



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

POSGRADO EN BIOTECNOLOGÍA

“Caracterización bioactiva y tecnofuncional de hidrolizados de proteína soluble obtenidos a partir de *Acheta domesticus* “

TESIS PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN BIOTECNOLOGÍA

QUE PRESENTA:

I.A. CERVANTES TORRES LIZBETH

MATRICULA: 2223802982
CORREO: cervanjptor@gmail.com

DIRECTORA: DRA. YENIZEY MERIT ÁLVAREZ CISNEROS
ASESORA: DRA. ANGÉLICA ROMÁN GUERRERO
ASESOR: DR. JOSÉ ELEAZAR AGUILAR TOALÁ

JURADO

PRESIDENTA: DRA. GABRIELA MARIANA RODRÍGUEZ SERRANO
SECRETARIA: DRA. ANGÉLICA ROMÁN GUERRERO
VOCAL: DRA. ISADORA MARTÍNEZ ARELLANO
VOCAL: DR. JOSÉ ELEAZAR AGUILAR TOALÁ

IZTAPALAPA, CIUDAD DE MÉXICO, A 4 DE NOVIEMBRE DE 2024

Ciudad de México, a 4 de noviembre de 2024

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Iztapalapa aprobaron la tesis titulada **“Caracterización bioactiva y tecnofuncional de hidrolizados de proteína soluble obtenidos a partir de *Acheta domesticus*”**, que presentó **I.A. Lizbeth Cervantes Torres**.

El comité tutorial del proyecto de investigación está constituido por:

Directora: Dra. Yenizey Merit Álvarez Cisneros

Asesora: Dra. Angélica Román Guerrero

Asesor: Dr. José Eleazar Aguilar Toalá

El comité sinodal está conformado por:

Presidenta:

Dra. Gabriela Mariana Rodríguez Serrano

Departamento de Biotecnología

Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa

gmsr@xanum.uam.mx

Secretaria:

Dra. Angélica Román Guerrero

Departamento de Biotecnología

Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa

arogue@xanum.uam.mx

Vocal:

Dra. Isadora Martínez Arellano

ICAT, Departamento de Instrumentación Científica e Industrial

Universidad Nacional Autónoma de México

isadora.martinez@icat.unam.mx

Vocal:

Dr. José Eleazar Aguilar Toalá

Departamento de Ciencias de la Alimentación

Universidad Autónoma Metropolitana – Lerma

j.aguilar@correo.ler.uam.mx

AGRADECIMIENTOS

Agradezco de manera especial a la Dra. Yenizey Merit Álvarez Cisneros, mi directora de tesis, por su invaluable apoyo y orientación a lo largo de este proceso. Su dedicación, paciencia y guía fueron fundamentales para la realización de este trabajo. Estoy profundamente agradecida por su confianza y por brindarme la oportunidad de formar parte de su grupo de investigación.

A la Dra. Angélica Román Guerrero y al Dr. José Eleazar Aguilar Toalá, mis asesores, por su constante disposición para compartir sus conocimientos y ofrecerme siempre las mejores sugerencias. Sus consejos y correcciones fueron esenciales para mejorar este proyecto.

A las Dras. Gabriela Mariana Rodríguez Serrano e Isadora Martínez Arellano, quienes formaron parte del jurado de mi tesis, por su valiosa retroalimentación y observaciones, que enriquecieron el análisis de los resultados.

A mi equipo de trabajo: Salvador, Berenice y Simón. Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a Salvador por su apoyo incondicional y dedicación a lo largo de este proceso; su compromiso y compañerismo fueron fundamentales para superar los desafíos y alcanzar los objetivos de este proyecto. A Berenice y Simón, les agradezco sinceramente por su colaboración y apoyo, y por ser un gran equipo en cada paso del camino.

Finalmente, al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), por el apoyo brindado a través de la beca que me permitió concentrarme en la realización de este trabajo de investigación.

A todos, muchas gracias.

DEDICATORIA

A mis padres, Eduardo y Margarita, con todo mi amor y gratitud. Gracias por ser mi guía, por su amor incondicional y por enseñarme que, con esfuerzo y perseverancia, todo es posible. Este logro no habría sido posible sin su apoyo constante.

A mis sobrinos, Ethan y Kaleth, y a mi hermana Itzel, quienes, con su alegría e inocencia, llenan de luz mi vida e inspiran a ser mejor cada día. Ustedes han sido una fuente de motivación constante para seguir adelante.

A mis amigas, por su amistad sincera, por estar a mi lado en los momentos de incertidumbre, por las risas compartidas y por su apoyo incondicional, que me han hecho sentir acompañada en todo momento.

A toda mi familia, por su amor, sus palabras de aliento y por ser mi fortaleza en cada paso de este camino.

Este logro es tan mío como suyo.

RESUMEN

La entomofagia, o consumo de insectos, está ganando importancia debido a sus beneficios nutricionales y sostenibles. La modificación enzimática de proteínas se presenta como una estrategia eficaz para mejorar la funcionalidad y generar péptidos con propiedades bioactivas. Este estudio tuvo como objetivo evaluar las propiedades tecnofuncionales y la bioactividad de hidrolizados de proteínas solubles de *Acheta domesticus* obtenidos mediante hidrólisis enzimática. Se extrajo proteína soluble a pH 7.5 y 13, posteriormente los sobrenadantes fueron ajustados a pH 7.5 y se realizó una hidrólisis enzimática con alcalasa al 3% (v/v enzima:sustrato) durante 30, 60 y 90 minutos a 50 °C. Se determinó el grado de hidrólisis (GH) y se evaluaron las propiedades tecnofuncionales (capacidad de emulsión, capacidad espumante y porcentaje de coagulación), a diferentes concentraciones (1, 1.5 y 2% p/v). Además, se analizó la actividad antioxidante mediante los métodos DPPH, FRAP y ABTS. Los tratamientos enzimáticos presentaron un GH de 82-86% a pH 7.5 y de 50-56% a pH 13; los cuales presentaron diferencias significativas con respecto al GH de sus respectivos controles sin enzima a pH 7 (60%) y pH 13 (28%). El índice de actividad de emulsión y la capacidad de formación de espuma fueron mayores en el control a pH 13, con valores de 0.43 m²/g al 2% y 315% al 1%, respectivamente. El mayor porcentaje de coagulación fue de 0.17% al 2% en el tratamiento pH13 con 60 minutos de hidrólisis. Con respecto a la actividad antioxidante, el control a pH 7.5 mostró la mayor actividad de IC₅₀ para DPPH y ABTS (0.453 y 1.4 mg/mL, respectivamente), mientras que para FRAP fue de 627 µmol TE/mg muestra. En conclusión, en cuanto a las propiedades tecnofuncionales, las muestras con menor grado de hidrólisis mostraron un mejor desempeño, destacándose el tratamiento control a pH 13 con los mejores resultados. Por otro lado, el tratamiento control pH 7.5 presentó la mayor actividad antioxidante en los ensayos realizados.

No obstante, se requieren más investigaciones para ajustar las condiciones de hidrólisis y explorar el potencial de estos hidrolizados como ingredientes funcionales, lo que podría abrir nuevas oportunidades para el desarrollo de productos alimenticios de alta calidad.

ÍNDICE GENERAL

1. Introducción	12
1.1 Uso de insectos como fuente alternativa de proteínas.....	13
1.1.1 <i>Acheta domestica</i>	14
1.2 Hidrólisis de proteínas.....	14
1.2.1 Proteasas.....	15
1.2.1.1 Alcalasa	15
1.2.2 Características de los hidrolizados de proteína soluble	17
1.3 Estimación de peso molecular	18
1.4 Propiedades tecnofuncionales de las proteínas.....	19
1.4.1 Capacidad espumante	19
1.4.2 Capacidad emulsionante	20
1.4.2.1 Índice de actividad emulsificante	20
1.4.2.2 Estabilidad de emulsión.....	20
1.4.3 Porcentaje de coagulación.....	21
1.5 Bioactividad.....	21
1.5.1 Actividad antioxidante	22
1.5.2 Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)	23
1.5.3 Método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) ...	23
1.5.4 Método FRAP (Poder antioxidante de reducción de iones férricos).....	23
1.6 Aplicaciones potenciales de los péptidos.....	24
1.6.1 Alimentos funcionales	24
1.6.2 Suplementos dietéticos.....	24
1.6.3 Otros usos industriales	24
2. Antecedentes	25
3. Justificación	26
4. Hipótesis	26
5. Objetivos	26
5.1 Objetivo general	26
5.2 Objetivos específicos	26
6. Metodología	27

6.1 Metodología general	27
6.2 Obtención de harina desengrasada	27
6.3 Extracción de proteínas	28
6.4 Condiciones experimentales	28
6.5 Hidrólisis de proteínas.....	29
6.6 Determinación del porcentaje de rendimiento de extracción y recuperación de proteína total	29
6.7 Cuantificación de proteína soluble	30
6.8 Grado de hidrólisis (GH)	30
6.9 Perfil electroforético tris-tricina	31
6.10 Determinación de color	32
6.11 Propiedades tecnofuncionales.	33
6.11.1 Propiedades espumantes	33
6.11.2 Propiedades emulsionantes.....	33
6.11.3 Porcentaje de coagulación.....	34
6.12 Bioactividad.....	35
6.12.1 Determinación de polifenoles totales	35
6.12.2 Actividad antioxidante	35
6.12.2.1 Método ABTS (Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6- sulfónico)).....	35
6.12.2.2 Método DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil).....	36
6.12.2.3 Método FRAP (Poder antioxidante de reducción de iones férricos)	36
7. Resultados y discusión	37
7.1 Rendimiento de extractos, recuperación de proteína, cuantificación de proteína soluble y grado de hidrólisis.....	37
7.2 Perfil electroforético	40
7.3 Determinación de color	41
7.4 Propiedades tecnofuncionales	44
7.4.1 Capacidad de formación de espuma	44
7.4.2 Capacidad de emulsión	49
7.4.2.1 Índice de actividad emulsionante.....	49

7.4.3 Porcentaje de coagulación.....	54
7.5 Bioactividad.....	56
7.5.1 Determinación de polifenoles totales	56
7.5.2 Actividad antioxidante	58
7.5.2.1 Método DPPH.....	59
7.5.2.2 Método ABTS	60
7.5.2.3 Método FRAP	61
8. Conclusiones	61
9. Perspectivas.....	62
10. Referencias bibliográficas	64
ANEXOS	77
Anexo A. Cuantificación de Proteína	77
Anexo B. Protocolo Tricina-SDS-PAGE para la preparación de geles de poliacrilamida.....	79
Anexo C. Curva patrón de índice de polifenoles totales	81
Anexo D Gráficos para determinar IC₅₀.....	82
Anexo E Curva Patrón µmol TE	88
Anexo F Retribución social.....	89
Anexo F Congreso	93

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1 Condiciones experimentales	29
Tabla 2 Preparaciones de geles de electroforesis tris-tricina	32
Tabla 3 Rendimiento de extractos, recuperación de proteína, cuantificación de proteína soluble y grado de hidrólisis a partir de extractos en <i>Acheta domesticus</i>	38
Tabla 4 Parámetros del color de proteínas hidrolizadas de <i>Acheta domesticus</i> ...	43
Tabla 5 Capacidad Antioxidante de los hidrolizados obtenidos a partir de <i>Acheta domesticus</i>	59
Tabla B 1 Porcentaje de acrilamida/bis-acrilamida en el gel	80
Figura 1 Metodología general del trabajo de investigación	27
Figura 2 Geles de electroforesis tris- tricina al 20%	41

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Capacidad de formación de espuma de los hidrolizados obtenidos a partir de <i>Acheta domesticus</i>	46
Gráfico 2 Estabilidad de formación de espuma en concentraciones de 1% de hidrolizados obtenidos a partir de <i>Acheta domesticus</i>	48
Gráfico 3 Estabilidad de formación de espuma en concentraciones de 1.5% de hidrolizados obtenidos a partir de <i>Acheta domesticus</i>	48
Gráfico 4 Estabilidad de formación de espuma en concentraciones de 2% de hidrolizados obtenidos a partir de <i>Acheta domesticus</i>	49
Gráfico 5 Índice de actividad emulsionante de los hidrolizados obtenidos a partir de <i>Acheta domesticus</i>	50
Gráfico 6 Estabilidad de emulsión en concentraciones de 1% de hidrolizados obtenidos a partir de <i>Acheta domesticus</i>	52
Gráfico 7 Estabilidad de emulsión en concentraciones de 1.5% de hidrolizados obtenidos a partir de <i>Acheta domesticus</i>	53
Gráfico 8 Estabilidad de emulsión en concentraciones de 2% de hidrolizados obtenidos a partir de <i>Acheta domesticus</i>	53
Gráfico 9 Porcentaje de coagulación de los hidrolizados obtenidos a partir de <i>Acheta domesticus</i>	55
Gráfico 10 Determinación de polifenoles totales en la harina y los hidrolizados obtenidos a partir de <i>Acheta domesticus</i>	57
Gráfico A 1 Curva patrón Lowry-Peterson.....	78
Gráfico C 1 Curva patrón índice de polifenoles totales	81
Gráfico D 1 C 7.5 DPPH.....	82
Gráfico D 2 T2 DPPH.....	82
Gráfico D 3 T3 DPPH.....	83

Gráfico D 4 C 13 DPPH.....	83
Gráfico D 5 T5 DPPH.....	84
Gráfico D 6 T6 DPPH.....	84
Gráfico D 7 C 7.5 ABTS.....	85
Gráfico D 8 T2 ABTS.....	85
Gráfico D 9 T3 ABTS.....	86
Gráfico D 10 C 13 ABTS.....	86
Gráfico D 11 T5 ABTS.....	87
Gráfico D 12 T6 ABTS.....	87
Gráfico E 1 Curva patrón $\mu\text{mol TE DPPH}$	88
Gráfico E 2 Curva patrón $\mu\text{mol TE ABTS}$	88

1. Introducción

Actualmente, el consumo de insectos es considerado como una fuente sostenible de proteínas/nutrientes. A nivel mundial, existen >2,000 especies comestibles, México tiene el mayor número de especies de insectos comestibles, seguida de China e India (Lin et al., 2023). La composición nutricional de los insectos puede variar ampliamente, dependiendo de la especie, la etapa de desarrollo, las condiciones ambientales y su dieta (Kouřimská y Adámková, 2016), generalmente se les considera una fuente importante de proteínas de alta calidad, con un contenido equilibrado de aminoácidos, ácidos grasos esenciales, microelementos y otros compuestos bioactivos (Elhassan et al., 2019).

En la mayoría de los casos, comparados con las proteínas vegetales y cárnicas, los insectos tienen proteína de mayor calidad en términos de su valor nutricional, contenido total de proteínas, composición de aminoácidos esenciales y eficiencia proteica (del alimento) (Kim et al., 2020A). Sin embargo, se requiere más información y estrategias que permitan incrementar el valor nutritivo de las proteínas de insectos. La modificación enzimática de proteínas es útil para mejorar la funcionalidad, también se ha demostrado que algunos péptidos obtenidos de las proteínas de la dieta mediante hidrólisis enzimática presentan actividades antioxidantes, antimicrobianas, antidiabéticas, antihipertensivas, antitrombóticas e inmunomoduladoras (Hall et al., 2016). Dada la variedad de funciones que se han descubierto para los péptidos bioactivos, algunas fuentes que pueden ser utilizadas para generar estos productos de valor agregado son los derivados de proteínas alimentarias y subproductos de procesamiento (Li-Chan, 2015; Hall et al., 2018).

El reglamento sobre nuevos alimentos aprobado por la Unión Europea 2283/2015 (2018) establece que los insectos y sus partes se consideran alimentos con beneficios nutricionales y se clasifican como 'nuevos alimentos'. Los riesgos generales para la salud asociados con su consumo han sido abordados en diversos perfiles de riesgo y dictámenes científicos (FAO, 2013; EFSA Scientific Committee, 2015).

En México, el consumo de insectos se remonta a culturas prehispánicas como los zapotecas, mixtecos y mayas, quienes los recolectaban por su sabor único y los utilizaban en diversas preparaciones (Molina-Vega et al., 2021). En los últimos años, la demanda de insectos ha crecido, especialmente en estados como Oaxaca, Guerrero, Chiapas, Campeche, Puebla, Hidalgo y Tlaxcala, donde la entomofagia es una práctica común (Hurd et al., 2019).

1.1 Uso de insectos como fuente alternativa de proteínas

Los insectos son considerados una fuente sostenible de proteína, ya que requieren significativamente menos recursos para su producción en comparación con la carne convencional. Según diversos estudios, la cría de insectos necesita entre un 50 y un 90% menos de tierra y 40 a 80% menos de alimento por kilogramo de proteína producida. Además, los insectos generan entre 1.2 y 2.7 kg menos de emisiones de gases de efecto invernadero por kilogramo de peso vivo respecto al ganado y consumen aproximadamente 1,000 litros menos de agua por kilogramo de peso vivo que el ganado (Espitia-Buitrago et al., 2021; Mina et al., 2023).

La producción de insectos se puede llevar a cabo en instalaciones pequeñas y es escalable, lo que permite su implementación en operaciones industriales. Esto no solo reduce la necesidad de transporte a larga distancia, sino que también facilita la creación de sistemas cerrados, minimizando el riesgo de contaminación ambiental y la dependencia de pesticidas. Además, los insectos pueden alimentarse con residuos orgánicos, contribuyendo a disminuir la cantidad (De Goede et al., 2013).

Los insectos son altamente eficientes en la conversión de alimentos debido a su naturaleza de sangre fría. Las tasas de conversión alimento-carne, que representan la cantidad de alimento necesaria para incrementar 1 kg en el peso, varían según la especie y las prácticas de producción. En términos generales, los insectos demuestran una notable eficiencia en la conversión de alimentos: en promedio, pueden transformar 2 kg de alimento en 1 kg de masa corporal, mientras que el ganado necesita 8 kg de alimento para alcanzar el mismo aumento de peso (FAO, 2013).

Los insectos son una fuente rica y diversa de nutrientes que pueden contribuir a una dieta saludable y equilibrada (Kim et al., 2019). Además, los insectos son una buena fuente de grasas saludables, que incluyen ácidos grasos insaturados como el ácido oléico y el ácido linoléico y fibra dietética; que puede ayudar a regular la digestión y prevenir enfermedades intestinales (Hlongwane et al., 2020).

Los insectos también son una fuente rica de vitaminas y minerales. La vitamina B12 es esencial tanto para la producción de glóbulos rojos como para el cuidado del sistema nervioso, se encuentra en grandes cantidades en algunos insectos, como los gusanos de la harina. Además, los insectos también contienen otras vitaminas del grupo B, como tiamina, riboflavina y niacina, y una amplia variedad de minerales como hierro, calcio, fósforo, magnesio y zinc (Zhou et al., 2022).

1.1.1 *Acheta domesticus*

Comúnmente conocido como grillo doméstico, es un insecto perteneciente a la familia *Gryllidae*, se cree que esta especie de grillo es originaria de Europa, pero hoy en día se encuentra en todo el mundo, incluyendo América del Norte, América del Sur, Europa y Asia. *A. domesticus* ha sido utilizado tradicionalmente como alimento para mascotas y en la pesca deportiva. Sin embargo, en los últimos años, se ha considerado como una fuente potencialmente valiosa de proteínas para el consumo humano. Son insectos omnívoros que se alimentan de una amplia variedad de alimentos, incluyendo frutas, verduras, carne y plantas (Lundy y Parrella, 2015).

Los grillos domésticos también son relativamente fáciles de criar y mantener en cautiverio, lo que los convierte en una fuente sostenible de alimento. En un estudio realizado por Halloran et al. (2017), se evaluó el impacto ambiental de la producción de proteína de grillo en comparación con la producción de proteína de carne de pollo y se demostró que la producción de grillos domésticos es más eficiente en términos de uso de recursos y emisiones de gases de efecto invernadero.

Uno de los principales atractivos de los grillos domésticos como fuente de alimento es su alto contenido de proteínas. Según un estudio realizado por Udomsil et al. (2019), cada 100 g de insecto en base seca, contiene alrededor de 58-64 g de proteína, 13-21 g de grasa, 2-5 g de carbohidratos y 3-7 g de fibra. Además, es rica en vitaminas y minerales, incluyendo hierro, calcio, magnesio, fósforo, potasio, zinc, vitamina B12 y riboflavina.

1.2 Hidrólisis de proteínas

Es un proceso mediante el cual las proteínas se descomponen en péptidos más pequeños y aminoácidos, utilizando enzimas purificadas, semipurificadas o sintetizadas por microorganismos. Este proceso también puede realizarse por métodos químicos, como la hidrólisis ácida o alcalina. Este proceso se puede utilizar para mejorar la funcionalidad, lo que puede ser beneficioso en la industria alimentaria (Nemati et al., 2024).

Entre los microorganismos que pueden realizar hidrólisis de proteínas se encuentran las bacterias ácido-lácticas, como *Lactobacillus delbrueckii* y *Lactobacillus acidophilus* (Parra-Huertas, 2010). Algunas enzimas proteolíticas comúnmente utilizadas en la hidrólisis de proteínas incluyen tripsina, quimotripsina, alcalasa, papaína y bromelina. Estas enzimas tienen diferentes especificidades de

corte en los enlaces peptídicos y pueden producir diferentes péptidos y aminoácidos libres (Pérez Gálvez et al., 2024).

1.2.1 Proteasas

Las proteasas, clasificadas bajo la categoría de "Hidrolasas" de acuerdo con el sistema internacional de clasificación y nomenclatura de enzimas (número EC), específicamente en la clase 3 y subclase 3.4, desempeñan un papel crucial en la promoción de la proteólisis, que consiste en la ruptura de enlaces peptídicos (Webb, 1993). Estas enzimas se dividen principalmente en dos categorías: las endopeptidasas, que cortan en el interior de las cadenas de proteínas y las exopeptidasas, que actúan en los extremos de dichas cadenas. La elección entre estas categorías tiene un impacto directo en el tamaño de los péptidos resultantes; por ejemplo, las endopeptidasas generan péptidos más extensos que las exopeptidasas.

Un aspecto fundamental de las proteasas es su selectividad, que varía significativamente entre diferentes enzimas. Esto significa que, incluso cuando se utiliza el mismo sustrato proteico, la hidrólisis produce una amplia diversidad de productos finales. Esta variabilidad en las acciones de las proteasas se considera ventajosa, ya que proporciona una amplia variedad de "herramientas" para la generación de productos a partir de una misma fuente de proteínas con potencial de hidrólisis (Pawar et al., 2023).

Además, las proteasas se agrupan en clanes que destacan las particularidades de su estructura tridimensional y sus sitios catalíticos. Esto conduce a su clasificación en categorías como peptidasas aspárticas, peptidasas de cisteína, peptidasas de metal o peptidasas de serina. También existen proteasas con mecanismos catalíticos mixtos o con mecanismos desconocidos, clasificadas como tipo desconocido (Naeem et al., 2022).

1.2.1.1 Alcalasa

Catalogada como una "serina endopeptidasa" entre las proteasas, con la clasificación EC 3.4.21.14 según el sistema internacional de clasificación y nomenclatura de enzimas, se caracteriza por su estructura activa que incluye una triada catalítica de aminoácidos que incluye ácido aspártico, histidina y serina. Esta enzima tiene la capacidad de cortar las proteínas en la parte intermedia de sus cadenas de aminoácidos (Naeem et al., 2022). Las condiciones óptimas incluyen temperaturas de entre 50 y 70 °C, dependiendo del tipo de sustrato, y un pH entre 6.5 y 8.5 (Naveed et al., 2021).

La alcalasa “subtilisina carlsberg” fue inicialmente aislada de *Bacillus subtilis* y denominada por Linderstrom-Lang y Ottesen; su purificación fue realizada por Gtintelberg y Ottesen (López-García et al., 2022). Con el tiempo, se identificaron otras proteasas a partir de distintas cepas de *Bacillus subtilis*, también conocidas como subtilisina A y subtilopeptidasa A (Azrin et al., 2022). Cuando fue lanzada al mercado por Novozymes, adoptó el nombre de "alcalasa". Actualmente, su producción se lleva a cabo mediante fermentación sumergida alimentada por lotes utilizando *Bacillus licheniformis* (Tacias-Pascacio et al., 2020).

Estas proteasas alcalinas son de gran relevancia en la industria debido a su capacidad para funcionar y mantener su estabilidad en entornos alcalinos. Inicialmente, se emplearon principalmente como aditivos en formulaciones de detergentes, pero con el tiempo, sus aplicaciones se han expandido. Actualmente, se emplean en la industria del cuero para procesos de deslanado y apaleo; en la industria alimentaria, se utilizan para ablandar carnes, mejorar el sabor de quesos, elaborar productos horneados y aumentar la digestibilidad de alimentos destinados a animales (Aktayeva et al., 2024).

La alcalasa, al igual que otras proteasas alcalinas, inicialmente se aplicó de manera significativa como componente de productos de limpieza. Fue la primera proteasa para detergentes desarrollada por Novozymes en la década de 1960 (Song et al., 2023). Sin embargo, más tarde, encontró un amplio campo de aplicación en la producción y modificación de alimentos, destacándose especialmente como una proteasa utilizada en la producción de concentrados de proteína de pescado mediante hidrólisis (Naveed et al., 2021)

El nombre comercial "Alcalase®" es una marca registrada de Novozymes Corp. Esta formulación consiste en una preparación enzimática líquida compuesta principalmente por glicerol, que representa aproximadamente el 50% de su peso total, junto con agua, que constituye alrededor del 41% en peso y un extracto de proteasa de *Bacillus licheniformis*, que representa un 9% en peso. Su actividad se mide en unidades enzimáticas (U) y normalmente tiene una actividad de ≥ 2.4 U/mL. Estos valores pueden cumplir con las especificaciones de pureza requeridas para productos de calidad alimentaria, según los estándares establecidos por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) y el Código Alimentario (FCC).

En el contexto de la hidrólisis enzimática de proteínas, es común asignar posiciones a los aminoácidos en el sustrato alrededor del sitio de ruptura del enlace peptídico. Estas posiciones se enumeran convencionalmente como P1, P2, P3, etc., en el lado

izquierdo del enlace que se va a romper, y como P1', P2', etc., en el lado derecho del sitio de ruptura. En una cadena de proteína, el primer aminoácido se encuentra en el extremo *N*-terminal y el último en el extremo *C*-terminal. Cuando se rompe el enlace peptídico, el aminoácido en la posición P1 corresponde al extremo carboxilo del nuevo fragmento o péptido recién formado, mientras que el aminoácido en la posición P1' corresponde al nuevo extremo amino del segundo fragmento liberado (Rivero-Pino et al., 2020).

La especificidad de la alcalasa se describe principalmente como preferencial hacia residuos grandes y no cargados en la posición P1. Sin embargo, se han observado otras preferencias, notaron que la enzima rompe enlaces peptídicos cuando los aminoácidos ácido glutámico, metionina, leucina, tirosina, lisina y glutamina ocupan la posición P1. Esto es especialmente evidente cuando ácido glutámico se encuentra en la posición P1 y también hay otro residuo hidrofóbico en las posiciones P2' o P3' (Tacias-Pascacio et al., 2020). En resumen, la alcalasa puede utilizarse para generar péptidos con características generalmente “hidrofóbicas” debido a su capacidad para reconocer este tipo de aminoácidos.

1.2.2 Características de los hidrolizados de proteína soluble

Las proteínas exhiben características únicas que varían según su origen. En términos generales, la hidrólisis enzimática permite obtener péptidos más pequeños y biodisponibles (Dryáková et al., 2010). Estos péptidos tienden a mostrar una mayor solubilidad en agua y otros solventes acuosos, así como en ciertos solventes orgánicos, dependiendo de su composición en aminoácidos y de los grupos funcionales presentes, incluyendo metanol, etanol, acetona, DMSO (dimetilsulfóxido) y cloroformo, siendo especialmente eficaces para aquellos péptidos con características hidrofóbicas (Gómez-Guillén et al., 2011).

Sin embargo, los péptidos también son propensos a la agregación, especialmente en condiciones de alta concentración, ante cambios en el pH o la temperatura. Esta tendencia a la agregación se debe a que, tras la hidrólisis, las regiones hidrofóbicas quedan más expuestas e interactúan entre sí (Zhu et al., 2020). A pesar de esta susceptibilidad, la menor longitud de los péptidos facilita su digestión y absorción por el organismo (Lee et al., 2023).

La hidrólisis enzimática puede mejorar la funcionalidad de las proteínas. Liu et al. (2024) encontraron que los péptidos derivados del pescado presentaban propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, además, Leni et al. (2020) evaluaron las propiedades funcionales de la harina de *Alphitobius diaperinus* tratada con alcalasa, observando una alta capacidad de retención de aceite.

1.3 Estimación de peso molecular

La electroforesis es una técnica analítica utilizada para separar biomoléculas, como proteínas y ácidos nucleicos, según su movilidad en un campo eléctrico aplicado sobre una matriz porosa (Delgado, 2022). En su aplicación analítica, la electroforesis se destaca por su alta sensibilidad y capacidad de resolución, lo que facilita la separación de mezclas complejas y permite evaluar la pureza de los componentes (Kielkopf et al., 2021). Entre las variantes principales de esta técnica se encuentran la electroforesis capilar y en gel. La electroforesis capilar se realiza en un tubo estrecho, donde la movilidad electroforética de las moléculas se aprovecha para su separación (Siebert et al., 2023).

La electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) utiliza un gel de poliacrilamida como matriz porosa para retardar la movilidad de las moléculas según su tamaño. La polimerización de la acrilamida se lleva a cabo utilizando tetrametiletilendiamina (TEMED) como catalizador y persulfato de amonio (APS) como iniciador. A medida que aumenta la concentración de acrilamida, disminuye el tamaño de los poros del gel, lo que afecta la movilidad de las proteínas (Kielkopf et al., 2021). Esta técnica permite la separación eficiente de biomoléculas de diferentes tamaños.

El buffer Tris-Glicina se emplea en la separación de proteínas de alto peso molecular, normalmente en un intervalo de 20 a 250 kDa. Este buffer, compuesto por Tris y glicina, estabiliza el pH (8.3) durante el proceso de separación, lo que garantiza una migración uniforme y un entorno adecuado para la resolución (Laemmli, 1970).

Por otro lado, el buffer Tris-Tricina se utiliza para la separación de proteínas de bajo peso molecular, en el intervalo de 1 a 100 kDa. La tricina, debido a su menor tamaño y mayor movilidad en comparación con la glicina, mejora la resolución de proteínas pequeñas y péptidos. Este aminoácido sintético, con una estructura compuesta por un grupo amino (-NH₂), un grupo carboxilo (-COOH) y tres grupos hidroxilo (-OH), actúa como un excelente agente buffer. Además, su alta solubilidad en agua facilita su uso en aplicaciones bioquímicas sin interferir con procesos enzimáticos, también genera un gradiente de pH que permite una mayor precisión en la separación y una reducción de la difusión de bandas, proporcionando mayor claridad en la separación de proteínas de bajo peso molecular. Este buffer es útil para proteínas que son inestables en condiciones alcalinas, ya que permite su migración en un entorno de pH ácido (Schägger y von Jagow, 1987). Esta combinación de técnicas y buffers asegura resultados precisos y reproducibles, permitiendo un análisis detallado de biomoléculas de diversos tamaños.

1.4 Propiedades tecnofuncionales de las proteínas

Las proteínas son macromoléculas biológicas esenciales en los sistemas vivos, que tienen una amplia variedad de propiedades funcionales en diferentes aplicaciones tecnológicas, como la alimentación, la farmacología y la biotecnología. En la industria alimentaria, las proteínas se utilizan como ingredientes funcionales debido a sus propiedades tecnofuncionales, que son su capacidad para interactuar con otros componentes y alterar la textura, la apariencia, la viscosidad y la estabilidad de los productos alimentarios (Małecki et al., 2021).

Las propiedades tecnofuncionales de las proteínas se pueden clasificar en tres categorías:

- La capacidad emulsificante, que se refiere a la capacidad de una proteína para estabilizar una emulsión al reducir la tensión superficial entre dos fases inmiscibles.
- La capacidad espumante, que hace referencia a la capacidad de una proteína para formar y estabilizar burbujas de aire en un líquido, lo que resulta en la formación de una espuma.
- La capacidad gelificante, que es la capacidad de una proteína para formar un gel, que es una red tridimensional capaz de retener agua u otros solventes en condiciones adecuadas.

Estas propiedades son el resultado de la estructura química y la composición de aminoácidos de las proteínas, así como de su interacción con otros componentes alimentarios. La selección y optimización de las proteínas adecuadas para una aplicación específica es fundamental para lograr el mejor rendimiento y calidad del producto final. Además, es importante considerar factores como la digestibilidad y la alergenicidad de las proteínas para garantizar la seguridad alimentaria y la satisfacción del consumidor (Toldrá et al., 2020).

En resumen, el conocimiento y la comprensión de las propiedades tecnofuncionales de las proteínas son críticos para el desarrollo de alimentos innovadores y de alta calidad en el futuro.

1.4.1 Capacidad espumante

La capacidad espumante de las proteínas se debe a su capacidad para interactuar con la interfase aire-líquido y formar una película que estabiliza las burbujas de aire en la espuma (Zhong et al., 2021). Está influenciada por varios factores, como la concentración proteica, el pH, la fuerza iónica y la presencia de otros ingredientes en la formulación, como las sales. En general, la capacidad espumante de las

proteínas es una propiedad importante en la industria alimentaria, ya que permite la producción de alimentos con texturas y apariencias únicas. Por lo tanto, se han realizado numerosos estudios para mejorar la capacidad espumante de diferentes proteínas y comprender los factores que influyen en esta propiedad (Aguilera et al., 2021).

1.4.2 Capacidad emulsionante

Se define la capacidad emulsionante de las proteínas como su habilidad para estabilizar una emulsión, que es una mezcla de dos líquidos inmiscibles, como aceite y agua. Esta propiedad es crucial porque, sin estabilización, las gotas de aceite tienden a separarse de la fase acuosa, lo que puede llevar a la inestabilidad de la emulsión. Las macromoléculas, como las proteínas, estabilizan la emulsión al adsorberse a la interfase aceite-agua y formar una película que protege las gotas de aceite de la coalescencia, sedimentación, floculación y separación de fases. Se ha demostrado que la capacidad emulsionante de las proteínas depende de su estructura primaria, secundaria y terciaria, así como de su carga superficial e hidrofobicidad (Ding et al., 2021).

Además, la capacidad emulsionante de las proteínas puede ser afectada por la modificación química y la hidrólisis enzimática, Dion-Poulin et al. (2020), evaluaron las harinas de insectos, como *Grylodes sigillatus* y *Tenebrio molitor*, y sus hidrolizados generados por alcalasa, donde se observó que la hidrólisis enzimática disminuye la capacidad de emulsión debido a la rápida inestabilidad de las emulsiones. Aunque mejora la solubilidad, no favorece la estabilidad emulsionante, incluso con pretratamientos de alta presión.

1.4.2.1 Índice de actividad emulsificante

Es una medida de la capacidad de una proteína para estabilizar una emulsión, es decir, para prevenir la separación de fases entre dos líquidos no miscibles. El índice de actividad emulsificante (IAE) se expresa como la cantidad de aceite que puede ser estabilizada por una cierta cantidad de proteína. A menudo se utiliza como un indicador de la funcionalidad de la proteína en productos alimenticios y otras aplicaciones industriales (Padial-Domínguez et al., 2020).

1.4.2.2 Estabilidad de emulsión

La estabilidad de las emulsiones es una propiedad crítica en la industria alimentaria, ya que puede afectar la calidad del producto y su vida útil. Las proteínas tienen un papel importante en la estabilidad de las emulsiones debido a su capacidad para adsorberse en la interfase de la emulsión y formar una película que protege las

gotas de la emulsión de la coalescencia y la separación. La estabilidad de la emulsión también puede ser influenciada por otros factores, como el pH, la fuerza iónica, la temperatura y la concentración de las proteínas, entre otros (Schmid et al., 2024).

Un estudio de Ma et al. (2020) analizó la actividad emulsionante de las partículas de proteína de soja estables al calor (SPP) en emulsiones aceite en agua (O/W). Los hallazgos revelaron que las emulsiones estabilizadas con SPP mostraron una notable mejora en la estabilidad emulsionante en comparación con las emulsiones que utilizaban proteínas de soja nativas. Las SPP no solo lograron mantener la estabilidad térmica, sino que también un tamaño de partícula más uniforme. Esto sugiere que las SPP pueden ser una opción eficaz para el desarrollo de emulsiones en la industria alimentaria, ofreciendo mejores propiedades emulsionantes en comparación con las proteínas tradicionales.

1.4.3 Porcentaje de coagulación

El porcentaje de coagulación es una medida de la capacidad de las proteínas para coagular y formar una red tridimensional que atrapa agua y otras moléculas (Hasnan et al., 2023).

Según un estudio realizado por Mishyna et al. (2019B), evaluó cómo el pH y la temperatura afectan la agregación y gelificación de las proteínas de este insecto. Se encontró que la coagulación máxima se alcanzó a 85 °C, con pH 5 y 7, logrando tasas de coagulación del 73,7 % y 68,4 %, respectivamente. Las interacciones intermoleculares, tanto covalentes como no covalentes, jugaron un papel crucial en la agregación de proteínas. Además, el contenido de gelificación del polvo crudo de cría de abejas varió del 5 al 11 % según el pH. Este polvo, al ser liofilizado, mostró un valor nutricional significativo y propiedades de gelificación comparables a las de fuentes de proteínas convencionales, lo que sugiere su potencial como ingrediente en productos alimentarios gelificados. Además de sus propiedades tecnofuncionales, las proteínas de insectos también poseen características bioactivas que pueden contribuir a la salud humana.

1.5 Bioactividad

Las proteínas son macromoléculas esenciales en la dieta humana, y su modificación puede mejorar su bioactividad. Una de las estrategias más comunes para lograr esto es la hidrólisis enzimática, que consiste en la ruptura de los enlaces peptídicos en las proteínas para obtener péptidos bioactivos. Estos péptidos son pequeñas cadenas de aminoácidos que tienen funciones fisiológicas específicas en el cuerpo

humano, siendo útiles en la prevención de enfermedades y en la promoción de la salud (Purohit et al., 2024).

La mayoría de los péptidos bioactivos oscilan entre 2 y 20 residuos de aminoácidos y tienen una masa molecular de 0.4 a 2 kDa (Korhonen y Pihlanto, 2006). Sin embargo, también se han reportado péptidos más largos, como la lunasina, que consiste en 43 aminoácidos y se encuentra en la soja, con propiedades anticancerígenas e hipocolesterolémicas (Ulug et al., 2021).

Además, las enzimas utilizadas en la hidrólisis enzimática facilitan la extracción de proteínas de los alimentos mediante la degradación de la pared celular, la liberación de proteínas unidas al almidón y la mejora de la solubilidad de las proteínas, este proceso no solo aumenta la disponibilidad de péptidos bioactivos, sino que también potencia sus propiedades funcionales únicas (Pougoue Ngueukam et al., 2023).

1.5.1 Actividad antioxidante

Las especies reactivas de oxígeno causan daño celular y provocan cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares e hipertensión (Ibrahim et al., 2018). La capacidad antioxidante de los péptidos bioactivos está relacionada con su hidrofobicidad y composición de aminoácidos. Entre los aminoácidos que poseen propiedades antioxidantes se encuentran: histidina, ácido glutámico, prolina, tirosina, cisteína, metionina y fenilalanina (Cruz-Casas et al., 2023).

Los péptidos bioactivos pueden actuar como antioxidantes al unirse a iones metálicos prooxidantes, eliminar el radical OH y/o inhibir la peroxidación lipídica. Cada aminoácido contribuye a la actividad antioxidante de manera única, dependiendo de su clasificación (Li et al., 2008). La mayoría de los péptidos antioxidantes incluyen de 4 a 16 residuos de aminoácidos, con una masa molecular de 0.4 a 2 kDa. El tamaño molecular de los péptidos influye en su biodisponibilidad y en su comportamiento durante la digestión gastrointestinal, lo que puede aumentar la actividad antioxidante *in vivo* (Cruz-Casas et al., 2021). Los aminoácidos aromáticos como tirosina y fenilalanina son excelentes para donar protones a los radicales deficientes en electrones, lo que mejora la capacidad de eliminación de radicales de los péptidos bioactivos. Los péptidos que contienen tirosina funcionan principalmente a través de la transferencia de átomos de hidrógeno, mientras que los péptidos que contienen cisteína, triptófano e histidina funcionan principalmente a través de la transferencia de un solo electrón (Ibrahim et al., 2018). Además, se ha confirmado que la capacidad antioxidante de los péptidos que contienen histidina está relacionada con la donación de hidrógeno y la captura de radicales peroxilo

lipídicos, mientras que el grupo sulfhidrilo de las cisteínas está dotado de un efecto antioxidante debido a su reacción primaria con los radicales (Kamran et al., 2023).

1.5.2 Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

Se basa en la reducción del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), que tiene un color púrpura característico debido a su electrón desapareado. Cuando el DPPH se reduce por un antioxidante, como los péptidos bioactivos, se forma un cromóforo que cambia de púrpura a amarillo. Este cambio de color se lee espectrofotométricamente a 517 nm, lo que indica la capacidad del compuesto para donar electrones o hidrógenos. Los grupos funcionales que comúnmente participan en esta reducción son los grupos hidroxilo (-OH), y grupos tiol (-SH), que están presentes en aminoácidos como la tirosina, cisteína y lisina (Mardani et al., 2023).

1.5.3 Método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico))

Implica la generación del radical ABTS⁺ mediante oxidación del ABTS con persulfato de potasio, lo que produce un cromóforo azul-verdoso que tiene una absorbancia máxima a 734 nm. Cuando los antioxidantes, como los péptidos, interactúan con el radical ABTS⁺, ocurre una decoloración debido a la transferencia de electrones o hidrógenos, lo que refleja la capacidad antioxidante. Grupos funcionales como los -OH son relevantes en este proceso, contribuyendo a la neutralización de los radicales. Algunos aminoácidos que participan son fenilalanina, triptófano, metionina, prolina y valina (Wen et al., 2020).

1.5.4 Método FRAP (Poder antioxidante de reducción de iones férricos)

Mide la capacidad de los antioxidantes para reducir iones férricos (Fe³⁺) a ferrosos (Fe²⁺), formando un cromóforo azul que se cuantifica mediante espectrofotometría a 593 nm. En este proceso, aunque los péptidos pueden contribuir, su eficacia es menor en comparación con compuestos como los polifenoles, que son más efectivos en la reducción de Fe³⁺. Esta es una de las razones por las que hemos decidido utilizar este ensayo en nuestro estudio, dado que consideramos la posible presencia de polifenoles, lo que lo hace adecuado para evaluar su capacidad antioxidante.

Una limitación del ensayo FRAP es su baja reactividad con grupos tiol (-SH), presentes en proteínas y algunos aminoácidos como la cisteína, lo que reduce significativamente la contribución proteica al valor de FRAP. Esto permite una evaluación más precisa de antioxidantes no proteicos sin necesidad de eliminar las proteínas de las muestras, como en el caso del plasma (Bartosz, 2010). Por lo tanto,

este método es particularmente útil cuando el interés se centra en los compuestos no proteicos.

Esta combinación de propiedades hace que el ensayo FRAP sea ideal para nuestra investigación, dado que proporciona un enfoque equilibrado para la evaluación de antioxidantes, especialmente en presencia de polifenoles (Ocampo et al., 2023).

1.6 Aplicaciones potenciales de los péptidos

Tienen un amplio espectro de aplicaciones potenciales en la industria alimentaria, farmacéutica, cosmética y de suplementos dietéticos. Su versatilidad y propiedades funcionales los convierten en ingredientes prometedores para aumentar el valor nutricional de diversos productos

1.6.1 Alimentos funcionales

Los hidrolizados de proteínas son ingredientes clave en la producción de alimentos funcionales, que aportan beneficios adicionales a la salud más allá de su valor nutricional. Estos productos no solo mejoran la textura, estabilidad y perfil sensorial de los alimentos, sino que también ofrecen propiedades funcionales que pueden promover la salud ósea, mejorar el sistema inmunológico y reducir el riesgo de enfermedades crónicas. Al enriquecer los alimentos con hidrolizados de proteínas, se busca satisfacer las necesidades nutricionales de los consumidores y contribuir a su bienestar general (Makkar et al., 2014; Henry et al., 2015).

1.6.2 Suplementos dietéticos

Los hidrolizados de proteínas también se utilizan en la fabricación de suplementos dietéticos. Estos suplementos se consumen para complementar la dieta y proporcionar nutrientes adicionales. Los hidrolizados de proteínas en forma de polvos o cápsulas utilizan fuentes concentradas de aminoácidos y péptidos de fácil absorción (Magalhães et al., 2017). Estos suplementos son populares entre los atletas y las personas que buscan aumentar la ingesta proteica, promover la recuperación muscular o mejorar el rendimiento deportivo (Kowalski et al., 2022).

1.6.3 Otros usos industriales

Los insectos comestibles están ganando relevancia no solo como fuente alimentaria, sino también en diversas aplicaciones industriales. Por ejemplo, la extracción de aceite de insectos se presenta como una alternativa prometedora a los aceites vegetales y de pescado, debido a su perfil nutricional favorable y costos de producción más bajos. Este aceite, rico en ácidos grasos esenciales y

compuestos bioactivos, puede ser utilizado en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética (Aparecida-Cruz et al., 2024).

2. Antecedentes

Algunos autores realizaron algunos estudios de hidrolizados de proteína de grillos enteros (*Grylloides sigillatus*) con alcalasa, se evaluó la composición, propiedades tecnofuncionales como la solubilidad, emulsión y propiedades espumantes, así como su actividad antioxidante; los resultados indican que los hidrolizados presentan péptidos biológicamente activos que podrían incorporarse en alimentos funcionales (Hall et al., 2016; Hall et al., 2018).

Mintah et al. (2019), estudiaron los hidrolizados de proteína de la mosca soldado-negra (*Hermetia illucens*) utilizando una proteasa alcalina y 3 pretratamientos (frecuencia convencional, ultrasónico de frecuencia fija y frecuencia de barrido). Los resultados indican que las propiedades tecnofuncionales (como emulsión, solubilidad y espuma) y la actividad antioxidante de los hidrolizados aumentan o disminuyen según el pretratamiento elegido, lo que sugiere su potencial para diversas aplicaciones en la industria alimentaria.

Cermeño et al. (2022), caracterizaron los hidrolizados de proteínas obtenidos a partir de harina de pupas de gusanos de seda (*Bombyx mori*) utilizando preparaciones proteolíticas como Alcalase®, Prolyve®, Flavourzyme® y Brewers Clarex®. En general, los hidrolizados de Alcalase y Prolyve tuvieron las actividades antioxidantes de eliminación de radicales libres más altas, según las pruebas de ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) y ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)). El método ORAC mide la capacidad de los antioxidantes para neutralizar radicales libres. Por otro lado, el ensayo ABTS evalúa la habilidad de un compuesto para eliminar el radical catión ABTS^{•+}. Sin embargo, los hidrolizados de Flavourzyme y Brewers Clarex tuvieron una mejor actividad antioxidante con la técnica FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), que mide la capacidad de un antioxidante para reducir el ion férrico (Fe³⁺) a férrico (Fe²⁺) en comparación con los otros tratamientos demostrando ser una rica fuente de péptidos antioxidantes capaces de ser liberados por medio de hidrólisis enzimática.

Villaseñor et al. (2022), evaluaron las propiedades tecnofuncionales de la harina de chapulín mexicano (*Sphenarium purpurascens*), como la solubilidad, la capacidad de retención de agua/aceite y las propiedades de la emulsión, con diferentes pretratamientos térmicos (70, 80, 90 y 121 °C); también evaluaron el potencial antiinflamatorio y antioxidante de sus hidrolizados de proteínas. Se determinó que presentaron interesantes propiedades tecnofuncionales que pueden ser útiles

durante la formulación de productos alimenticios y también demostraron que los hidrolizados tuvieron el potencial de inhibir las enzimas proinflamatorias, como COX-2 e iNOS, así como propiedades antioxidantes. Esto da una nueva perspectiva a la tecnología alimentaria para estudiar más a fondo y lograr obtener nuevos ingredientes que puedan sustituir las fuentes de proteínas convencionales.

3. Justificación

Con el aumento de la población, aumenta la demanda proteica y con ello se impulsa la búsqueda de nuevas opciones supletorias para su obtención. Los insectos comestibles pueden ofrecer una alternativa de proteína respecto a las convencionales, además de tener múltiples ventajas para el medio ambiente, ya que emiten menos gases de efecto invernadero, requieren menor cantidad de agua, bajo uso de tierra y son eficientes al convertir piensos en proteína.

Por ello se decidió trabajar con *Acheta domesticus*, ya que se cría en condiciones controladas en granjas y hasta el momento no se han reportado propiedades tecnofuncionales y bioactivas en los hidrolizados de las proteínas del grillo, aunque se han estudiado hidrolizados de proteínas de insectos como grillo de bandas tropicales (*Gryllodes sigillatus*), mosca soldado (*Hermetia illucens*), pupas de gusanos de seda (*Bombyx mori*), saltamontes mexicano (*Sphenarium purpurascens*) y su posible uso como aditivos alimentarios.

4. Hipótesis

Si las proteínas y sus hidrolizados obtenidos a partir de *A. domesticus* pueden ser considerados aditivos, entonces se espera que tengan por lo menos una propiedad tecnofuncional (gelificante, emulsificante, espumante, estabilizante), y/o presentar actividad antioxidante

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Evaluar las propiedades tecnofuncionales y bioactividad de las proteínas e hidrolizados de *A. domesticus* obtenidas por vía enzimática.

5.2 Objetivos específicos

- Extraer proteína soluble a partir de *A. domesticus*
- Obtener los hidrolizados enzimáticos de proteína a partir de *A. domesticus*
- Conocer las propiedades tecnofuncionales de los hidrolizados obtenidos
- Analizar la actividad antioxidante de los hidrolizados de proteína

6. Metodología

6.1 Metodología general

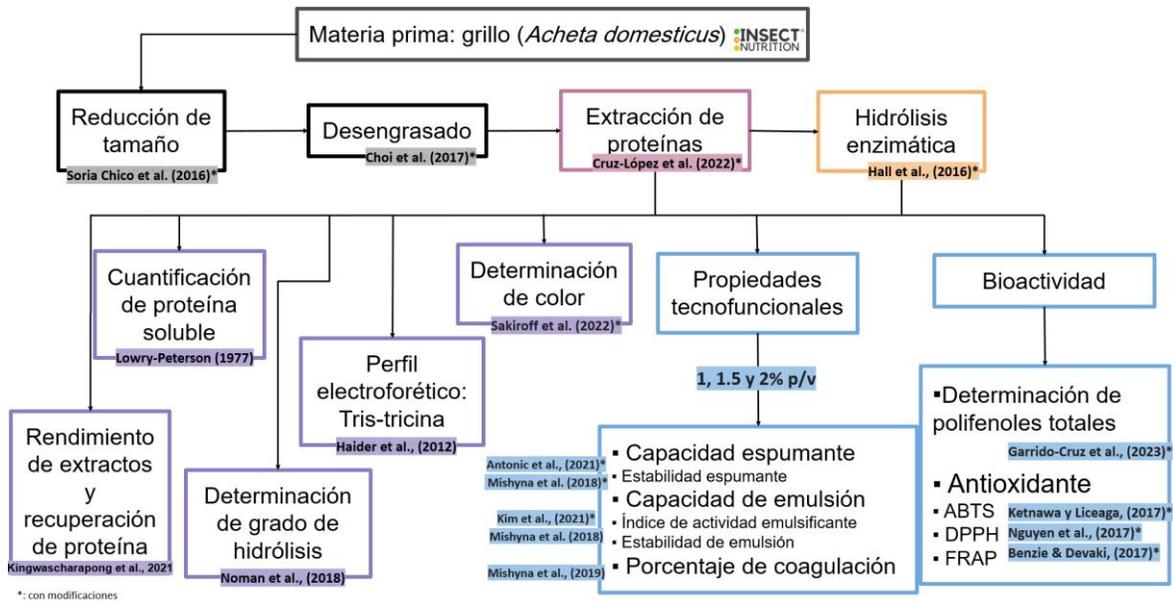


Figura 1 Metodología general del trabajo de investigación

6.2 Obtención de harina desengrasada

La harina se obtuvo a partir de grillos adultos (*Acheta domesticus*) deshidratados adquiridos de la empresa Insect in Nutrition (Apaseo el Grande, Guanajuato). Se siguió la metodología de Soria Chico et al. (2016) con algunas modificaciones. En primer lugar, se llevó a cabo un proceso de limpieza que consistió en la eliminación manual de materia extraña, como hojas y otros residuos, de los grillos deshidratados. Posteriormente, los grillos se trituraron en una licuadora hasta obtener un polvo, se pasó por una malla del número 60, lo que asegura una textura fina y firme, que se denominó harina de grillo.

Para eliminar la grasa, la harina de grillo se sometió a un proceso de desengrasado de acuerdo con el método descrito por Choi et al. (2017) con algunas modificaciones. Los lípidos se extrajeron utilizando hexano (Meyer, México) como disolvente en una relación de 1:5 (muestra-solvente). Las muestras se agitaron durante 2 horas a 1150 rpm con hexano, posteriormente la harina desengrasada es recuperada por filtración y se realizó una recuperación del disolvente mezclado con la grasa extraída mediante destilación; se agregó nuevamente el hexano

recuperado. Este proceso se repitió 3 veces para eliminar la mayor parte de grasa de los insectos.

Una vez completado el proceso de desengrasado, la harina se colocó en una charola de aluminio a temperatura ambiente durante dos días para eliminar el disolvente remanente. Esta harina libre de grasa, se nombró harina de grillo desengrasada (HGD).

6.3 Extracción de proteínas

Se llevó a cabo siguiendo el procedimiento descrito por Cruz-López et al. (2022B), con algunas modificaciones. Se realizaron dos tipos de extracción en diferentes pH (7.5 y 13) a partir de 7 g de HGD. Por ello, la primera extracción se realizó en 50 mL de una solución de agua destilada ajustada a pH 7.5 con NaOH 0.1 N, mientras que la segunda extracción se llevó a cabo en 50 mL de una solución de NaOH 0.5 N, que corresponde al pH 13. Ambas mezclas fueron agitadas en una parrilla de agitación (CORNING® PC-420D, Massachusetts, USA) durante 30 min a 1050 rpm. Finalmente se realizó una centrifugación (Velab PRO 8M, CDMX, México) a 2450 x g durante 15 min, se recuperó el sobrenadante (fracción con la proteína soluble) y el precipitado se desechó. Posteriormente, el sobrenadante de ambos extractos fue ajustado a pH 7.5 con HCl 0.1 N y almacenado en refrigeración (4°C) hasta realizar las pruebas de hidrólisis. Los extractos fueron etiquetados como proteína soluble extraída pH 7.5 y 13.

6.4 Condiciones experimentales

Las condiciones experimentales de este estudio se estructuró para investigar los hidrolizados de proteínas de *Acheta domesticus* bajo diferentes condiciones. En el proceso de extracción de proteínas, se establecieron tres factores clave. En primer lugar, se utilizó el pH de extracción, con dos niveles específicos: 7.5 y 13. En segundo lugar, se mantuvo constante la concentración enzimática a 30 µL/mL en los tratamientos, mientras que en los controles la concentración enzimática fue cero. Por último, se consideró el tiempo de reacción, realizando mediciones en cuatro intervalos: 0, 30, 60 y 90 min. Estos factores y sus niveles son fundamentales para evaluar la efectividad del proceso de extracción y las propiedades de los hidrolizados obtenidos. Las muestras se identificaron con las claves C7.5 y T1-T3 para el pH 7.5, y C13 y T4-T6 para el pH 13, donde “C” denota el control y “T” las muestras tratadas. La estructura del experimento se resume en la Tabla 1, la cual detalla las condiciones experimentales y la identificación de cada muestra. Este diseño permitió un análisis sobre cómo las variaciones en el pH de extracción y el tiempo de hidrólisis afectan las características de los hidrolizados.

Tabla 1 Condiciones experimentales

pH extracción	Tiempo (min)	Alcalasa (µL/mL)	Clave de tratamientos
7.5	0	0	C 7.5
	30	30	T1
	60	30	T2
	90	30	T3
13	0	0	C 13
	30	30	T4
	60	30	T5
	90	30	T6

6.5 Hidrólisis de proteínas

Se determinó siguiendo la metodología de Hall et al. (2016) con modificaciones. Se agregó una concentración de enzima al 3% v/v enzima:sustrato, también se incluyó un control para cada pH de extracción de proteína. Todos los tratamientos fueron hidrolizados con la enzima alcalasa 126741 (Sigma-Aldrich, USA) a 50 °C y pH 7.5, para lograr una actividad óptima de la enzima, de acuerdo con el proveedor. Al finalizar la hidrólisis, las muestras se calentaron a 90 °C durante 10 min para inactivar la enzima. Posteriormente, todos los tratamientos fueron concentrados utilizando una liofilizadora (Labconco FreeZone® 2.5, Houston, USA).

6.6 Determinación del porcentaje de rendimiento de extracción y recuperación de proteína total

El porcentaje de rendimiento de extracción se calculó como la relación entre el peso del concentrado extraído, tras el proceso de liofilización, y el peso inicial, de acuerdo con la fórmula (1). El porcentaje de recuperación de proteínas se calculó como la proporción de la proteína total extraída en relación con la proteína presente en la harina de insecto inicial, utilizando el método de Kjeldahl. Para los extractos, se empleó un factor de conversión de 6.25, mientras que para la harina de insecto se utilizó un factor de 4.5, como se muestra en la fórmula (2) (Kingwascharapong et al., 2021)

$$\% \text{ rendimiento de extracción} = \frac{\text{peso concentrado liofilizado}}{\text{peso de harina}} * 100 \quad (1)$$

$$\% \text{ recuperación de proteína total} = \frac{\% \text{ proteína extractos}}{\% \text{ proteína de harina}} * 100 \quad (2)$$

6.7 Cuantificación de proteína soluble

El análisis se llevó a cabo siguiendo las modificaciones al método de Lowry descritas por Peterson (1977). Se realizó tanto para todos los tratamientos, se disolvió 1 g de muestra liofilizada y se disolvió en 1 mL de agua destilada y se homogeneizaron 20 μ L de cada muestra en 480 μ L de agua destilada.

