies descritas en el mundo, las mismas que se dividen en dos subórdenes: Symphyta y Apocrita, este último agrupa a las hormigas, abejas, y avispas (**Zumbado & Azofeifa, 2018**).

Están conformados por un sistema morfológico estructural y homogéneo a pesar de encontrarse una gran variedad de tamaños y formas. En la cápsula cefálica se encuentran bien distinguidos los ojos y un aparato bucal estructuralmente masticador, que también suele encontrarse adaptado para lamer o succionar. Los himenópteros se caracterizan por tener alas membranosas, con un primer par más grande que el segundo. Por otro lado, es característico de este orden seguir un ciclo de desarrollo holometábolo (huevo, larva, pupa, imago) (**Fernández & Pujade, 2015**).

1.6.2. Género Atta

Pertenecen a la familia Formicidae, subfamilia Myrmicinae, y en conjunto con *Acromyrmex* conforman a las Attini conocidas por ser cortadoras de hojas (**Linné, 1758**).

Se encuentran distribuidas desde el sur de Estados Unidos hasta Argentina, siendo catalogadas como un grupo de insectos plaga, uno de los más perjudiciales en

América del Sur. De acuerdo con **Lezaun (2020)** esto se debe a de su desarrollada organización social, el gran tamaño poblacional y capacidad de cosechar hojas de todo tipo de especie vegetal. Las hojas una vez cortadas, son llevadas a sus nidos y almacenadas en cámaras acondicionadas y destinadas para este fin en donde más adelante servirán como sustrato para el cultivo de hongos, con los que conviven en una simbiosis mutualista.

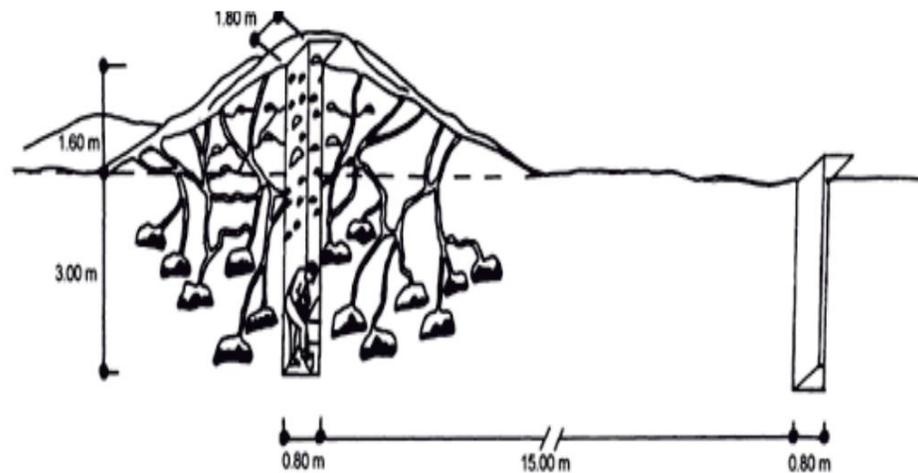


Figura 1. Anidación de hormigas del género *Atta*.
Fuente: (Muñoz, 2017).

1.6.2.1. Organización social

Sus colonias pueden superar el millón de individuos, caracterizadas por ser buenas excavadoras y construir hormigueros con profundidades de más de 5m pudiéndose extender a más de 80 m² (**Wheat, 1979**). Cada colonia se divide en dos grupos de hormigas: las hormigas fértiles y aladas (reinas y machos), y las castas de infértiles. La reina y las obreras (infértiles) serán miembros permanentes del nido, ambos destinados a mantener y proliferar a la colonia.

La reina, con un mayor tamaño por sobre las demás, dará inicio al nuevo hormiguero, pudiendo vivir hasta 25 años y colocar hasta 1 500 000 huevos al año. Se situará en la parte más segura y menos accesible del nido, y se dedicará sólo a poner huevos, los cuales podrán ser fecundados o no ya que es capaz de

controlar la abertura del órgano donde se almacena los espermatozoides. Dependiendo de la alimentación y las condiciones del ambiente, si los huevos son fecundados, podrán resultar en hembras diploides que pueden desarrollarse en obreras estériles o en nuevas reinas aladas. Por otro lado, si el huevo no es fecundado, este resultará en un macho alado haploide desarrollado por partenogénesis (Hölldobler & Wilson, 1990).

Las obreras se subdividirán en castas, que en base a lo mencionado por **Lezaun (2020)** típicamente se rigen de acuerdo con su tamaño, y están destinadas a realizar funciones específicas. Las jardineras cultivarán el hongo, servirán como niñeras y alimentarán a la colonia por trofalaxis. Los soldados detectarán y seleccionarán el material vegetal que se cortará. Las exploradoras, que generalmente son hembras con un mayor tamaño de las demás, defenderán al hormiguero. Las cortadoras, se encargarán de cargar las partículas de suelo que ha sido extraído en la construcción de túneles y galerías, además del material vegetal cortado por sus compañeras. Las escoterías tienen como objetivo liberar de cualquier cuerpo extraño o contaminante que se halle en el material vegetal.

Los miembros temporales de la colonia, hembras y machos alados son los encargados de procrear. Se aparean durante el vuelo nupcial, donde la hembra (nueva reina) resulta fertilizada para originar una nueva colonia y el macho muere durante la copula (Hölldobler & Wilson, 1990).

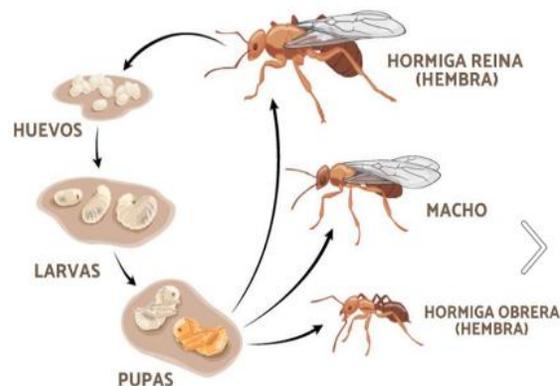


Figura 2. Ciclo biológico hormiga arriera.
Fuente: (Lezaun, 2020).

1.6.2.2. Importancia

El tan solo hecho de existir, hace de cualquier organismo un individuo importante en cualquier ecosistema. Las hormigas cortadoras de manera directa o indirecta controlan la disponibilidad de recursos para otras especies, además de crear nuevos hábitats, mantenerlos y modificarlos de forma beneficiosa (**Montoya-Lerma et al., 2012**). En los bosques, además de esparcir semillas, crean claros en la copa de los árboles al remover el follaje, dando paso a la disponibilidad de luz y el desarrollo de nuevas plantas. También juegan un papel importante en el desarrollo del suelo, al construir los nidos (túneles y galerías) extraen grandes cantidades de tierra y con ello nutrientes y minerales del subsuelo a la superficie, provocando que esta se mezcle incrementando las concentraciones de materia orgánica y su fertilidad, la cual es aprovechada por la vegetación (**Kulhavy et al., 2001**).

1.6.3. Hormigas cortadoras como plaga

Esta especie de hormigas al ser consideradas polífagas, es decir, la materia vegetal que recolectan no se delimita a una especie de planta en particular, juntamente con la gran abundancia en diversos ecosistemas, la convierte en la plaga económicamente más perjudicial en la agricultura. Afectan de manera considerable la productividad, la diversidad, los nutrientes y energía en los ecosistemas.

Underwood & Fisher (2006) relaciona el aumento de las poblaciones de hormigas con la destrucción o desgaste en los ecosistemas en los que ha intervenido el hombre con actividades tales como la minería, la tala de bosques, pastoreo, fragmentación, edificación entre otros.

Debido al daño que provocan en los cultivos, representan una de sus mayores limitantes para la producción de plantas frutales, hortalizas, gramíneas entre otros. Se encuentran presente en más del 80% de países del Neotrópico por lo que se las considera como una plaga principal (21 - 79% plaga secundaria, 1 – 20% plaga

terciaria) resultando incalculable las pérdidas económicas que provocan: siendo además pocos los estudios realizados para cuantificar los umbrales económicos de la herbivoría de estas hormigas, ya sea por su imprevisibilidad de los ataques a las plantas o la dificultosa manipulación y cuantificación de sus poblaciones (**Montoya-Lerma et al., 2012**).

1.6.4. Entomofagia

La práctica del consumo de insectos por los seres humanos como fuente de alimentos se conoce como entomofagia, cuya actividad se remonta desde épocas primitivas hasta la actualidad. Desde es un punto de vista evolutivo, se considera a los insectos como la fuente de proteína más antigua para los humanos. **Arango (2005)** afirma que, según análisis realizados, la calidad de la proteína, grasas, minerales y vitaminas que contienen los insectos son de un alto valor nutricional, es decir, considerándose a los insectos como una de las mayores biomásas sobre el planeta, constituirían una fuente ilimitada de proteína animal. **Pijoan (2001)** señala, que, si para las generaciones primitivas fueron importantes, pueden volverse aún más importantes en el futuro, en base a la idea de usar insectos como una importante fuente nutricional para alimentar a una población en crecimiento.

Dado que esta práctica se lo realiza en diversos países del mundo, se han registrado mayores cifras de consumo en los continentes de América Latina, Asia y África. **Ramos-Elorduy & Viejo (2007)** manifiesta que, los insectos, en su mayoría son consumidos en su estado inmaduro, es decir, cuando se encuentran aún en huevos, larvas, pupas y ninfas, de igual manera algunos son consumidos en todos los estados y otros mayormente apetecido en su estado adulto.

Algunos países se han visto en la necesidad de consumir determinada especie como medida de prevención y control, puesto que han llegado a manifestarse como una plaga por su numerosa proliferación en los territorios en los que han llegado a habitar, significando grandes pérdidas para los agricultores de la zona. Es el caso del género *Atta* pertenecientes al orden de los Himenópteros, caracterizadas por

ser cortadoras de hojas, se ha considerado como control biológico el consumo de las hormigas reinas y machos alados durante épocas de reproducción (vuelo nupcial).

1.6.5. Harina

La harina es una especie de polvo o producto finamente triturado obtenido de la molturación de granos. Sin embargo, también hay otros tipos de harinas obtenidos de otros alimentos.

La harina de insectos es una materia prima emergente en la alimentación. De acuerdo a su composición, este puede clasificarse como una materia prima proteica y fuente de aminoácidos esenciales, además de tener un considerable contenido de grasa (Cerisuelo, 2021).

1.6.6. Proteína de insectos

De acuerdo con estudios realizados, se conoce que los insectos poseen elevados compuestos nutricionales, en especial la proteína que representa su componente principal. Según la FAO (2018) declara que pueden presentar entre el 20 a 70% de proteína, de un 20 a 60% de aminoácidos, y de 10 a 50% de grasa. Es por esto, que se han analizado una gran cantidad de órdenes de insectos, certificándolos como una fuente rica en proteína y una prometedora alternativa alimenticia.

De acuerdo con lo que afirma Sánchez et al (2014), los escarabajos y larvas, pertenecientes al orden Coleóptera, contienen proteína en un rango que se encuentra entre 20 – 71%, las moscas y mosquitos del orden Díptera entre 36 – 70%, las libélulas que conforman el orden Ephemeroptera poseen de 37 – 68%, las hormigas, abejas y avispas del orden Hymenoptera entre 10 – 62%, las orugas y polillas del orden Lepidóptera entre 13 – 64%, y por último, los grillos y saltamontes del orden Orthoptera entre 27 – 76% de proteína.

En estudios desarrollados por **Bergeron et al (1988)** y **Ramos-Elorduy (1984)** se destaca la importancia de la carne de insectos por su elevado valor nutricional, similar a las encontradas en los animales vertebrados que son de amplio consumo como la carne de vaca, cerdo, pescado y aves de corral. Por otra parte **Gullan & Cranston (2005)** menciona que cultivar insectos para aprovechamiento de su proteína es ambientalmente menos dañino que lo que la ganadería genera por el mismo fin.

1.6.7. Concentrados proteicos

Los concentrados proteicos son usados como suplemento alimenticio humano o animal, puesto que presentan un alto contenido de proteína, obtenida a través de la extracción de materia animal o vegetal.

Fischer (2020) considera que el concentrado proteico también es asociado al tipo de proteína en polvo menos procesada, más saludable, pero con menor cantidad por cucharada. Bajo este esquema, **Vioque et al (2001)** ratifica que el concentrado proteico presenta contenidos elevados de compuestos no deseados tales como azúcares reductores, fibra y lípidos.

1.6.8. Extracción de proteína purificada (pHs)

El proceso de extracción de proteína se basa en exponer al extracto a diferentes tratamientos que favorecerán la separación de las proteínas en varias fracciones en función de sus propiedades, como puede ser, el tamaño o carga. Para ello, en las primeras fases del proceso, se utilizan diferencias en la solubilidad que dependerá de diferentes factores como la fuerza iónica, el pH, la temperatura entre otros (**Universidad Nacional de Quilmes, 2008**).

A fin de eliminar disolventes y moléculas no deseadas, la solución proteica es sometida a diferentes pHs de solubilización y de precipitación que promoverán la separación, fraccionamiento o aumento de las concentraciones de proteína. Los

disolventes pueden ser eliminados a través de barreras semipermeables, en la que por medio de un tubo de centrifuga, las soluciones de proteína se fuerzan contra sus barreras. Como último, una vez extraída la proteína, esta puede ser deshidratada mediante liofilización (**Goldring, 2015**).

1.6.8.1. Punto Isoeléctrico (PI)

El punto isoeléctrico de una proteína es un estado en el cual su pH posee una carga electrostática de cero. En este estado, la disolución en agua de las proteínas se vuelve casi nula ya que la atracción electrostática del agua-proteína es menor que su atracción hidrofóbica, obteniendo una precipitación isoeléctrica como resultado.

En el PI las cargas positivadas y negativas serán las mismas, impidiendo la movilidad hacia los electrodos positivos o negativos cuando se coloca entre ambos electrodos. Es por ello, que la solubilidad se vuelve muy baja en este punto, dando como resultado turbidez. En la solución, la proteína contenida se puede precipitar y obtener proteína de alta pureza (**Estiasih et al., 2016**).

Tan solo con la acción de una corriente, la proteína se trasladará hacia el cátodo o el ánodo hasta que llegue a la parte del sistema que corresponde a su punto isoeléctrico, es decir donde no posea carga, entonces dejará de migrar (**Baynes & Dominiczak, 2018**).

1.6.9. Rendimiento porcentual

El rendimiento porcentual es la relación que indica que cantidad de producto, sometido a un determinado proceso, se obtiene al llevar a cabo dicho proceso por cada 100 partes que se espera lograr tener del producto en base a los tratamientos aplicados.

1.6.10. Determinación de proteína

Para la determinación de proteína, Dumas es el método más utilizado en la industria alimentaria, cuyo principio de funcionamiento radica en la combustión de las muestras. Trabaja en un rango de temperatura de entre 700 a 1000°C con un flujo de oxígeno puro en donde todo el carbono se transformará en CO₂ en el proceso de la combustión. Por otra parte, los componentes que posean nitrógeno liberarán N₂ y NO, los mismos que terminarán reduciéndose a nitrógeno en una columna de reducción a una temperatura de 600°C. Con un detector de conductividad térmica, se cuantificará el nitrógeno liberado y en función de este, se determinará la proteína, usando un factor de conversión (SICA, 2021).

1.6.11. Caracterización

Para la caracterización de proteínas puede verse inmerso una variedad de técnicas analíticas y métodos experimentales, los cuales permitirán el aislamiento y la detección de la proteína y su purificación, al igual que la caracterización de su estructura y función.

La electroforesis en geles de poliacrilamida (PAGE) es uno de los métodos más ocupados en la caracterización de proteínas. Cheng (2021) señala que esta técnica analítica se basa en el movimiento dentro de un campo eléctrico facilitando la separación de las proteínas en función del tamaño molecular y la densidad de carga de las moléculas. Las proteínas, al exponerse al campo magnético, se desplegarán y se recubrirán con carga negativa, lo que dará paso a su separación permitiendo que individualmente graviten hacia el gel cargado positivamente.

La mencionada técnica analítica se la puede realizar en condiciones desnaturizantes (SDS-PAGE) además de poderse desarrollar en condiciones reductoras o no reductoras, es decir con o sin la adición de agentes reductores, como por ejemplo el β-mercaptoetanol (β-ME) o el ditiotreitól (DTT) cuya función es la de aumentar la solubilidad y la estabilidad de las proteínas (A. Martínez et al., 2017).