La reacción se realizó mezclando 0.5 mL del reactivo A, preparado a partir de soluciones de carbonato de tartrato-cobre, SDS y NaOH, en proporciones 1:1:1 los detalles de la preparación están indicadas en el Anexo A y 0.250 mL del reactivo B, que consiste en una dilución 1:1 del reactivo de fenol Folin-Ciocalteu (Fisons, Loughborough, Reino Unido) con agua destilada. La mezcla se incubó a 30 °C durante 10 min. Posteriormente, se añadió 0.250 mL del reactivo B y se continuó la incubación a 30 °C durante 30 min.

La absorbancia se midió con un espectrofotómetro (Velab modelo VE-5000V) a una longitud de onda de 750 nm, utilizando un blanco sin muestra como referencia. Las concentraciones de proteínas se calcularon por interpolación en una curva estándar, preparada con una solución de albúmina sérica bovina (Sigma-Aldrich, USA) en concentraciones de 0.1 a 1 mg/mL (Anexo A).

6.8 Grado de hidrólisis (GH)

El GH se determinó de acuerdo con el método de Noman et al. (2018), con algunas modificaciones. Se mezclaron 0.750 g de muestra con 25 mL de agua destilada y se ajustó el pH a 7.0 utilizando una solución de NaOH 0.1 N. Después, se añadieron 5 mL de una solución de formaldehído al 38% (v/v) y se dejó reposar durante 5 min a temperatura ambiente. Finalmente, se realizó una titulación de los hidrolizados con una solución estándar de NaOH 0.1 N, hasta llegar a un pH final de 8.5. El volumen de NaOH empleado durante la titulación se utilizó para calcular la cantidad de grupos amino libres presentes en la muestra. Se utilizó la fórmula 3 para determinar el porcentaje de grupos amino libres.

$$\% \text{ grupos amino libres} = \frac{\text{mL de NaOH gastados en la muestra} \cdot \text{Normalidad NaOH} \cdot 14.007}{\text{peso de la muestra} \cdot 1000} \cdot 100 \quad (3)$$

Por otro lado, se determinó el % de nitrógeno total con el método de Kjeldahl, se agregaron 0.5 g de muestra, 0.8 g de catalizador reactivo de Wieninger (Supelco, USA) y 3 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) a un matraz Kjeldahl de 30 mL. Esta mezcla se sometió a digestión bajo una campana de extracción hasta que ya no se liberaron vapores. Posteriormente, las muestras se transfirieron al destilador micro Kjeldahl junto con 10 mL de agua destilada y se añadieron 15 mL de hidróxido de sodio al

40% (p/v). El amoníaco liberado se capturó en 10 mL de ácido bórico al 2% y tres gotas del indicador Tashiro (solución de rojo de metilo al 0.2% y azul de metileno al 0.1%), se recolectaron aproximadamente 10 mL del destilado. La titulación se llevó a cabo utilizando una solución de HCl 0.1 N (Cruz-López, 2020) y se calculó el porcentaje de proteína cruda mediante la fórmula 4.

$$\% \text{ nitrógeno total} = \frac{\text{mL de HCl gastados en la muestra} * 0.014 * \text{Normalidad HCl}}{\text{peso de la muestra}} * 100 \quad (4)$$

Una vez obtenidos el porcentaje de grupos amino libres y el porcentaje de nitrógeno total después de la hidrólisis, se determinó el grado de hidrólisis (GH) utilizando la fórmula 5, que relaciona la proporción de grupos amino libres con el nitrógeno total. El GH refleja la extensión de la hidrólisis proteica, indicando cuántos grupos amino se han liberado durante el proceso:

$$GH = \frac{\% \text{ grupos amino libres}}{\% \text{ nitrógeno total}} * 100 \quad (5)$$

6.9 Perfil electroforético tris-tricina

Se realizó siguiendo la metodología de Haider et al. (2012) con modificaciones, preparando todas las soluciones con agua inyectable, la cual fue seleccionada debido a su alta pureza y esterilidad. Su uso garantiza la ausencia de contaminantes, endotoxinas y microorganismos, lo que resulta esencial para asegurar la máxima precisión y seguridad en los resultados. Se realizaron geles de concentración (4%) y de resolución (20%) de acuerdo con la tabla 2. La mezcla del gel de resolución (20%) se vertió entre las placas de vidrio, dejando un espacio de 1 a 2 cm en la parte superior, el cual se llenó con isopropanol al 70%. Una vez que el gel de resolución se polimerizó, utilizando tetrametiletilendiamina (TEMED) y persulfato de amonio (APS) como iniciadores, se retiró el isopropanol y se vertió la mezcla del gel de apilamiento (4%), insertando los peines para formar los pocillos. Posteriormente, las placas con los geles se colocaron en la cámara de electroforesis, utilizando un buffer Tris-Tricina.

Las muestras fueron preparadas mezclando el buffer de carga, que contenía 100 mM de Tris-HCl (pH 6.8), 1% de SDS, 4% de 2-mercaptoetanol, 0.02% de Coomassie Brilliant Blue (CBB) y 24% de glicerol, con la muestra en una proporción 1:1, se realizó un calentamiento a 100 °C durante 5 min para desnaturalizar las proteínas, y finalmente se cargaron las muestras y el marcador molecular (Thermo Scientific, PageRuler Unstained Low Range Protein Ladder, Lituania) en los pocillos

del gel. La electroforesis fue llevada a cabo con un voltaje constante de 100 V hasta que la línea base llegó al final del gel. Una vez completada la electroforesis, los geles se fijan con una solución de glutaraldehído (Sigma- Aldrich, USA) al 5% durante 30 min, se tiñen con CBB (BioRad, USA) durante 20 min y se decoloran con ácido acético al 10% (v/v). Finalmente, los geles son analizados en un fotodocumentador (BioRad, USA).

Tabla 2 Preparaciones de geles de electroforesis tris-tricina

Porcentaje de acrilamida/bis-acrilamida en el gel	Solución de acrilamida/bis-acrilamida 29.1-30% (p/v) (mL)	Buffer Tris 2.5 M (mL)	Agua inyectable (mL)	TEMED (μL)	APS 30 mg/mL (μL)	Volumen total (mL)
Gel de apilamiento (4%)	0.66	0.76	3.42	5	150	~5
Gel de resolución (20%)	6.67	3	0.07	10	100	~10

6.10 Determinación de color

Las determinaciones se realizaron con un colorímetro Hunter Lab previamente calibrado, siguiendo la metodología de Sakiroff et al. (2022) con modificaciones. El porta-muestra se llenó y rotó 90° en cada medición, empleando una apertura de 19.1 mm, iluminante D65 y observador estándar de 10°. Los resultados se reportaron como valores promedio ± DS de L*, a* y b*.

Además, se calculó el valor de ΔE según Urbina et al. (2021), el cual indica la diferencia de color percibida por el ojo humano. Según esta escala, para ΔE* < 1 las diferencias de color no son apreciables; para 1 < ΔE* < 3 las diferencias son mínimas y para ΔE* > 3 las diferencias son obvias. El cálculo se realizó según la fórmula 6.

$$\Delta E = \sqrt{(L_2 - L_1)^2 + (a_2 - a_1)^2 + (b_2 - b_1)^2} \quad (6)$$

Donde:

L₁, a₁, b₁: Son los valores medidos para los tratamientos, que indican la luminosidad y el balance de color en las escalas verde-rojo y azul-amarillo.

L_2 , a_2 , b_2 : Son los valores de referencia o control, con los cuales se comparan los tratamientos.

6.11 Propiedades tecnofuncionales.

6.11.1 Propiedades espumantes

La capacidad de formación de espuma (CFE) y la estabilidad de espuma (EFE) se evaluaron siguiendo los métodos descritos por Antonic et al. (2021) y Mishyna et al. (2019A). Para llevar a cabo las pruebas, las muestras (1, 1.5 y 2% p/v) se dispersaron en 20 mL de un buffer de fosfatos (pH 7, 0.2 M) y se homogeneizaron durante 90 s en un vaso de precipitados de vidrio de 150 mL utilizando un espumador (Dallfoll, Alemania). La homogeneización se realizó a una velocidad de aproximadamente 21000 rpm. Posteriormente, inmediatamente después de finalizar la homogeneización, se midió el volumen de espuma utilizando una probeta graduada de 100 mL.

CFE se calculó utilizando la fórmula 7, donde V_T representa el volumen final en diferentes tiempos después de la formación de la espuma (mL) y V_0 es el volumen inicial de la muestra (mL).

$$CFE(\%) = \frac{V_T - V_0}{V_0} * 100 \quad (7)$$

$$EFE(\%) = \frac{CFE}{CFE_0} * 100 \quad (8)$$

Por otro lado, EFE se evaluó cada 5 min después de la formación de espuma, y se determinó la estabilidad espumante utilizando la fórmula 8, donde CFE_0 corresponde a la capacidad de formación de espuma en el tiempo 0 y CFE indica la capacidad de formación de espuma medida en los distintos tiempos posteriores (cada 5 min).

6.11.2 Propiedades emulsionantes

El índice de actividad emulsionante (IAE) se determinó siguiendo el método descrito por Kim et al. (2021) con ligeras modificaciones. Las muestras (1, 1.5 y 2% p/v) se dispersaron en 20 mL de un buffer de fosfatos 0.2 M a pH 7 y se homogeneizaron con 2 mL de aceite de canola durante 90 s utilizando un espumador (Dallfoll, Alemania). Aunque este equipo está diseñado para incorporar aire, su uso es clave en la emulsificación, ya que mejora la dispersión del aceite en la fase acuosa. El aditamento de amasado, que permite una mezcla más homogénea, asegura la

combinación eficiente de las fases. La homogeneización se realizó a una velocidad aproximada de 21000 rpm.

Para calcular el IAE, se tomaron 50 μL de la emulsión inmediatamente después de la homogeneización y se mezclaron con 10 mL de una solución de dodecilsulfato de sodio (SDS) (Sigma- Aldrich, USA) al 0.3% (p/v). A continuación, se midió la absorbancia a 500 nm utilizando un espectrofotómetro (Velab, V-5000, CDMX, México).

El IAE se calculó utilizando la fórmula 9 reportada por Zhang et al. (2021):

$$IAE \left(\frac{m^2}{g}\right) = 2 \times 2.303 \times \frac{A_0 * FD}{10000 * L * \theta * C} \quad (9)$$

En esta fórmula, 2 es el factor que representa las dos fases involucradas (agua y aceite) en la interfaz de la emulsión, 2.303 ajusta las unidades de medida de la absorbancia, A_0 representa la absorbancia en el tiempo 0, FD es el factor de dilución de la muestra (en este caso, 10000/50), 10000 se utiliza para convertir las unidades de cm^2 a m^2 , L es la longitud de la celda (1 cm), θ es la fracción de aceite (2/22), y C es la concentración de la fase acuosa (g/cm^3).

La estabilidad de la emulsión se evaluó utilizando el método descrito por Mishyna et al. (2019A), con ciertas modificaciones. Para ello, se preparó la emulsión de acuerdo con el procedimiento mencionado anteriormente para el IAE. Inmediatamente después de formar la emulsión, se dispersaron 50 μL de la emulsión en 10 mL de una solución de dodecilsulfato de sodio (SDS) al 0.3% (p/v). Se midió la absorbancia a 500 nm en intervalos de tiempo de 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 90 y 120 min. La estabilidad de la emulsión se calculó utilizando la fórmula (10):

$$Estabilidad \ de \ la \ emulsión \ (\%) = \frac{A_T}{A_0} \times 100 \quad (10)$$

Donde A_0 representa la absorbancia de la emulsión en el tiempo cero y A_T es la absorbancia de la emulsión en los diferentes tiempos de análisis.

6.11.3 Porcentaje de coagulación

El porcentaje de coagulación se determinó de acuerdo con la metodología de Mishyna et al. (2019A) con algunas modificaciones. Las muestras (1, 1.5 y 2% p/v) se disolvieron en 10 mL de buffer de fosfatos (0.2 M, pH 7) y se agitaron durante 30

min. A continuación, se centrifugaron durante 25 min a una velocidad de 2450 x g y se tomó un alícuota de 0.5 mL del sobrenadante y se añadieron 2 mL del reactivo de Biuret (Meyer, México). La mezcla se mantuvo en la oscuridad durante 30 min y se determinó la absorbancia a 540 nm. Posteriormente, el sobrenadante restante se calentó a una temperatura de 85 ± 2 °C durante 30 min. Después de enfriar el sobrenadante, se repitió el procedimiento descrito anteriormente. Finalmente, se calculó el porcentaje de coagulación utilizando la fórmula 11:

$$\% \text{ de coagulación} = \frac{\text{Abs antes de calentar} - \text{Abs después de calentar}}{\text{Abs antes de calentar}} * 100 \quad (11)$$

6.12 Bioactividad

6.12.1 Determinación de polifenoles totales

La determinación de polifenoles totales se realizó siguiendo el método descrito por Garrido-Cruz et al. (2023), el cual emplea el reactivo de Folin-Ciocalteu para medir el contenido total de polifenoles. Se realizó utilizando una solución estándar de ácido gálico (40-400 ppm). Los polifenoles fueron extraídos de 1 gramo de muestra liofilizada resuspendida en 10 mL de agua destilada y luego se procedió a la cuantificación. Se mezclaron 500 µL de la muestra con 4.5 mL de agua destilada. Posteriormente, se añadieron 200 µL de reactivo Folin-Ciocalteu y 500 µL de solución saturada de Na₂CO₃ a los tubos. Después de homogeneizar con agitación suave, se adicionaron 4.3 mL de agua destilada. Tras una hora de reposo en la oscuridad, se registró la absorbancia a 765 nm. La cantidad total de polifenoles se determinó en unidades de equivalentes de ácido gálico (mg equivalentes de ácido gálico/g de muestra liofilizada) mediante interpolación con la curva patrón.

6.12.2 Actividad antioxidante

Las muestras liofilizadas (1 mg) se solubilizaron en 1 mL de agua inyectable y se agitaron durante 1 min. Todos los ensayos antioxidantes se realizaron en placas de 96 pocillos y se midieron en un espectrofotómetro de microplacas (Epoch, BioTek Instruments Inc., número de serie: 15012719).

6.12.2.1 Método ABTS (Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico))

El ensayo de ABTS se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Ketnawa y Liceaga (2017), con ligeras modificaciones. Se preparó una solución stock disolviendo 7.4 mM de ABTS (Sigma-Aldrich, USA) en 2.45 mM de persulfato de potasio (Sigma-Aldrich, USA) y se incubó en la oscuridad a 25 °C durante 16 h. Para la solución de trabajo, se tomó una alícuota de 150 µL de la solución stock y se

diluyó con 14 mL de buffer de fosfato 5 mM, ajustado a pH 7.4, hasta alcanzar una absorbancia de 0.700 ± 0.02 a 734 nm. Antes de cada ensayo, se preparó una nueva solución de ABTS.

Para la determinación, se mezclaron 6 μ L de muestra (1 mg/mL) con 294 μ L de la solución de trabajo de ABTS, permitiendo la reacción durante 10 min a 30 °C en condiciones de oscuridad. La absorbancia se midió a 734 nm, utilizando un blanco preparado con 6 μ L de solvente en lugar de la muestra. Los resultados se expresaron en μ mol de equivalentes Trolox (TE) por mg de muestra liofilizada.

Adicionalmente, se realizaron pruebas con concentraciones de muestra que variaron entre 0.5 y 1.5 mg/mL para calcular el IC₅₀, que representa la concentración de muestra necesaria para inhibir el 50% del radical ABTS. Este valor se obtuvo graficando el porcentaje de inhibición del radical ABTS en función de las concentraciones de muestra, para determinar el punto en el que se alcanzaba el 50% de inhibición.

6.12.2.2 Método DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil)

El ensayo de DPPH se realizó siguiendo el método descrito por Nguyen et al. (2017). Se mezclaron 100 μ L de muestra con 100 μ L de agua y 25 μ L de una solución de DPPH a 0.05 mM. Después de incubar durante 30 min a temperatura ambiente en condiciones de oscuridad, se midió la absorbancia a 510 nm. Los resultados se expresaron en μ mol de equivalentes Trolox (TE) por mg de muestra liofilizada. Se preparó un control de muestra sustituyendo la solución de DPPH por 25 μ L de agua para la corrección de fondo. Adicionalmente, se llevaron a cabo pruebas con diferentes concentraciones de muestra, desde 0.1 hasta 1.5 mg/mL, para calcular el IC₅₀, que representa la concentración de muestra necesaria para inhibir el 50% del radical DPPH. Los datos obtenidos se graficaron para determinar el valor de IC₅₀ a partir del porcentaje de inhibición del radical DPPH.

6.12.2.3 Método FRAP (Poder antioxidante de reducción de iones férricos)

Se llevó a cabo el ensayo FRAP utilizando el método descrito por Benzie y Devaki, (2017) con modificaciones. Se mezclaron 10 μ L de muestra con 300 μ L del reactivo FRAP. Para la preparación del reactivo de FRAP, se empleó una solución amortiguadora de acetatos a 300 mmol/L, pH 3.6 (3.1 g de trihidrato de acetato de sodio en 800 mL de agua, seguido de la adición de 16 mL de ácido acético glacial). El pH se ajustó utilizando ácido acético glacial o hidróxido de sodio 1 M y se completó el volumen a 1 L con agua. Esta solución se almacenó a temperatura ambiente máximo 1 mes.

La solución de 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) se preparó disolviendo 156 mg de TPTZ en 50 mL de HCl 40 mmol/L y se almacenó a 4 °C por un máximo de 2 semanas. Por otro lado, la solución de cloruro férrico se preparó disolviendo 270 mg de cloruro férrico hexahidratado en 50 mL de agua y se almacenó a 4 °C por un máximo de 2 semanas.

El reactivo FRAP de trabajo se preparó mezclando 10 mL de la solución amortiguadora de acetatos (300 mmol/L, pH 3.6), 1 mL de la solución de TPTZ y 1 mL de la solución de cloruro férrico; una vez preparado, se debe utilizar dentro de las 3 h. Se recomendó desechar la mezcla si se observaba un cambio de color azul, lo que indicaba contaminación con Fe²⁺ libre. Posteriormente, la mezcla se incubó durante 4 min a 37 °C en condiciones de oscuridad y se midió la absorbancia a 593 nm. Los resultados se expresaron en μmol de equivalentes Trolox (TE) /mg de muestra liofilizada.

7. Resultados y discusión

7.1 Rendimiento de extractos, recuperación de proteína, cuantificación de proteína soluble y grado de hidrólisis

En la tabla 3 se presentan los resultados de rendimiento de extractos, recuperación de proteína, concentración de proteína soluble y grado de hidrólisis (GH) para los diferentes tratamientos a pH de extracción 7.5 y 13.

En el rendimiento de extracción, se observó que los valores más bajos se presentaron en pH 7.5, mostrando diferencias significativas ($p < 0.05$) en comparación con los tratamientos a pH 13. El tratamiento T3 alcanzó el mayor rendimiento, con un 9.72%, mientras que el control (C7.5) mostró el valor más bajo, con un 3.31%. Esta variación podría estar relacionada con la solubilidad de las proteínas, ya que existe una correlación directa entre el rendimiento de sólidos y el grado de hidrólisis. En contraste, las muestras tratadas a pH 13 mostraron un aumento significativo ($p < 0.05$) en los rendimientos de extracción en comparación con pH 7.5, independientemente del tiempo de hidrólisis. El mayor rendimiento a este pH se obtuvo en el tratamiento T6, con un 28.62%, en comparación con el control (C13), que alcanzó un 22.33%. En cuanto a la recuperación de proteína total, se observó que a medida que aumentaba el grado de hidrólisis, también lo hacía el porcentaje de recuperación. Los tratamientos T3 y T6 presentaron los mayores valores, con 2.35% y 9.04%, respectivamente. Cruz-López (2022A), obtuvo un mayor valor de recuperación de proteína a partir de *A. domesticus* extraída por

alcalinización (11.29%). Estos resultados sugieren que al neutralizar el pH se pierde solubilidad en las proteínas extraídas a pH 13 y por ende se obtiene una menor recuperación de proteína total, además las proteínas en entornos alcalinos mejoran significativamente su solubilidad, lo cual podría atribuirse a la ionización de aminoácidos ácidos (como ácido glutámico y aspártico) y neutros (como tirosina, cisteína, glicina y alanina) presentes en las proteínas (Mintah et al., 2020). Los resultados de solubilidad y rendimiento son consistentes con otros estudios, que indican que la tasa de extracción de proteínas solubles de insectos aumenta en condiciones alcalinas (da Silva Lucas et al., 2020).

Tabla 3 Rendimiento de extractos, recuperación de proteína, cuantificación de proteína soluble y grado de hidrólisis a partir de extractos en *Acheta domesticus*

Clave de tratamiento	% Rendimiento extractos	% Recuperación de proteína	Proteína soluble (mg/mL)	%Grado de hidrólisis
C7.5	3.31 ± 0.09 ^H	1.69 ± 0.03 ^G	8.96 ± 0.03 ^H	60.63 ± 1.01 ^C
T1	3.70 ± 0.04 ^G	2.02 ± 0.01 ^F	9.34 ± 0.02 ^G	62.84 ± 0.09 ^C
T2	8.65 ± 0.12 ^F	2.14 ± 0.03 ^F	10.50 ± 0.07 ^F	82.90 ± 1.82 ^B
T3	9.72 ± 0.11 ^E	2.35 ± 0.03 ^E	11.60 ± 0.03 ^E	86.95 ± 0.24 ^A
C13	22.33 ± 0.07 ^D	8.14 ± 0.09 ^D	53.14 ± 0.21 ^D	28.25 ± 0.07 ^G
T4	22.74 ± 0.28 ^C	8.33 ± 0.01 ^C	56.54 ± 0.15 ^C	36.88 ± 0.07 ^F
T5	26.69 ± 0.07 ^B	8.63 ± 0.02 ^B	59.10 ± 0.10 ^B	50.33 ± 0.28 ^E
T6	28.62 ± 0.11 ^A	9.04 ± 0.04 ^A	62.30 ± 0.26 ^A	56.30 ± 0.54 ^D

Cada valor se expresa como la media (n=3) ± DS; letras diferentes indican diferencias significativas (p <0.05) entre los tratamientos de cada columna.

De forma general se observa un incremento en la concentración de proteína soluble a medida que aumenta el tiempo de hidrólisis en ambos pH's de extracción. Los tratamientos a pH 13 muestran una concentración de proteína soluble significativamente mayores (p<0.05) en comparación con pH 7.5, lo que sugiere una mayor eficiencia de extracción en condiciones alcalinas. Este patrón concuerda con el reportado por Hall et al. (2016), quienes observaron que tratamientos con una mayor concentración de enzima y tiempos de hidrólisis presentan una mayor concentración de proteínas solubles, ya que ellos evaluaron distintas concentraciones de enzima (1, 2 y 3% v/v enzima:sustrato) con distintos tiempos de hidrólisis (30, 60 y 90 min.) Por otro lado, Cruz-López (2022A), observó que las proteínas de *A. domesticus* presentan la mayor solubilidad a valores de pH básicos, siendo 13, donde hay mayor solubilidad de complejo de proteínas presentes en este insecto.

El GH es un parámetro importante en la hidrólisis enzimática de proteínas, ya que influye directamente en la generación de péptidos con propiedades funcionales y bioactivas (Chalamaiah et al., 2012). Algunos autores han demostrado que el GH varía en función del número total de aminoácidos en el sustrato inicial, tipo de extracción, enzima utilizada, lo cual puede causar variaciones entre lotes y tratamientos (Hall et al., 2018; Cermeño et al., 2022).

Los tratamientos realizados a pH 7.5 mostraron un GH mayor y estadísticamente diferente ($p < 0.05$) a los tratamientos en pH 13. El incremento en el grado de hidrólisis (GH) podría explicarse por una menor concentración de proteína soluble en el sustrato, lo que, a pesar de la menor cantidad total de proteína disponible, permite que las enzimas trabajen más eficientemente. Al haber menos proteína, las enzimas pueden acceder más fácilmente a los enlaces peptídicos, reduciendo la competencia por sitios de acción y facilitando la ruptura de dichos enlaces. En particular, el tratamiento T3, que tuvo el mayor tiempo de hidrólisis enzimática, mostró un incremento significativo, alcanzando un máximo de 86.95%. Por otro lado, el control C7.5 presentó el menor valor entre los tratamientos bajo las mismas condiciones de pH, con un 60.63%, a pesar de que no se agregó enzima, este grado de hidrólisis podría estar relacionado a las proteínas extraídas, que posiblemente fueron fracciones de bajo peso molecular que presentaron un mayor número de grupos amino disponibles, lo que contribuye a un cierto grado de hidrólisis aun en ausencia de enzima, por otro lado, al agregar enzima en los tratamientos, ésta va a empezar a hidrolizar las proteínas presentes en la muestra y a mayor tiempo de hidrólisis va a haber una mayor ruptura de enlaces peptídicos, esto coincide con lo reportado por Hall et al. (2016) donde estudiaron el efecto del tiempo de hidrólisis y la concentración de alcalasa sobre el grado de hidrólisis en proteínas, utilizando concentraciones enzimáticas de 1, 2 y 3% v/v (enzima:sustrato) en tiempos de 30, 60 y 90 min, el estudio mostró que un incremento tanto en la concentración de enzima como en el tiempo de hidrólisis produce un aumento significativo en el grado de hidrólisis, debido a la actividad de la enzima sobre los enlaces peptídicos. Este sistema evidencia cómo el control de estos parámetros puede ser crucial para ajustar el nivel de hidrólisis según las propiedades funcionales deseadas en los hidrolizados proteicos.

Los tratamientos a pH 13 mostraron un menor grado de hidrólisis. El tratamiento T6, con el mayor tiempo de exposición a la hidrólisis enzimática, alcanzó un 56.30%, significativamente superior ($p < 0.05$) al control (C13), que mostró un 28.25%. Este comportamiento podría estar influenciado por los posibles cambios conformacionales inducidos por el pH elevado, (Mishyna et al., 2019B), la alta concentración de proteínas en las muestras, posiblemente de mayor peso molecular, el ajuste del pH generó sales, podrían resultar en que las proteínas

fueran menos susceptibles a la acción enzimática. Según Pérez y Córdoba (2014), concentraciones de NaOH, como 0.25 M, facilitan el acceso de las enzimas a las proteínas, mejorando la eficiencia de la hidrólisis, sin embargo, concentraciones más elevadas pueden desnaturalizar en exceso las proteínas y degradar componentes estructurales, lo que limita su disponibilidad para ser hidrolizadas. Por lo tanto, aunque el tiempo de exposición aumente el grado de hidrólisis, la estructura de las proteínas podría estar limitando la eficacia del proceso.

7.2 Perfil electroforético

La Figura 2 presenta el perfil electroforético de las proteínas extraídas, revelando diferencias significativas entre los tratamientos a distintos pH. El tratamiento a pH 7.5 (C7.5) muestra una amplia gama de bandas que varían de 3.4 a 30 kDa, lo que indica una mayor diversidad en la composición proteica y sugiere la generación de un espectro más amplio de hidrolizados de menor tamaño. En contraste, el tratamiento a pH 13 (C13) exhibe bandas predominantes por encima de 30 kDa. El punto isoeléctrico de la mayoría de las proteínas de *Acheta domesticus* se sitúa alrededor de pH 4.2 (Cruz-López, 2022). A pH 13, las proteínas están más ionizadas, lo que favorece su solubilidad, pero esto no garantiza un mayor grado de hidrólisis, ya que las proteínas de mayor peso molecular son generalmente menos susceptibles a la acción enzimática. Por otro lado, a pH 7.5, las proteínas se encuentran más cerca de su punto isoeléctrico, lo que reduce su solubilidad y, en consecuencia, puede limitar la diversidad de hidrolizados generados en comparación con las condiciones alcalinas. Por otro lado, los tratamientos con hidrólisis enzimática muestran una clara tendencia a la reducción de los tamaños de los péptidos en comparación con los controles, lo que indica que se han generado péptidos más pequeños. Sin embargo, las bandas en todas las muestras aparecen difusas, lo que podría deberse tanto a la presencia de sales como a la existencia de péptidos con pesos moleculares similares, dificultando su resolución. Este comportamiento es consistente con lo reportado por Kristinsson y Rasco (2000), quienes señalaron que un mayor grado de hidrólisis se traduce en la producción de péptidos de menor peso molecular.

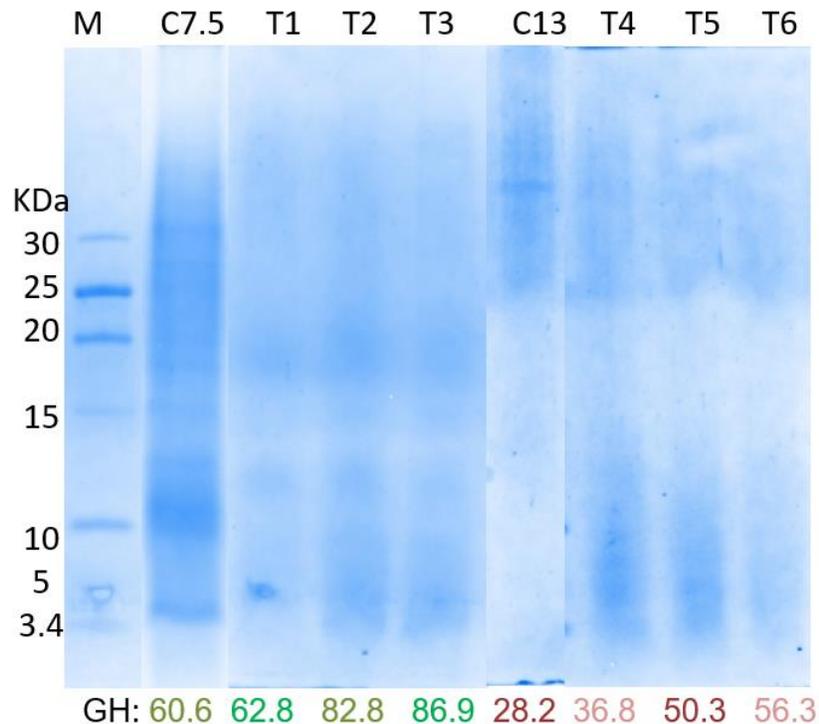


Figura 2 Geles de electroforesis tris- tricina al 20%
 El carril M corresponde al marcador de peso molecular; C7.5=control pH 7.5, T1=pH 7.5, 30 min; T2=pH 7.5, 60 min; T3=pH 7.5, 90 min; C13=control pH 13; T4=pH 13, 30 min; T5=pH 13, 60 min; T6=pH 13, 90 min.

7.3 Determinación de color

En la Tabla 4 se pueden observar los parámetros de color CIELab* y la influencia que tienen el tiempo en la hidrólisis y pH de extracción en los parámetros de color L*, a* y b*. Para esta determinación, se estandarizó la concentración de proteína, lo que permite realizar comparaciones más precisas entre las muestras. Estos parámetros son fundamentales para comprender la percepción del color en las muestras y proporcionan información sobre los cambios en el color de las muestras durante el proceso de hidrólisis.

En todos los tratamientos se observó una disminución en los valores de L* (luminosidad) conforme aumentaba el tiempo de hidrólisis, con diferencias significativas ($p < 0.05$) respecto a sus respectivos controles. Esto sugiere que los hidrolizados tienden a perder luminosidad, resultando en muestras más oscuras, mientras que la reducción en los valores de a* y b* refleja la pérdida de tonalidades rojizas y amarillas. En las muestras a pH 7.5, los tratamientos T1, T2 y T3 son

significativamente diferentes ($p < 0.05$) a los parámetros del control (C7.5) que tiene valores de L^* de 23.32 ± 0.15 , a^* de 11.98 ± 0.06 y b^* de 24.33 ± 0.35 . Los hidrolizados a pH 7.5 resultaron más claros, aunque menos luminosos que el control, posiblemente debido a la extracción de proteínas de bajo peso molecular (< 30 kDa), lo que influiría en el perfil colorimétrico. En general, la hidrólisis enzimática parece alterar la estructura proteica, afectando tanto su solubilidad como sus propiedades de color.

En las muestras a pH 13, se observaron cambios menos pronunciados en los parámetros de color entre los tratamientos T4, T5, T6 y el control (C13), aunque hubo una disminución en los valores de L^* con el aumento del tiempo de hidrólisis. Esto sugiere que, si bien el control exhibe un perfil colorimétrico diferente al de los tratamientos, las variaciones en los valores de a^* y b^* son menores. Esto podría indicar que el efecto del pH alcalino en la percepción del color es menos significativo en comparación con pH neutro. Además, la diferencia en los cambios de color puede estar relacionada con las proteínas extraídas a pH 13, ya que es probable que se obtengan proteínas de mayor peso molecular (> 30 kDa), lo que limitaría las variaciones en los parámetros colorimétricos.

Es interesante notar que las muestras de control a pH 7.5 muestran valores más bajos de $L^*a^*b^*$ en comparación con las muestras de control a pH 13, lo que indica una diferencia inicial en el color entre los dos pH, posiblemente atribuible a las propiedades intrínsecas de los componentes presentes en las muestras a diferentes pH.

La variación total del color, representada por el parámetro ΔE , muestra un aumento significativo a medida que avanza el tiempo de hidrólisis en ambas condiciones de pH. Esto subraya que el proceso de hidrólisis conduce a cambios perceptibles en el color de las muestras, independientemente del pH del medio y destacando la influencia crucial de la concentración de proteínas. También se puede observar que no hay cambio en ΔE en los tratamientos T2 y T3, lo que indica que no hay efecto en los cambios de color después de 90 min de hidrólisis en los extractos a pH 7.5. Este resultado sugiere que, a pesar del alto grado de hidrólisis en estos tratamientos, la liberación de cromóforos que alteren los parámetros de color es limitada. Algunos autores indican que los cambios de color pueden atribuirse a varios factores. En condiciones de pH extremas, ya sea muy ácidas o alcalinas, las proteínas pueden desnaturalizarse, lo que altera tanto su estructura terciaria como cuaternaria. Esta desnaturalización expone cromóforos internos, es decir, grupos que absorben luz y que normalmente permanecen ocultos, lo que resulta en una modificación del color de la proteína (Santos, 2009). Además, el proceso de hidrólisis podría llevar a la separación de estos cromóforos. También la posible

agregación de los hidrolizados podría cambiar la dispersión de luz al reducir el tamaño de separación entre las moléculas (Kim et al., 2020B).

Tabla 4 Parámetros del color de proteínas hidrolizadas de *Acheta domesticus*

Tratamientos	L*	a*	b*	ΔE	
C7.5	23.32 \pm 0.15 ^B	11.98 \pm 0.06 ^A	24.33 \pm 0.35 ^A		
T1	9.36 \pm 0.17 ^F	0.99 \pm 0.06 ^F	7.28 \pm 0.22 ^E	24.63	
T2	13.33 \pm 0.01 ^E	3.05 \pm 0.08 ^D	10.79 \pm 0.37 ^{BC}	19.04	
T3	13.47 \pm 0.12 ^E	2.59 \pm 0.12 ^E	9.86 \pm 0.58 ^D	19.86	
C13	29.67 \pm 0.14 ^A	6.66 \pm 0.06 ^B	11.26 \pm 0.16 ^B		
T4	14.5 \pm 0.06 ^D	6.54 \pm 0.24 ^B	10.25 \pm 0.51 ^{CD}	15.20	
T5	10.53 \pm 0.13 ^E	4.03 \pm 0.20 ^C	7.43 \pm 0.27 ^E	19.69	
T6	15.42 \pm 0.18 ^C	6.37 \pm 0.17 ^B	10.90 \pm 0.36 ^{BC}	14.26	

Todos los valores están expresados en porcentaje en el extracto crudo liofilizado. Cada valor se expresa como la media (n=3) \pm DS; letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre medias entre cada tratamiento.

En base a los resultados obtenidos, se seleccionaron los hidrolizados de los tratamientos C7.5, T2, T3, C13, T5 y T6 para evaluar sus propiedades tecnofuncionales y antioxidantes. Los tratamientos T1 y T4 fueron excluidos, ya que presentaron los valores más bajos en cuanto a los principales parámetros evaluados, como rendimiento de extractos, recuperación de proteína y grado de hidrólisis. Esto se atribuye a su menor tiempo de hidrólisis, lo que limitó su rendimiento en comparación con los otros tratamientos. Además, T1 no mostró diferencias significativas con respecto a C7.5 en varios de estos aspectos.

7.4 Propiedades tecnofuncionales

7.4.1 Capacidad de formación de espuma

La capacidad de formación de espuma (CFE) es una propiedad importante en la evaluación funcional de los hidrolizados de proteínas, influenciada por factores como la estructura de los péptidos y las condiciones de procesamiento. Diversos estudios han demostrado que la capacidad espumante varía significativamente entre diferentes fuentes proteicas, lo que refleja la importancia de optimizar las condiciones de hidrólisis para mejorar esta característica (Pan et al., 2022). Analizando los datos de *A. domesticus* (Gráfico 1), se observa una variación significativa ($p < 0.05$) entre la concentración de las muestras y la capacidad de formación de espuma en diferentes tratamientos. Se observa que conforme incrementa el grado de hidrólisis, la capacidad de formación de espuma tiende a disminuir.

En los tratamientos con extracción a pH 7.5, el tratamiento T2 (82.8% GH) mostró valores de capacidad de formación de espuma (CFE) que oscilaron entre 10.33% y 14.66%, sin diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las concentraciones al 1.5% y 2%, donde se observaron los valores más altos. En el tratamiento T3 (86.9% GH), los valores de CFE variaron de 5.33% a 12%, alcanzando el valor más alto en la concentración al 2%. En contraste, el control (C7.5) presentó valores significativamente superiores, con un intervalo de 35.83% a 57.5%, obteniendo el máximo en la concentración al 2%.

Por otro lado, en los tratamientos con extracción a pH 13, el tratamiento T5 (50.3% GH) mostró un intervalo de CFE entre 10.83% y 24.66%, siendo el valor máximo en la concentración al 2%. El tratamiento T6 (56.3% GH) presentó valores de 10.83% a 16.66%, también alcanzando su valor más alto en la concentración al 2%. En cuanto al control (C13), se observaron valores excepcionalmente altos de CFE, con un intervalo de 260.33% a 315%, donde el valor más alto se presentó en la concentración al 1%.

Asimismo, se evaluó la harina desengrasada, la cual presentó un GH de 7.8%, lo que podría estar relacionado con la reducción del tamaño del insecto y la liberación de microorganismos con actividad proteolítica, así como la presencia de enzimas, tal como sugiere Pinto-Tomás et al. (2007). La harina alcanzó un valor de 14.16% de CFE sin diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las concentraciones evaluadas, y en algunos casos incluso fue más alta que algunos tratamientos con hidrólisis enzimática.

En general, los tratamientos con mayor GH tendieron a mostrar menores valores de CFE. Además, se observó que a medida que aumentaba la concentración de la muestra, también lo hacía la CFE. Sin embargo, esta tendencia fue diferente en el control C13, donde el aumento en la concentración resultó en una disminución de la CFE, podría estar relacionado tanto con la presencia de sales (como NaCl) como con el grado de hidrólisis y agregación proteica (Zhang et al., 2024). En sistemas a pH elevados, las proteínas pueden sufrir desnaturalización y una mayor exposición de grupos hidrofóbicos. Esto, junto con la presencia de sales, puede provocar agregación de las proteínas, lo que disminuye su capacidad para estabilizar las burbujas de aire. Al contrario de los tratamientos con menor grado de hidrólisis (T5 y T6), en los que las proteínas parcialmente hidrolizadas tienen mejor capacidad de interfacialidad y, por tanto, mayor capacidad espumante con el aumento de concentración, en el control (C13), las proteínas posiblemente están demasiado desnaturalizadas o agregadas, lo que reduce la CFE al incrementar la concentración.

Estos resultados sugieren que los cambios en las propiedades funcionales de las proteínas, como la capacidad de formación de espuma, están estrechamente relacionados con la alteración de su carga superficial, su hidrofobicidad, y la distribución de su peso molecular, factores clave que influyen en el comportamiento de las proteínas en sistemas funcionales (Mishyna et al., 2019B). Además, son congruentes con hallazgos previos que establecen una relación entre el grado de hidrólisis (GH) y la capacidad de formación de espuma. Hall et al. (2016), investigaron harinas de *Grylloides sigillatus* e hidrolizados de ésta, alcanzando una capacidad de formación de espuma del 150% con un GH de 26.1%. En comparación, los tratamientos que lograron un GH de 42-52% presentaron capacidades de espuma de entre 115 y 98%, respectivamente. Estos resultados sugieren que la relación entre GH y capacidad de formación de espuma es compleja y no lineal, dependiendo del tipo de proteína y las condiciones de hidrólisis. Asimismo, Villaseñor et al. (2022), evaluaron harinas de chapulín mexicano (*Sphenarium purpurascens*), comparando muestras no procesadas y procesadas térmicamente a diversas temperaturas (70 °C, 80 °C, 90 °C y 121 °C). La harina no procesada presentó la mayor capacidad de formación de espuma (60%), atribuida a un balance favorable de aminoácidos hidrofóbicos e hidrofílicos en la proteína nativa, lo que contribuye a la estabilidad de la espuma. En contraste, las harinas procesadas a 70 °C mostraron una notable disminución en la actividad espumante, resultado de la desnaturalización de proteínas y la reducción de sitios hidrofóbicos. Finalmente, las harinas procesadas a 121 °C exhibieron la menor capacidad espumante, con valores inferiores al 10%, debido a la severa desnaturalización provocada por el tratamiento térmico extremo.

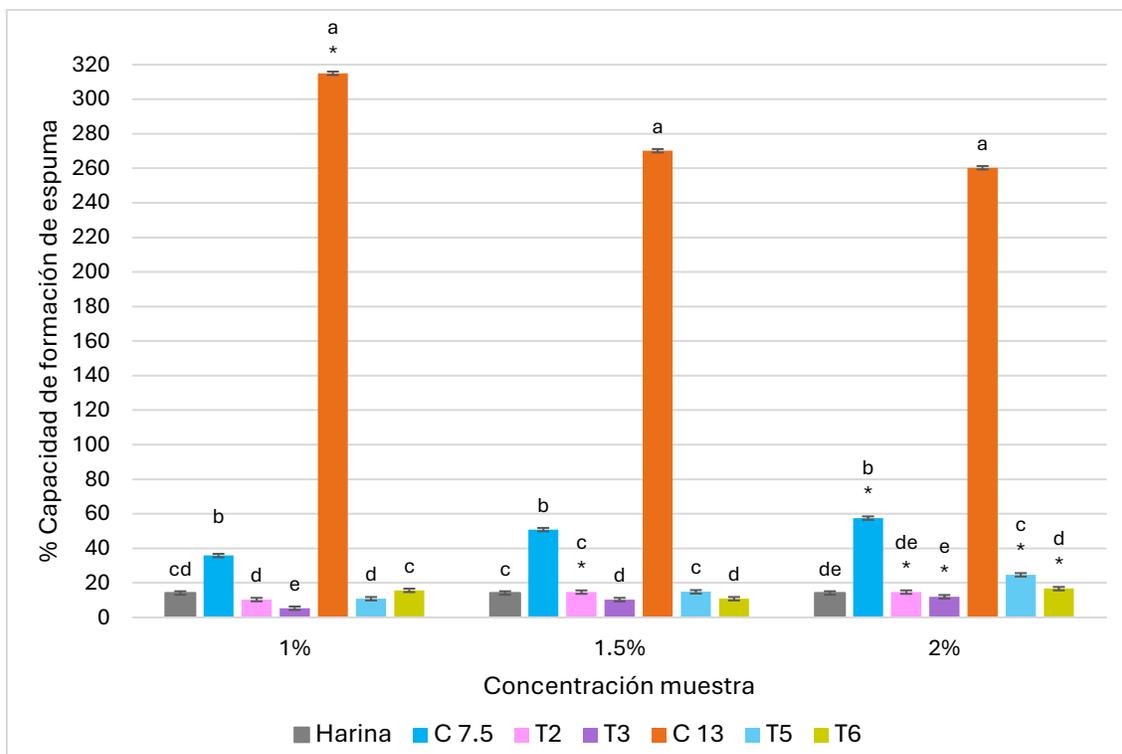


Gráfico 1 Capacidad de formación de espuma de los hidrolizados obtenidos a partir de *Acheta domesticus*.

Cada valor se expresa como la media (n=3) ± DS. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos dentro de la misma concentración. Los asteriscos (*) señalan los mayores valores y diferencias significativas ($p < 0.05$) entre diferentes concentraciones para un mismo tratamiento evaluado.

La estabilidad de espuma en las diferentes concentraciones de estudio se presenta en los gráficos 2, 3 y 4. Se observa un comportamiento similar a los resultados de capacidad de formación de espuma, en el cual existe una relación entre GH y EFE. Los tratamientos con un alto grado de hidrólisis tienden a ser menos estables en comparación con aquellos con un menor GH. En particular, el tratamiento más estable es el control pH 13 (C13) con una EFE superior al 90% durante 40 min en las diferentes concentraciones, esto podría deberse principalmente al bajo GH que obtuvo (28.2%) y por ende al tamaño aparente de la proteína que fue mayor de 30 kDa. Algunos autores han indicado que este comportamiento puede explicarse por la presencia de proteínas y péptidos, que son esenciales para la formación y estabilización de la espuma (da Silva Lucas et al., 2020). A mayores concentraciones, las interacciones moleculares entre las proteínas se intensifican, promoviendo una estructura tridimensional más robusta y mejorando la estabilidad de la espuma (Khaled et al., 2014). Además, el incremento de la concentración de los hidrolizados puede contribuir a atrapar y retener las burbujas de aire, evitando su coalescencia y mejorando así la estabilidad de la espuma (Liceaga-Gesualdo y

Li-Chan, 1999). Sin embargo, el GH de los tratamientos pudo haber llevado a la pérdida de esta capacidad. Es importante considerar que el tipo de proteína extraída y su contenido de aminoácidos también influyen en la estabilidad de la espuma. Los aminoácidos hidrofóbicos tienden a interactuar con las interfaces aire-líquido, estabilizando la burbuja de aire, mientras que los aminoácidos hidrofílicos ayudan a mantener la solubilidad de la proteína en solución acuosa, lo que facilita la creación de espuma. Por lo tanto, las variaciones en la composición y la estructura de los hidrolizados resultantes pueden afectar significativamente sus propiedades espumantes.

Es importante señalar que los resultados obtenidos pueden variar considerablemente según la naturaleza de las proteínas involucradas. Por ejemplo, Hall et al. (2018) analizaron harina de grillo tropical anillado, utilizando distintas concentraciones de alcalasa (1,2 y 3% v/v enzima:sustrato), donde reportaron variaciones en la estabilidad de la espuma tras 60 min de evaluación. El control presentó una estabilidad del 90%, mientras que los tratamientos con concentraciones más altas de enzima mostraron una estabilidad significativamente menor, entre el 30% y el 50%. Por otro lado, el tratamiento con la mayor CFE alcanzó un 150%, pero su estabilidad fue solo del 35%. Estos resultados indican que, aunque una alta capacidad de formación de espuma puede ser favorable, la estabilidad de la espuma depende en gran medida de la estructura y las interacciones de los péptidos generados durante la hidrólisis.

Por otro lado, Villaseñor et al. (2022), encontraron que la harina no procesada de chapulín mexicano mantenía una alta estabilidad de espuma, alrededor del 90%, lo que indica que la harina preserva su CFE a lo largo del tiempo (30 min). En contraste, las harinas procesadas a 121 °C exhibieron una estabilidad de espuma superior (90%), a pesar de su limitada capacidad de formación de espuma. Esto sugiere que, aunque la CFE es restringida, la espuma que se genera tiende a ser más estable bajo condiciones de procesamiento térmico extremas.

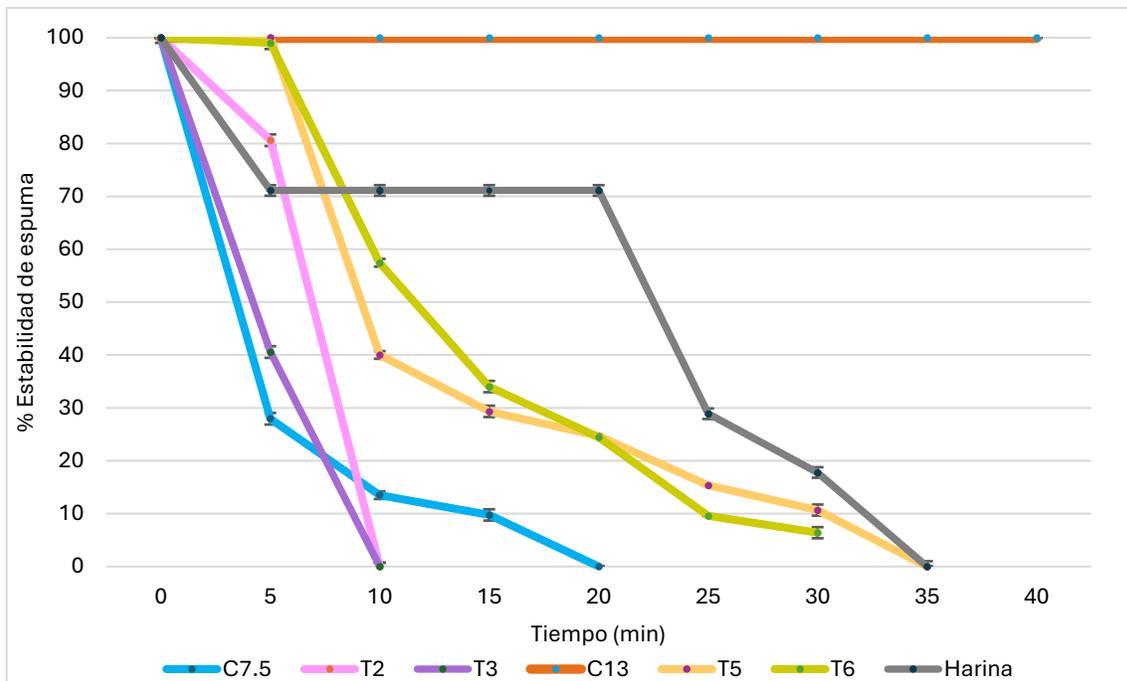


Gráfico 2 Estabilidad de formación de espuma en concentraciones de 1% de hidrolizados obtenidos a partir de *Acheta domesticus*. Cada valor se expresa como la media ($n=3$) \pm DS

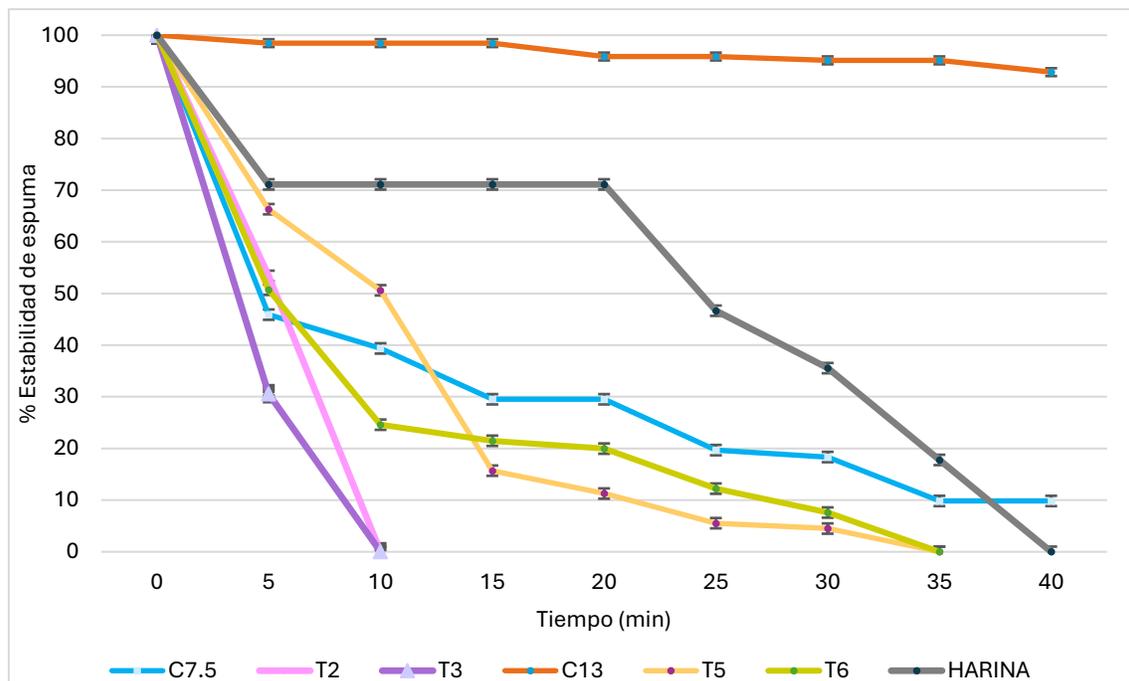


Gráfico 3 Estabilidad de formación de espuma en concentraciones de 1.5% de hidrolizados obtenidos a partir de *Acheta domesticus*. Cada valor se expresa como la media ($n=3$) \pm DS

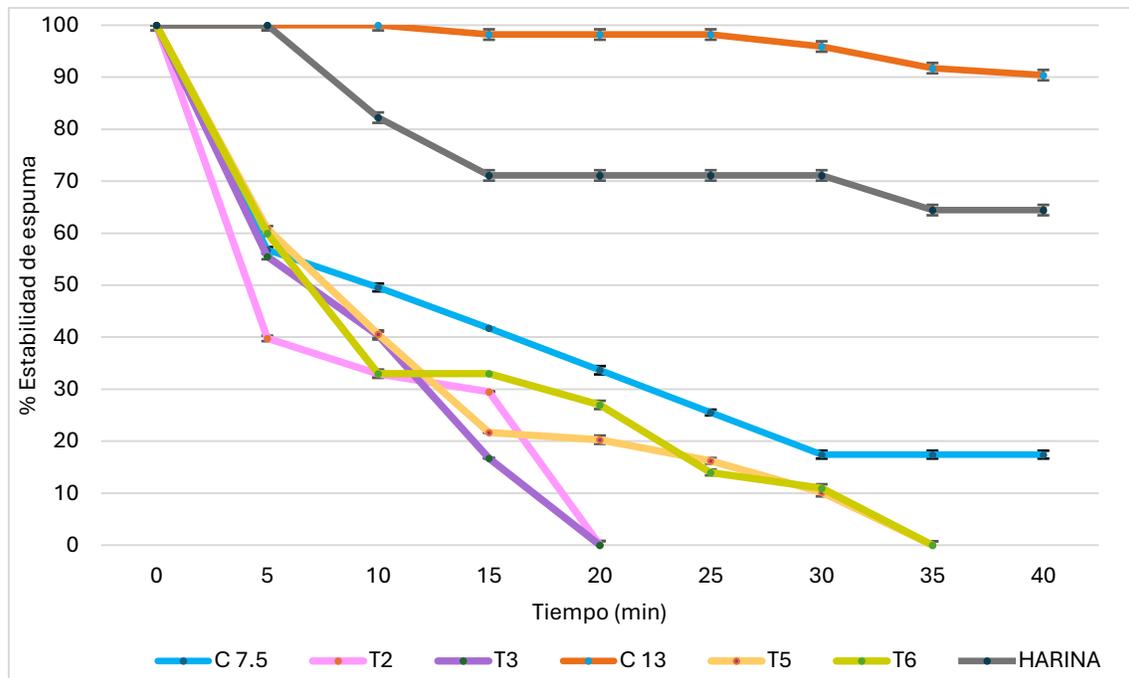


Gráfico 4 Estabilidad de formación de espuma en concentraciones de 2% de hidrolizados obtenidos a partir de *Acheta domesticus*. Cada valor se expresa como la media ($n=3$) \pm DS.

7.4.2 Capacidad de emulsión

7.4.2.1 Índice de actividad emulsionante

La actividad emulsionante es una propiedad crucial de los hidrolizados de proteínas y es evaluada a través del índice de actividad emulsionante (IAE), que se expresa en m^2/g . El IAE mide la eficacia de las muestras para estabilizar emulsiones al interactuar con las interfaces agua-aceite, por lo que a mayor sea el valor mejor actividad presentará. Los resultados indican los valores se ve influenciado tanto por el grado de hidrólisis (GH) como por las condiciones de procesamiento. A medida que el GH aumenta, el IAE tiende a disminuir, lo que sugiere que la fragmentación proteica afecta su capacidad para formar y estabilizar emulsiones. Además, el pH de extracción desempeña un papel clave: a pH 7.5 se obtuvieron hidrolizados de menor peso molecular, mientras que a pH 13 se generaron péptidos más grandes, lo que impacta directamente en sus propiedades emulsionantes.

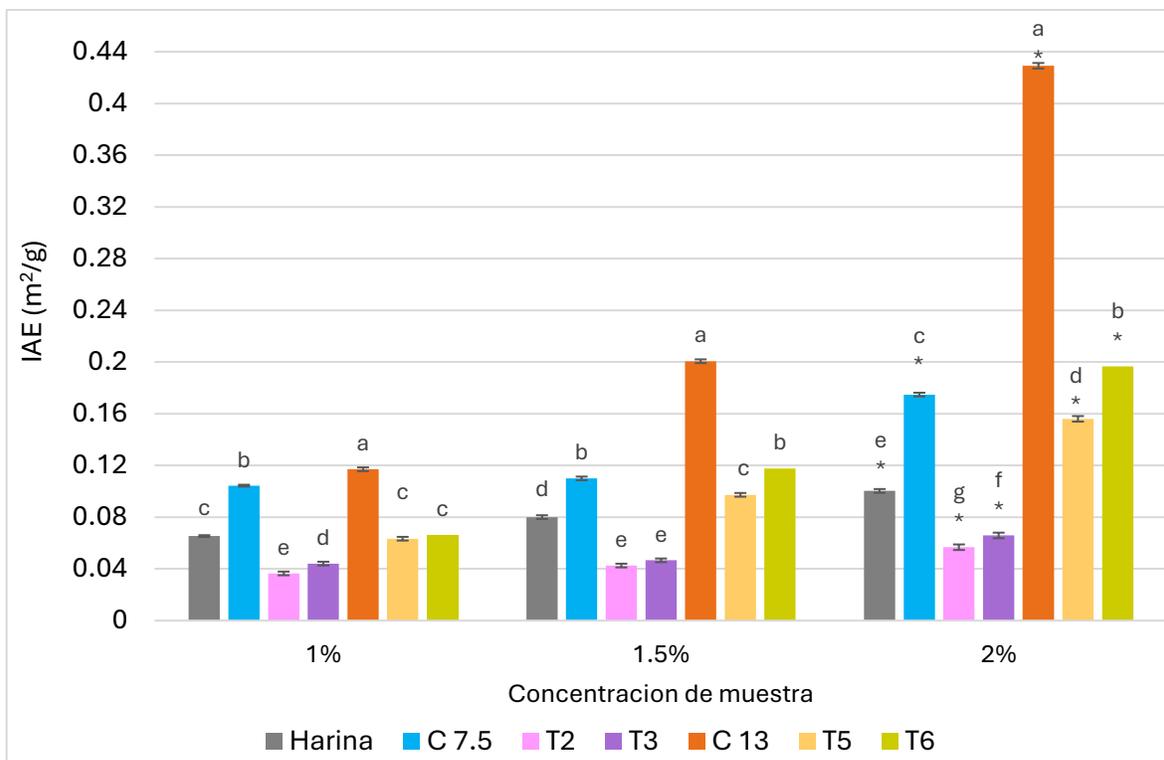


Gráfico 5 Índice de actividad emulsionante de los hidrolizados obtenidos a partir de *Acheta domesticus*.