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. MATERIALES

2.1.1. MATERIA PRIMA

- Hormigas Santandereanas

2.1.2. REACTIVOS

- NaOH 2 N
- NaOH 0.1 N
- HCL 2 N
- Buffer pH 7
- Buffer pH 10
- Buffer pH 4
- Helio
- EDTA
- Cobre
- Nitrógeno
- Oxígeno
- Agua destilada
- Tris-HCL 0.5 M
- Tris-HCL 1.5 M
- Glicerol puro
- Glicina
- SDS 10%
- 2-mercaptoetanol
- Azul de Coomassie
- Azul de bromofenol
- Ácido acético
- Metanol

- Acrilamida
- Persulfato de amonio 10%
- Tetrametiletilendiamina

2.1.3. MATERIAL FUNGIBLE

- Fundas ziploc
- Espátula
- Micro espátula
- Papel filtro
- Papel film
- Tubos falcon
- Barra de agitación magnético
- Vaso de precipitación 500 ml
- Vaso de precipitación 250 ml
- Vaso de precipitación 100 ml
- Frascos de vidrio con tapa 250 ml
- Frasco de liofilización
- Porta tubos de ensayo
- Gradilla
- Papel aluminio
- Pinza
- Balón de aforo 100 ml
- Puntas micropipeta
- Embudo
- Cernidor metálico
- Mortero
- Varilla de agitación
- Pocillo
- Piseta

2.1.4. EQUIPOS

- Molino eléctrico
- Plancha eléctrica de calentamiento
- Balanza analítica
- Plancha magnética
- Equipo liofilizador
- Congelador
- Equipo de electroforesis
- Centrífuga
- pH-metro
- Ultra congelador
- Agitador
- VELP SCIENTIFICA Dumas
- Micropipeta

2.2. MÉTODOS

2.2.1. Obtención de la materia prima (harina de hormiga)

A las hormigas utilizadas para la presente investigación, se les realizó un lavado con la finalidad de despojarlas de materiales ajenos al insecto, para después guardarlas en fundas ziploc y almacenarlas en el ultracongelador a -80°C . Las hormigas ultracongeladas, se liofilizaron en un liofilizador marca BenchTop Pro, el cual trabajó en condiciones de presión a 25 Pa y una temperatura de -50°C durante 72 horas.

Las muestras liofilizadas fueron trituradas en un molino eléctrico hasta obtener la harina, la cual fue almacenada en fundas herméticas y congeladas a fin de conservar sus propiedades para los análisis posteriores.

2.2.2. Obtención de los concentrados proteicos a partir de la harina de hormigas Santandereanas (*Atta laevigata*)

Para la obtención de los concentrados proteicos se siguió el método propuesto por **Martínez & Añón (1996)**, del cual fue necesario hacer modificaciones dado que el autor trabaja con harinas de origen vegetal.

Se pesaron aproximadamente 25 g de harina de hormiga y se suspendió en 250 ml de agua destilada, es decir, con una relación de trabajo harina, solvente 1:10 (P/V). Esta mezcla se agitó por 40 minutos a 400 RPM a temperatura ambiente. Durante este proceso, con la adición de NaOH, se ajustó a los pHs respectivos de solubilización, 10.0 y 12.0. Una vez solubilizadas las proteínas se centrifugó a 4500 RPM por 35 minutos a temperatura ambiente usando una centrífuga marca Eppendorf.

A continuación, de la muestra centrifugada, se utilizó el sobrenadante para precipitar la parte proteica con una solución de HCl 2N hasta alcanzar pHs de 2.0, 3.0, 4.0 y 5.0, para posteriormente repetir los procesos de agitación y ser llevado a congelación hasta llegar a una temperatura de 4°C. Alcanzada esta temperatura se repitió el proceso de centrifugación con el que se obtuvo el precipitado, el mismo que se llevó a ultracongelación (-80°C) durante 72 horas, para posteriormente ser liofilizado. Finalmente se trituró las muestras liofilizadas con un mortero y se almacenaron herméticamente a 4°C. Cada ensayo se realizó por duplicado para cada combinación de pH de solubilización y precipitación. El rendimiento de la proteína, producto de la extracción, se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:

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

2.2.3. Diseño experimental

La investigación experimental se lo llevó a cabo mediante el paquete de Statgraphics Centurion XVI, aplicando un diseño experimental A*B. Para el factor A se consideró el pH de solubilización con 2 niveles de estudio: pH 10.0 y pH

12.0; y para el factor B el pH de precipitación con 4 niveles: pH 2.0, pH 3.0, pH 4.0 y pH 5.0. Por lo tanto, se analizaron 8 tratamientos trabajando estos por duplicado.

Tabla 1. Diseño factorial A*B completamente al azar

Factor A: pH de solubilización	Factor B: pH de precipitación
a ₀ : 10.0	b ₀ : 2.0
a ₁ : 12.0	b ₁ : 3.0
	b ₂ : 4.0
	b ₃ : 5.0

2.2.4. Determinación de Proteína por el método Dumas

La cuantificación de proteína en los concentrados proteicos se realizó por el método Dumas, el mismo que está validado por la AOAC 990.03 (Millones, 2020). Se realizó con la metodología descrita por VELD SCIENTIFICA (2014) y el equipo de la misma marca. Los concentrados proteicos se homogeneizaron con una espátula y se pesaron aproximadamente 50 mg para después ser colocadas directamente en tin foils (cápsulas elaboradas de papel de aluminio); posteriormente fueron cargadas en el muestreador automático.

Las muestras son direccionadas hacia un primer reactor de combustión, cuya reacción se lleva a cabo con el uso de los gases: oxígeno, aire y helio (gas carrier) a elevadas temperaturas (1030°C), produciendo que la muestra en estado sólido se transforme en gas. Durante esta primera reacción, como producto se obtiene dióxido de nitrógeno (NO₂), dióxido de carbono (CO₂), oxígeno y agua que resulta ser un producto no deseado e interferente en la determinación. Por ello, seguido del primer reactor se encuentra una trampa de agua y un colector de cenizas.

La corriente de gases generada en el equipo, con ayuda del gas carrier (helio), se transporta hacia el segundo reactor de reducción cuyo relleno se encuentra lleno de cobre el cual durante el proceso llegará a altas temperaturas (650°C). Este reactor cumplirá la función de convertir el NO₂ en nitrógeno elemental (N) que es

el elemento de interés de cuantificación para poder determinar el porcentaje de proteína. De igual manera seguido del segundo reactor se posiciona una última trampa de agua que almacenará los remanentes de agua. Además, también consta de una trampa de CO₂ en donde se captará el CO₂ producido durante las reacciones.

Finalmente, el equipo se compone de un detector, que permitirá detectar la señal del N que se produjo en el segundo reactor (reducción). Su operación estará en función de la llegada del flujo del gas carrier que estará fluyendo continuamente en el sistema y que al llegar al detector provocará una señal que se irá incrementando de acuerdo con la llega del N a este. Por la diferencia de señal del flujo inicial del helio, sin nitrógeno y el flujo final de helio, con nitrógeno, permite cuantificar el N que posee la muestra.

Para obtener el resultado en términos de proteína, es necesario un factor de conversión que dependerá de la matriz a analizar. En este caso el factor de conversión que se ocupó es de 5.7 correspondiente a insectos en estado maduro (**Janssen et al., 2017**).

Es necesario verificar los parámetros de configuración del equipo de la siguiente manera:

- Temperatura del reactor de combustión: 1030 °C
- Temperatura del reactor de reducción: 650 °C
- Caudal MFC1 He: 190 ml/min
- Caudal MFC2 He: 220 ml/min
- Acondicionar el sistema probando 2 EDTA estándar y 3 a 5 láminas de estaño vacías.
- Verificar la curva de calibración con una o más pruebas como estándar probando el mismo estándar utilizado para la creación de la curva.

(VELP SCIENTIFICA, 2022)

2.2.5. Caracterización de los concentrados proteicos en condiciones reductoras y no reductoras

La caracterización de los concentrados proteicos se realizó mediante la técnica analítica de electroforesis. La proteína de dichos concentrados se analizó mediante electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE), con y sin adición de β -mercaptoetanol (β -ME) es decir, en condiciones reductoras y no reductoras respectivamente, usando el equipo Bio-Rad, modelo Mini PROTEAN. Se aplicó la metodología descrita por **Laemmli (1970)** con ciertas modificaciones.

- Preparación de muestras

Para la preparación de la muestra se pesó 10 mg de concentrado proteico por cada tratamiento. Es necesario recalcar que se escogieron los 4 tratamientos con más alto porcentaje de proteína (12-5, 12-4, 10-4, 10-5). A cada tratamiento se le agregó 1 ml de agua destilada y se procedió a homogeneizar.

Para esta preparación también fue necesario un buffer de muestra el cual estaba compuesto por 3.55 ml de agua destilada, 1.25 ml de Tris de pH 6.8, 2.5 ml de glicerol, 2 ml de SDS al 10% y 0.2 ml de azul de bromofenol. Para las muestras en presencia de un agente reductor se agregó 50 μ l de β -ME. Seguido de esto, se mezclaron en un Vortex 200 μ l de solución proteica y 200 μ l de buffer de muestra en tubos eppendorf de 1.5 ml. Como último, en un orbital se elevó la temperatura de cada muestra a 90°C por 5 minutos.

- Preparación de geles:

- Gel inferior separador al 12%

Compuesto por 1.530 ml de agua destilada, 1.125 ml de Tris de pH 8.8, 1.800 ml de acrilamida al 30%, 0.045 ml de SDS al 10%. Se mezcló todo evitando la formación de burbujas para después añadir 22.5 μ l de Persulfato de amonio al 10% (PSA) y 2.3 μ l de Tetrametiletilendiamina (TEMED). Posteriormente se añadió agua destilada hasta alcanzar un volumen de 4.5 ml y se colocó en los cristales en

donde dará inicio el proceso de polimerización el cual durará alrededor de 20 minutos

- Gel superior concentrador al 4%

Compuesto por 1.220 ml de agua destilada, 0.5 ml de Tris de pH 6.8, 0.26 ml de acrilamida al 30%, 0.020 ml de SDS al 10%. Se mezcló todo evitando la formación de burbujas para después añadir 10 µl de persulfato de amonio al 10% (PSA) y 2 µl de TEMED. Posteriormente se añadió agua destilada hasta alcanzar un volumen de 2 ml y se colocó en los cristales una vez que el gel inferior se gelificara. Finalmente se colocó un peine para la formación de los pocillos hasta la gelificación del gel superior.

- Preparación de soluciones:

- Solución buffer running

Compuesta por 3 g de Tris-HCL, 15 g de glicina, 1 g de SDS.

- Solución para teñido

Compuesta por 0.5 g de azul Coomassie, 90 ml de ácido acético, 450 ml de agua destilada y 450 ml de metanol.

- Solución para desteñido

Compuesta por 90 ml de ácido acético, 450 ml de agua destilada y 450 ml de metanol.

- Corrida electroforética

Una vez preparada las muestras y los geles gelificados, se procedió a retirar el peine y los cristales de los soportes de geles en la cámara de electroforesis para posteriormente llenarla de buffer running hasta la primera señal. Seguido de esto se cargaron los pocillos del gel con 10 µl de cada muestra y 10 µl de estándar de proteínas de pesos moleculares Dual Color de Bio Rad. Después se añadió nuevamente el buffer running, pero esta vez, entre las placas de vidrio y fuera de éstos hasta alcanzar la segunda señal de la cámara. La corrida del gel se realizó

por 30 minutos a voltaje constante de 200 V. La electroforesis concluyó cuando la línea azul de bromofenol llegó a la parte inferior del gel.

Finalmente se sacó y se separó los vidrios del gel y se procedió a depositar en una cubeta con la solución de tinción correspondiente por 2 horas. Como último se destiñó durante 15 minutos y se tomaron fotos de los resultados obtenidos.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE DATOS

3.1.1. Obtención de concentrados proteicos de la harina de Hormiga Santandereana (*Atta laevigata*) y rendimiento.

Los concentrados proteicos de la harina de Hormiga Santandereana (*Atta laevigata*) se obtuvieron a partir de la solubilización y precipitación isoeléctrica de las proteínas utilizando agua destilada como solvente. En el primer caso, para la solubilización de las proteínas que componen esta harina, se lo realizó a pHs de 10.0 y 12.0, los mismos que trabajaron en combinación con pHs de 2.0, 3.0, 4.0 y 5.0 para lograr que estas precipiten.

Thenawidjaja et al (2017) afirma que, las bases fuertes como el hidróxido de sodio causa la disolución de proteínas, debido a que la presencia de ciertos solutos provoca que la solubilidad de las principales sustancias que se encuentran en el solvente sea mayor, separando de esta manera la proteína de materiales no proteicos. Por otro lado, a los ácidos fuertes, como el ácido clorhídrico, se les facilita la disociación completa en agua en el momento de precipitar proteínas, de tal modo que el equilibrio de cargas positivas y negativas se alcanza rápidamente.

Por otra parte **Deleu et al (2019)** en su investigación destaca los efectos negativos sobre los concentrados proteicos del uso de pHs alcalinos extremos. Se menciona la racemización de L-aminoácidos a la forma D-, la formación de lisinoalanina conocido por ser un aminoácido tóxico, y la oxidación de compuestos polifenólicos a quinonas que como resultado trae el oscurecimiento en los concentrados proteicos.

Se determinó por duplicado el porcentaje de rendimiento para cada tratamiento, cuyos resultados se encuentran en la tabla 2. Dicho rendimiento fue calculado a partir del peso inicial de la harina y el peso final del concentrado luego del proceso de liofilización. Los resultados indican la media del porcentaje de rendimiento por tratamiento y están expresados con su respectiva desviación estándar, analizados por ANOVA multifactorial

y la prueba Tukey al 95% de confianza. Las letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Tabla 2. Porcentaje de rendimiento de los concentrados proteicos de Hormigas Santandereanas a diferentes valores de pHs de solubilización y precipitación.

Valores de pH		% Rendimiento por cada 25 g de muestra
pH de solubilización	pH de precipitación	
10.0	2.0	1.97 ^e ± 0.11
	3.0	4.14 ^d ± 0.05
	4.0	20.50 ^b ± 0.74
	5.0	16.32 ^c ± 0.58
12.0	2.0	1.59 ^e ± 0.02
	3.0	15.28 ^c ± 0.62
	4.0	30.52 ^a ± 0.23
	5.0	31.10 ^a ± 0.21

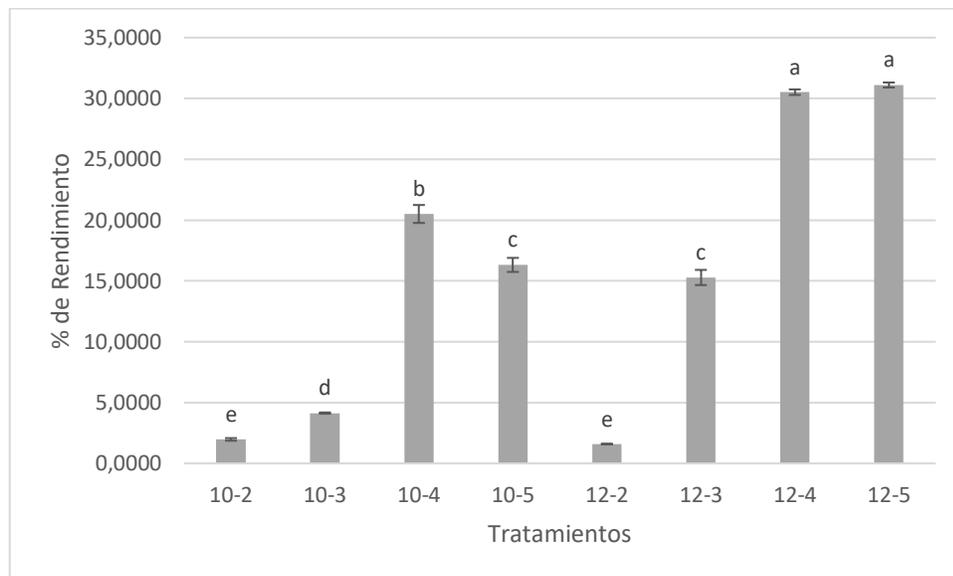


Figura 3. Cuantificación del rendimiento de los concentrados proteicos de Hormigas Santandereanas expresado en % de Rendimiento para cada tratamiento a diferentes pH de solubilización (10.0, 12.0) y de precipitación (2.0, 3.0, 4.0, 5.0) Las letras minúsculas diferentes para cada barra indican diferencias significativas entre las muestras (valor- $p < 0.05$, prueba de Tukey).

Como se observa, se trabajó con dos valores de pH de solubilización: 10.0 y 12.0; de los cuales, los rendimientos más altos se alcanzaron a pH 12.0, lográndose identificar de esta

manera que a pHs más básicos, las proteínas de hormiga tienen una mayor solubilidad en agua. De acuerdo con **Shen et al (2008)** esto sucede ya que las proteínas al poseer generalmente carga neta negativa, son afectadas por el aumento de los niveles de pH. Durante este incremento los iones OH^- se incorporan en el sistema provocando que dicha carga sea aún más negativa, causando que se repelen y se solubilizan las moléculas de las proteínas, al mismo tiempo que las moléculas de agua son incorporadas por puentes de hidrógeno ocasionando una mayor solubilidad.

Corroborando lo anteriormente mencionado, **Jarpa-Parra et al (2014)** señala que el incremento de la carga superficial de las moléculas de las proteínas origina en el sistema disolvente una mayor solubilidad, no obstante es necesario recalcar que la solubilidad de las proteínas seguirá aumentando en función del aumento de la concentración de sal, y al mantenerse en esta condición, conducirá a una disminución en la solubilidad de la proteína, llevándola a que esta precipite (**Thenawidjaja et al., 2017**).

Por otro lado, en el proceso de extracción proteica, el tiempo se vuelve un factor importante a controlar. Un mayor tiempo de contacto entre el soluto y el solvente significa en la mayoría de los casos un mayor porcentaje de proteína, influyendo en el rendimiento final de cada tratamiento (**Purwitasari et al., 2014**).

En cuanto a los pHs de precipitación, los mejores rendimientos se hallaron a pHs de 4.0 y 5.0 en los dos niveles de solubilización con los que se trabajó (pH: 10.0 y 12.0), siendo la combinación 12.0 – 5.0 la que obtuvo el más alto rendimiento con un valor de 31.10%, mientras que la de menor rendimiento fue la combinación 12.0 – 2.0 correspondiente a un valor de 1.59%.

La carga eléctrica de una proteína al igual que su punto isoeléctrico, dependerá de su composición de aminoácidos y el pH del ambiente en el que se encuentre (**Baynes & Dominiczak, 2018**). En la investigación de **Ferreyra et al (2007)** se haya que, para el cacahuate, el punto isoeléctrico de sus proteínas se encuentra a pH 4.0 ya que los aminoácidos que lo componen son ácidos. En este caso, no se ha encontrado estudios en los que se indague el punto isoeléctrico de proteínas de Hormigas Santandereanas, por lo

tanto, no existe material que facilite la comparación bibliográfica de los resultados obtenidos.

De acuerdo con lo que se ha mencionado, la escasa información de investigación de la materia prima en cuestión (Hormigas Santandereanas) ha llevado a comparar los resultados con otras especies de insectos. **Quinteros (2021)** en su investigación con el grillo común (*Gryllus assimilis*), ha encontrado que los valores más altos de rendimiento también se encuentran dentro de las combinaciones 12.0 – 4 y 12.0 – 5, aunque a pH de precipitación 4.0 se consiguió el mejor rendimiento correspondiente a 72.75% bajo las mismas condiciones con las que se trabajó para la harina de hormiga. Por otro lado, usando una harina de origen vegetal como es el alpiste, **Rodríguez (2016)** bajo metodología y condiciones semejantes, difiriendo en los niveles de pH de solubilización en los que usa pHs de 8.0 y 10.0, encontró de igual manera que los mayores rendimientos se obtuvieron solubilizando las proteínas en pHs más alcalinos obteniendo un valor de 11.63% para la combinación 10.0 – 6.0.

Según el análisis ANOVA que se muestra en la tabla 9 se rechaza la hipótesis nula por lo que existe diferencia significativa tanto para el factor A (pHs de solubilización) como para el factor B (pHs de precipitación) y su interacción, debido a que el valor-p es menor que 0.05 que corresponde al nivel de significancia. Ya que los 3 valores-p son menores que 0.05 estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo (al 95% de nivel de confianza) sobre el porcentaje de rendimiento del concentrado proteico.

Como se muestra en la tabla 12 de la prueba de múltiples rangos Tukey para el porcentaje de rendimiento por tratamientos, se observa que para las muestras 12-5 y 12-4 se obtuvo los más altos valores de rendimiento, a la vez que no existe diferencia significativa entre los mismos. En contraposición, los valores de más bajo rendimiento obtenidos fueron las muestras 12-2 y 10-2 que, de la misma manera, según los análisis estadísticos no existe diferencia significativa. Como se observa en las tablas 10 y 11 de las pruebas de rangos múltiples para el porcentaje de rendimiento del factor A y B, se halla que, el nivel con valor 12.0 es el más significativo en el caso del factor A. En cuanto al factor B el nivel con valor 5.0 es el más significativo de entre los otros 3 niveles.

3.1.2. Cuantificación de proteína de los concentrados proteicos de Hormigas Santandereanas

Se determinó por medio del método Dumas, validado por la AOAC 990.03, cuyo funcionamiento radica en una reacción de combustión, en la que el equipo medirá la concentración de nitrógeno mediante los gases de combustión.

En la tabla 3 se encuentran los resultados de la cuantificación para cada tratamiento, los cuales se trabajaron por duplicado. Mientras que la tabla 4 se hayan los resultados estadísticos calculados a partir del porcentaje de proteína obtenido en ambas réplicas. Los resultados indican la media del porcentaje de rendimiento por tratamiento y están expresados con su respectiva desviación estándar y analizados por ANOVA multifactorial y la prueba Tukey. Las letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Tabla 3. Datos obtenidos del equipo en el análisis de la cuantificación de proteína del concentrado proteico de la harina de Hormiga Santandereana, evaluados por el método Dumas.

Muestra	Réplica	W muestra (mg)	Proteína factor	N Área (mV x s)	N (mg)	N (%)	% Proteína
Harina	1	50.34	5.7	16409.6	4.0768	8.099	46.162
	2	50.27	5.7	16365.7	4.0659	8.088	46.102
10-2	1	50.88	5.7	18709.7	4.6483	9.136	52.074
	2	50.46	5.7	18719.6	4.6507	9.217	52.535
10-3	1	50.86	5.7	18561.0	4.6113	9.067	51.680
	2	50.70	5.7	18192.0	4.5197	8.915	50.813
10-4	1	50.64	5.7	24107.4	5.9893	11.827	67.415
	2	50.80	5.7	24108.8	5.9896	11.791	67.206
10-5	1	50.60	5.7	22778.5	5.6591	11.184	63.749
	2	50.67	5.7	22558.2	5.6044	11.061	63.045
12-2	1	50.49	5.7	17381.2	4.3182	8.553	48.750
	2	50.94	5.7	17593.0	4.3708	8.580	48.908
12-3	1	50.71	5.7	21059.3	5.2320	10.318	58.810
	2	50.53	5.7	20946.2	5.2039	10.299	58.702
12-4	1	50.77	5.7	25158.8	6.2505	12.311	70.175
	2	50.75	5.7	24907.4	6.1880	12.193	69.501
12-5	1	50.92	5.7	25012.9	6.2142	12.204	69.562
	2	50.49	5.7	26033.0	6.4677	12.810	73.016

En referencia al Factor de Conversión, **Janssen et al (2017)** proponen dos factores de conversión de nitrógeno (Kp) en base a concentrados proteicos de insectos. Este factor dependerá del estado de desarrollo del insecto, correspondiendo a un valor de 4.76 para insectos en estado larvario y 5.60 para insectos maduros. Estos valores son provenientes de un análisis de aislado proteico en el que la FAO señala a esta como una única metodología para estimar la proteína real de un alimento (**Jones, 1931**).

Tabla 4. Porcentaje de Proteína de los concentrados proteicos de Hormigas Santandereanas a diferentes valores de pHs de solubilización y precipitación, evaluados por el método Dumas.

Valores de pH		% Proteína por cada 25 g de muestra
pH de solubilización	pH de precipitación	
10.0	2.0	52.31 ^e ± 0.33
	3.0	51.25 ^e ± 0.61
	4.0	67.31 ^b ± 0.15
	5.0	63.40 ^c ± 0.50
12.0	2.0	48.91 ^e ± 0.11
	3.0	58.76 ^d ± 0.08
	4.0	69.84 ^{ab} ± 0.48
	5.0	71.29 ^a ± 2.44

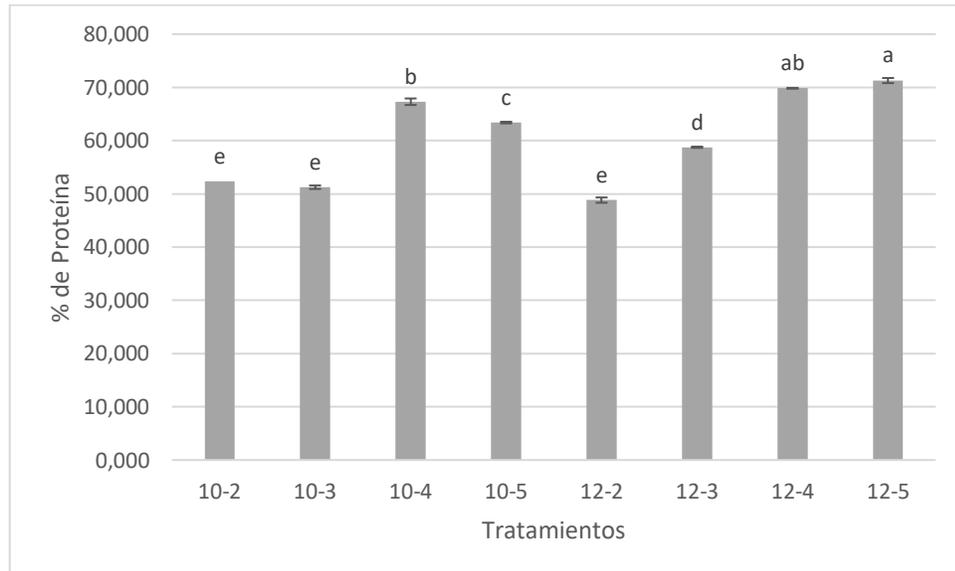


Figura 4. Cuantificación de proteína del concentrado proteico de Hormigas Santandereanas expresado en % de Proteína para cada tratamiento a diferentes pH de solubilización (10.0, 12.0) y de precipitación (2.0, 3.0, 4.0, 5.0) Las letras minúsculas diferentes para cada barra indican diferencias significativas entre las muestras (valor-p < 0.05, prueba de Tukey).

De acuerdo con los datos reportados en la tabla 4, el tratamiento con una mayor cantidad de proteína fue el que se llevó a cabo a pH de solubilidad 12.0 y de precipitación 5.0 con un porcentaje promedio de proteína de 71.29%, de igual manera los tratamientos 12-4 y 10-4 presentan un valor aproximado a este. En el análisis estadístico, no se observan diferencias significativas entre estos tratamientos, sugiriendo de esta manera que los precipitados de los tratamientos 12-5, 12-4 y 10-4 tienen elevadas cantidades de proteína. **Chang & Zhang (2017)** señala que el porcentaje total de proteína de las muestras está en función de la cantidad de nitrógeno contenido en la misma, sin la necesidad de ser exclusivamente de una fuente proteica.

Los tratamientos con los que se obtuvo un porcentaje de proteína relativamente menor fueron los tratamientos 12-2 y 10-3 con un valor de 48.82% y 51.24% respectivamente. Por otra parte, es necesario mencionar que el valor obtenido del porcentaje de rendimiento del extracto proteico no denota necesariamente el porcentaje de proteína de determinado tratamiento. En este caso fue directamente proporcional, ya que el tratamiento 12-5 fue el de mayor rendimiento y contenido proteico al igual que el tratamiento 12-2 el de menor rendimiento y contenido proteico.

El porcentaje de proteína extraída dependerá de diferentes factores como la metodología ocupada para la extracción y el grado de eficiencia de este, la naturaleza del insecto, la especie, el estado de madurez, el ecosistema en el que se desarrolla, el clima de la zona o el tratamiento que se le dio previo al análisis.

En el estudio realizado por **Granados et al (2013)**, se analiza el aspecto bromatológico de Hormigas Santandereanas sometidas a diferentes tratamiento previo a su análisis. Se determina que en una muestra sin procesar el contenido total de proteína es de 24.9%, mientras que al tostarlo en un recipiente de barro y en un horno, el valor se incrementa a

un 29.3% y 32.8% respectivamente; por otro lado, al ser desengrasado, el nivel de proteína incrementó a un 52.9%. En los resultados registrados del mismo estudio, en la harina de hormiga sin procesar se obtuvo una cantidad de 35.5%, valor que está por debajo del registrado en nuestro análisis que es de 46.13% (tabla 13).

Granja (2021) en su investigación analizó la influencia del grado de madurez en la larva de libélula, hallando que en su estado juvenil se extrajo la mayor cantidad de proteína correspondiente a 50.82%. Por otro lado, **Quinteros (2021)** en sus estudios compara la eficiencia de diferentes métodos para cuantificar proteína de los aislados proteicos del grillo común, encontrando que por el método Dumas se obtuvo un porcentaje de 79.42%. Al contrastar con el estudio de **Vera (2020)** que realiza la cuantificación de proteínas de la misma matriz (grillo) utilizando el método Kjeldahl, se encontró un menor porcentaje de proteína correspondiente a 49.55%.

En la tabla 14 del análisis ANOVA, se observa que existe diferencia significativa tanto para los factores lineales (Factor A: pHs de solubilización, factor B: pHs de precipitación) como para su interacción, dado que tiene un nivel de significancia del 5% (valores- $p < 0.05$), se rechaza la hipótesis nula, lo que sugiere que, al usar un determinado pH de solubilidad y de precipitación se obtendrá un cambio en la variable de respuesta y de acuerdo con su interacción, al existir una relación entre ambos factores, el aumento del nivel de uno, intervendrá en el nivel del otro de igual manera. Ya que los 3 valores- p son menores que 0.05 estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo (al 95% de nivel de confianza) sobre el porcentaje de proteína.

La prueba de rangos múltiples arroja como resultado que para el factor A (tabla 15), al nivel: pH de solubilidad 12.0 llega a ser el valor más significativo existiendo una mayor extracción de contenido proteico. Por otro lado, de acuerdo con los valores del factor B (tabla 16), en cuanto a los grupos homogéneos, los niveles: pH de precipitación 4.0 y 5.0 se encuentran dentro de un mismo grupo al registrar valores similares, pero dándose una mayor extracción de contenido proteico al nivel: pH de precipitación 4.0, con el valor más significativo en función de su media.

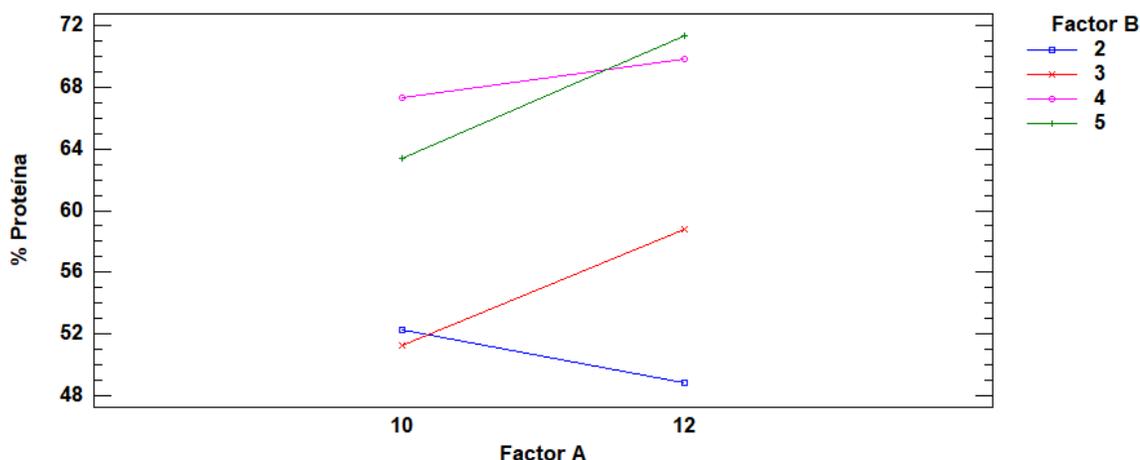


Figura 5. Gráfico de interacciones de los factores A: pHs de solubilización (10.0, 12.0) y B: pHs de precipitación (2.0, 3.0, 4.0, 5.0) en función de sus medias del % de proteína extraída.

En el gráfico de interacciones (figura 5) los resultados se vuelven mucho más evidentes. Se encontró que las interacciones 12-2, 10-3, 10-2 y 12-3 son las combinaciones con las que se obtuvo las medias más bajas (de menor a mayor), en base al porcentaje de proteína extraída. De igual manera, se analiza las combinaciones con valores de medias más altos, los mismos que corresponden a las combinaciones 10-5, 10-4, 12-4 y 12-5 (de menor a mayor), con cantidades relativamente mayores a las anteriores. De esta manera se halla que para extraer la mayor cantidad de proteína de la harina de Hormigas Santandereanas se debe someter a un tratamiento con pH de solubilización 12.0 y un pH de precipitación de 5.0, cuyo análisis corrobora la información de los datos reportados anteriormente.

3.1.3. Caracterización de los concentrados proteicos de Hormigas Santandereanas por la técnica de Electroforesis SDS-PAGE

La caracterización de los concentrados proteicos de Hormigas Santandereanas se llevó a cabo mediante la técnica analítica electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE), a fin de separar las proteínas en base a su movilidad electrostática, la cual estará en función de diferentes factores como su peso molecular (Tabla 5). Además, los análisis de la electroforesis se realizaron bajo condiciones

reductoras y no reductoras, es decir en presencia o ausencia de un agente reductor que en este caso fue el β -mercaptoetanol. Para ambos casos se trabajó con los tratamientos de más alto porcentaje de contenido proteico (12-5, 12-4, 10-4, 10-5) y para la muestra de harina se analizó únicamente en condiciones reductoras. Para realizar el análisis de las muestras por la técnica descrita, se utilizó un estándar de proteínas de precisión con pesos moleculares que se encuentran entre 2 y 250 kDa.