Cada valor se expresa como la media ($n=3$) \pm DS. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos dentro de la misma concentración. Los asteriscos (*) señalan los mayores valores y diferencias significativas ($p < 0.05$) entre diferentes concentraciones para un mismo tratamiento evaluado.

Los valores observados en los hidrolizados de *A. domesticus* en relación con el IAE (gráfico 5), indican el mismo comportamiento entre todos los tratamientos. A medida que aumentó la concentración de muestra se incrementó el IAE, lo cual se puede explicar en base a lo reportado por Hirsch et al. (2019), quienes destacaron que la proteína soluble de grillo contribuye a estabilizar emulsiones de aceite en agua, formando fracciones estables. Como resultado, los mayores valores de IAE se observaron con una concentración de muestra del 2% en todos los tratamientos, tanto a pH 7.5 como a pH 13.

En los tratamientos a pH 7.5, el tratamiento T2 (82.8% GH) presentó valores de IAE entre 0.036 y 0.056 m²/g, mientras que el tratamiento T3 (86.9% GH) mostró un intervalo de 0.044 a 0.065 m²/g. Estos valores son inferiores al control (C7.5, 60.6% GH), que tuvo un IAE de 0.104 a 0.174 m²/g, probablemente debido al mayor grado de hidrólisis en T2 y T3, lo cual reduce la capacidad emulsionante. La harina

desengrasada (7.8% GH) mostró un IAE de 0.065 a 0.100 m²/g, siendo también superior a los tratamientos enzimáticos.

En los tratamientos a pH 13, T5 (50.3% GH) presentó valores de IAE entre 0.063 y 0.156 m²/g, mientras que T6 (56.3% GH) mostró valores de 0.066 a 0.196 m²/g. El control (C13, 28.2% GH) tuvo un intervalo superior, de 0.117 a 0.429 m²/g. Aunque los hidrolizados superaron a la harina, se mantuvieron por debajo del control. Estos resultados subrayan la importancia del grado de hidrólisis y la composición de aminoácidos (hidrofóbicos e hidrofílicos) en la optimización de la capacidad emulsionante de los hidrolizados de proteína.

Varios estudios han reportado resultados similares. Hall et al. (2016) evaluaron el IAE y su estabilidad tras 90 minutos de hidrólisis con alcalasa en harina de grillo tropical anillado, concluyendo que a niveles altos de hidrólisis la capacidad emulsionante puede verse comprometida debido a la fragmentación excesiva de los péptidos, lo que reduce su eficacia en la interfase agua-aceite. La mayor estabilidad podría deberse a emulsiones más compactas y resistentes a la coalescencia. Villaseñor et al. (2022) observaron que la harina sin procesar de chapulín mexicano (*Sphenarium purpurascens*) presentó el mayor IAE (52.2%), mientras que las harinas procesadas térmicamente mostraron valores más bajos, probablemente debido a la desnaturalización o fragmentación proteica por el calor.

En los gráficos 6, 7 y 8, se presenta la estabilidad de la emulsión evaluada a los 120 min en las distintas concentraciones de muestra. Los resultados muestran que, a medida que aumenta la concentración de los hidrolizados en la emulsión, también lo hace su estabilidad. Con una concentración de 1%, el tratamiento con mayor estabilidad después de 120 min fue T2, con 48.6%, mientras que los tratamientos menos estables fueron los tratamientos T3, C 13, T5 Y T6, con valores por debajo del 10%. Los tratamientos con los valores más altos correspondieron a C13 en concentraciones de 1.5 y 2% de muestra, con una estabilidad de 50 y 60%, respectivamente. En contraste, el tratamiento con los valores más bajos fue T6, con 4 y 27% de estabilidad, para las mismas concentraciones. Estos resultados pueden atribuirse a un incremento en la concentración de hidrolizados, lo cual genera un mayor contenido de péptidos que actúan como emulsionantes naturales. Estos péptidos reducen la tensión interfacial entre las fases de la emulsión, facilitando así la formación y estabilización de las gotas de aceite en la fase acuosa (Yan et al., 2020). Además, las proteínas poseen grupos estructurales hidrofílicos e hidrofóbicos, que pueden favorecer la estabilización de emulsiones (Abdullah et al., 2020). A concentraciones más altas, las interacciones entre las moléculas de proteínas se intensifican, formando una película más resistente alrededor de las gotas de aceite. Estas interacciones incluyen enlaces covalentes y electrostáticos,

que refuerzan la estructura de la emulsión y minimizan la coalescencia (Zhu et al., 2020). Otro factor por considerar es la posible formación de agregados debido a la interacción entre proteínas desnaturalizadas y aquellas unidas en la superficie de las gotas de emulsión. Estos agregados contribuyen a la estabilidad a través de interacciones entre el área interfacial, reforzando la matriz de la emulsión y aumentando su resistencia a la coalescencia (Tao et al., 2022).

El aumento en la estabilidad de la emulsión en presencia de hidrolizados obtenidos a partir de *A. domesticus* sugiere una relación directa con los péptidos que se obtuvieron (cantidad, peso molecular y composición de aminoácidos) y la calidad funcional de la emulsión resultante. Por lo que es importante considerar el grado de hidrólisis y las condiciones de procesamiento al desarrollar emulsiones a base de proteínas de insectos. La capacidad emulsionante y la estabilidad no sólo dependen de la concentración de los hidrolizados, sino también de las proteínas extraídas en los valores de pH y su interacción con el medio.

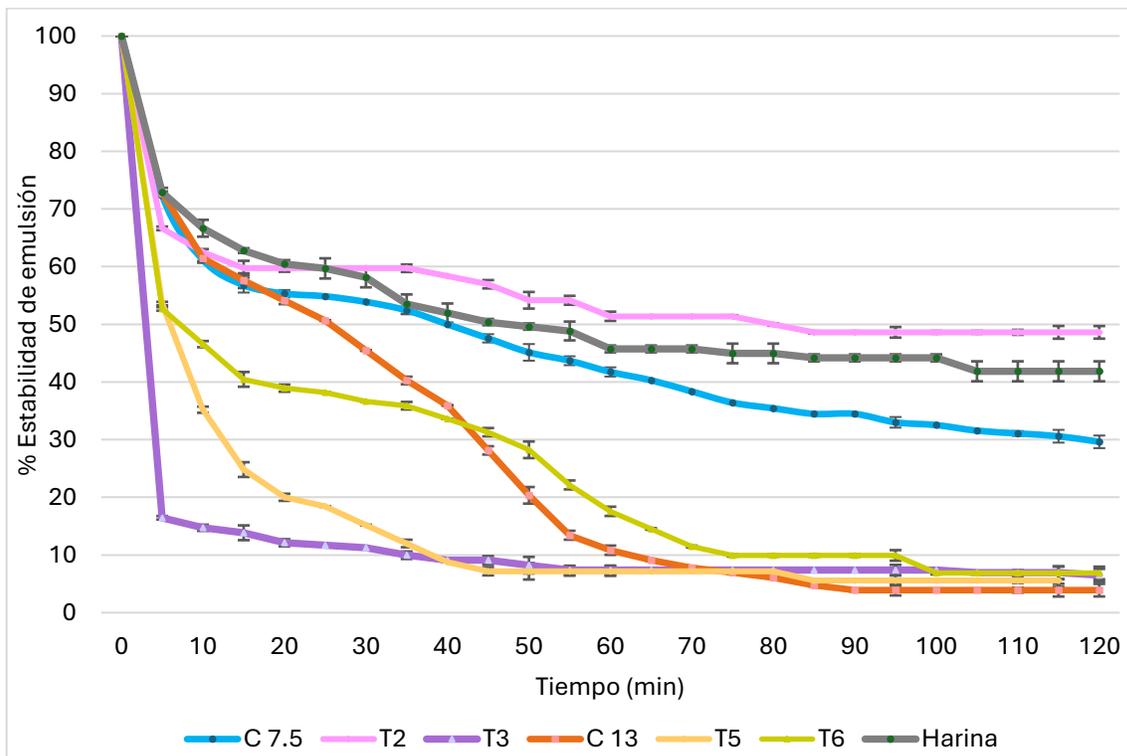


Gráfico 6 Estabilidad de emulsión en concentraciones de 1% de hidrolizados obtenidos a partir de *Acheta domesticus*. Cada valor se expresa como la media ($n=3$) \pm DS.

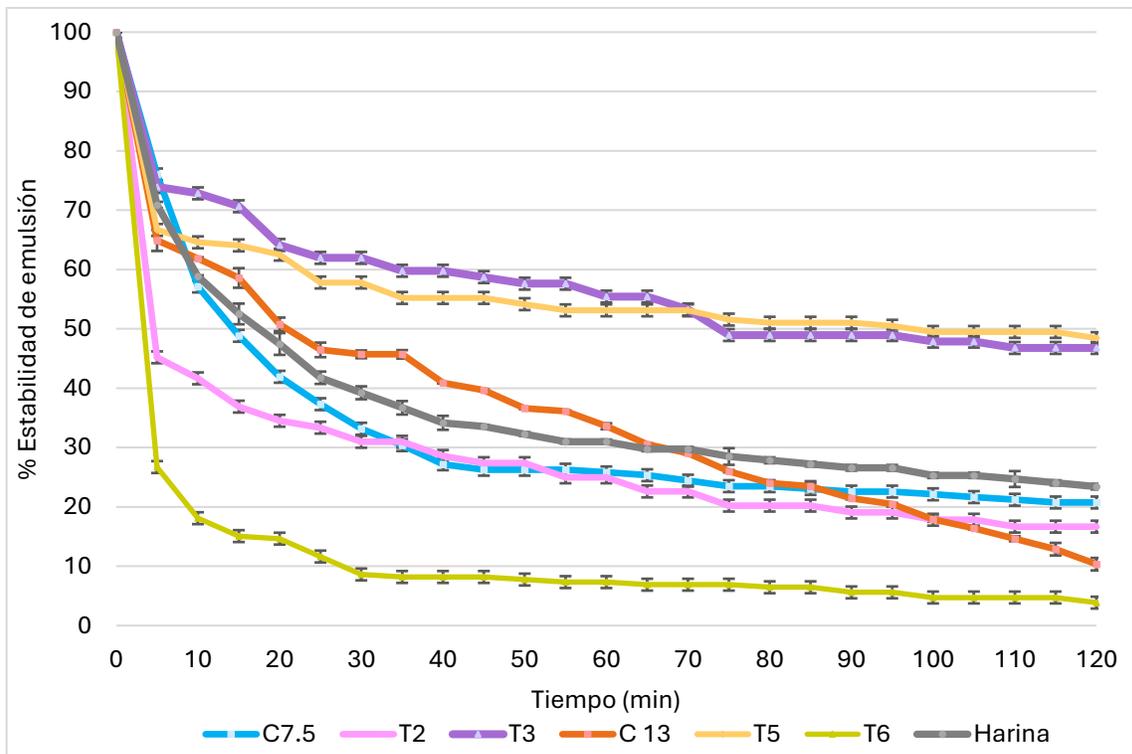


Gráfico 7 Estabilidad de emulsión en concentraciones de 1.5% de hidrolizados obtenidos a partir de *Acheta domesticus*
Cada valor se expresa como la media (n=3) ± DS.

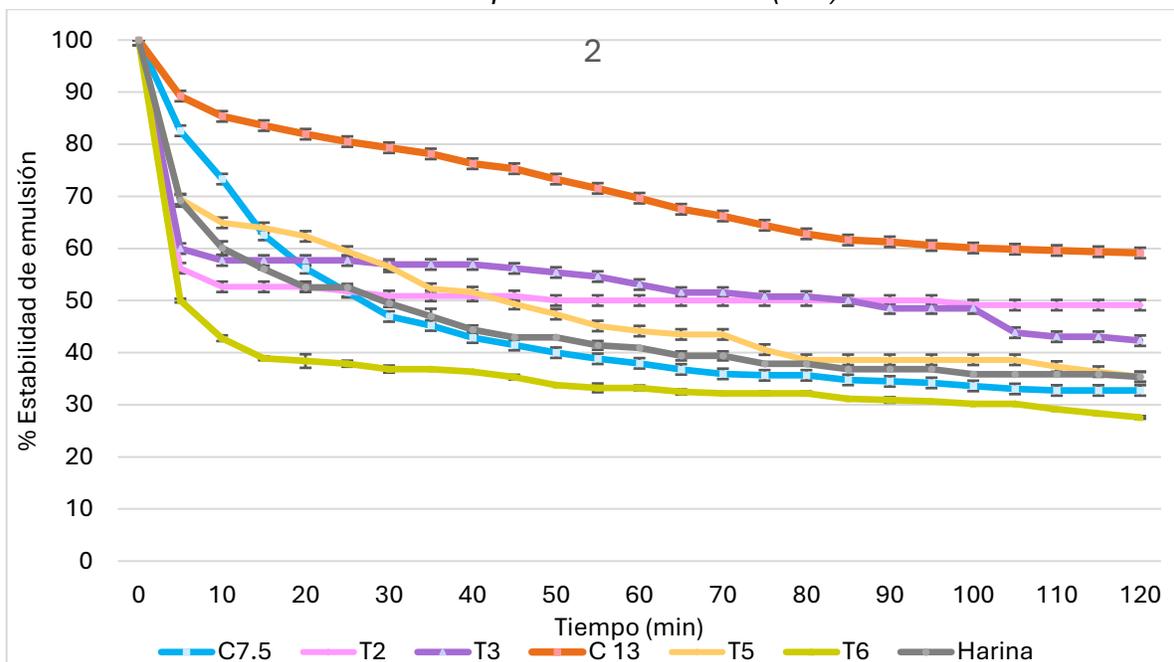


Gráfico 8 Estabilidad de emulsión en concentraciones de 2% de hidrolizados obtenidos a partir de *Acheta domesticus*.
Cada valor se expresa como la media (n=3) ± DS.

7.4.3 Porcentaje de coagulación

El proceso de coagulación proteica es crucial en la formación de geles, una propiedad tecnofuncional clave en alimentos y otros productos donde se requieren estructuras viscoelásticas. La coagulación ocurre principalmente por la aplicación de calor, que induce la desnaturalización de proteínas y promueve interacciones hidrofóbicas, resultando en agregación proteica, este fenómeno se refuerza con la formación de enlaces disulfuro y grupos sulfhidrilo, además, las interacciones iónicas entre grupos cargados de las proteínas también contribuyen a la estabilización de estas agregaciones, favoreciendo una estructura proteica más compacta y estable (Mengozzi et al., 2024). Un mayor porcentaje de coagulación indica una alta interacción proteína-proteína, esencial para la creación de redes densas y matrices estructuradas (Kramer y Kwee, 1997).

En los resultados obtenidos, en los tratamientos con pH de extracción 7.5 todos los tratamientos tuvieron los valores más altos en la concentración de muestra al 2%, en T2 (82.8% GH), se obtuvieron valores entre 0.005 y 0.054%, mientras que en T3 (86.9% GH), se presentaron valores entre 0.001 hasta 0.011%, por otro lado, el control (C7.5) con un GH de 60.6%, presentó valores entre 0.019 hasta 0.048%. En cuanto a la harina (7.8% GH), tuvo valores entre 0.030 hasta 0.047% siendo incluso superior a los tratamientos pH 7.5, en las concentraciones 1 y 1.5%, mientras que en la concentración al 2% solo T3 fue más bajo.

Para los tratamientos a pH 13, T5 (50.3% GH) presentó valores entre 0.013 y 0.170%, siendo el mayor valor en la concentración al 2% y fue el valor más alto de todos los tratamientos evaluados, en cuanto a T6 (56.3% GH), obtuvo valores en un intervalo de 0.019 hasta 0.083%, el mayor valor se presentó en una concentración al 2%, comparado con el control (C13) con un GH de 28.2%, se presentaron valores entre 0.036 hasta 0.080%, el mayor valor se presentó con una concentración al 1%. En la harina se presentaron valores más altos en los tratamientos con hidrólisis enzimática, en una concentración al 2%.

Estos valores, especialmente el más alto de 0.171%, son considerablemente bajos para aplicaciones que requieren estructuras viscoelásticas robustas, como geles alimentarios o productos sólidos. Para estas aplicaciones, se espera una coagulación más alta para formar redes proteicas lo suficientemente densas que otorguen firmeza y elasticidad. Valores bajos como estos indican una limitada capacidad de formar dichas estructuras, lo que podría comprometer la textura y la estabilidad del producto final.

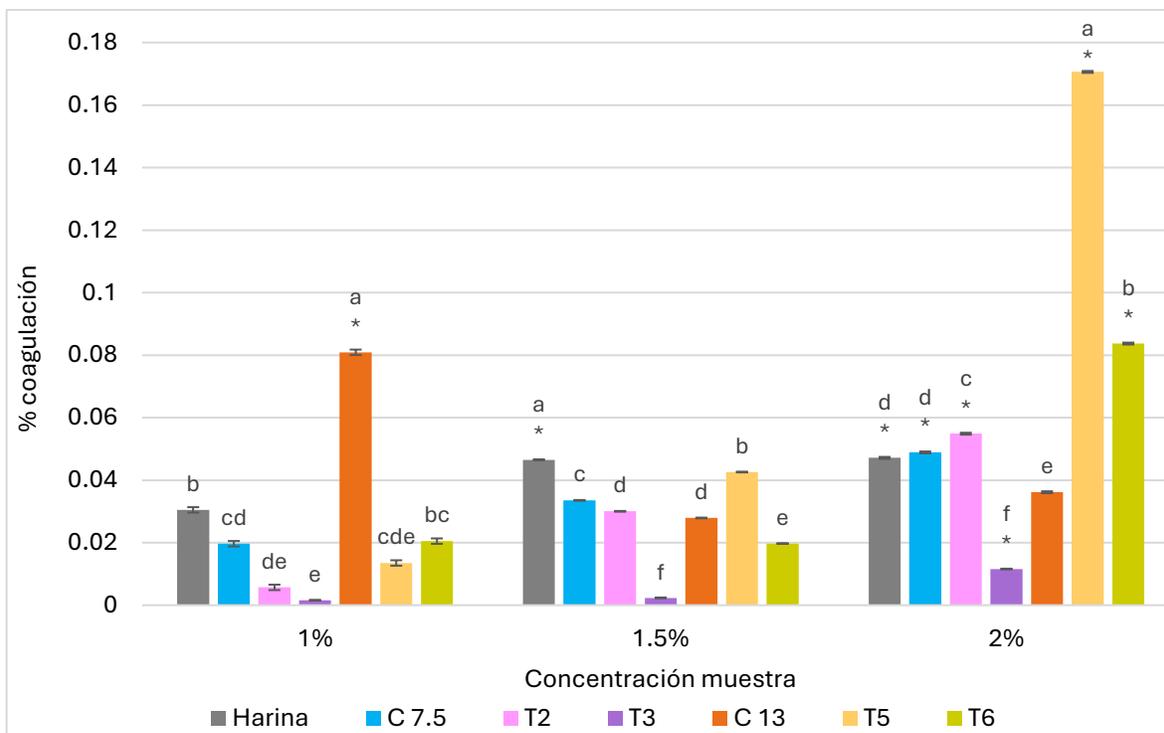


Gráfico 9 Porcentaje de coagulación de los hidrolizados obtenidos a partir de *Acheta domesticus*.

Cada valor se expresa como la media ($n=3$) \pm DS, letras diferentes muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los diferentes tratamientos y concentraciones. Los asteriscos (*) señalan los mayores valores y diferencias significativas ($p < 0.05$) entre diferentes concentraciones para un mismo tratamiento evaluado.

Sin embargo, los resultados no son directamente comparables con la bibliografía. Cruz-López (2022A) reportó un 9.6% de coagulación en proteínas de *A. domesticus* extraídas mediante ultrasonido, y un 4.5% en aquellas obtenidas por alcalinización. En contraste, los resultados obtenidos en este estudio son más bajos, lo cual podría explicarse por la pérdida de algunas proteínas solubles durante la neutralización a pH 7.5, lo que afecta negativamente su funcionalidad. Por otro lado, el estudio de Mishyna et al. (2019A) indicó que las proteínas de saltamontes (*Schistocerca gregaria*) extraídas por alcalinización presentaron un 21.3% de coagulación, mientras que las extraídas por ultrasonido mostraron un 21.9%. Además, las proteínas de abeja melífera (*Apis mellifera*) extraídas por alcalinización alcanzaron un 30.2%, y las obtenidas por ultrasonido presentaron un 31.6% de coagulación.

Los resultados obtenidos en este estudio subrayan la complejidad de las propiedades de coagulación de los hidrolizados de *A. domesticus* y cómo estas están influenciadas por factores específicos como el pH, el grado de hidrólisis y la concentración de la muestra, así como la presencia de sales. Por ello, es importante

considerar el contenido de aminoácidos presentes en las proteínas, así como identificar los grupos expuestos, ya que estos factores pueden influir en las interacciones moleculares y, por ende, en las propiedades funcionales de las proteínas. La comparación con otras fuentes proteicas revela diferencias significativas que pueden atribuirse a las características intrínsecas de cada tipo de proteína y a los métodos de extracción utilizados.

7.5 Bioactividad

7.5.1 Determinación de polifenoles totales

La determinación de polifenoles totales en la harina de *A. domesticus* es importante para determinar sus propiedades antioxidantes. Los resultados, se pueden observar en el gráfico 10 que hay diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la cuantificación de polifenoles totales extraídos entre los diferentes tratamientos.

En la harina desengrasada (GH, 7.8%), se determinó una concentración de polifenoles totales de 2.4 mg equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra, un valor inferior al reportado por Niño et al. (2021), quienes encontraron concentraciones entre 12 y 21 mg equivalentes de ácido gálico por gramo en harina de *Acheta domesticus*. Estos autores atribuyen las diferencias a factores como la dieta de los insectos o el solvente empleado en la extracción. En este estudio se utilizó agua como medio de extracción, mientras que Niño et al. (2021), utilizaron una solución etanólica, que es más eficiente para extraer compuestos fenólicos, lo que podría explicar los valores más altos observados en su trabajo. Además, según Udomsil et al. (2019), los aminoácidos con actividad antioxidante presentes en la proteína de *A. domesticus*, como el triptófano, la cisteína y la tirosina, se encuentran en concentraciones de 0.43, 0.40 y 2.71 g/100 g de muestra seca, respectivamente. Es importante señalar que la capacidad del etanol para solubilizar compuestos fenólicos se debe a su baja polaridad en comparación con el agua, lo que facilita la extracción de una mayor cantidad de estos compuestos. Además, estudios previos con otros insectos comestibles han mostrado que el contenido de polifenoles puede variar significativamente dependiendo del método de extracción aplicado (Liu et al., 2012; Mohsin et al., 2024). Este estudio confirma que la elección del solvente y las condiciones de extracción son determinantes para maximizar la concentración de polifenoles totales en la harina de *A. domesticus*.

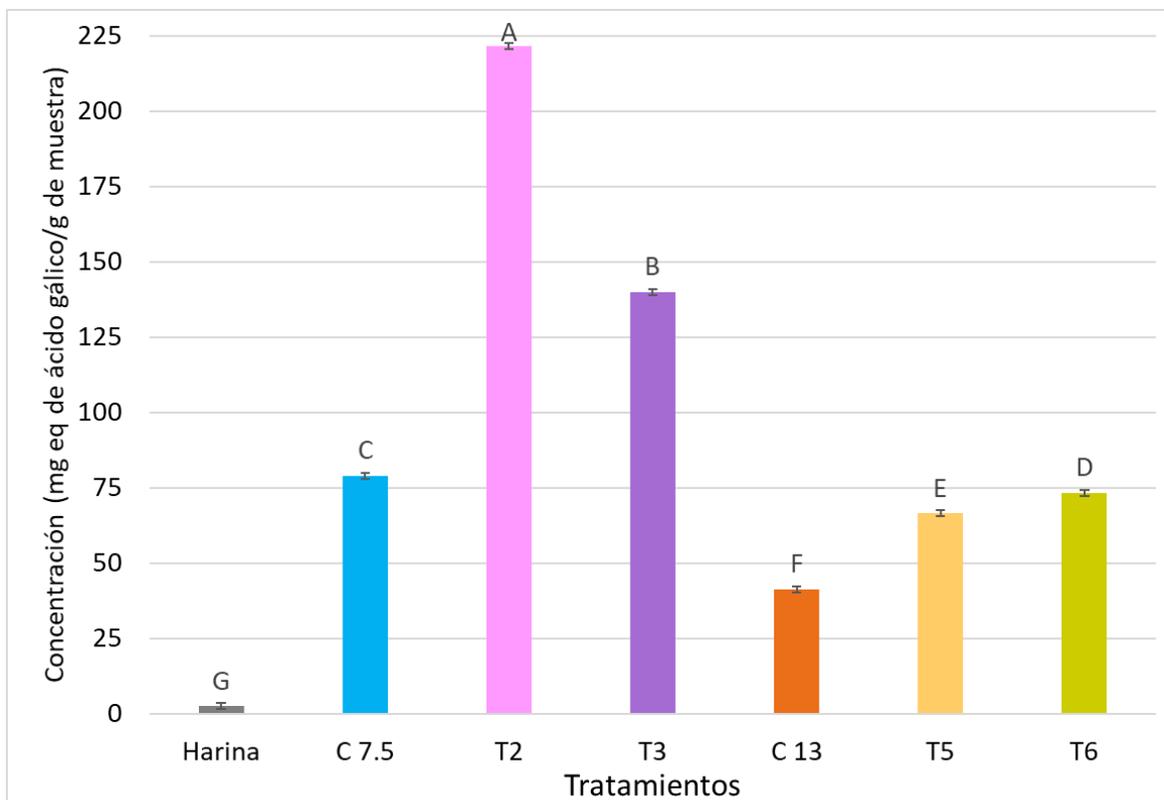


Gráfico 10 Determinación de polifenoles totales en la harina y los hidrolizados obtenidos a partir de *Acheta domesticus*.

Cada valor se expresa como la media ($n=3$) \pm DS, los valores marcados con letras diferentes mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$).

En cuanto a los tratamientos con pH 7.5, el tratamiento T2 (GH, 60.6%) la concentración de polifenoles aumentó significativamente ($p < 0.05$) a 221.5 mg eq de ácido gálico/g de muestra, mientras que para el tratamiento T3 (GH, 86.9%) la concentración disminuyó a 140.0 mg eq de ácido gálico/g de muestra, mientras que el control (C7.5), que tiene un grado de hidrólisis de 60.6% mostró una concentración de polifenoles totales de 78.8 mg equivalentes de ácido gálico/g de muestra (Gráfico 10).

Para el caso de los tratamientos con pH 13, los tratamientos con hidrólisis enzimática, T5 (GH, 50.3%) incrementó la concentración a 66.4 mg eq de ácido gálico/g de muestra y para el tratamiento T6 (GH, 56.3%), la concentración aumentó a 73.3 mg eq de ácido gálico/g de muestra, mientras que el control (C13) con un grado de hidrólisis de 28.2% presentó una concentración de polifenoles totales de 41.2 mg eq de ácido gálico/g de muestra. El comportamiento de los tratamientos con ambos valores de pH de extracción podría explicarse, como resultado del proceso de liofilización. Durante este proceso, la eliminación del agua puede aumentar la concentración relativa de compuestos bioactivos, incluidos los

polifenoles. Además, ciertos aminoácidos podrían estar interfiriendo en las mediciones. Según Everette et al. (2010), aminoácidos como la tirosina, el triptófano y la cisteína tienen una alta reactividad con el reactivo de Folin-Ciocalteu (FC), lo que puede alterar la cuantificación de los polifenoles. La reactividad de las proteínas hacia este reactivo varía considerablemente según su contenido de aminoácidos. Por ejemplo, proteínas como la albúmina de suero bovino son más reactivas que otras, como la albúmina de huevo, lo que podría contribuir a las diferencias observadas en los resultados.