Tabla 5. Datos obtenidos del equipo en la caracterización del concentrado proteico de la harina de Hormiga Santandereana, evaluados por el método SDS-PAGE.

Banda	Condiciones Reductoras						Condiciones no reductoras			
	Estándar	10-4	10-5	12-4	12-5	Harina	10-4	10-5	12-4	12-5
	[kDa]									
1	250	191.51	191.51	191.51	191.51	191.51	191.51	191.51	191.51	191.51
2	150	139.02	139.02	139.02	139.02	139.02	139.02	139.02	139.02	139.02
3	100	129.66	129.66	129.66	129.66	129.66	88.4	88.4	88.4	88.4
4	75	93.47	93.47	93.47	93.47	93.47	70.93	70.93	70.93	70.93
5	50	88.4	88.4	88.4	88.4	88.4	51.32	51.32	51.32	51.32
6	37	70.93	70.93	70.93	70.93	70.93	47.03	41.14	41.14	41.14
7	25	51.32	51.32	51.32	51.32	51.32	41.14	36.86	36.86	36.86
8	20	47.03	47.03	47.03	47.03	47.03	35.18	35.18	35.18	35.18
9	15	41.14	41.14	41.14	41.14	41.14	28.92	28.92	28.92	28.92
10	10	35.18	35.18	35.18	35.18	35.18	27.49	27.49	27.49	27.49
11	5	28.92	28.92	28.92	28.92	28.92	26.04	26.04	26.04	26.04
12	2	27.49	27.49	27.49	27.49	27.49	18	18	18	18
13		26.04	26.04	26.04	26.04	26.04	15.02	15.02	15.02	15.02
14		18	18	18	18	18				
15		15.02	15.02	15.02	15.02	15.02				

Fuente: Laboratorio de Investigación y Vinculación Universidad Estatal de Bolívar.

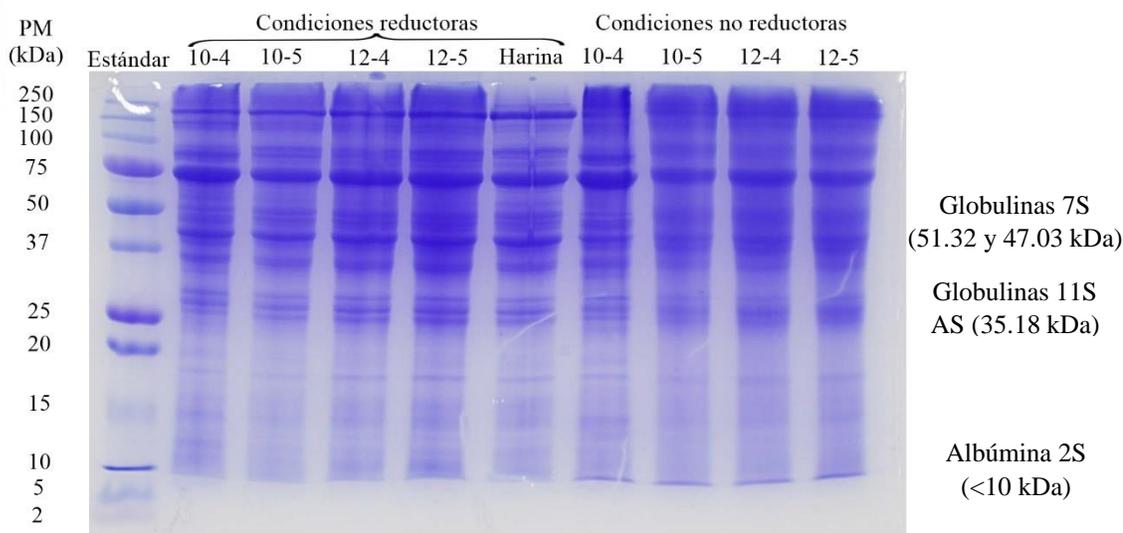


Figura 6. Electroforesis SDS-PAGE con β -ME y sin β -ME de los concentrados proteicos de la harina de Hormigas Santandereanas. Pocillo 1: Estándar, pocillo 2: tratamiento 10-4, pocillo 3: tratamiento 10-5, pocillo 4: tratamiento 12-4, pocillo 5: tratamiento 12-5, pocillo 6: harina (en condiciones reductoras). Pocillo 7: tratamiento 10-4, pocillo 8: tratamiento 10-5, pocillo 9: tratamiento 12-4, pocillo 10: tratamiento 12-5 (en condiciones no reductoras).

Fuente: Laboratorio de Investigación y Vinculación Universidad Estatal de Bolívar.

Los resultados de la electroforesis SDS-PAGE en presencia de un agente reductor (β -ME) y en ausencia de este, son registrados en la figura 6 y la tabla 5 en los que se reporta el perfil de proteínas de Hormigas Santandereanas con bandas de pesos moleculares comprendidos de 15.02 a 191.51 kDa, sugiriendo, en base a su PM, la existencia de alrededor de 15 tipos de proteínas. **Brandan et al (2008)** manifiestan que, de acuerdo con la clasificación de las proteínas por su origen, las albúminas y globulinas son proteínas que se podrían identificar dentro de este análisis.

Vilcacundo et al (2017) señala que, en referencia a las globulinas, estas se clasifican de acuerdo con su coeficiente de sedimentación, de las cuales las proteínas de almacenamiento 11S y 7S son las que predominan. En cuanto a las globulinas 7S, estas son conocidas por ser un grupo de glicoproteínas con un rango de pesos moleculares que está comprendido entre 42 a 58 kDa. Con respecto a las globulinas 11S, **Brinegar et al**

(1996) menciona que es característico de esta proteína tener dos conjuntos heterogéneos de polipéptidos cuyos pesos moleculares varían entre 30 a 40 kDa perteneciente a la subunidad de naturaleza ácida (AS), y entre 20 a 25 kDa para la subunidad básica (AB).

En base a los resultados de los pesos moleculares obtenidos, se han observado dos bandas de proteínas con pesos moleculares de 47.03 y 51.32 kDa que podrían corresponder a la globulina 7S. Por otro lado, se visualiza una banda de proteína con peso molecular de 35.18 kDa que podría corresponder a la globulina 11S AS. Además, en la figura 6 se visualizan celdas con pesos moleculares menores a 10 kDa que de acuerdo con **Vilcacundo et al (2017)** estas podrían corresponder a la albúmina 2S caracterizadas por tener un bajo peso molecular.

Los resultados obtenidos de la electroforesis en condiciones no reductoras (sin β -ME), fueron similares a los obtenidos en condiciones reductoras (con β -ME), aunque al comparar ambos resultados, en condiciones reductoras se presenta más intensidad de las bandas que en condiciones no reductoras, por ende, un mayor reconocimiento de datos del PM (tabla 5). Según **Dawn (1992)** cuando se realiza SDS PAGE con β -ME, las proteínas se ponen en contacto con un agente desnaturizante (SDS), que formará complejos desnaturizados que tienen una carga eléctrica negativa y en presencia del β -ME el cual actuará como un agente reductor, los enlaces disulfuro intermoleculares e intramoleculares se dispersarán llevando a que la estructura cuaternaria de la proteína desaparezca, y como consecuencia sus subunidades se separen en forma de cadenas peptídicas individuales.

Lomonte (2007) señala que los análisis que se realizan de muestras proteicas bajo condiciones no reductoras en general están dirigidos para evaluar la composición de sus subunidades, ya que la proteína no se va a ver influenciada por ningún agente, manteniendo la forma y pliegues que caracterizan a los enlaces disulfuro.

3.2. Verificación de hipótesis

El análisis de varianza realizado a la variable de respuesta tanto del porcentaje de rendimiento por tratamiento como su porcentaje de proteína mostró que existe diferencia significativa entre los tratamientos analizados, por lo que, con un nivel de confianza del 95%, “se acepta la hipótesis alternativa”, dando a entender que “El pH de solubilización y precipitación sí influye en el porcentaje de proteína de los concentrados proteicos obtenidos a partir de la harina de Hormiga Santandereana (*Atta laevigata*).”

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

- Se obtuvieron concentrados proteicos a partir de la harina de Hormigas Santandereanas (*Atta laevigata*) a diferentes pH de solubilización y de precipitación, determinándose que a pHs más básicos las proteínas de esta matriz poseen una mayor solubilidad utilizando agua como solvente.
- Se optimizó las condiciones del proceso de extracción de los concentrados proteicos de la harina de Hormigas Santandereanas, logrando el mayor porcentaje de rendimiento y contenido proteico mediante solubilización de las proteínas a pH 12.0 y posterior precipitación de estas a pH 5.0, con valores de 31.10% y 71.29% respectivamente.
- Se caracterizó los concentrados proteicos mediante electroforesis SDS-PAGE en condiciones reductoras (con β -ME) y no reductoras (sin β -ME). El perfil proteico en ambos casos mostró bandas similares, evidenciando la presencia de quince tipos de proteínas con pesos moleculares entre 15.02 y 191.51 kDa.

4.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar ensayos con valores de pH de solubilización y precipitación diferentes a los analizados en este estudio, esto permitirá verificar si existen pHs que solubilizan y precipitan mejor las proteínas de la harina de Hormigas Santandereanas.
- Determinar el perfil de aminoácidos en las proteínas de Hormigas Santandereanas.
- Analizar el contenido de proteínas de los precipitados proteicos por otros métodos analíticos, con el objetivo de confrontar los resultados obtenidos.
- Caracterizar los concentrados proteicos por técnicas cromatográficas, a fin de ampliar la información acerca de las proteínas provenientes de Hormigas Santandereanas.
- Ensayar la extracción de concentrados proteicos con solventes de grado alimenticio, con el objetivo de fomentar su uso como un ingrediente funcional.
- Ampliar la investigación con el estudio de actividades biológicas que podrían presentar las proteínas de harina de Hormigas Santandereanas, ya que brindaría información valiosa tanto para la ciencia como para la industria alimentaria.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arango, G. (2005). Los insectos: una materia prima alimenticia promisorio contra la hambruna. *Lasallista de Investigación*, 2(1), 33–37. www.koleopterologie.de/
- Baynes, J., & Dominiczak, M. (2018). Amino Acids and Proteins. In *Medical Biochemistry* (5th ed., pp. 7–23). Elsevier España. <https://www.clinicalkey.com/#!/content/book/3-s2.0-B9780702072994000029>
- Bergeron, D., Bushway, R. J., Roberts, F. L., Kornfield, I., Okedi, J., & Bushway, A. A. (1988). The nutrient composition of an insect flour sample from Lake Victoria, Uganda. *Journal of Food Composition and Analysis*, 1(4), 371–377. [https://doi.org/10.1016/0889-1575\(88\)90038-5](https://doi.org/10.1016/0889-1575(88)90038-5)
- Brandan, N., Llanos, C., Barrios, M. B., Escalante, A. P., & Ruíz, D. A. N. (2008). *Proteínas Plasmáticas*. <https://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/Carrera-Medicina/BIOQUIMICA/proteinas.pdf>
- Brinegar, C., Sine, B., & Nwokocha, L. (1996). High-Cysteine 2S Seed Storage Proteins from Quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(7), 1621–1623. <https://doi.org/10.1021/JF950830>
- Broom, R. (1938). The pleistocene anthropoid apes of South Africa. *Nature*, 142(3591), 377–379. <https://doi.org/10.1038/142377A0>
- Cerisuelo, A. (2021). Ficha de Materia Prima: Harina de insectos. *NutriNews*. <https://nutrinews.com/ficha-de-materia-prima-harina-de-insectos/>
- Chang, S. K. C., & Zhang, Y. (2017). Protein Analysis. *Food Analysis*, 315–331. https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5_18
- Cheng, Z. (2021, July 20). *Protein Characterisation Techniques: How to Characterise a Protein*. <https://www.labmate-online.com/news/mass-spectrometry-and-spectroscopy/41/breaking-news/protein-characterisation-techniques-how-to-characterise-a-protein/55774>
- Dawn, S. L. (1992). Electrophoretic analysis of seed proteins in the dicotyledoneae. *Plant Molecular Biology Reporter*, 10(3), 254–262. <https://doi.org/10.1007/BF02668358>
- DeFoliart, G. R. (1992). Insects as human food: Gene DeFoliart discusses some nutritional and economic aspects. *Crop Protection*, 11(5), 395–399. [https://doi.org/10.1016/0261-2194\(92\)90020-6](https://doi.org/10.1016/0261-2194(92)90020-6)
- Deleu, L. J., Lambrecht, M. A., Van de Vondel, J., & Delcour, J. A. (2019). The impact of alkaline conditions on storage proteins of cereals and pseudo-cereals. *Current Opinion in Food Science*, 25, 98–103. <https://doi.org/10.1016/J.COFS.2019.02.017>
- Delgado, J., & Gonzáles, J. (2019). *Kriwe. La entomofagia como alternativa para la seguridad alimentaria y nutricional (SAN)*.

<https://bibliotecadigital.univalle.edu.co/handle/10893/17734>

- Estiasih, T., Harijono, Waziroh, E., & Fibrianto, K. (2016). Kimia dan fisik pangan. *Teknologi Makanan, 1*. <https://inlislite.uin-suska.ac.id/opac/detail-opac?id=13048>
- FAO. (2018). *The future of food and agriculture Alternative pathways to 2050*. <https://www.fao.org/3/CA1553EN/ca1553en.pdf>
- Fernández, A., Martínez, R., Carrasco, I., & Palma, A. (2017). *Impacto social y económico de la malnutrición*. https://www.cepal.org/sites/default/files/publication/files/41247/LCTS2017-32_es.pdf
- Fernández, S., & Pujade, J. (2015). Orden Hymenoptera. *IDE@-SEA, 59*, 1–36. <http://diposit.ub.edu/dspace/handle/2445/122086>
- Ferreira, J. C., Kuskoski, E. M., Bordignon Luiz, M. T., Barrera Arellano, D., & Fett, R. (2007). Propiedades emulsificantes y espumantes de las proteínas de harina de cacahuete (*Arachis hypogaea* Lineau). *Grasas y Aceites, 58*(3), 246–269. <https://doi.org/10.3989/GYA.2007.V58.I3.181>
- Fischer, M. (2020, August 25). *Isolate vs Concentrate | Gainful*. <https://www.gainful.com/blog/isolate-vs-concentrate/>
- Flores, D. R., Casados, L. E., Velasco, S. F., Ramírez, A. C., & Velázquez, G. (2020). Comparative study of composition, antioxidant and antimicrobial activity of two adult edible insects from Tenebrionidae family. *BMC Chemistry, 14*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/S13065-020-00707-0/TABLES/3>
- Goldring, J. P. D. (2015). Methods to Concentrate Proteins for Protein Isolation, Proteomic, and Peptidomic Evaluation. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.), 1314*, 5–18. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2718-0_2
- Granados, C., Acevedo, D., & Guzmán, L. (2013). TOSTADO Y HARINA DE LA HORMIGA SANTANDEREANA “*Atta Laevigata*.” *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial, 11*. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612013000100008
- Granja, S. M. (2021). *Caracterización nutricional de la larva de libélula (Anisóptera) como alternativa alimenticia* [Universidad Técnica de Cotopaxi]. <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/7641/1/MUTC-000928.pdf>
- Gullan, P. J., & Cranston, P. S. (2005). The insects: an outline of entomology. In *Journal of Insect Conservation 2010 14:6* (4th ed., Vol. 14, Issue 6). Springer. <https://doi.org/10.1007/S10841-010-9351-X>
- Halloran, A., & Vantomme, P. (2013). *La contribución de los insectos a la seguridad alimentaria, los medios de vida y el medio ambiente*. www.fao.org/forestry/edibleinsects/en/

- Hölldobler, B., & Wilson, E. (1990). The Ants. *Evolutionary Biology*, 521–524. <https://www.hup.harvard.edu/catalog.php?isbn=9780674040755>
- Janssen, R. H., Vincken, J. P., Van Den Broek, L. A. M., Fogliano, V., & Lakemond, C. M. M. (2017). Nitrogen-to-Protein Conversion Factors for Three Edible Insects: *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, and *Hermetia illucens*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(11), 2275–2278. <https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.7B00471>
- Jarpa-Parra, M., Bamdad, F., Wang, Y., Tian, Z., Temelli, F., Han, J., & Chen, L. (2014). Optimization of lentil protein extraction and the influence of process pH on protein structure and functionality. *LWT*, 57(2), 461–469. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2014.02.035>
- Jones, D. B. (1931). *Factors for converting percentages of nitrogen in foods and feeds into percentages of proteins* (Issue 183, pp. 7–15). U.S. Dept. of Agriculture.
- Kulhavy, D., Smith, L. A., & Ross, W. G. (2001). Impact of the Texas Leaf-Cutting Ant (*Atta texana* (Buckley) (Order Hymenoptera, Family Formicidae) on a Forested Landscape. *Stephen F. Austin State University*, 85–90. <https://scholarworks.sfasu.edu/forestry/416>
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680A0>
- Lezaun, J. (2020, August). *Hormiga arriera, una plaga evolucionada, eusocial y polimórfica*. <https://www.croplifela.org/es/plagas/listado-de-plagas/hormiga-arriera-atta-cephalotes>
- Linné, C. von. (1758). *Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Caroli, 1*. <https://doi.org/10.5962/BHL.TITLE.542>
- Lomonte, bruno. (2007). *Manual de Métodos Inmunológicos* (4th ed., p. 138). Universidad de Costa Rica. https://www.researchgate.net/publication/335811648_Manual_de_Metodos_Inmunologicos
- Martínez, A., Martínez, S., & Ardila, H. (2017). Uncovering plant-pathogen crosstalk through apoplastic proteomic studies. *Frontiers in Plant Science*, 46, 5–16. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2014.00249>
- Martínez, N., & Añón, C. (1996). Composition and Structural Characterization of Amaranth Protein Isolates. An Electrophoretic and Calorimetric Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 2523–2530. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>
- Millones, J. (2020). *Validación del Método AOAC 990.03 (Dumas) armonizado a Kjeldahl en el análisis de proteína en harina de pescado*.