7.5.2 Actividad antioxidante

Se determinaron las actividades antioxidantes (DPPH, ABTS y FRAP) de los hidrolizados de proteína soluble de *A. domesticus* (Tabla 5) con el objetivo de estabilizar radicales libres y reducir el hierro. Los ensayos de DPPH y ABTS, se fundamentan en la decoloración de radicales libres, permitieron reportar los resultados en términos de IC₅₀ (concentración necesaria para inhibir el 50% de la actividad radical, expresada en mg/mL) y en μmol de equivalentes Trolox (TE) /mg muestra. El IC₅₀ es una medida clave que refleja la eficacia antioxidante, donde valores más bajos indican una mayor capacidad para neutralizar radicales.

En contraste, el ensayo FRAP (Poder Antioxidante Reductor del Hierro Férrico), se basa en la reducción del ion férrico a ferroso y se reportó en términos de μmol de equivalentes de Trolox/mg de muestra, ya que este método mide el poder reductor total del extracto y no la inhibición del radical.

Es importante destacar que la presencia de sales en las muestras puede influir en la actividad antioxidante evaluada. Esto se debe a que las sales pueden interactuar tanto con las proteínas como con los polifenoles presentes en los hidrolizados, afectando así la disponibilidad y efectividad de los compuestos bioactivos (Ruskovska et al., 2020). La interacción entre estos componentes puede alterar la capacidad de los antioxidantes para neutralizar radicales libres, lo que resalta la necesidad de considerar estas interacciones al evaluar el potencial antioxidante de los extractos.

Tabla 5 Capacidad Antioxidante de los hidrolizados obtenidos a partir de *Acheta domesticus*

Tratamientos		DPPH		ABTS		FRAP
Clave	%GH	μmol TE/mg muestra	IC ₅₀ (mg/mL)	μmol TE/mg muestra	IC ₅₀ (mg/mL)	μmol TE/mg muestra
C 7.5	60.6	1237.3 ± 1.7 ^A	0.453 ± 0.001 ^B	283.5 ± 1.4 ^A	1.4 ± 0.014 ^A	627 ± 12.5 ^A
T2	82.9	1043.4 ± 2.5 ^C	0.654 ± 0.003 ^E	121.4 ± 3.3 ^C	2.2 ± 0.004 ^C	375.3 ± 10.1 ^B
T3	86.9	1104 ± 3.3 ^B	0.503 ± 0.003 ^C	80.1 ± 1.9 ^E	3.5 ± 0.007 ^E	392 ± 6.6 ^B
C 13	28.2	1242.3 ± 3.3 ^A	0.353 ± 0.002 ^A	20.1 ± 1.4 ^F	4.3 ± 0.007 ^F	317.8 ± 1.4 ^C
T5	50.3	1101.2 ± 5.1 ^B	0.652 ± 0.002 ^D	100.1 ± 2.3 ^D	2.7 ± 0.005 ^D	190.3 ± 6.3 ^E
T6	56.3	1033.4 ± 5.1 ^C	0.872 ± 0.002 ^F	158.6 ± 2.4 ^B	1.6 ± 0.003 ^B	261.2 ± 3.8 ^D

Los valores de actividad antioxidante se expresan en micromol de equivalentes de Trolox por miligramo de muestra (μmol TE/mg), tomando los valores con una concentración de los hidrolizados obtenidos a partir de *Acheta domesticus* de 1 mg/ml. Además, se reportan los valores de IC₅₀. Todos los valores representan la media (n=3) ± DS. Letras diferentes entre filas de la misma columna son significativamente diferentes (p < 0.05).

7.5.2.1 Método DPPH

El ensayo de DPPH es un método ampliamente utilizado para evaluar la capacidad antioxidante de los compuestos. Los resultados obtenidos muestran diferencias significativas (p<0.05) entre los tratamientos, con los controles C7.5 y C13 presentando la mayor actividad antioxidante, con valores de IC₅₀ de 0.453 mg/mL y 0.353 mg/mL, respectivamente. Estos hallazgos coinciden con estudios previos, como el de Niño et al. (2021), que reportaron una mayor actividad antioxidante en extractos de *Acheta domesticus* alimentados con dieta orgánica, con valores de IC₅₀ de 0.346 mg/mL y 0.275 mg/mL en insectos comerciales. Además, Suh et al. (2020) evaluaron la actividad antioxidante del escarabajo rinoceronte japonés (*Allomyrina dichotoma*), reportando una acción significativa de eliminación de radicales, con un IC₅₀ de 0.119 mg/mL. Estos resultados subrayan la influencia de las condiciones de crecimiento y el tipo de extracción en la actividad antioxidante.

Respecto a los equivalentes Trolox (TE), no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos control C7.5 y C13. En un estudio realizado por Hall et al. (2018), se evaluó la capacidad antioxidante mediante DPPH de hidrolizados de proteínas de *Gryllodes sigillatus*, y se encontró que el tratamiento con un grado de hidrólisis del 31.3% presentó el mayor valor (1490.5 $\mu\text{mol TE/mg}$ de muestra), en comparación con el control (GH, 4.5%), que mostró 780.6 $\mu\text{mol TE/mg}$ de muestra. En ese trabajo, se observó un incremento de la actividad antioxidante a medida que aumentaba el grado de hidrólisis. No obstante, en los hidrolizados de *Acheta domesticus* del presente estudio, se observó una tendencia inversa: al aumentar el grado de hidrólisis, la actividad antioxidante disminuyó. Esto pone de relieve la variabilidad en el comportamiento de los péptidos, que depende tanto de las condiciones de extracción como de la fuente proteica.

La disminución en la actividad antioxidante a partir de un determinado grado de hidrólisis puede estar relacionada con el tamaño y la estructura de los péptidos generados. A medida que avanza la hidrólisis, se liberan péptidos bioactivos con alto potencial antioxidante, debido a su capacidad para interactuar con radicales libres (Khammuang et al., 2022).

7.5.2.2 Método ABTS

Los resultados mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre todos los tratamientos y los controles en términos de IC50. Los tratamientos C7.5 y T6 presentaron los mejores valores, con 1.4 y 1.6 mg/mL, respectivamente. Sin embargo, estos son notablemente superiores a los reportados por Niño et al. (2021), quienes observaron IC50 de 0.146 mg/mL y 0.179 mg/mL en harina comercial y orgánica de *A. domesticus*. En cuanto a los equivalentes Trolox, el tratamiento C7.5 con un grado de hidrólisis del 60.6% mostró la mayor actividad antioxidante frente al radical ABTS, con 283.5 $\mu\text{mol TE/mg}$ de muestra. A pesar de esto, los valores son inferiores a los encontrados por Hall et al. (2018) para *Gryllodes sigillatus* (663.3 $\mu\text{mol TE/mg}$), aunque ambos estudios destacan la importancia del grado de hidrólisis en la actividad antioxidante.

Las diferencias observadas podrían estar relacionadas con variaciones en las fuentes proteicas y las condiciones de procesamiento. Es probable que la dieta de los insectos juegue un papel relevante, ya que puede influir en el perfil de aminoácidos y, por lo tanto, en la proporción de péptidos hidrofílicos o hidrofóbicos (Ibarra-Herrera et al., 2020; Reyes-Herrera et al., 2022). Además, las condiciones específicas de hidrólisis podrían haber inducido modificaciones estructurales en los péptidos, afectando su capacidad antioxidante.

7.5.2.3 Método FRAP

El ensayo FRAP fue empleado para evaluar la capacidad antioxidante de las muestras de *Acheta domesticus*, expresada en términos de equivalentes Trolox (TE). Este método mide la capacidad de los antioxidantes en la muestra para transferir electrones al ion férrico (Fe^{3+}), reduciéndolo a su forma ferrosa (Fe^{2+}), lo que permite cuantificar la eficiencia antioxidante.

Los tratamientos a pH 7.5 mostraron valores significativamente más altos ($p < 0.05$) que los tratamientos a pH 13, con el control a pH 7.5 obteniendo el mayor valor, 627 $\mu\text{mol TE/mg}$ de muestra. Los tratamientos T2 y T3 no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) con valores de 375.3 y 392 $\mu\text{mol TE/mg}$, respectivamente. En comparación con estudios previos, como el de Hall et al. (2018), donde se obtuvieron 991.3 $\mu\text{mol TE/mg}$ en muestras de *Gryllodes sigillatus*, se observa una diferencia considerable, la cual podría atribuirse a la variabilidad en las condiciones de extracción y la fuente de los antioxidantes.

La variabilidad en la actividad antioxidante podría estar relacionada con la presencia de polifenoles, como flavonoides, ácidos fenólicos y taninos, que son conocidos por su capacidad antioxidante. Bartosz (2010) destacó que la actividad antioxidante de las proteínas es mínima, sugiriendo que los polifenoles presentes en las muestras son los principales responsables de la actividad observada. Es probable que los polifenoles se mantuvieran más activos en las muestras con pH 7.5, ya que el pH de extracción no afectó negativamente su actividad. En contraste, los valores más bajos en los tratamientos a pH 13 podrían deberse a que el pH alcalino afectó la estabilidad de los polifenoles, además de la posible pérdida de estos compuestos debido a la termolabilidad durante el procesamiento.

8. Conclusiones

Se obtuvo una mayor extracción de proteína soluble a pH 13 en comparación con pH 7.5. El grado de hidrólisis (GH) fue un factor para el análisis de las propiedades funcionales, ya que a menor GH mejores propiedades tecnofuncionales y antioxidantes.

En cuanto a las propiedades tecnofuncionales, el control a pH 13 (C13) con un GH de 28% demostró una mejor capacidad de formación de espuma y capacidad emulsionante. La capacidad de formación de espuma alcanzó su valor más alto (315%) a una concentración de 1%. La estabilidad de la espuma fue superior al 90% después de 40 minutos de evaluación, lo que sugiere que tanto las condiciones de pH como el GH son determinantes en este comportamiento. Además, el índice de

actividad emulsionante fue de 0.43 m²/g a una concentración de 2%, con una estabilidad de la emulsión del 60% después de 120 minutos. Sin embargo, el tratamiento T5 mostró el mayor porcentaje de coagulación, con un valor de 0.17%.

En términos de actividad antioxidante, el control a pH 7.5 (C7.5) con un GH de 60% presentó los mejores resultados, con un IC₅₀ para DPPH de 0.453 ± 0.001 mg/mL, un IC₅₀ para ABTS de 1.4 ± 0.014 mg/mL y una actividad FRAP 627 µmol TE/mg.

Los resultados indican que, aunque los hidrolizados de *Acheta domesticus* podrían tener aplicaciones como aditivos en la industria alimentaria o ingredientes nutracéuticos, la hidrólisis enzimática no es recomendable para preservar las propiedades funcionales de las proteínas solubles. Los mejores valores de funcionalidad se registraron en los controles a pH 7.5 y pH 13, lo que sugiere que la hidrólisis enzimática conduce a una pérdida de estas propiedades.

9. Perspectivas

Con base en los resultados obtenidos en este estudio, se proponen diversas líneas de investigación que podrían enriquecer el entendimiento y las aplicaciones de los hidrolizados de proteína de *Acheta domesticus*.

Se recomienda llevar a cabo pruebas adicionales bajo diversas condiciones de tratamiento, variando factores como el pH, el tiempo de hidrólisis y la temperatura. Estas pruebas permitirán evaluar su impacto en las variables respuesta estudiadas, lo que puede proporcionar información valiosa sobre cómo optimizar los procesos para mejorar las propiedades tecnofuncionales y antioxidantes de los hidrolizados.

Se sugiere evaluar las propiedades de los hidrolizados obtenidos a partir de diferentes métodos de extracción, como la extracción por ultrasonido y la precipitación. Este enfoque permitirá valorar las aplicaciones potenciales de los hidrolizados en la industria alimentaria y nutracéutica, así como identificar el método más eficiente para maximizar el rendimiento y la calidad de las proteínas extraídas.

Es aconsejable realizar evaluaciones del extracto control con pH 7.5 en diversas pruebas biológicas. Esto permitirá observar y caracterizar las propiedades bioactivas que presenta, contribuyendo así a un mejor entendimiento de sus posibles aplicaciones en la salud y la nutrición.

Finalmente, se propone llevar a cabo una evaluación del comportamiento de agregación en los hidrolizados obtenidos. Analizar si la agregación es la causa de la pérdida de propiedades tecnofuncionales y antioxidantes ayudará a identificar

factores críticos que afectan la estabilidad y la funcionalidad de los hidrolizados, lo que podría ser fundamental para el desarrollo de productos más eficaces.

10. Referencias bibliográficas

Abdullah, Weiss, J., Ahmad, T., Zhang, C., & Zhang, H. (2020). A review of recent progress on high internal-phase Pickering emulsions in food science. *Trends in Food Science & Technology*, 106, 91-103.

Aguilera, Y., Pastrana, I., Rebollo-Hernanz, M., Benitez, V., Álvarez-Rivera, G., Viejo, J. L., & Martín-Cabrejas, M. A. (2021). Investigating edible insects as a sustainable food source: Nutritional value and techno-functional and physiological properties. *Food & Function*, 12(14), 6309-6322.

Aktayeva, S., & Khassenov, B. (2024). New *Bacillus paralicheniformis* strain with high proteolytic and keratinolytic activity. *Scientific Reports*, 14(1), 22621.

Antonic, B., Dordevic, D., Jancikova, S., Tremlova, B., Nejezchlebova, M., Goldová, K., & Tremel, J. (2021). Reused plant fried oil: A case study with home-made soaps. *Processes*. 9(3): 529.

Aparecida-Cruz, V., Vicentini-Polette, C., Rodrigues-Magalhaes D., & Lopes de Oliveira, A. (2024). Extraction, characterization, and use of edible insect oil – A review. *Food Chemistry*. Article_141199

Azrin, N. A. M., Ali, M. S. M., Rahman, R. N. Z. R. A., Oslan, S. N., & Noor, N. D. M. (2022). Versatility of subtilisin: A review on structure, characteristics, and applications. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 69(6), 2599-2616.

Bartosz, G. (2010) Non-enzymatic antioxidant capacity assay, limitations of use in biomedicine. *Free Radical Research*, 44, 711–720.

Benzie, I. F. F., & Devaki, M. (2017). The ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay for non-enzymatic antioxidant capacity: concepts, procedures, limitations and applications. *Measurement of Antioxidant Activity & Capacity*, 77–106.

Cermeño, M., Bascón, C., Amigo-Benavent, M., Felix, M., & FitzGerald, R. J. (2022). Identification of peptides from edible silkworm pupae (*Bombyx mori*) protein hydrolysates with antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 92, 105052.

Chalamaiah, M., Dinesh Kumar, B., Hemalatha, R., & Jyothirmayi, T. (2012). Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. *Food Chemistry*, 135, 3020-3038.

Choi B.D., Wong N.A.K, Auh J.H. (2017) Defatting and Sonication Enhances Protein Extraction from Edible Insects. *Korean Journal Food Science Animal Resources* 37(6):955-961

Cruz-Casas, D. E., Aguilar, C. N., Ascacio-Valdés, J. A., Rodríguez-Herrera, R., Chávez-González, M. L., & Flores-Gallegos, A. C. (2021). Enzymatic hydrolysis and microbial fermentation: The most favorable biotechnological methods for the release of bioactive peptides. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 3, 100047.

Cruz-Casas, D. E., Aguilar, C. N., Ascacio-Valdés, J. A., Rodríguez-Herrera, R., Chávez-González, M. L., & Flores-Gallegos, A. C. (2023). Bioactive protein hydrolysates obtained from amaranth by fermentation with lactic acid bacteria and *Bacillus species*. *Heliyon*, 9(2).

Cruz-López S. O. (2022A). Evaluación tecno-funcional y sensorial de batidos cárnicos cocidos incorporando concentrados de proteínas de grillo (*Acheta domesticus*) extraídos mediante el uso de ultrasonido (Tesis de maestría, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Maestría en Biotecnología).

Cruz-López, S. O., Escalona-Buendía, H. B., Román-Guerrero, A., Domínguez-Soberanes, J., & Alvarez-Cisneros, Y. M. (2022B). Characterization of Cooked Meat Models using Grasshopper (*Sphenarium purpurascens*) Soluble Protein Extracted by Alkalisiation and Ultrasound as Meat-Extender. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*. 42(3): 536–555.

Cruz-López, S.O. (2020). “Evaluación del efecto del ultrasonido en la funcionalidad de proteínas extraídas de chapulín (*Sphenarium purpurascens*). Tesis para optar al diploma de especialista en biotecnología. UAM-I.

da Silva Lucas, A. J., de Oliveira, L. M., Da Rocha, M., & Prentice, C. (2020). Edible insects: An alternative of nutritional, functional and bioactive compounds. *Food Chemistry*, 311, 126022.

De Goede, D. M., Erens, J., Kapsomenou, E., & Peters, M. (2013). Large scale insect rearing and animal welfare. *The Ethics of Consumption: The Citizen, the Market and the Law*, 236-242.

Delgado, M. F. (2022). Relación estructura–función de las proteínas. uso de la técnica de electroforesis en el estudio de su expresión. *Advances in Science and Innovation*, 1(1), 77-92.

Ding, Y., Chen, L., Shi, Y., Akhtar, M., Chen, J., & Ettelaie, R. (2021). Emulsifying and emulsion stabilizing properties of soy protein hydrolysates, covalently bonded to polysaccharides: The impact of enzyme choice and the degree of hydrolysis. *Food Hydrocolloids*, 113, 106519.

Dion-Poulin, A., Laroche, M., Doyen, A., & Turgeon, S. L. (2020). Functionality of cricket and mealworm hydrolysates generated after pretreatment of meals with high hydrostatic pressures. *Molecules*, 25(22), 5366.

Dryáková, A., Pihlanto, A., Marnila, P., Čurda, L., & Korhonen, H. T. (2010). Antioxidant properties of whey protein hydrolysates as measured by three methods. *European Food Research and Technology*, 230(6), 865-874.

EFSA (European Food Safety Authority) Scientific Committee. (2015). Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. *EFSA Journal*, 13, 4257

Elhassan, M., Wendin, K., Olsson, V., & Langton, M. (2019). Quality aspects of insects as food—nutritional, sensory, and related concepts. *Foods*, 8(3), 95.

Espitia-Buitrago, P. A., Hernández, L. M., Burkart, S., Palmer, N., & Cardoso Arango, J. A. (2021). Forage-fed insects as food and feed source: opportunities and constraints of edible insects in the tropics. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 724628.

Everette, J. D., Bryant, Q. M., Green, A. M., Abbey, Y. A., Wangila, G. W., & Walker, R. B. (2010). Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin–Ciocalteu reagent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(14), 8139-8144.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), (2013). Edible insects. Future prospects for food and feed security. Vol. 171.

Garrido-Cruz, J. L., Totosaus, A., Pérez-Alvarez, J. A., Cortés-Barberena, E., & Pérez-Chabela, M. L. (2023). Bioactivity of Pomegranate (*Punica granatum L.*) Peels Flour to Improve Probiotics Viability in Micro Co-Encapsulation by Ionic Gelation. *Food Biotechnology*, 37(4), 393-412.

Gómez-Guillén, M. C., Giménez, B., López-Caballero, M. A., & Montero, M. P. (2011). Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1813-1827.

Haider, S. R., Reid, H. J., & Sharp, B. L. (2012). Protein Electrophoresis: Methods and Protocols. *Methods in Molecular Biology*, 869, 81-91.

Hall, F. G., Jones, O. G., O'Haire, M. E., & Liceaga, A. M. (2016). Functional properties of tropical banded cricket (*Gryllobates sigillatus*) protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 224, 414-422.

Hall, F., Johnson, P. E., & Liceaga, A. (2018). Effect of enzymatic hydrolysis on bioactive properties and allergenicity of cricket (*Gryllobates sigillatus*) protein. *Food Chemistry*, 262, 39-47.

Halloran, A., Hanboonsong, Y., Roos, N., & Bruun, S. (2017). Life cycle assessment of cricket farming in north-eastern Thailand. *Journal of Cleaner Production*, 156, 83-94.

Hasnan, F. F. B., Feng, Y., Sun, T., Parraga, K., Schwarz, M., & Zarei, M. (2023). Insects as Valuable Sources of Protein and Peptides: Production, Functional Properties, and Challenges. *Foods*, 12(23), 4243.

Henry, M., Gasco, L., Piccolo, G., & Fountoulaki, E. (2015). Review on the use of insects in the diet of farmed fish: past and future. *Animal Feed Science and Technology*, 203, 1-22.

Hirsch, A., Cho, Y. H., Kim, Y. H. B., & Jones, O. G. (2019). Contributions of protein and milled chitin extracted from domestic cricket powder to emulsion stabilization. *Current Research in Food Science*, 1, 17-23.

Hlongwane ZT, Slotow R, Munyai TC. (2020) Nutritional Composition of Edible Insects Consumed in Africa: A Systematic Review. *Nutrients*, 12(9), 2786.

Hurd, K. J., Shertukde, S., Toia, T., Trujillo, A., Pérez, R. L., Larom, D. L., & Liu, C. (2019). The cultural importance of edible insects in Oaxaca, Mexico. *Annals of the Entomological Society of America*, 112(6), 552-559.

Ibarra-Herrera, C. C., Acosta-Estrada, B., Chuck-Hernández, C., Serrano-Sandoval, S. N., Guardado-Félix, D., & Pérez-Carrillo, E. (2020). Nutritional content of edible grasshopper (*Sphenarium purpurascens*) fed on alfalfa (*Medicago sativa*) and maize (*Zea mays*). *CyTA-Journal of Food*, 18(1), 257-263.

Ibrahim, H. R., Isono, H., & Miyata, T. (2018). Potential antioxidant bioactive peptides from camel milk proteins. *Animal Nutrition*, 4(3), 273-280.

Kamran, F., Phillips, M., Harman, D. G., & Reddy, N. (2023). Antioxidant activities of lupin (*Lupinus angustifolius*) protein hydrolysates and their potential for nutraceutical and functional foods. *Food Chemistry Advances*, 2, 100297.

Ketnawa, S., & Liceaga, A. M. (2017). Effect of microwave treatments on antioxidant activity and antigenicity of fish frame protein hydrolysates. *Food and Bioprocess Technology*, 10, 582-591.

Khaled, H. B., Ktari, N., Ghorbel-Bellaaj, O., Jridi, M., Lassoued, I., & Nasri, M. (2014). Composition functional properties and in vitro antioxidant activity of protein hydrolysates prepared from sardinelle (*Sardinella aurita*) muscle. *Journal of Food Science and Technology*, 51(4), 622-633.

Khammuang, S., Sarnthima, R., & Sanachai, K. (2022). Purification and identification of novel antioxidant peptides from silkworm pupae (*Bombyx mori*) protein hydrolysate and molecular docking study. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 42, 102367.

Kielkopf, C. L., Bauer, W., & Urbatsch, I. L. (2021). Sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis of proteins. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2021(12), pdb-prot102228.

Kim, T. K., Yong, H. I., Chun, H. H., Lee, M. A., Kim, Y. B., & Choi, Y. S. (2020A). Changes of amino acid composition and protein technical functionality of edible insects by extracting steps. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 23(2), 298-305.

Kim, T. K., Yong, H. I., Kang, M. C., Jung, S., Jang, H. W., & Choi, Y. S. (2021). Effects of High Hydrostatic Pressure on Technical Functional Properties of Edible Insect Protein. *Korean Journal Food Science of Animal Resources*. 41 (2): 185–195.

Kim, T. K., Yong, H. I., Kim, Y. B., Kim, H. W., & Choi, Y. S. (2019). Edible insects as a protein source: A review of public perception, processing technology, and research trends. *Food Science of Animal Resources*, 39(4), 521.

Kim, TK, Hwang, KE, Ham, YK, Kim, HW, Paik, HD, Kim, YB, & Choi, YS (2020B). Interactions between raw meat irradiated with various types of ionizing radiation and transglutaminase treatment in meat emulsion systems. *Radiation Physics and Chemistry*, 166, 108452.

Kingwascharapong, P., Chaijan, M., & Karnjanapratum, S. (2021). Ultrasound-assisted extraction of protein from *Bombay locusts* and its impact on functional and antioxidative properties. *Scientific Reports*, 11(1): 17320.

Korhonen, H., & Pihlanto, A. (2006). Bioactive peptides: Production and functionality. *International Dairy Journal*, 16(9), 945-960.

Kouřimská, L., & Adámková, A. (2016). Nutritional and sensory quality of edible insects. *NFS Journal*, 4, 22-26.

Kowalski, S., Mikulec, A., Mickowska, B., Skotnicka, M., & Mazurek, A. (2022). Wheat bread supplementation with various edible insect flours. Influence of chemical composition on nutritional and technological aspects. *LWT*, 159, 113220.

Kramer, A., & Kwee, W. H. (1977). Functional and nutritional properties of tomato protein concentrates. *Journal of Food Science*. 42 (1): 207–211.

Kristinsson, H. G., & Rasco, B. A. (2000). Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(1), 43-81.

Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680-685.

Lee, S. Y., Kang, J. H., Jeong, J. W., Kim, J. H., Moon, S. S., & Hur, S. J. (2023). Methods for improving meat protein digestibility in older adults. *Journal of Animal Science and Technology*, 65(1), 32.

Li, X. X., Han, L. J., & Chen, L. J. (2008). In vitro antioxidant activity of protein hydrolysates prepared from corn gluten meal. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(9), 1660-1666.

Liceaga-Gesualdo, A., & Li-Chan, E. (1999). Functional properties of fish protein hydrolysate from herring (*Clupea harengus*). *Journal of Food Science*, 64(6), 1000-1004.

Li-Chan, E. C. (2015). Bioactive peptides and protein hydrolysates: research trends and challenges for application as nutraceuticals and functional food ingredients. *Current Opinion in Food Science*, 1, 28-37.

Lin, X., Wang, F., Lu, Y., Wang, J., Chen, J., Yu, Y., & Peng, Y. (2023). A review on edible insects in China: Nutritional supply, environmental benefits, and potential applications. *Current Research in Food Science*, 100596.

Liu, D., Ren, Y., Zhong, S., & Xu, B. (2024). New Insight into Utilization of Fish By-Product Proteins and Their Skin Health Promoting Effects. *Marine Drugs*, 22(5), 215.

Liu, S., Sun, J., Yu, L., Zhang, C., Bi, J., Zhu, F., & Yang, Q. (2012). Antioxidant activity and phenolic compounds of *Holotrichia parallela* Motschulsky extracts. *Food chemistry*, 134(4), 1885-1891.

López-García, G., Dublan-García, O., Arizmendi-Cotero, D., & Gómez Oliván, L. M. (2022). Antioxidant and antimicrobial peptides derived from food proteins. *Molecules*, 27(4), 1343.

Lundy, M. E., & Parrella, M. P. (2015). Crickets are not a free lunch: protein capture from scalable organic side-streams via high-density populations of *Acheta domesticus*. *PloS one*, 10(4), e0118785.

Ma, W., Wang, J., Wu, D., Chen, H., Wu, C., & Du, M. (2020). The mechanism of improved thermal stability of protein-enriched O/W emulsions by soy protein particles. *Food & Function*, 11(2), 1385-1396.

Magalhães, R., Sánchez-López, A., Leal, R. S., Martínez-Llorens, S., Oliva-Teles, A., & Peres, H. (2017). Black soldier fly (*Hermetia illucens*) pre-pupae meal as a fish meal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 476, 79-85.

Makkar, H. P., Tran, G., Heuzé, V., & Ankers, P. (2014). State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Animal Feed Science and Technology*, 197, 1-33.

Małecki, J., Muszyński, S., & Sołowiej, B. G. (2021). Proteins in food systems—Bionanomaterials, conventional and unconventional sources, functional properties, and development opportunities. *Polymers*, 13(15), 2506.

Mardani, M., Badakné, K., Farmani, J., & Aluko, R. E. (2023). Antioxidant peptides: Overview of production, properties, and applications in food systems. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 22(1), 46-106.

Mengozi, A., Chiavaro, E., Barbanti, D., & Bot, F. (2024). Heat-Induced Gelation of Chickpea and Faba Bean Flour Ingredients. *Gels*, 10(5), 309.

Mina, G., Peira, G. & Bonadonna, A. (2023). The Potential Future of Insects in the European Food System: A Systematic Review Based on the Consumer Point of View. *Foods*, 12, 646

Mintah, B. K., He, R., Agyekum, A. A., Dabbour, M., Golly, M. K., & Ma, H. (2020). Edible insect protein for food applications: Extraction, composition, and functional properties. *Journal of Food Process Engineering*, 43(4), e13362.

Mintah, B. K., He, R., Dabbour, M., Xiang, J., Agyekum, A. A., & Ma, H. (2019). Techno-functional attribute and antioxidative capacity of edible insect protein preparations and hydrolysates thereof: Effect of multiple mode sonochemical action. *Ultrasonics Sonochemistry*, 58, 104676.

Mishyna, M., Martinez, J. J. I., Chen, J., & Benjamin, O. (2019A). Extraction, characterization and functional properties of soluble proteins from edible grasshopper (*Schistocerca gregaria*) and honey bee (*Apis mellifera*). *Food Research International*, 116, 697-706.

Mishyna, M., Martinez, J.-J. I., Chen, J., Davidovich-Pinhas, M., & Benjamin, O. (2019B). Heat-induced aggregation and gelation of proteins from edible honey bee brood (*Apis mellifera*) as a function of temperature and pH. *Food Hydrocolloids*, 91.

Mohsin, A., Ali, M., Zaheer, M. S., Ikram, K., Mudassir, M. A., Hussain, S., & Qayyum, S. (2024). Insect as a promising food source: implications for sustainable consumption across species. a review. *Zoo Botanica*, 2(1), 53-71.