<https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/8771>

- Montoya-Lerma, J., Giraldo-Echeverri, C., Armbrrecht, I., Farji-Brener, A., & Calle, Z. (2012). Leaf-cutting ants revisited: Towards rational management and control. *International Journal of Pest Management*, 58(3), 225–247. <https://doi.org/10.1080/09670874.2012.663946>
- Muñoz, N. A. (2017). Hormigas cortadoras de hojas en el departamento del Vaupés, Colombia: Una propuesta de manejo integrado. *Vaupés Innova*, 19–42. [https://repositorio.sena.edu.co/bitstream/handle/11404/6742/Revista Vaupés Innova-19-42.pdf?sequence=1](https://repositorio.sena.edu.co/bitstream/handle/11404/6742/Revista_Vaupés_Innova-19-42.pdf?sequence=1)
- Pijoan, M. (2001). El consumo de insectos, entre la necesidad y el placer gastronómico. *Offarm*, 20(9), 150–161. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-el-consumo-insectos-entre-necesidad-13019959>
- Purwitasari, A., Hendrawan, Y., & Yulianingsih, R. (2014). Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Sifat Fisik Kimia dalam Pembuatan Konsentrat Protein Kacang Komak (Lablab purpureus (L.) sweet) Influence of Temperature and Extraction Time to the Physical Chemistry Characeristic in Preparation Protein Concentrate Komak Bean (Lablab purpureus (L.) sweet). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*, 2(1). <https://jbkt.ub.ac.id/index.php/jbkt/article/viewFile/135/126>
- Quinteros, M. (2021). *Evaluación de las actividades biológicas in vitro de los aislados proteicos obtenidos a partir de la harina de grillo (Gryllus assimilis)*. [UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI]. <https://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/8126/1/MUTC-001035.pdf>
- Ramos-Elorduy, J. (1984). Los insectos como un recurso actual y potencial. *Instituto de Geografía de La UNAM*, 126–139.
- Ramos-Elorduy, J., & Viejo, J. (2007). Los insectos como alimento humano: Breve ensayo sobre la entomofagia, con especial referencia a México. *Bol. R. Soc. Esp. Hist. Nat. Sec. Biol*, 102(4), 61–84.
- Rodríguez, L. (2016). *Obtención de Concentrados proteicos de alpiste (Phalaris canariensis) y Evaluación de su capacidad inhibitoria de la peroxidación lipídica en larvas de pez Cebra (Danio rerio)* [Universidad Técnica de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/24094/1/AL617.pdf>
- Sánchez, M., Barroso, F., & Manzano, F. (2014). Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review. *Journal of Cleaner Production*, 65, 16–27. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2013.11.068>
- Shen, L., Wang, X., Wang, Z., Wu, Y., & Chen, J. (2008). Studies on tea protein extraction using alkaline and enzyme methods. *Food Chemistry*, 107(2), 929–938. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2007.08.047>
- SICA. (2021, October 4). *Método Dumas o Kjeldahl en la determinación de proteínas*. <https://www.sicamedicacion.com.mx/blog/procesos-quimicos/metodo-dumas-o->

kjeldahl-en-la-determinacion-de-proteinas/

- Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., Rosales, M., & Haan, C. (2006). *Livestock's long shadow*. <https://www.fao.org/publications/card/es/c/9655af93-7f88-58fc-84e8-d70a9a4d8bec/>
- Thenawidjaja, M., Wangsa, T., & Retnoningrum, D. (2017). Protein : serial biokimia mudah dan menggugah. *UNTUK MAHASISWA DAN UMUM*, 228–241. <https://opac.perpusnas.go.id/DetailOpac.aspx?id=1165337>
- Underwood, E. C., & Fisher, B. L. (2006). The role of ants in conservation monitoring: If, when, and how. *Biological Conservation*, 132(2), 166–182. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCON.2006.03.022>
- Universidad Nacional de Quilmes. (2008). *Extracción y cuantificación de proteínas*. http://cronos.unq.edu.ar/ibcm/guiastp/2008/manana/tp2_tm.pdf
- VELP SCIENTIFICA. (2014). *N/Protein Determination in Milk Powder according to the Dumas combustion method*. <https://www.velp.com/es-sa/nda-701-analizador-dumas.aspx>
- VELP SCIENTIFICA. (2022). *Análisis elemental, método Dumas, Los analizadores Dumas VELP*. <https://www.velp.com/es-sa/analisis-elemental-metodo-dumas-1.aspx>
- Vera, H. (2020). *Caracterización de la composición nutricional de la harina del grillo común (Gryllus assimilis)*. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/21797/1/T-UCE-0008-CQU-236.pdf>
- Vilcacundo, R., Martínez-Villaluenga, C., & Hernández-Ledesma, B. (2017). Release of dipeptidyl peptidase IV, α -amylase and α -glucosidase inhibitory peptides from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) during in vitro simulated gastrointestinal digestion. *Journal of Functional Foods*, 35, 531–539. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2017.06.024>
- Vioque, J., Sánchez, R., Pedroche, J., Yust, M., & Millán, F. (2001). Obtención y aplicaciones de concentrados y aislados proteicos. *Información Tecnológica*, 52, 127–131. <https://digital.csic.es/bitstream/10261/22046/1/387.pdf>
- Wheat, G. (1979). *El Mundo De Las Hormigas. Cómo viven, trabajan y se comunican las unas con las otras en la colonia* (10th ed., Vol. 1). Organización Editorial Novaro, S.A. <https://archive.org/details/ElMundoDeLasHormigasGWheatLibrosDeOroDelSaber1Novaro1979>
- Zumbado, M., & Azofeifa, D. (2018). Insectos de Importancia Agrícola. Guía básica de entomología. *Programa Nacional de Agricultura Orgánica (PNAO)*, 244. <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/H10-10951.pdf>

6. ANEXOS

ANEXO A

Fotografías del proceso experimental del estudio realizado



Figura 7. Hormigas Santandereanas (*Atta laevigata*) recolectadas.



Figura 8. Despojo de impurezas.



Figura 9. Almacenado hermético.



Figura 10. Almacenado y congelado.



Figura 11. Hormigas Santandereanas ultracongeladas (-80°C).



Figura 12. Control del equipo liofilizador antes del ingreso de muestras.



Figura 13. Verificación de parámetro del equipo liofilizador BenchTop Pro.



Figura 14. Ingreso de muestras al equipo liofilizador.



Figura 15. Proceso de liofilización culminado.



Figura 16. Hormigas Santandereanas liofilizadas.



Figura 17. Molino eléctrico.



Figura 18. Fundas herméticas



Figura 19. Proceso de control de impurezas previo al molido.



Figura 20. Reducción de partículas de hormigas liofilizadas.



Figura 21. Harina de Hormigas Santandereanas 1.



Figura 22. Harina de Hormigas Santandereanas 2.

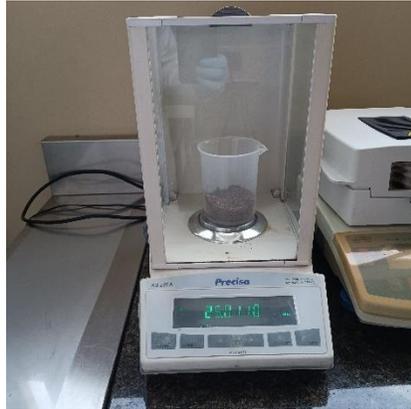


Figura 23. Pesado de la harina.



Figura 24. Homogeneizado de muestras en agua destilada con un agitador.

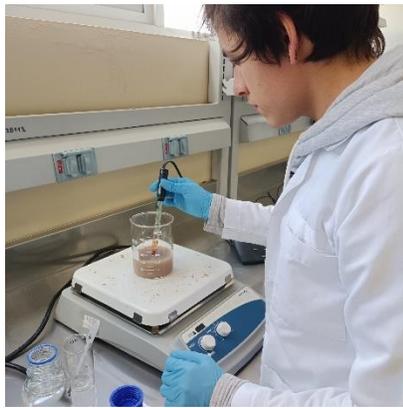


Figura 25. Ajuste a pHs de solubilización (10.0 y 12.0).



Figura 26. Muestras solubilizadas y homogeneizada en tubos falcon.

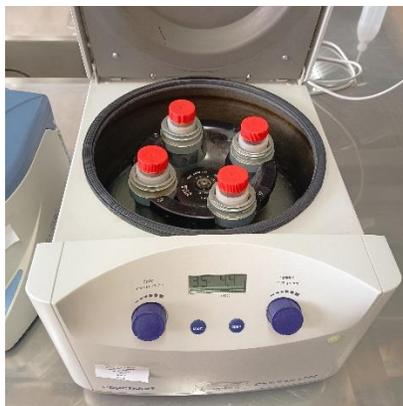


Figura 27. Centrifugado de muestras solubilizadas.



Figura 28. Muestras solubilizadas centrifugadas.



Figura 29. Recolección del sobrenadante.



Figura 30. Despojo de desecho ajenos al sobrenadante.

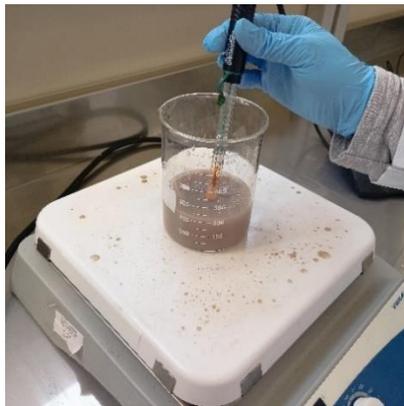


Figura 31. Ajuste a pHs de precipitación (2.0, 3.0, 4.0 y 5.0).

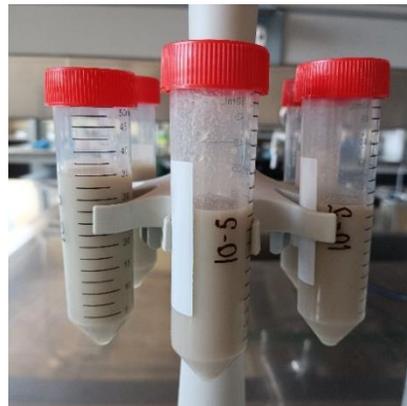


Figura 32. Muestras precipitadas y homogenizadas a 4°C.



Figura 33. Centrifugado de muestras precipitadas.

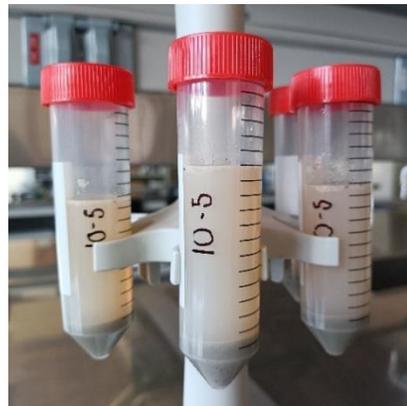


Figura 34. Muestras precipitadas centrifugadas.



Figura 35. Recolección del precipitado.



Figura 36. Muestras ultracongeladas (-80°C).



Figura 37. Ingreso de concentrados proteicos al equipo liofilizador.



Figura 38. Proceso de liofilización de concentrado proteico culminado.



Figura 39. Concentrado proteico liofilizado.

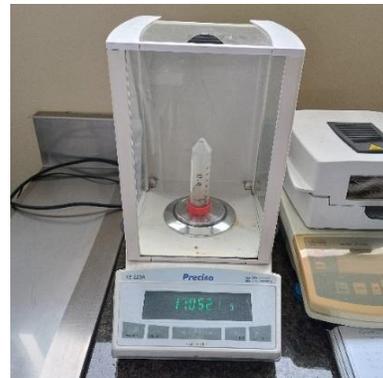


Figura 40. Pesado de los diferentes tratamientos de concentrados proteicos.



Figura 41. Preparación de concentrados para el ingreso al equipo Dumas.

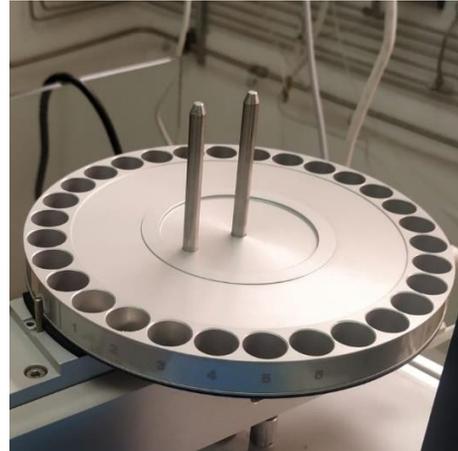


Figura 42. Ingreso de cápsulas contenedoras de los concentrados.



Figura 43. Resultados arrojados por tratamiento en el equipo Dumas.



Figura 44. Reactivos para electroforesis.



Figura 45. Preparación de geles de electroforesis.



Figura 46. Retirado de excedentes de agua.



Figura 47. Proceso de gelificación.

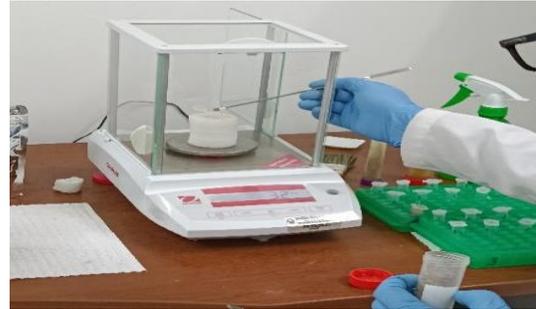


Figura 48. Pesado de muestras a analizar.



Figura 49. Introducción de peina para formar pocillos.



Figura 50. Retirado de cristales del soporte de geles.



Figura 51. Colocación de buffer running en cámara de electroforesis.

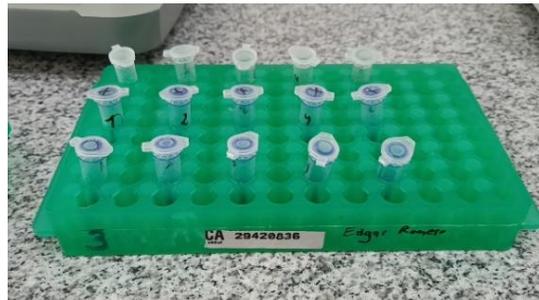


Figura 52. Muestras en condiciones reductoras y no reductoras.



Figura 53. Acondicionado de muestras en Orbital previo al ingreso de electroforesis.



Figura 54. Retirado de peine de los geles formados.

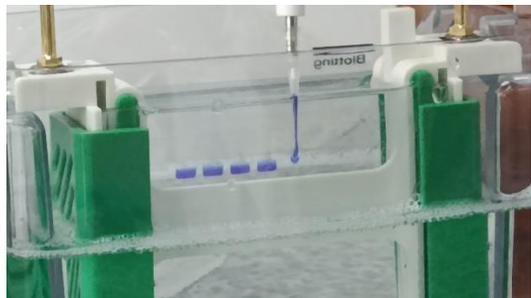


Figura 55. Ingreso de muestras en los pocillos formados del gel.



Figura 56. Corrida electroforética de las muestras.

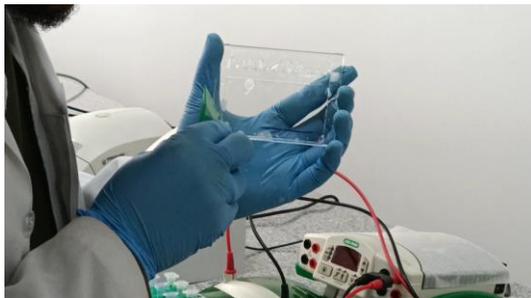


Figura 57. Retirado de geles del cristal.



Figura 58. Teñido de geles.