Molina-Vega, A., Hernández-Domínguez, E. M., Villa-García, M., & Álvarez-Cervantes, J. (2021). *Comadia redtenbacheri* (Lepidoptera: Cossidae) and *Aegiale hesperiaris* (Lepidoptera: HesperIIDae), two important edible insects of *Agave salmiana* (Asparagales: Asparagaceae): a review. *International Journal of Tropical Insect Science*, 41, 1977-1988.

Naeem, M., Manzoor, S., Abid, M. U. H., Tareen, M. B. K., Asad, M., Mushtaq, S., & Hazafa, A. (2022). Fungal proteases as emerging biocatalysts to meet the current challenges and recent developments in biomedical therapies: an updated review. *Journal of Fungi*, 8(2), 109.

Naveed, M., Nadeem, F., Mehmood, T., Bilal, M., Anwar, Z., & Amjad, F. (2021). Protease—a versatile and ecofriendly biocatalyst with multi-industrial applications: an updated review. *Catalysis Letters*, 151, 307-323.

Nemati, M., Shahosseini, S. R., & Ariaei, P. (2024). Review of fish protein hydrolysates: production methods, antioxidant and antimicrobial activity and nanoencapsulation. *Food Science and Biotechnology*, 1-15.

Nguyen, E., Jones, O., Kim, Y. H. B., San Martin-Gonzalez, F., & Liceaga, A. M. (2017). Impact of microwave-assisted enzymatic hydrolysis on functional and antioxidant properties of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* by-products. *Fisheries Science*, 83(2), 317-331.

Niño, M. C., Reddivari, L., Ferruzzi, M. G., & Liceaga, A. M. (2021). Targeted phenolic characterization and antioxidant bioactivity of extracts from edible *Acheta domesticus*. *Foods*, 10(10), 2295.

Noman, A., Xu, Y., Al-Bukhaiti, W. Q., Abed, S. M., Ali, A. H., Ramadhan, A. H., & Xia, W. (2018). Influence of enzymatic hydrolysis conditions on the degree of hydrolysis and functional properties of protein hydrolysate obtained from Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) by using papain enzyme. *Process Biochemistry*, 67, 19-28.

Ocampo, M., Fischer, S., Folch-Cano, C., Pinto, A., & Figueroa, I. (2023). Content and antioxidant capacity of phenolic compounds in quinoa seed: A review. *Chilean journal of agricultural research*, 83(6), 754-767.

Padial-Domínguez, M., Espejo-Carpio, F. J., Pérez-Gálvez, R., Guadix, A., & Guadix, E. M. (2020). Optimization of the emulsifying properties of food protein hydrolysates for the production of fish oil-in-water emulsions. *Foods*, 9(5), 636.

Pan, J., Xu, H., Cheng, Y., Mintah, B. K., Dabbour, M., Yang, F., & Ma, H. (2022). Recent insight on edible insect protein: Extraction, functional properties, allergenicity, bioactivity, and applications. *Foods*, 11(19), 2931.

Parra-Huertas, R. A. (2010). Bacterias ácido-lácticas: papel funcional en los alimentos. *Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 8(1), 93-105.

Pawar, K. S., Singh, P. N., & Singh, S. K. (2023). Fungal alkaline proteases and their potential applications in different industries. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1138401.

Pérez Gálvez, A. R., Berraquero García, C., Ospina Quiroga, J. L., Espejo Carpio, F. J., Almecija Rodríguez, M. C., Guadix Escobar, A. M., & Guadix Escobar, E. M. (2024). Influence of In Vitro Digestion on Dipeptidyl Peptidase-IV

(DPP-IV) Inhibitory Activity of Plant-Protein Hydrolysates Obtained from Agro-Industrial By-Products. *Foods*, 13(17):2691

Pérez, M. C., & Córdoba, M. M. (2014). Determinación del efecto de la concentración de la celulasa, celobiasa y de NaOH en la hidrólisis para la producción de etanol a partir del rastrojo de la piña. *Ingeniería. Revista de la Universidad de Costa Rica*, 24(2), 35-51.

Peterson, G. L. (1977). A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Analytical Biochemistry*, 83(2), 346-356.

Pinto-Tomás, A., Uribe-Lorío, L., Blanco, J., Fontecha, G., Rodríguez, C., Mora, M., & Sittenfeld, A. (2007). Actividades enzimáticas en aislamientos bacterianos de tractos digestivos de larvas y del contenido de pupas de *Automeris zugana* y *Rothschildia lebeau* (Lepidoptera: Saturniidae). *Revista de Biología Tropical*, 55(2), 401-415.

Pougoue Ngueukam, A. A., Klang, M. J., Zokou, R., Teboukeu Boungo, G., Djikeng Tonfack, F., Azeez, B. K., & Tsopmo, A. (2023). Peptidomics Analysis of Soy Protein Hydrolysates—Antioxidant Properties and Mechanism of their Inhibition of the Oxidation of Palm Olein during Frying Cycles. *Foods*, 12(18), 3498.

Purohit, K., Reddy, N., & Sunna, A. (2024). Exploring the potential of bioactive peptides: From natural sources to therapeutics. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(3), 1391.

Reyes-Herrera, A., Pérez-Carrillo, E., Amador-Espejo, G., Valdivia-Nájar, G., & Ibarra-Herrera, C. C. (2022). Changes in the chemical composition of edible grasshoppers (*Sphenarium purpurascens*) fed exclusively with soy sprouts or maize leaves. *Insects*, 13(6), 510.

Rivero-Pino, F., Espejo-Carpio, F. J., & Guadix, E. M. (2020). Antidiabetic food-derived peptides for functional feeding: Production, functionality and in vivo evidences. *Foods*, 9(8), 983.

Ruskovska, T., Maksimova, V., & Milenkovic, D. (2020). Polyphenols in human nutrition: from the in vitro antioxidant capacity to the beneficial effects on cardiometabolic health and related inter-individual variability—an overview and perspective. *British Journal of Nutrition*, 123(3), 241-254.

Sakiroff LM, Chennell P, Yessaad M, Pereira B, Bouattour Y, Sautou V. (2022) Evaluation of color changes during stability studies using spectrophotometric chromaticity measurements versus visual examination. *Scientific Reports* 12(1):8959.

Santos, J. (2009). *Las proteínas* (dirigido por J. M. Kirschenbaum). Buenos Aires: Ministerio de Educación de la Nación. Instituto Nacional de Educación Tecnológica. pp. 33-35.

Schägger, H., & von Jagow, G. (1987). Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Analytical Biochemistry*, 166(2), 368-379.

Schmid, T., Kinner, M., Stäheli, L., Steinegger, S., Hollenstein, L., de la Gala, D., & Müller, N. (2024). Effect of Press Cake-Based Particles on Quality and Stability of Plant Oil Emulsions. *Foods*, 13(18), 2969.

Siebert, D. A., Caon, N. B., Alberton, M. D., Vitali, L., Parize, A. L., & Micke, G. A. (2023). Immobilized acetylcholinesterase in magnetic nanoparticles for in-line inhibition studies using a capillary electrophoresis system. *Analytica Chimica Acta*, 1275, 341566.

Song, P., Zhang, X., Wang, S., Xu, W., Wang, F., Fu, R., & Wei, F. (2023). Microbial proteases and their applications. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1236368.

Soria Chico M. Y., Canchola Alvizo M. G., González Martínez D. M., Torres Bravo A. M. (2016). "Elaboración de una botana tipo fritura adicionada con haba y chapulín" Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec.

Suh, H. J., Kim, S. R., Lee, K. S., Park, S., & Kang, S. C. (2010). Antioxidant activity of various solvent extracts from *Allomyrina dichotoma* (Arthropoda: Insecta) larvae. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 99(2), 67-73.

Tacias-Pascacio, V. G., Morellon-Sterling, R., Siar, E. H., Tavano, O., Berenguer-Murcia, A., & Fernandez-Lafuente, R. (2020). Use of Alcalase in the production of bioactive peptides: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 165, 2143-2196.

Tao, S., Guan, X., Li, Y., Jiang, H., Gong, S., & Ngai, T. (2022). All-natural oil-in-water high internal phase Pickering emulsions featuring interfacial bilayer stabilization. *Journal of Colloid and Interface Science*, 607, 1491-1499.

Toldrá, F., Gallego, M., Reig, M., Aristoy, M. C., & Mora, L. (2020). Recent progress in enzymatic release of peptides in foods of animal origin and assessment of bioactivity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *68*(46), 12842-12855.

Udomsil, N., Imsoonthornruksa, S., Gosalawit, C., & Ketudat-Cairns, M. (2019). Nutritional values and functional properties of house cricket (*Acheta domestica*) and field cricket (*Gryllus bimaculatus*). *Food Science and Technology Research*, *25*(4), 597-605.

Ulug, S. K., Jahandideh, F., & Wu, J. (2021). Novel technologies for the production of bioactive peptides. *Trends in Food Science & Technology*, *108*, 27-39.

Urbina, P., Marin, C., Sanz, T., Rodrigo, D., & Martinez, A. (2021). Effect of HHP, enzymes and gelatin on physicochemical factors of gels made by using protein isolated from common cricket (*Acheta domestica*). *Foods*, *10*(4), 858.

Villaseñor, V. M., Enriquez-Vara, J. N., Urías-Silva, J. E., del Carmen Lugo-Cervantes, E., Luna-Vital, D. A., & Mojica, L. (2022). Mexican grasshopper (*Sphenarium purpurascens*) as source of high protein flour: techno-functional characterization, and in silico and in vitro biological potential. *Food Research International*, 112048.

Webb, E. C. (1993). Enzyme nomenclature: a personal retrospective. *The FASEB Journal*, *7*(12), 1192-1194.

Wen, C., Zhang, J., Zhou, J., Cai, M., Duan, Y., Zhang, H., & Ma, H. (2020). Antioxidant activity of arrowhead protein hydrolysates produced by a novel multi-frequency S-type ultrasound-assisted enzymolysis. *Natural Product Research*, *34*(20), 3000-3003.

Yan, X., Ma, C., Cui, F., McClements, D. J., Liu, X., & Liu, F. (2020). Protein-stabilized Pickering emulsions: Formation, stability, properties, and applications in foods. *Trends in Food Science & Technology*, *103*, 293-303.

Zhang, D., Zhang, Y., Huang, Y., Chen, L., Bao, P., Fang, H., & Zhou, C. (2021). l-Arginine and l-Lysine Alleviate Myosin from Oxidation: Their Role in Maintaining Myosin's Emulsifying Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. *69* (10): 3189–3198.

Zhang, S., Sun, Y., Xie, Q., Jiang, Y., & Cheng, J. (2024). Effect of different salts on the foaming properties of model protein systems for infant formula. *Journal of Dairy Science*, *107*(5), 2668-2680.

Zhong, Y., Zhao, J., Dai, T., Ye, J., Wu, J., Chen, T., & Liu, C. (2021). Fabrication of Oil-in-Water emulsions with whey protein isolate–puerarin composites: Environmental stability and interfacial behavior. *Foods*, *10*(4), 705.

Zhou, Y., Wang, D., Zhou, S., Duan, H., Guo, J., & Yan, W. (2022). Nutritional Composition, Health Benefits, and Application Value of Edible Insects: A Review. *Foods*, *11*(24), 3961.

Zhu, Z., Fang, R., Huang, M., Wei, Y., & Zhou, G. (2020). Oxidation combined with Maillard reaction induced free and protein-bound N ϵ -carboxymethyllysine and N ϵ - carboxyethyllysine formation during braised chicken processing. *Food Science and Human Wellness*, *9*(4), 383–393.

ANEXOS

Anexo A. Cuantificación de Proteína

La determinación de proteínas se realizó utilizando el método de Lowry, modificado por Peterson (1977). A continuación, se describen los reactivos y el procedimiento empleado:

Reactivos:

a) Solución carbonato de tartrato-cobre:

Se disuelven lentamente en 250 mL de agua destilada los siguientes componentes: 25 g de carbonato de sodio (Fisons, Loughborough, Reino Unido), 0.25 g de sulfato de cobre pentahidratado (Fisons, Loughborough, Reino Unido) y 0.5 g de tartrato de sodio y potasio (Fisons, Loughborough, Reino Unido).

b) Solución de dodecil sulfato de sodio (SDS) (Fisons, Loughborough, Reino Unido): Se disuelven 25 g de SDS en 250 mL de agua destilada.

c) Solución de hidróxido de sodio:
Se disuelven 8 g de NaOH (Fisons, Loughborough, Reino Unido) en 250 mL de agua destilada.

Preparación del reactivo A:

Se mezclan 250 mL de la solución a (carbonato de sodio con tartrato de potasio), 250 mL de la solución b (dodecil sulfato de sodio) y 250 mL de la solución c (hidróxido de sodio). Luego, se completa el volumen con agua destilada hasta obtener 1 L. Se recomienda conservar este reactivo en refrigeración y calentarlo a 25-30°C antes de su uso, hasta que el SDS vuelva a disolverse completamente.

Reactivo B:

Se prepara diluyendo en una proporción 1:1 el reactivo de fenol Folin-Ciocalteu (Fisons, Loughborough, Reino Unido) con agua destilada. Este reactivo debe conservarse protegido de la luz.

Procedimiento para la curva patrón:

1. Se disuelven 2.50 mg de albúmina sérica bovina (Sigma- Aldrich, San Luis, USA) en 250 mL de agua destilada para preparar una solución madre de 1000 µg/mL.
2. A partir de esta solución, se realizan diluciones con agua destilada para obtener una serie de concentraciones que varían de 0 a 1000 µg/mL.
3. A 1 mL de cada una de las muestras preparadas, se le adiciona 1 mL del reactivo A. La mezcla se agita y se incuba a 30 °C durante 10 min.

- Posteriormente, se añade 0.5 mL del reactivo B y se agita nuevamente, incubándose a 30 °C por 30 min.
- Finalmente, se mide la absorbancia de las muestras a 750 nm utilizando un espectrofotómetro.

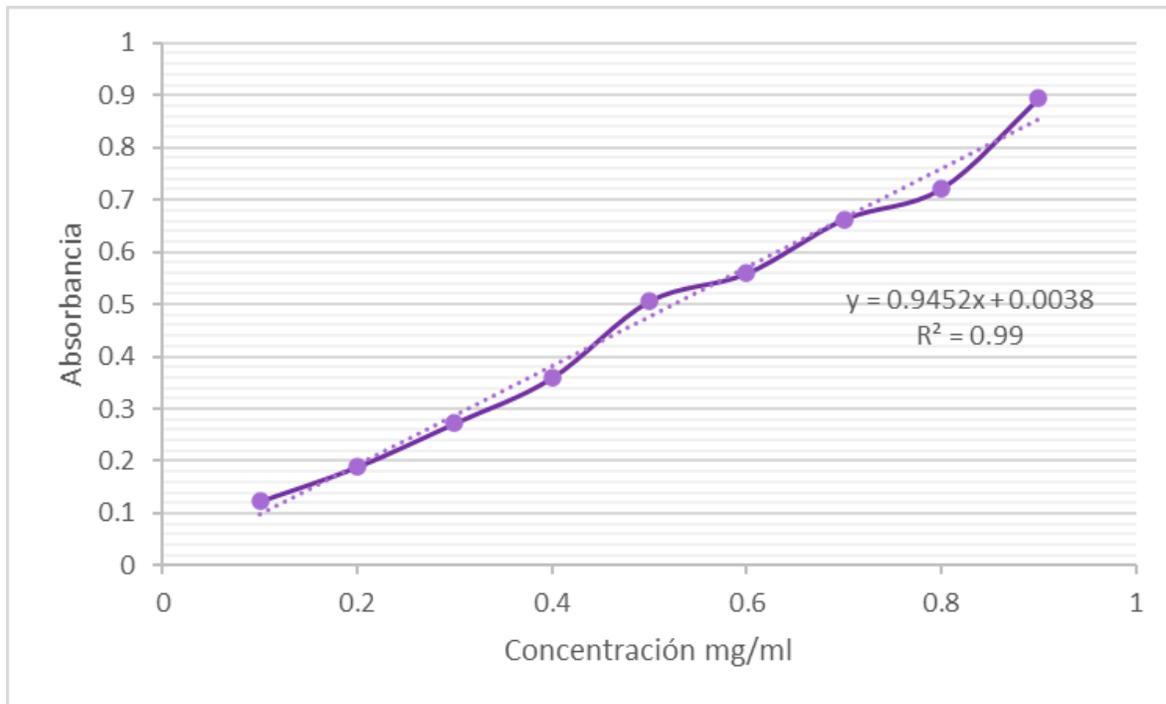


Gráfico A 1 Curva patrón Lowry-Peterson

Anexo B. Protocolo Tricina-SDS-PAGE para la preparación de geles de poliacrilamida.

1. Buffer Tris-HCl (2.5 M, pH 8.8): Se pesaron 302.85 g de base de Tris y se transfirió a un cilindro graduado o vaso de vidrio de 1 L. Se disolvió la base añadiendo 600 mL de agua desionizada y se ajustó el pH con HCl. Se completó a 1 L con agua. Este buffer de gel se almacenó a 4–8 °C.
2. Solución de gel de poliacrilamida (30%): Se utilizó una solución comercial de acrilamida: bis-acrilamida 29:1 (Sigma-Aldrich, Poole, UK). Se almacenó esta solución de poliacrilamida a 4–8 °C.
3. Buffer de corrida: Se disolvieron 3.03 g de base de Tris, 4.5 g de tricina y 0.5 g de SDS en 1 L de agua desionizada. No fue necesario ajustar el pH. Se almacenó a 4–8 °C.
4. Buffer de carga de muestras (2x): Contení 100 mM Tris-HCl (pH 6.8), 1% SDS, 4% 2-mercaptoetanol, 0.02% Coomassie Brilliant Blue (CBB) y 24% glicerol. Se almacenó a -20 °C.
5. Solución de APS (persulfato de amonio): Se pesaron 0.03 g de APS y se disolvió en 1 mL de agua desionizada.
6. TEMED: Se utilizó como iniciador de polimerización (Sigma-Aldrich, Poole, UK).
7. Solución de tinción con Coomassie Brilliant Blue (CBB): Se disolvieron 0.025–0.030 g de CBB en 100 mL de solución de ácido acético al 10%.
8. Solución de decoloración con ácido acético (10%): Se prepararon 100 mL de solución al 10%.
9. Solución fijadora de glutaraldehído (5%): Se preparó una solución al 5% de glutaraldehído diluyendo cinco veces la solución de stock al 25% (v/v) (Sigma-Aldrich, Poole, UK).

Tabla B 1 Porcentaje de acrilamida/bis-acrilamida en el gel

Porcentaje de acrilamida/bis-acrilamida en el gel	Solución de acrilamida/bis-acrilamida al 29.1-30% (p/v) (mL)	Buffer Tris 2.5 M (pH 8.8)	Agua inyectable (mL)	TEMED (μL)	APS 30 mg/mL (μL)	Volumen total (mL)
Gel de apilamiento (4%)	0.66	0.76	3.42	5	150	~5
Gel de resolución (7%)	2.33	5.6	1.91	7	150	~10
Gel de resolución (9%)	3	5.6	1.24	6	150	~10
Gel de resolución (10%)	3.33	5.6	0.90	6	150	~10
Gel de resolución (12%)	4	5	0.89	6	100	~10
Gel de resolución (15%)	5	4.6	0.29	6	100	~10
Gel de resolución (16%)	5.33	4.3	0.22	6	100	~10
Gel de resolución (20%)	6.67	3	0.07	10	100	~10

Haider, S. R., Reid, H. J., & Sharp, B. L. (2012). Protein Electrophoresis: Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology, 869, 81-91.