ANEXO B

Gráficos obtenidos del equipo Dumas durante el proceso de cuantificación proteica de los diferentes tratamientos aplicados a los concentrados proteicos

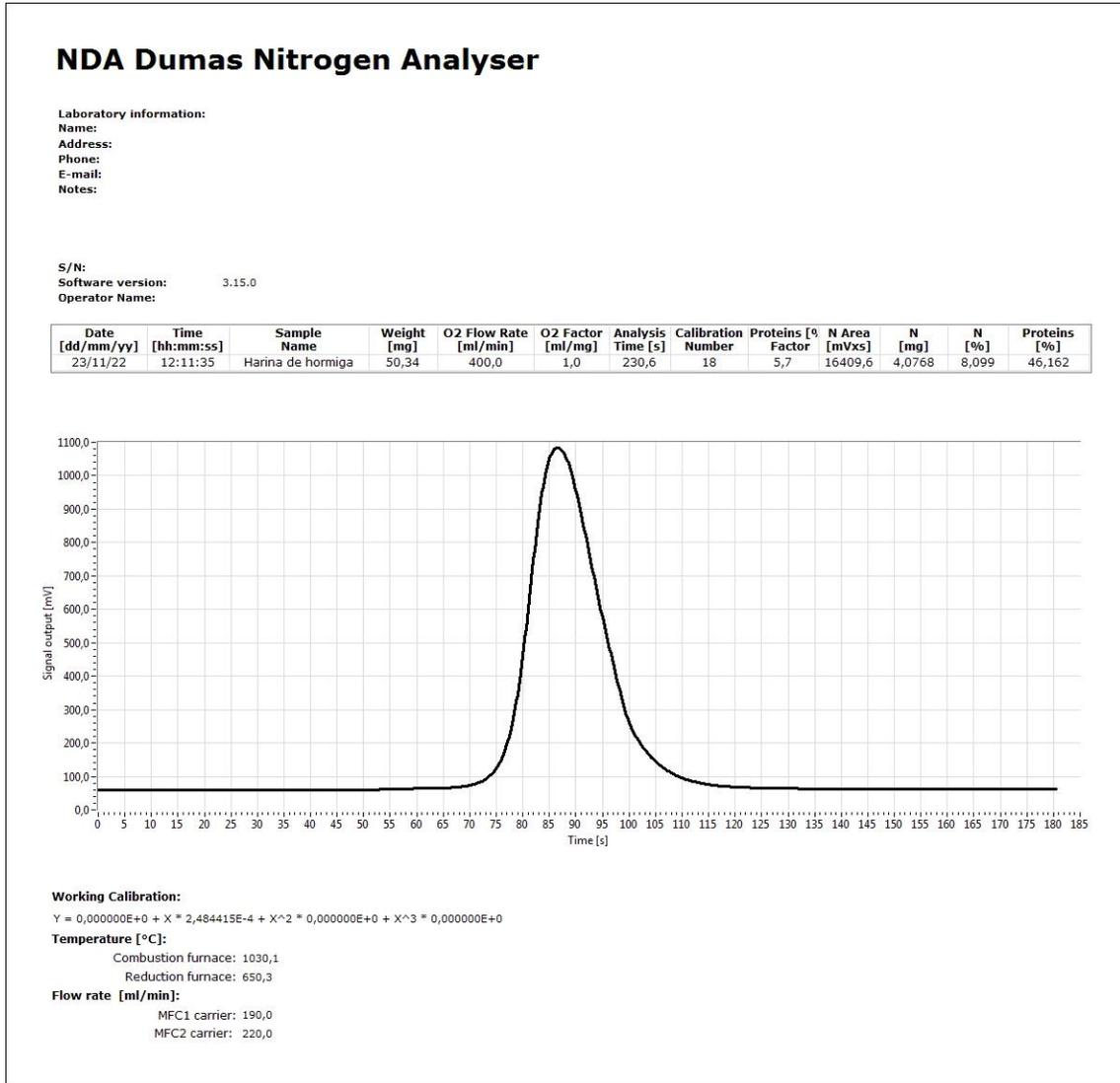


Figura 59. Resultado Dumas para harina de hormiga – réplica 1.

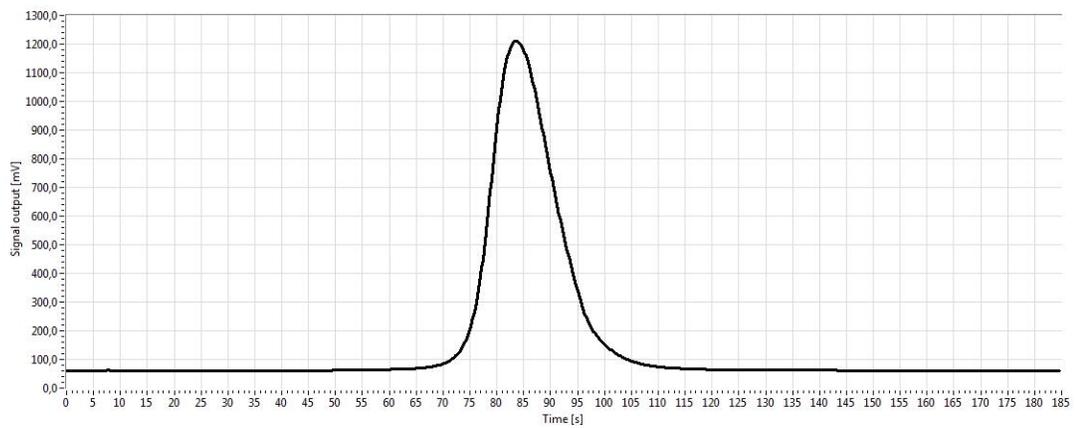
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

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

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
23/11/22	12:16:21	Harina de horniga D	50,27	400,0	1,0	234,6	18	5,7	16365,7	4,0659	8,088	46,102



Working Calibration:

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

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1028,6
Reduction furnace: 649,8

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 189,8
MFC2 carrier: 219,9

Figura 60. Resultado Dumas para harina de horniga – réplica 2.

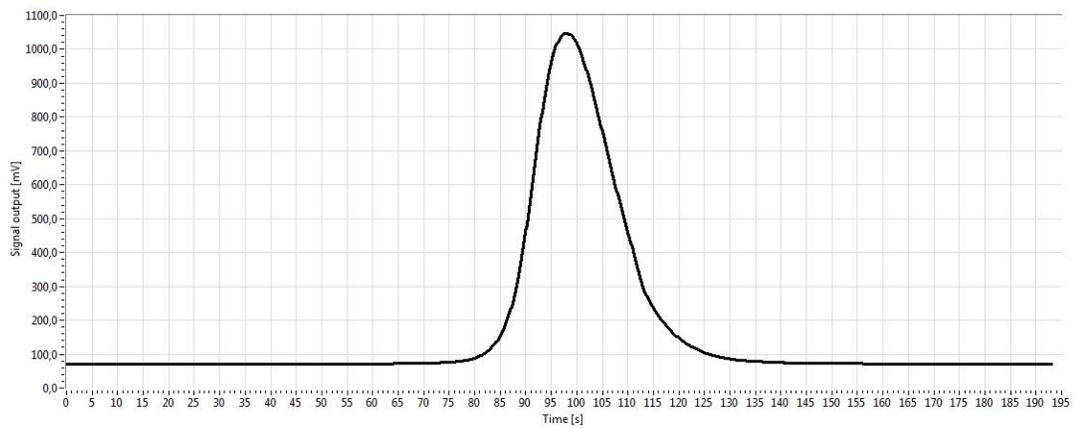
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

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

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
23/11/22	10:21:45	Concentrados 10-2	50,88	400,0	1,0	243,2	18	5,7	18709,7	4,6483	9,136	52,074



Working Calibration:

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

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1029,8
Reduction furnace: 650,2

Flow rate [ml/min]:

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

Figura 61. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 10 y precipitación 2 – réplica 1.

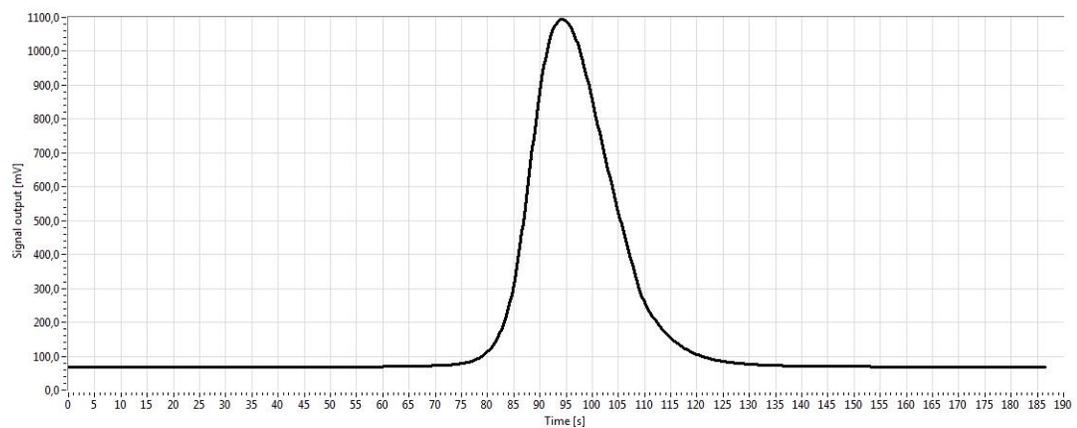
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

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

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
23/11/22	10:32:20	Concentrados 10-2D	50,46	400,0	1,0	236,6	18	5,7	18719,6	4,6507	9,217	52,535



Working Calibration:

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

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1029,9
Reduction furnace: 650,3

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 190,0
MFC2 carrier: 220,0

Figura 62. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 10 y precipitación 2 – réplica 2.

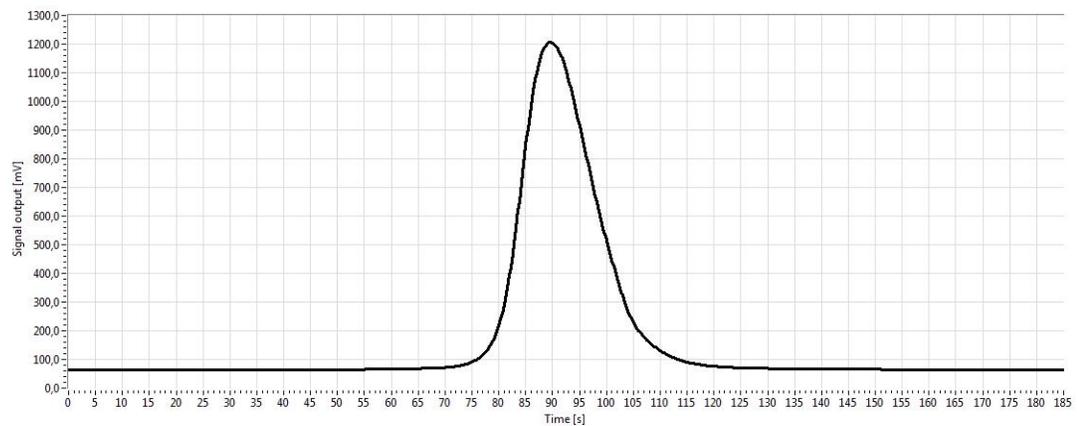
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

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

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
23/11/22	10:51:54	Concentrados 10-3	50,86	400,0	1,0	235,2	18	5,7	18561,0	4,6113	9,067	51,68



Working Calibration:

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

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1030,9
Reduction furnace: 650,2

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 189,9
MFC2 carrier: 219,8

Figura 63. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 10 y precipitación 3 – réplica 1.

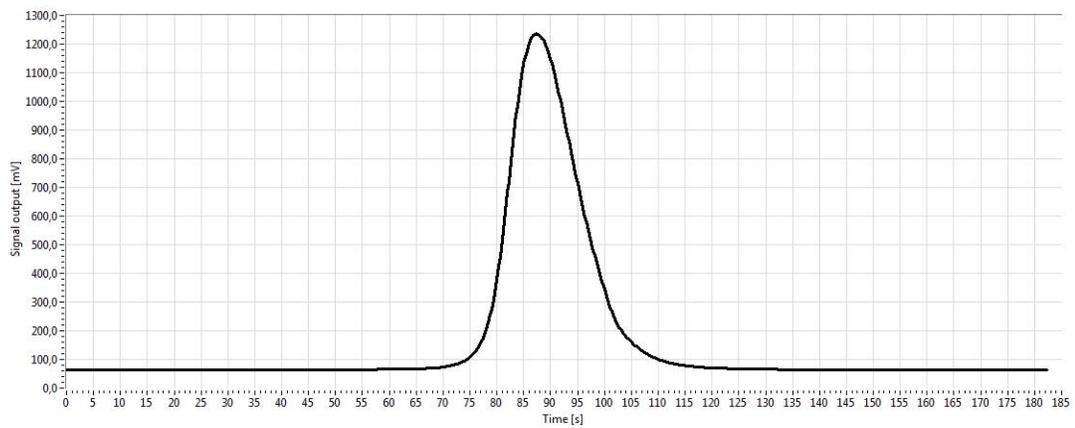
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

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

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
23/11/22	11:05:02	Concentrados 10-3D	50,7	400,0	1,0	232,4	18	5,7	18192,0	4,5197	8,915	50,813



Working Calibration:

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

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1031,0
Reduction furnace: 650,4

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 189,9
MFC2 carrier: 219,8

Figura 64. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 10 y precipitación 3 – réplica 2.

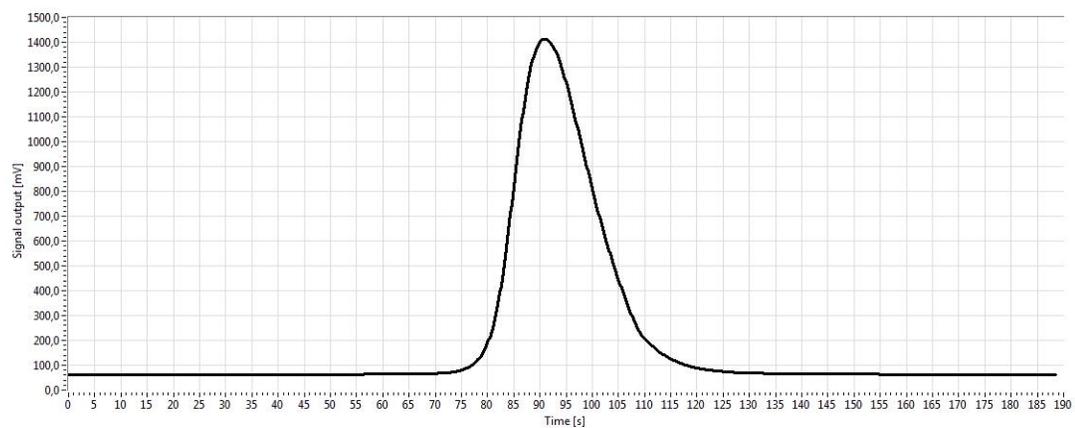
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

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

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
23/11/22	11:09:41	Concentrados 10-4	50,64	400,0	1,0	238,6	18	5,7	24107,4	5,9893	11,827	67,415



Working Calibration:

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

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1029,9
Reduction furnace: 650,2

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 190,0
MFC2 carrier: 220,0

Figura 65. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 10 y precipitación 4 – réplica 1.

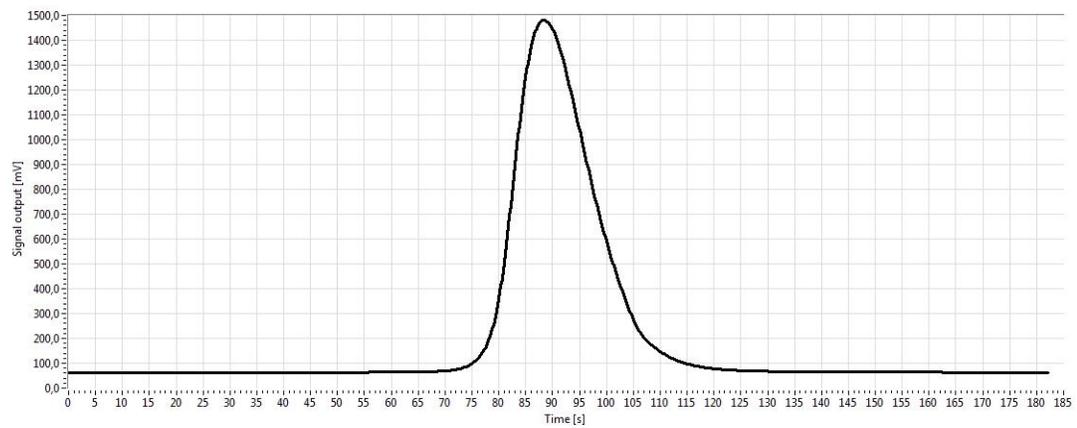
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

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

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
23/11/22	11:14:25	Concentrados 10-4D	50,8	400,0	1,0	232,2	18	5,7	24108,8	5,9896	11,791	67,206



Working Calibration:

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

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1029,6
Reduction furnace: 650,4

Flow rate [ml/min]:

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

Figura 66. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 10 y precipitación 4 – réplica 2.

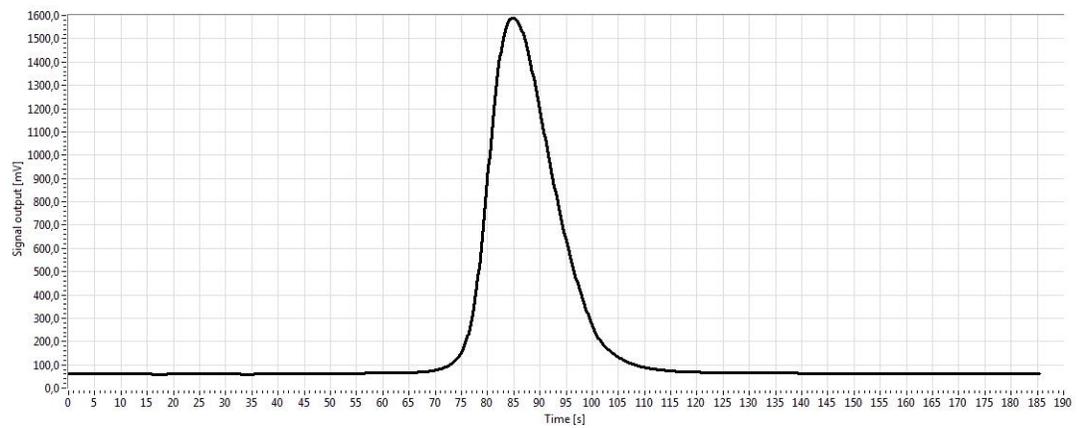
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

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

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
23/11/22	11:23:59	Concentrados 10-5	50,6	400,0	1,0	235,4	18	5,7	22778,5	5,6591	11,184	63,749



Working Calibration:

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

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1030,5
Reduction furnace: 650,5

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 190,1
MFC2 carrier: 219,8

Figura 67. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 10 y precipitación 5 – réplica 1.

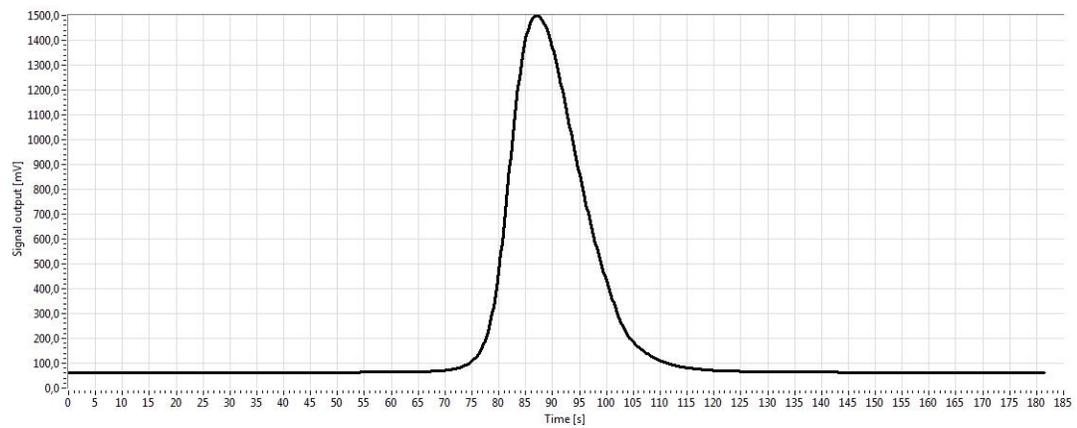
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

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

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
23/11/22	11:28:41	Concentrados 10-5D	50,67	400,0	1,0	231,4	18	5,7	22558,2	5,6044	11,061	63,045



Working Calibration:

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

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1029,9
Reduction furnace: 649,9

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 190,0
MFC2 carrier: 220,0

Figura 68. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 10 y precipitación 5 – réplica 2.

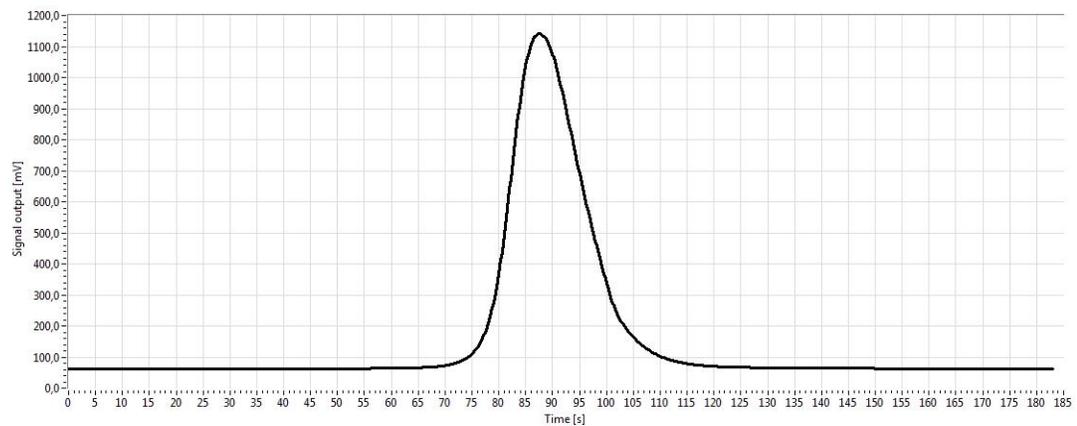
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

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

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
23/11/22	11:33:19	Concentrados 12-2	50,49	400,0	1,0	233,0	18	5,7	17381,2	4,3182	8,553	48,75



Working Calibration:

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

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1029,8
Reduction furnace: 649,7

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 189,8
MFC2 carrier: 219,9

Figura 69. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 12 y precipitación 2 – réplica 1.

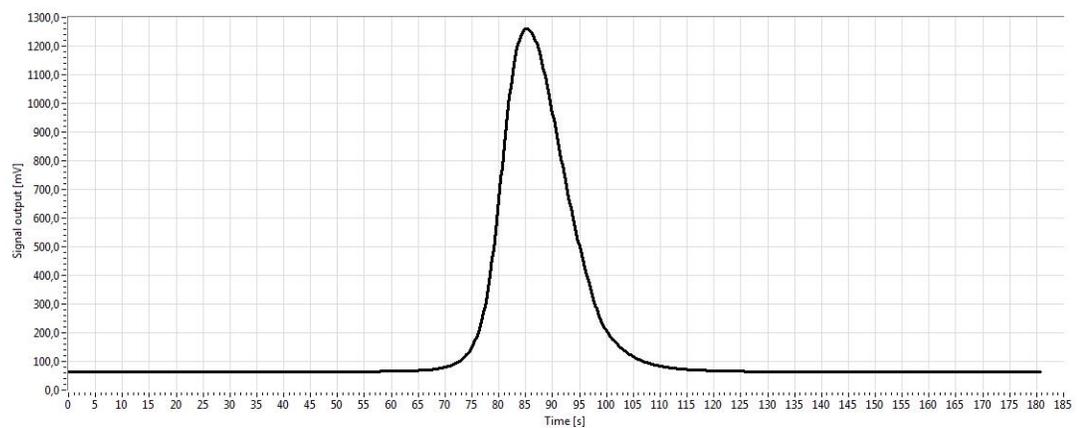
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

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

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
23/11/22	11:37:58	Concentrados 12-2D	50,94	400,0	1,0	230,8	18	5,7	17593,0	4,3708	8,58	48,908



Working Calibration:

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

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1029,1
Reduction furnace: 649,5

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 190,0
MFC2 carrier: 220,0

Figura 70. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 12 y precipitación 2 – réplica 2.

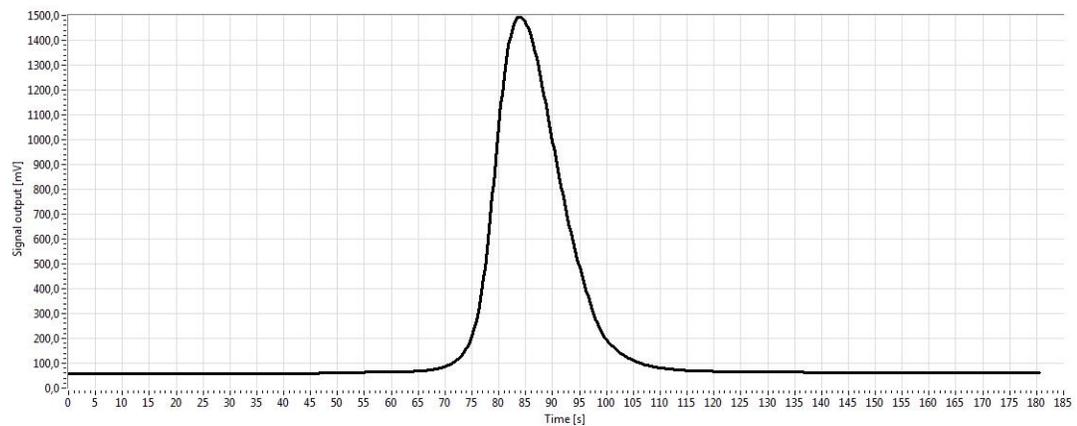
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

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

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
23/11/22	11:42:50	Concentrados 12-3	50,71	400,0	1,0	230,6	18	5,7	21059,3	5,232	10,318	58,81



Working Calibration:

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

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1028,8
Reduction furnace: 649,5

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 189,9
MFC2 carrier: 219,9

Figura 71. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 12 y precipitación 3 – réplica 1.

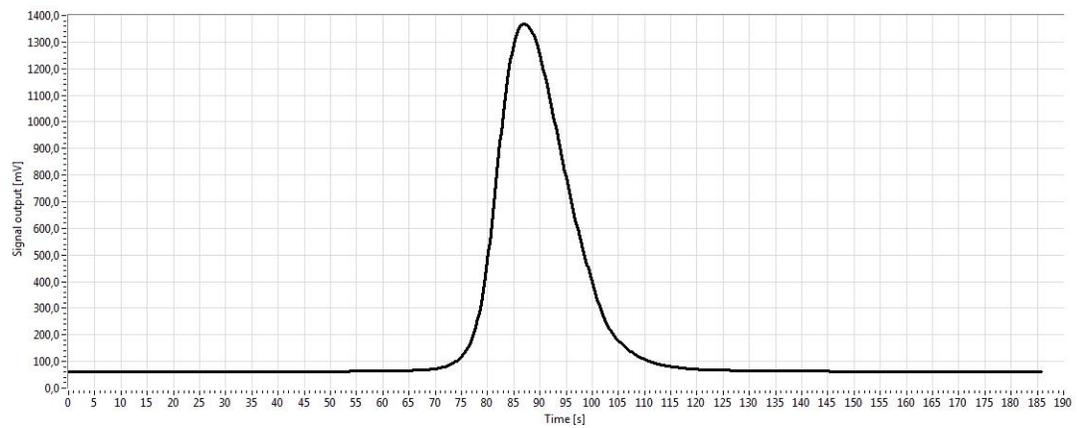
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

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

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
23/11/22	11:47:35	Concentrados 12-3D	50,53	400,0	1,0	235,8	18	5,7	20946,2	5,2039	10,299	58,702



Working Calibration:

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

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1029,6
Reduction furnace: 650,1

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 190,1
MFC2 carrier: 220,0

Figura 72. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 12 y precipitación 3 – réplica 2.

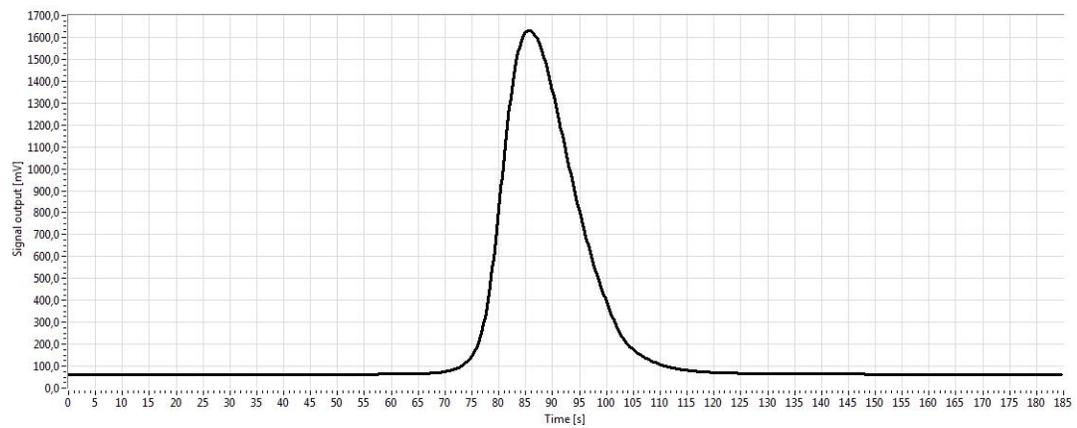
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

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

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
23/11/22	11:52:17	Concentrados 12-4	50,77	400,0	1,0	234,6	18	5,7	25158,8	6,2505	12,311	70,175



Working Calibration:

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

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1030,9
Reduction furnace: 649,8

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 189,9
MFC2 carrier: 219,8

Figura 73. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 12 y precipitación 4 – réplica 1.

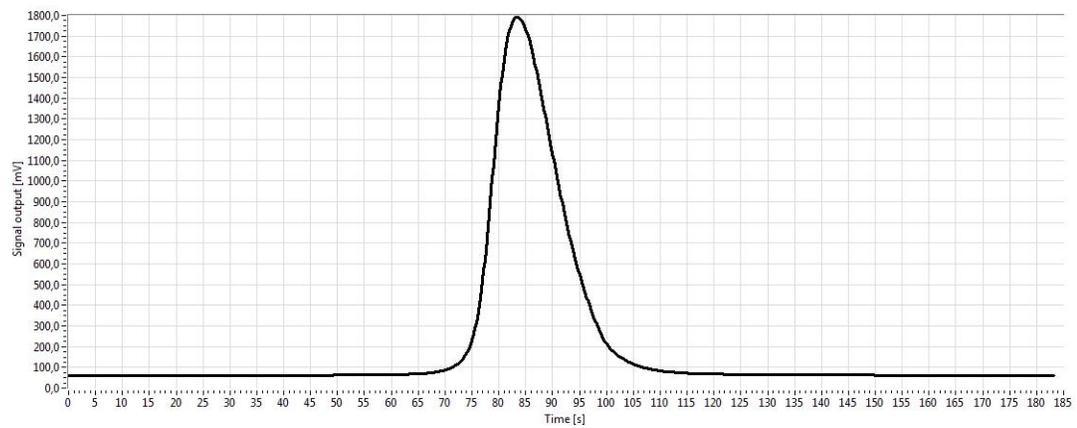
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

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

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
23/11/22	11:56:58	Concentrados 12-4D	50,75	400,0	1,0	233,2	18	5,7	24907,4	6,188	12,193	69,501



Working Calibration:

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

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1029,1
Reduction furnace: 649,6

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 189,9
MFC2 carrier: 220,1

Figura 74. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 12 y precipitación 4 – réplica 2.

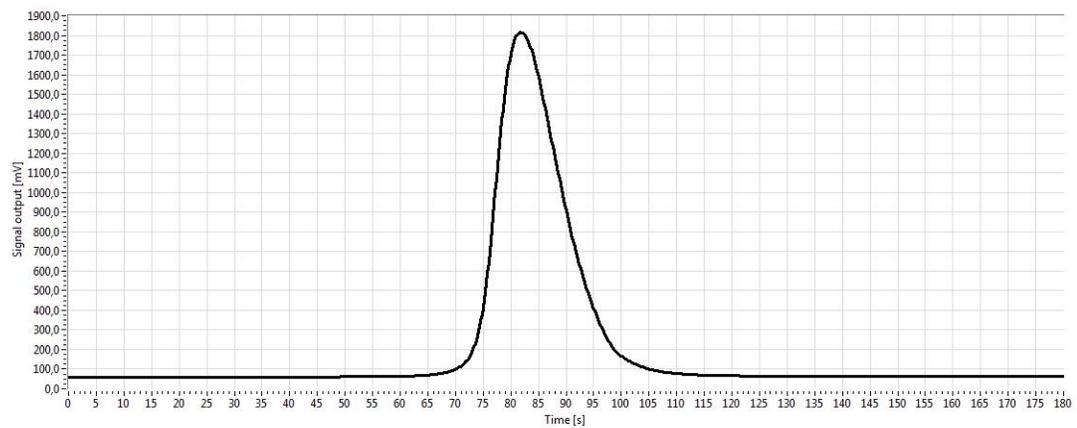
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

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

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
23/11/22	12:02:02	Concentrados 12-5	50,92	400,0	1,0	230,2	18	5,7	25012,9	6,2142	12,204	69,562



Working Calibration:

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

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1029,5
Reduction furnace: 649,7

Flow rate [ml/min]:

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

Figura 75. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 12 y precipitación 5 – réplica 1.

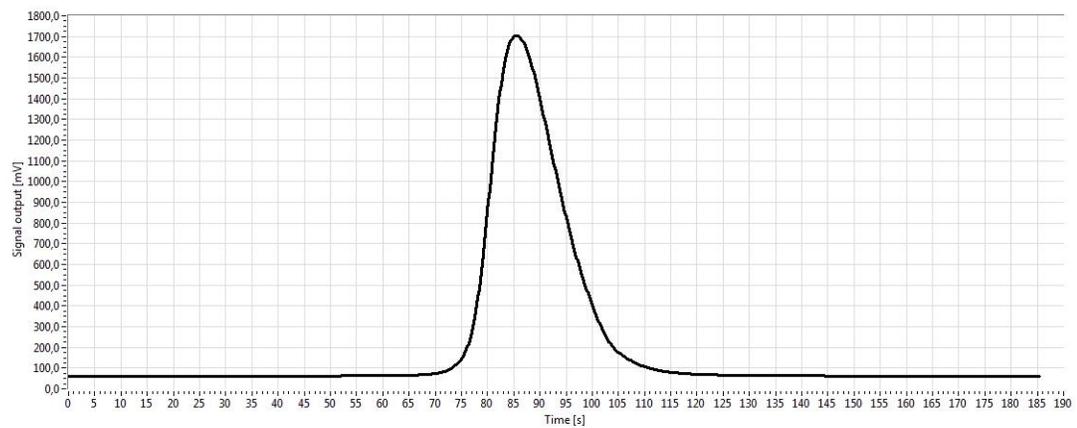
NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:

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

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor]	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
23/11/22	12:06:53	Concentrados 12-5D	50,49	400,0	1,0	235,6	18	5,7	26033,0	6,4677	12,81	73,016



Working Calibration:

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

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1029,5
Reduction furnace: 649,9

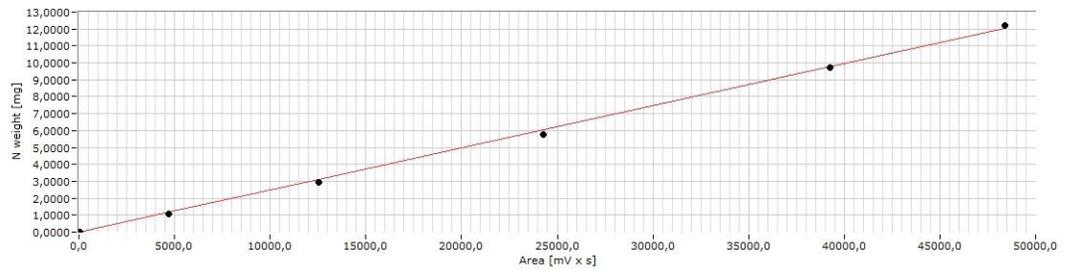
Flow rate [ml/min]:

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

Figura 76. Resultado Dumas para concentrado proteico a pH de solubilización 12 y precipitación 5 – réplica 2.

NDA Dumas Nitrogen Analyser - Calibration

Calibration blank: Yes CF: 1,000 R2: 0,998260 Polynomial: $Y = 0,000000E+0 + X * 2,484415E-4$



Number	Standard	Standard Weigth [mg]	Area [mV x s]	N theoretical [mg]	N [mg]	N [%]	Blank [mV x s]	Residual error [mg]	Relative error [%]	Show	Date [dd/mm/yy]
1	Calibration blank	0,000	62,8	0,0000	0,0156	ND	0,0	0,0156	ND	Yes	08/09/21
2	EDTA	11,100	4704,4	1,0656	1,1688	10,529	0,0	0,1032	9,682	Yes	08/09/21
3	EDTA	30,570	12522,0	2,9347	3,1110	10,177	0,0	0,1763	6,007	Yes	08/09/21
4	EDTA	60,130	24292,3	5,7725	6,0352	10,037	0,0	0,2627	4,551	Yes	08/09/21
5	EDTA	101,460	39248,5	9,7402	9,7510	9,611	0,0	0,0108	0,110	Yes	08/09/21
6	EDTA	127,280	48392,3	12,2189	12,0227	9,446	0,0	-0,1962	-1,606	Yes	08/09/21

Figura 77. Curva de calibración para determinación de proteína.

ANEXO C

Autorización de recolección de Hormigas Santandereanas (*Atta laevigata*) por parte del Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica



GUILLERMO LASSO
PRESIDENTE

AUTORIZACIÓN DE RECOLECCION DE ESPECIMENES DE ESPECIES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA No. 2810

ESTUDIANTES E INVESTIGADORES (SIN FINES COMERCIALES)

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

2.- CÓDIGO

MAATE-ARSFC-2022-2810

3.- DURACIÓN DEL PROYECTO

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

4.- COMPONENTE A RECOLECTAR

Animal

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

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

Nº de C.I/Pasaporte	Nombres y Apellidos	Nacionalidad	Nº REGISTRO SENESCYT	EXPERIENCIA	GRUPO BIOLÓGICO
1802738102	VILCACUNDO CHAMORRO RUBEN DARIO	Ecuatoriana	7241125699	Tutor	Insecta
1400876965	EDGAR GABRIEL ROMERO ORTIZ	Ecuatoriana	No posee	Estudiante	Insecta

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

Nombre del Proyecto: Análisis de los concentrados proteicos de la Hormiga Santandereana *Atta Laevigata*

Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica
Dirección: Calle Madrid 1159 y Andalucía
Código postal: 170525 / Quito-Ecuador
Teléfono: +593-2 398 7600
www.ambiente.gob.ec



1 / 5

República del Ecuador

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

Analizar los concentrados proteicos de la harina de Hormiga Santandereana (atta laevigata)
Caracterizar los concentrados proteicos en condiciones reductoras y no reductoras
Obtener concentrados proteicos a partir de las Hormigas Santandereanas (atta laevigata) a diferentes pHs de solubilización y precipitación
Determinar el rendimiento y contenido de proteína en los concentrados proteicos

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

PROVINCIAS	SNAP	BOSQUE PROTECTOR
MORONA SANTIAGO	NA	NA

9.- INFORMACIÓN DE LAS ESPECIES A RECOLECTAR

CLASE	ORDEN	FAMILIA	GENERO	ESPECIE	TIPO MUESTRA	Nº MUESTRA	Nº LOTE
Insecta	Hymenoptera	Formicidae	NA	NA	Atta laevigata		4

10.- METODOLOGÍA APLICADA EN CAMPO

FASE DE RECOLECCIÓN:	Recolección de las hormigas previo al consumo humano en la provincia de Morona Santiago, en el cantón Sevilla Don Bosco, en la cual los nativos del lugar recolectan las hormigas y las ofrecen al público.
FASE DE PRESERVACIÓN:	Las hormigas se llevan a congelación mediante un cooler, posterior al traslado se los congela en un congelador a -20°C

11. METODOLOGIA APLICADA EN LABORATORIO

MÉTODOS EMPLEADOS EN EL LABORATORIO:	Se debe realizar una liofilización, en un equipo liofilizador (laboratorios de la universidad) para secar la muestra y proceder a triturar y obtener un polvo de la hormiga Atta laevigata
---	--

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

Grupo Biológico a Recolectar	Descripción	Tipo de Equipamiento
Insecta	BOTAS DE CAUCHO, GUANTES DE TELA, CUADERNO Y LÁPIZ, TIJERA MANUAL DE PODA, PRENSA, CONDENSADOR, FRASCOS DE VIDRIO, SACO DE TELA.	Material en Campo

Insecta	LIOFILIZADOR, HORNO MICROONDAS, ICPMS	Equipo en Laboratorio
Insecta	MACHETES, LIBRETA, BOTAS, CAMARA FOTOGRAFICA, PAPEL PERIODICO, FUNDAS PLASTICAS	Equipo en Campo
Insecta	TERMOHIGROMETRO, GPS, MEDIDOR DE PH BALANZAS ANALÍTICAS, GRABADORA DE SONIDO, CÁMARA FOTOGRÁFICA	Material en Laboratorio

13.- COLECCIONES NACIONALES DEPOSITARIAS DEL MATERIAL BIOLÓGICO

Insecta	Museo Zoología-Universidad Central del Ecuador
---------	--

14.- RESULTADOS ESPERADOS

Obtener concentrados proteicos con alto contenido de proteína

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

METAS	DESCRIPCIÓN
Meta04.19.01 Para el 2021, el Ecuador implementa a agenda nacional de investigaciones, con el involucramiento de la academia, sector público, privado, pueblos y nacionalidades.	Aportar a la seguridad y soberanía alimentaria

DE ACUERDO A LAS SIGUIENTES ESPECIFICACIONES

- Solicitud de: **EDGAR GABRIEL ROMERO ORTIZ**
- Institución Nacional Científica : **UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO U.T.A.**
- Fecha de entrega del informe final o preliminar: **2023/06/22**
- Valoración técnica del proyecto: **AULESTIA CORDOVA DARWIN PAUL**
- Esta Autorización **NO HABILITA LA MOVILIZACIÓN DE FLORA, FAUNA, MICROORGANISMOS Y HONGOS.**
- Esta Autorización **NO HABILITA EXPORTACIÓN DE FLORA, FAUNA, MICROORGANISMOS Y HONGOS**, sin la correspondiente autorización del Ministerio del Ambiente y Agua.
- Los especímenes o muestras recolectadas no podrán ser utilizadas en actividades de

Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica

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

BIOPROSPECCIÓN, NI ACCESO AL RECURSO GENÉTICO.

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

OBLIGACIONES DEL/ LOS INVESTIGADOR/ES.

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

Con los siguientes anexos:

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

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

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

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

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

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

Del incumplimiento de las obligaciones dispuestas en los numerales, 9, 10, 11, 12, 13 y 14 se responsabiliza a **EDGAR GABRIEL ROMERO ORTIZ.**



GUILLERMO LASSO
PRESIDENTE

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



Firmado electrónicamente por:

BYRON ADRIAN
LAGLA CHIMBA

Ministerio de **Transición Ecológica**
Dirección: Calle **Andalucía**
Código postal: 17025 / Quito-Ecuador
Teléfono: +593-2 398 7600
www.ambiente.gob.ec



ANEXO D

Datos obtenidos del proceso experimental

Tabla 6. Datos obtenidos para la precipitación isoelectrica de la harina de Hormigas Santandereanas.

Valores de pH		W inicial harina (g)	
pH de solubilización	pH de precipitación	Réplica 1	Réplica 2
10	2	25.0066	25.0075
	3	25.0038	25.0041
	4	25.0065	25.0057
	5	25.0066	25.0060
12	2	25.0024	25.0028
	3	25.0066	25.0060
	4	25.0110	25.0098
	5	25.0022	25.0031

Tabla 7. Datos de muestras liofilizadas de concentrados proteicos obtenidos a diferentes valores de pHs de solubilización y precipitación.

Muestra	Réplica	W _o harina (g)	W _f proteína concentrada (g)	% de Rendimiento por cada 25 g de muestra
10-2	1	25.0066	0.4747	1.8983
	2	25.0075	0.5124	2.0490
10-3	1	25.0038	1.0253	4.1006
	2	25.0041	1.0436	4.1737
10-4	1	25.0065	5.2577	21.0253
	2	25.0057	4.9965	19.9814
10-5	1	25.0066	3.9784	15.9094
	2	25.0060	4.1821	16.7244
12-2	1	25.0024	0.4023	1.6090
	2	25.0028	0.3952	1.5806
12-3	1	25.0066	3.1326	16.5260
	2	25.0060	4.4117	17.6426
12-4	1	25.0110	7.6724	30.6761
	2	25.0098	7.5922	30.3569
12-5	1	25.0022	7.7401	30.9577
	2	25.0031	7.8132	31.2489

Tabla 8. Resumen Estadístico para el % Rendimiento de los concentrados proteicos de la harina de Hormiga Santandereana por cada 25 g de muestra.

Muestra	% de Rendimiento		Promedio % Rendimiento	Desviación Estándar	Coeficiente de Variación
	Réplica 1	Réplica 2			
10-2	1.8983	2.0490	1.9736	0.1066	5.3987
10-3	4.1006	4.1737	4.1371	0.0517	1.2501
10-4	21.0253	19.9814	20.5034	0.7381	3.6001
10-5	15.9094	16.7244	16.3169	0.5763	3.5318
12-2	1.6090	1.5806	1.5948	0.0201	1.2602
12-3	15.7262	14.8432	15.2847	0.6244	4.0850
12-4	30.6761	30.3569	30.5165	0.2257	0.7396
12-5	30.9577	31.2489	31.1033	0.2059	0.6621

Tabla 9. ANOVA para el % de Rendimiento por Tratamiento.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Factor A	316.275	1	316.275	1840.69	0.0000
B:Factor B	1555.31	3	518.437	3017.25	0.0000
INTERACCIONES					
AB	127.037	3	42.3457	246.45	0.0000
RESIDUOS	1.37459	8	0.171824		
TOTAL (CORREGIDOS)	2000.0	15			

Tabla 10. Prueba de rangos múltiples para el % de Rendimiento por Factor A.

Factor A	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
10	8	10.7328	0.146554	A
12	8	19.6248	0.146554	B

Tabla 11. Prueba de rangos múltiples para el % de Rendimiento por Factor B.

Factor B	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	4	1.78422	0.207258	A
3	4	9.71092	0.207258	B
4	4	23.7101	0.207258	C
5	4	25.5099	0.207258	D

Tabla 12. Prueba de Múltiples Rangos Tukey para % de Rendimiento por Tratamientos.

Tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
12.0-5.0	2	31.1033	A
12.0-4.0	2	30.5165	A
10.0-4.0	2	20.5033	B
10.0-5.0	2	16.3169	C
12.0-3.0	2	15.2847	C
10.0-3.0	2	4.1372	D
10.0-2.0	2	1.9737	E
12.0-2.0	2	1.5948	E

Tabla 13. Resumen estadístico de la cuantificación del % de Proteína de los concentrados proteicos de la harina de Hormiga Santandereana, evaluados por el método Dumas.

Muestra	% Proteína		Promedio % Proteína	Desviación Estándar	Coeficiente de Variación
	Réplica 1	Réplica 2			
Harina	46.162	46.102	46.132	0.0424	0.0920
10-2	52.074	52.535	52.305	0.3260	0.6232
10-3	51.680	50.813	51.247	0.6131	1.1963
10-4	67.415	67.206	67.311	0.1478	0.2196
10-5	63.749	63.045	63.397	0.4978	0.7852
12-2	48.750	48.908	48.829	0.1117	0.2288
12-3	58.810	58.702	58.756	0.0764	0.1300
12-4	70.175	69.501	69.838	0.4766	0.6824
12-5	69.562	73.016	71.289	2.4423	3.4260

Tabla 14. ANOVA para el % de Proteína para Tratamientos - Método Dumas.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Factor A	52.2259	1	52.2259	60.01	0.0001
B:Factor B	963.439	3	321.146	369.01	0.0000
INTERACCIONES					
AB	84.9177	3	28.3059	32.52	0.0001
RESIDUOS	6.96226	8	0.870283		
TOTAL (CORREGIDOS)	1107.54	15			

Tabla 15. Prueba de rangos múltiples para el % de Proteína por Factor A – Método Dumas.

Factor A	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
10	8	58.5646	0.329826	A
12	8	62.178	0.329826	B

Tabla 16. Prueba de rangos múltiples para el % de Proteína por Factor B – Método Dumas.

Factor B	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	4	50.5667	0.466445	A
3	4	55.0012	0.466445	B
4	4	67.343	0.466445	C
5	4	68.5743	0.466445	C

Tabla 17. Prueba de Múltiples Rangos Tukey para % de Proteína por Tratamientos – Método Dumas.

Tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
12.0-5.0	2	71.2890	A
12.0-4.0	2	69.8380	AB
10.0-4.0	2	67.3105	B
10.0-5.0	2	63.3970	C
12.0-3.0	2	58.7560	D
10.0-2.0	2	52.3045	E
10.0-3.0	2	51.2465	E
12.0-2.0	2	48.8290	E

- Cálculo rendimiento concentrado proteico

- Rendimiento:

$$\% \text{ rendimiento}_{10-2} = \frac{\text{peso final del concentrado (g)}}{\text{peso inicial de la harina (g)}} * 100\%$$

$$\% \text{ rendimiento}_{10-2} = \frac{0.4747 \text{ g}}{25.0066 \text{ g}} * 100\%$$

$$\% \text{ rendimiento}_{10-2} = 1.8983\%$$

- Cálculos estadísticos de la cuantificación de proteína

- Media

$$\bar{X} = \frac{\sum x_i}{n}$$

$$\bar{X} = \frac{52.074 + 52.535}{2}$$

$$\bar{X} = 52.305$$

- Desviación estándar:

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

$$S = \sqrt{\frac{(52.074 - 52.305)^2 + (52.535 - 52.305)^2}{2 - 1}}$$

$$S = 0.3260$$

- Coeficiente de variación:

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} * 100\%$$

$$CV = \frac{0.3260}{52.305} * 100\%$$

$$CV = 0.6232\%$$