Anexo C. Curva patrón de índice de polifenoles totales

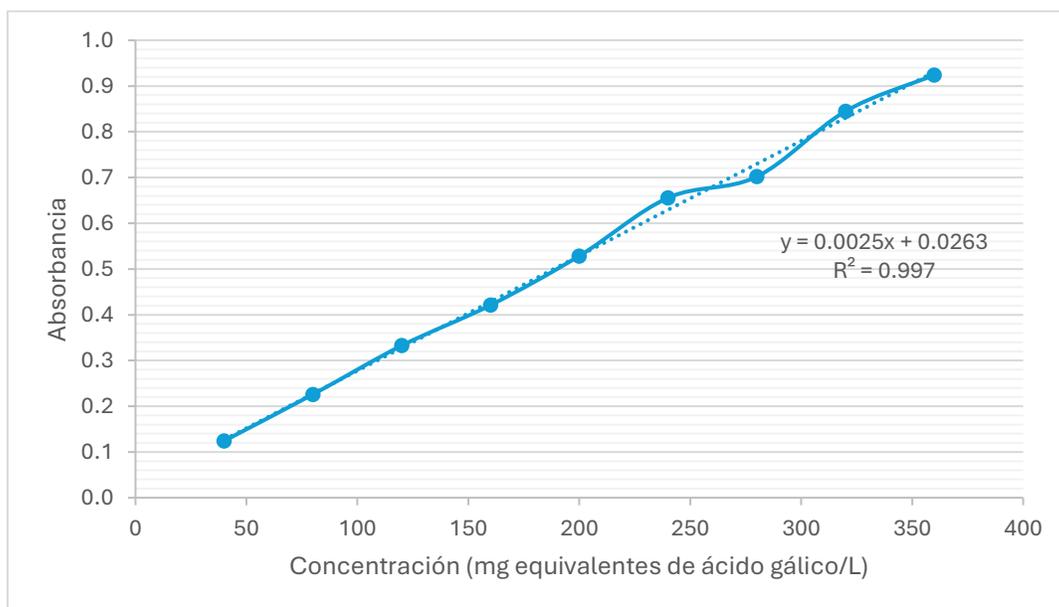


Gráfico C 1 Curva patrón índice de polifenoles totales

Anexo D Gráficos para determinar IC₅₀

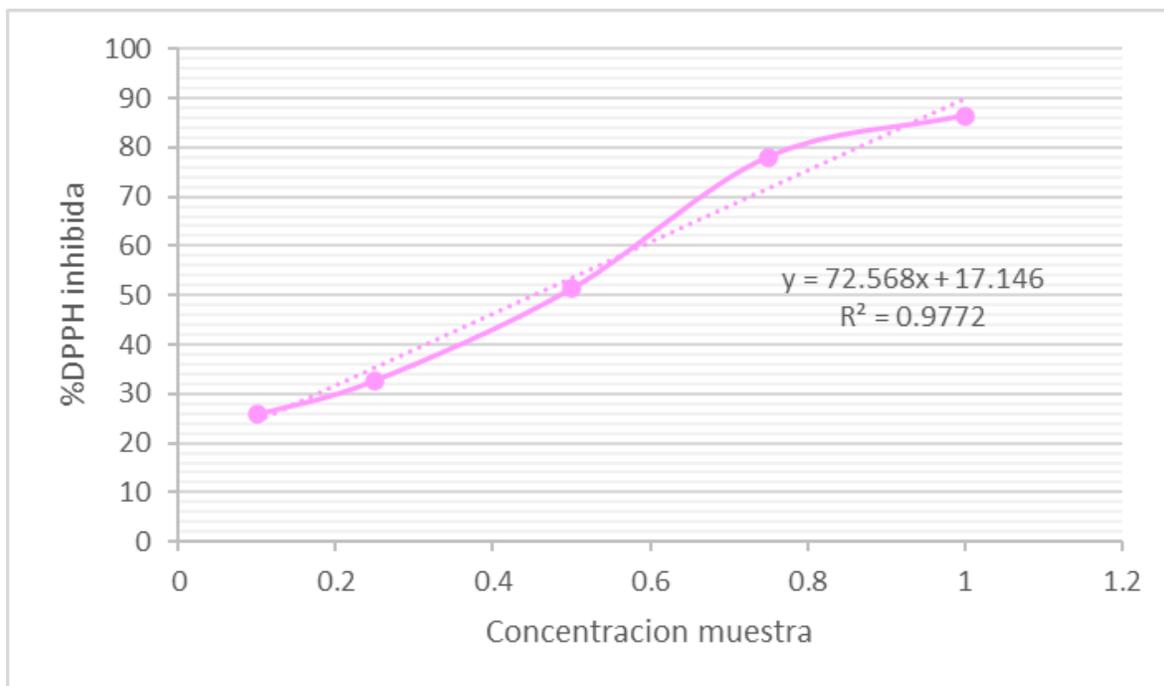


Gráfico D 1 C 7.5 DPPH

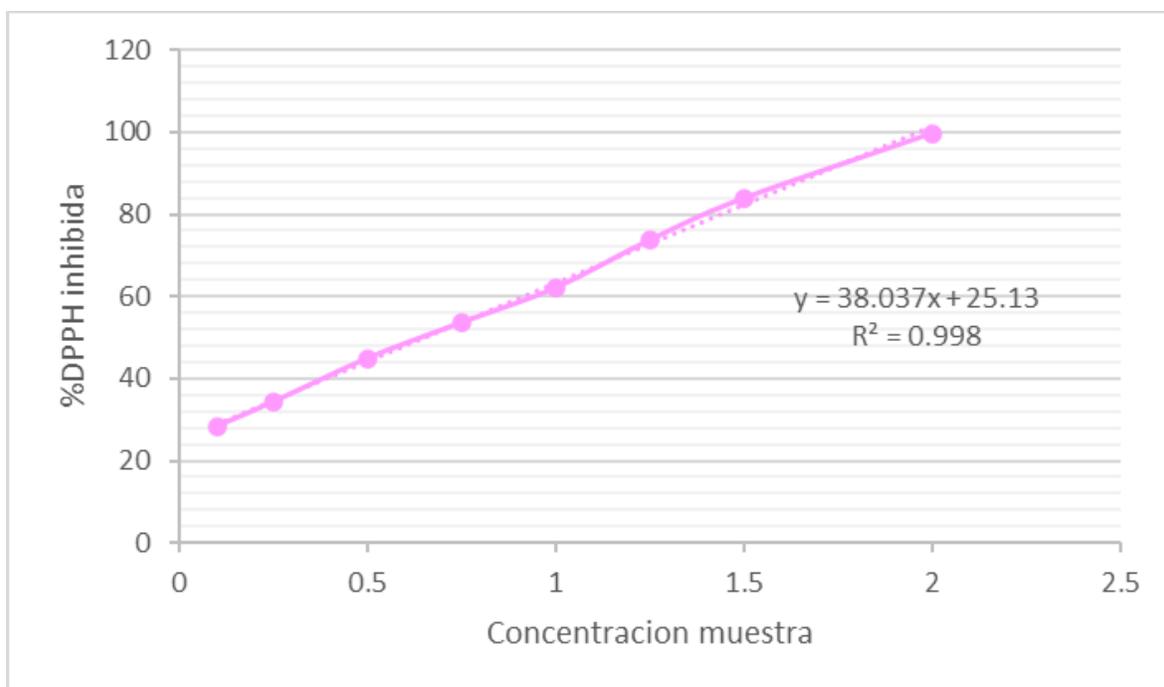


Gráfico D 2 T2 DPPH

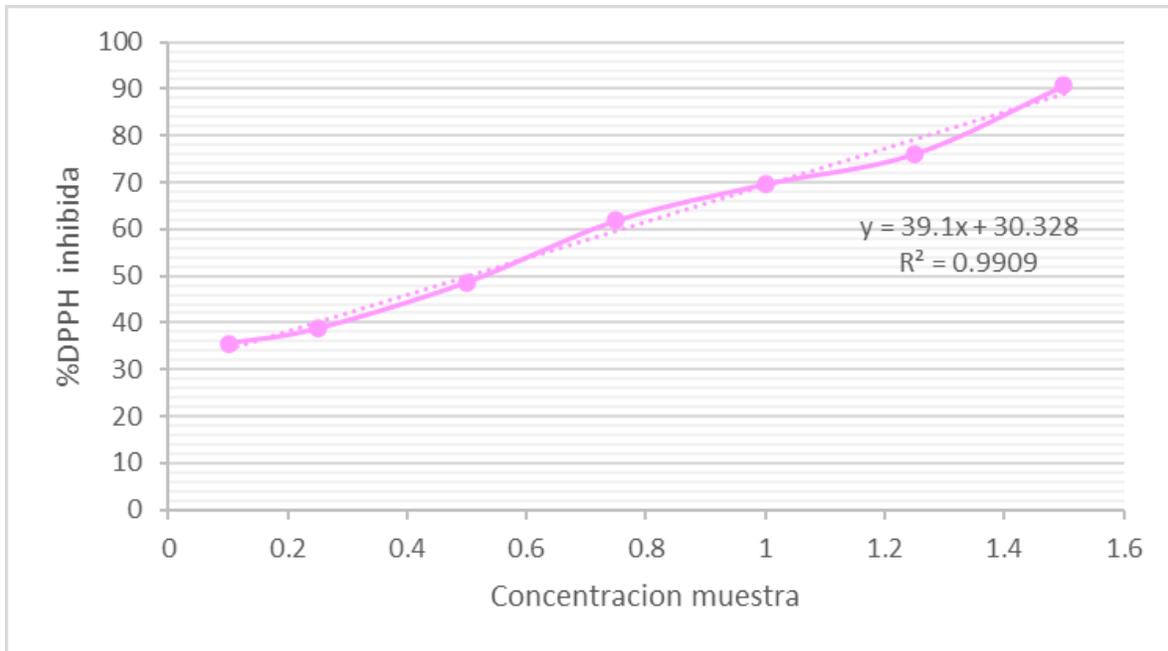


Gráfico D 3 T3 DPPH

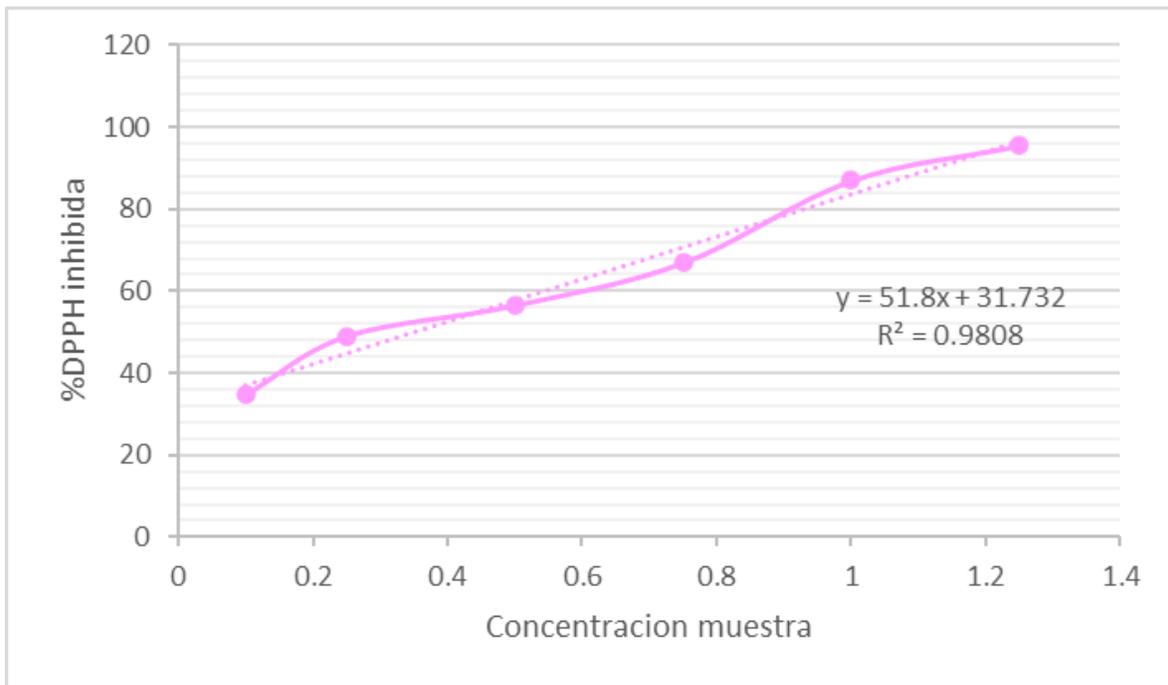


Gráfico D 4 C 13 DPPH

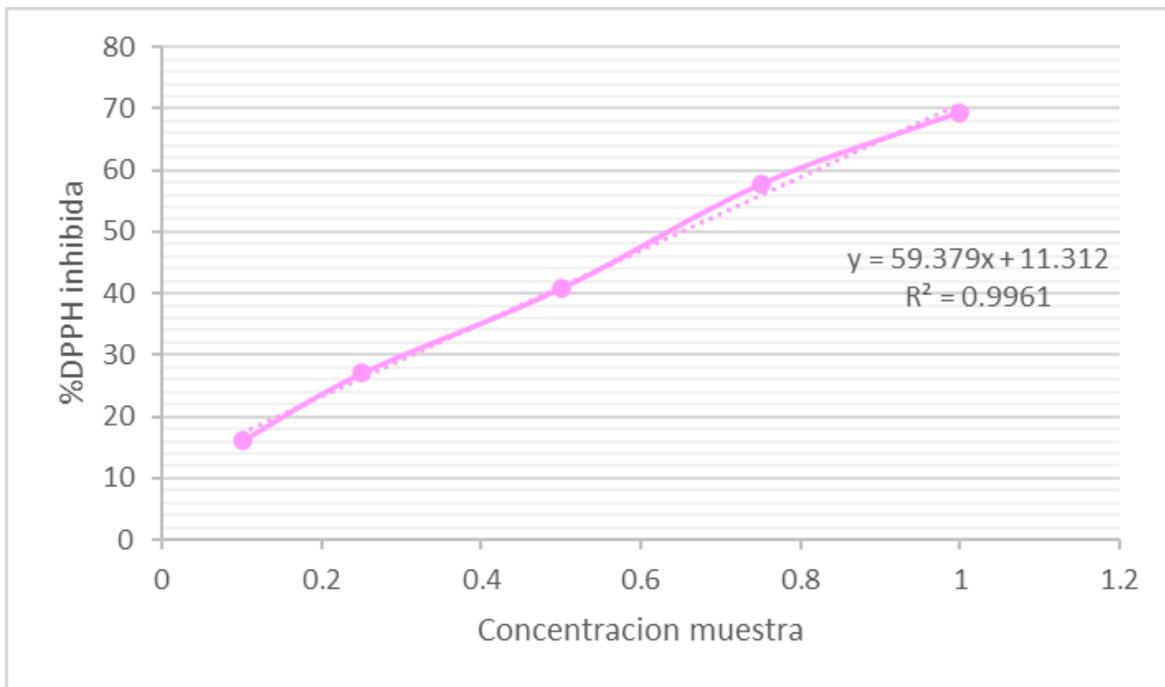


Gráfico D 5 T5 DPPH

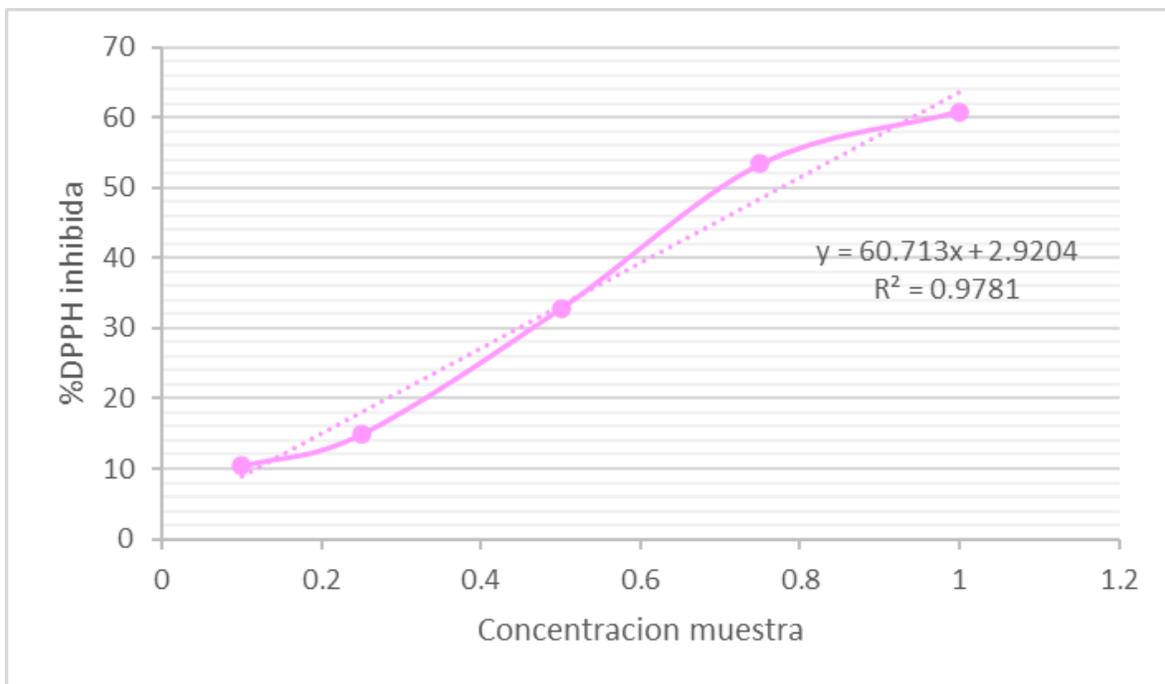


Gráfico D 6 T6 DPPH

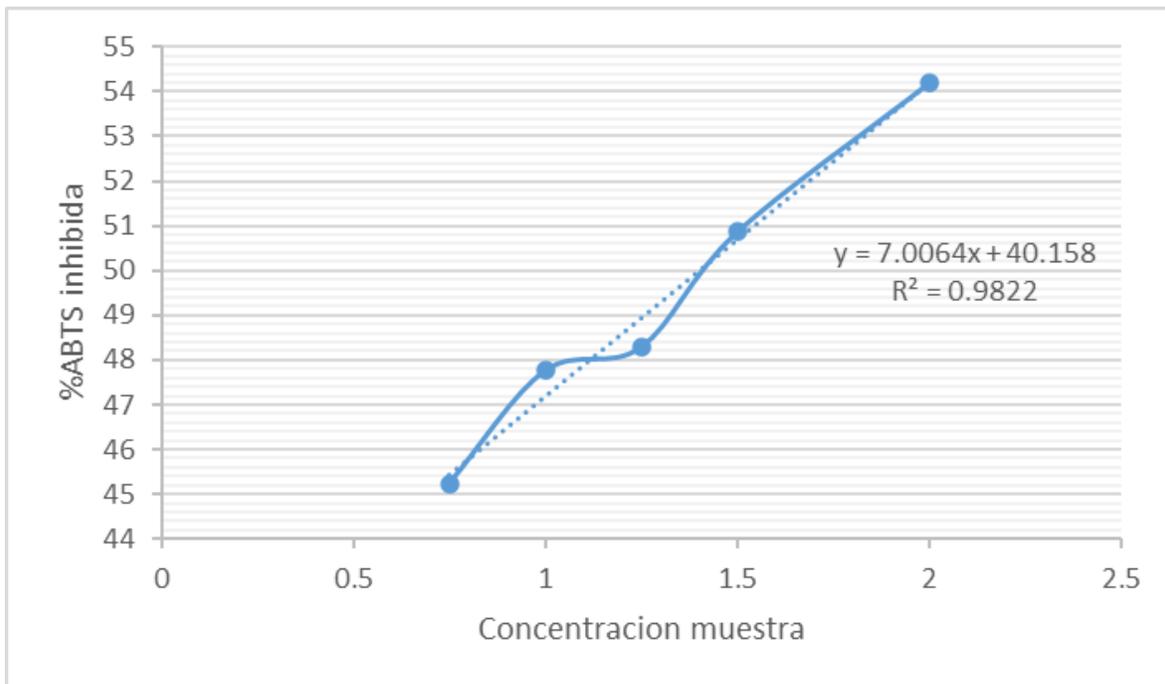


Gráfico D 7 C 7.5 ABTS

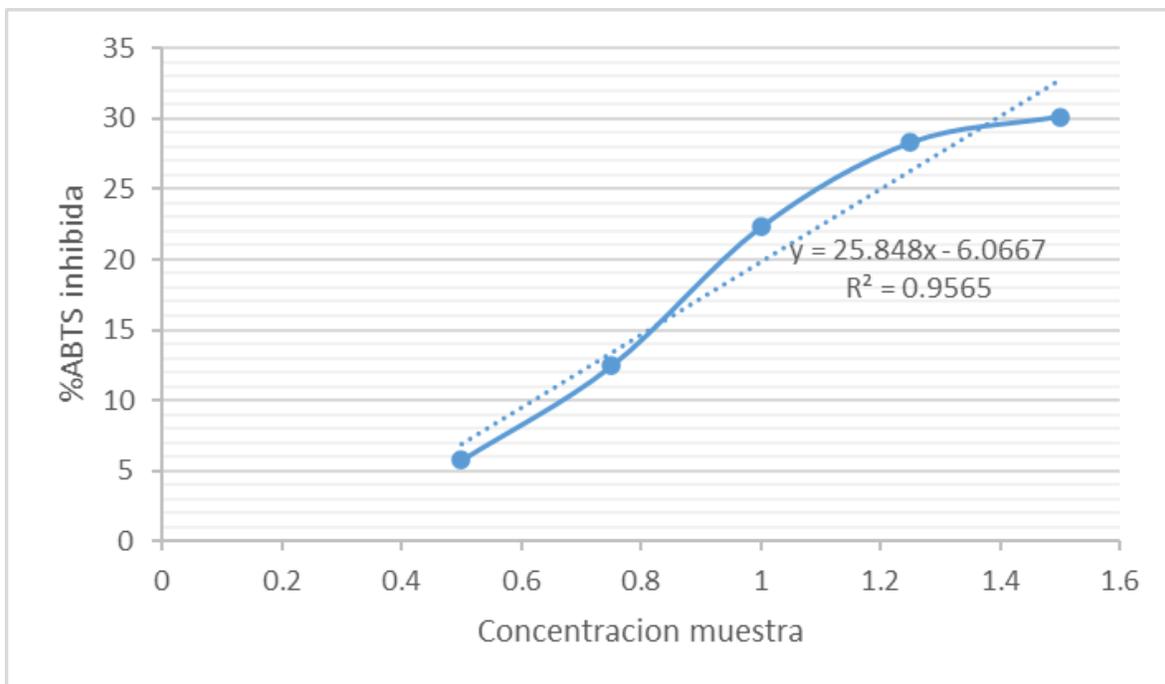


Gráfico D 8 T2 ABTS

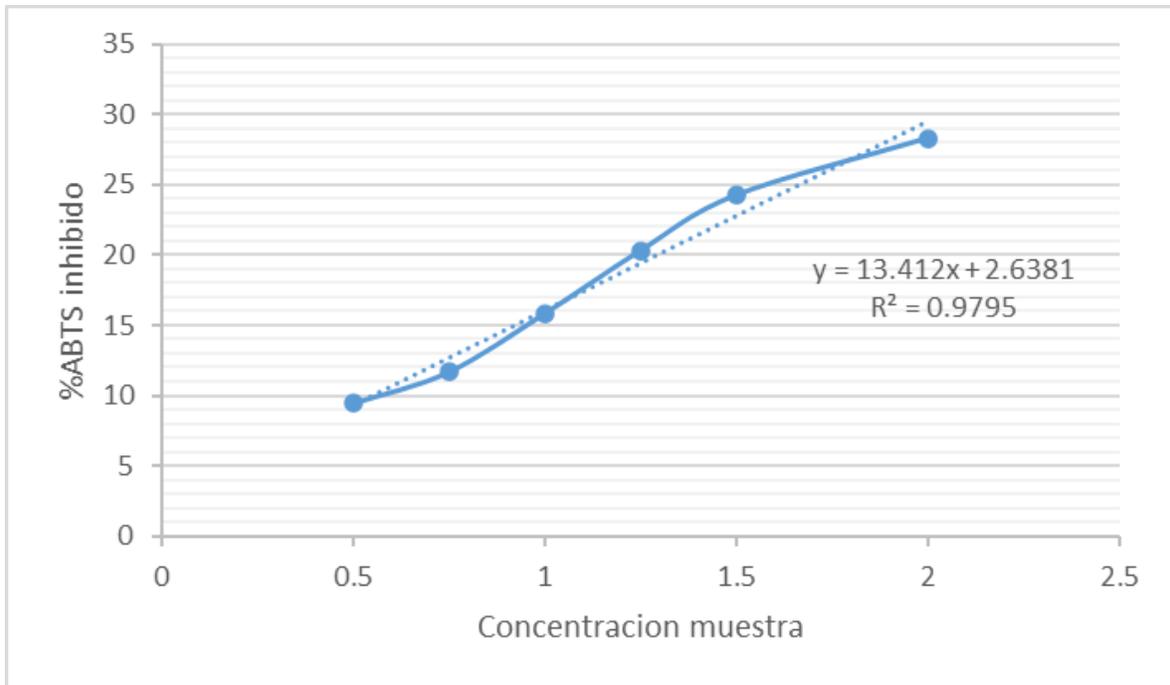


Gráfico D 9 T3 ABTS

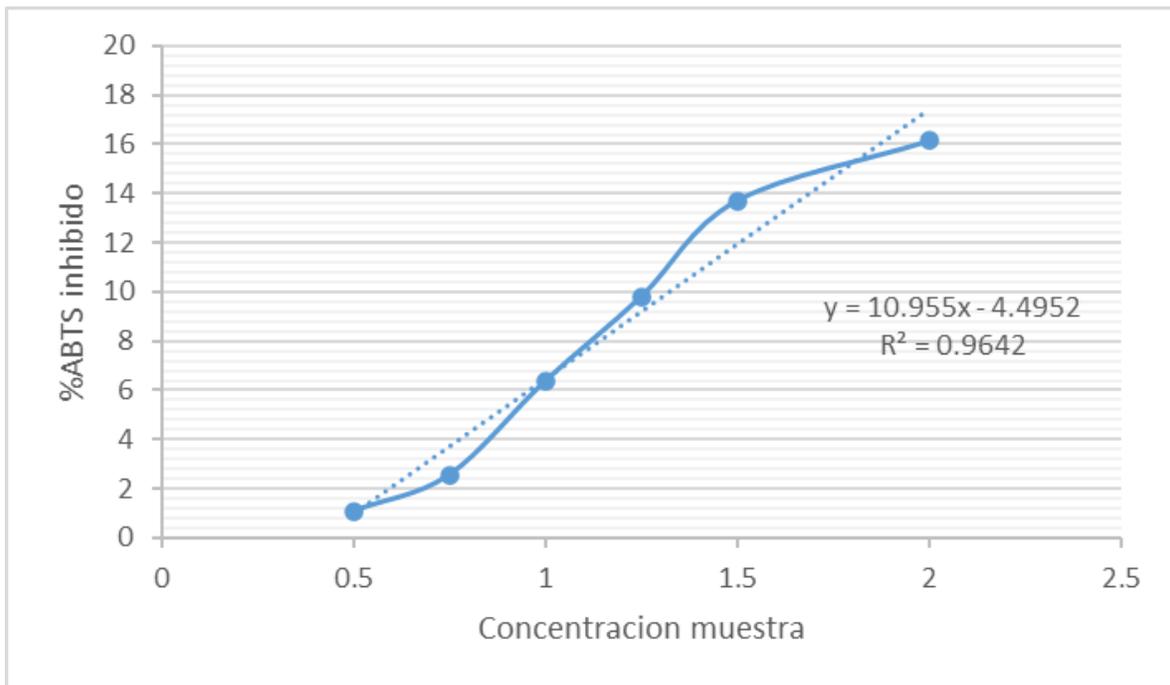


Gráfico D 10 C 13 ABTS

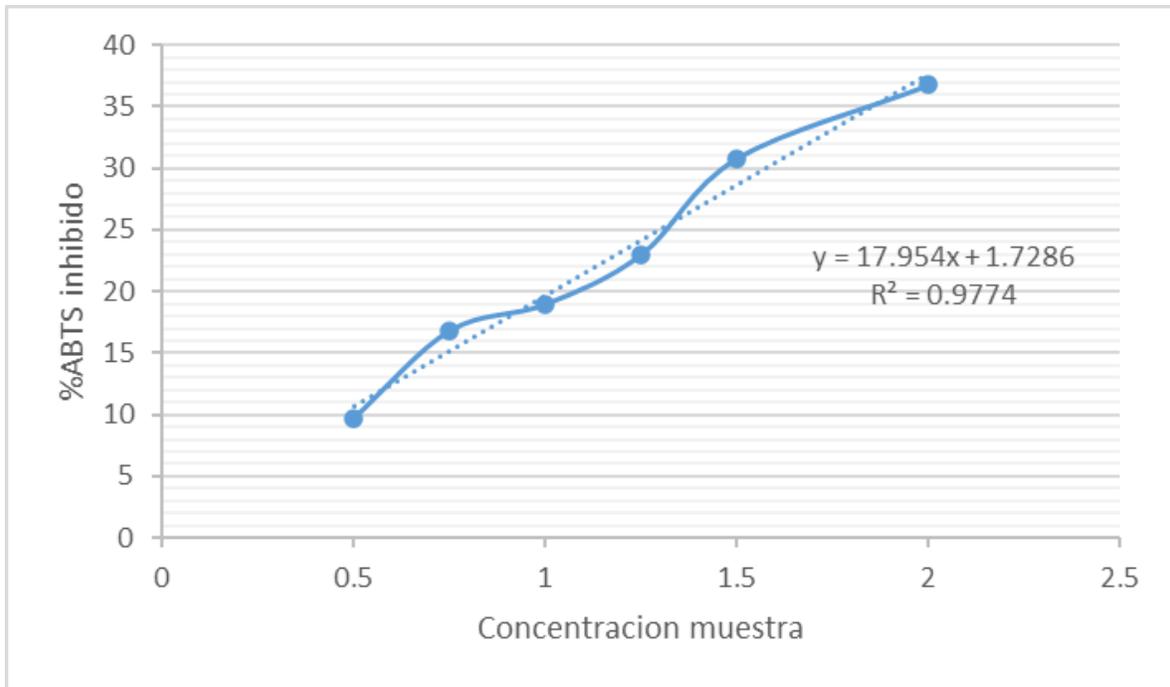


Gráfico D 11 T5 ABTS

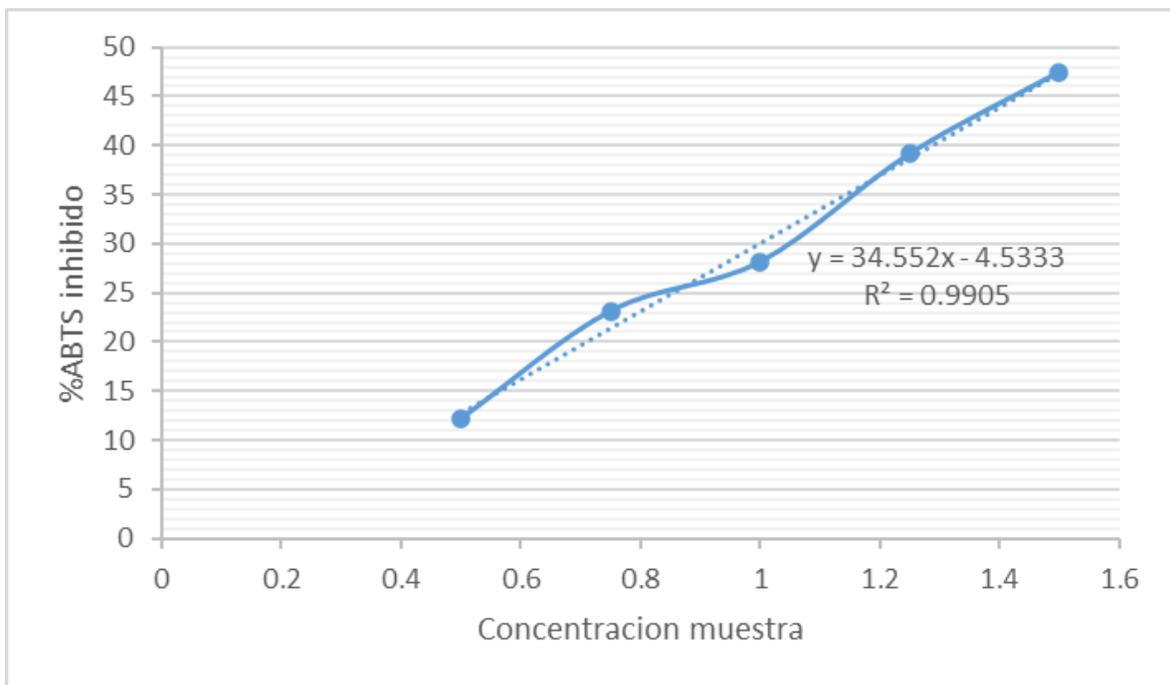


Gráfico D 12 T6 ABTS

Anexo E Curva Patrón $\mu\text{mol TE}$

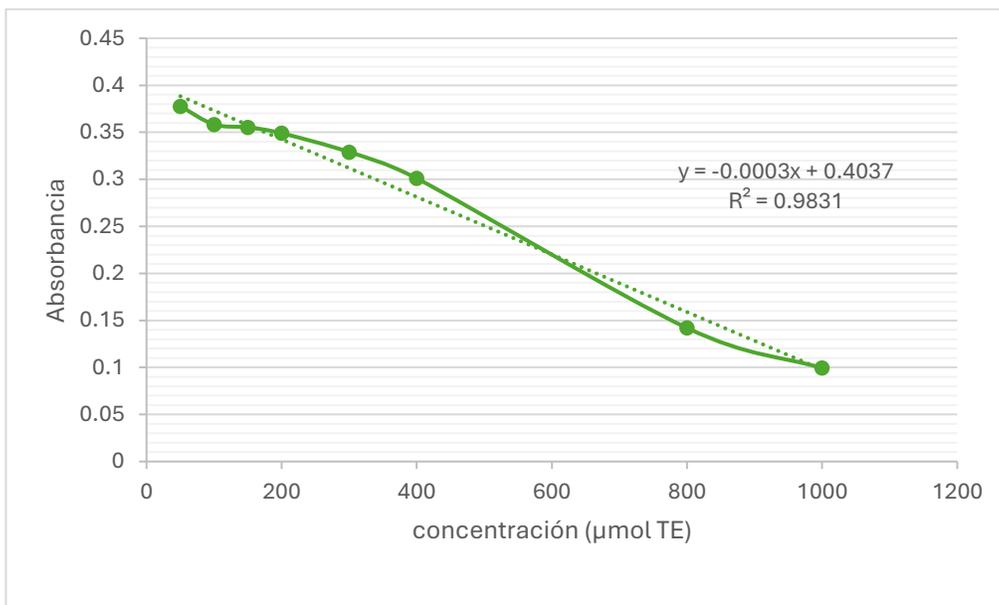


Gráfico E 1 Curva patrón $\mu\text{mol TE}$ DPPH

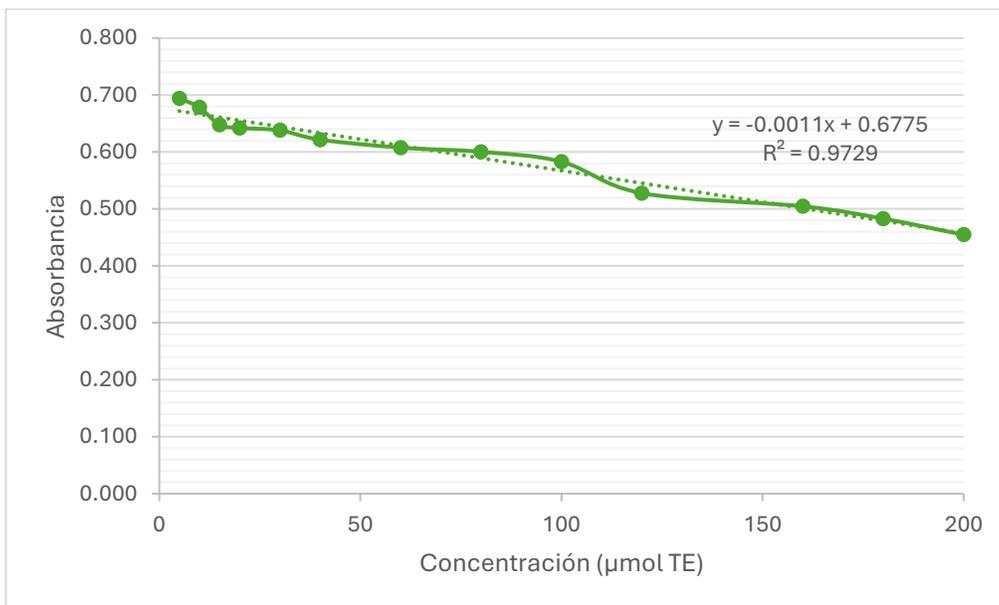


Gráfico E 2 Curva patrón $\mu\text{mol TE}$ ABTS

Anexo F Retribución social

XII Simposio: Perspectivas en Biotecnología

Resumen:



XII Simposio: Perspectivas en Biotecnología
Posgrado en Biotecnología 2023



Casa abierta al tiempo

LAS PROTEÍNAS DE INSECTOS Y SU EFECTO EN LA SALUD

Lizbeth Cervantes Torres*, Yenizey Merit Álvarez-Cisneros

Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana–Iztapalapa. Av. Ferrocarril de San Rafael Atlixco 186, Col. Leyes de Reforma, 1a. Sección, C.P. 09310, Ciudad de México, México
e-mail: acym@xanum.uam.mx

Tipo de trabajo: Divulgación

Los insectos han sido consumidos en todo el mundo desde tiempos prehistóricos; hoy en día, su consumo se ha propuesto como una alternativa sostenible y nutritiva para la producción de alimentos con alto valor nutricional, se ha demostrado que estos contienen diversas actividades biológicas, como son: actividad antimicrobiana, antioxidante, antiinflamatoria e hipoglucemiante, las cuales de forma individual o en conjunto pueden tener beneficios para la salud humana (Hall y col., 2018).

Los hidrolizados de proteínas de insectos son una forma innovadora en la que se pueden aprovechar sus propiedades biológicas, ya que con el proceso de hidrólisis se pueden liberar compuestos con propiedades benéficas. Un estudio reportó que los hidrolizados de proteínas de larvas de gorgojo de la harina (*Tenebrio molitor*) tenían actividad antiinflamatoria y antioxidante significativas, lo que sugiere que pueden tener beneficios para la prevención de enfermedades inflamatorias y el envejecimiento celular (Barragán-Fonseca y col., 2021).

Además, los insectos como los grillos domésticos (*Acheta domesticus*) son una fuente de proteína altamente sostenible, ya que requieren menos agua, alimento y espacio para producir la misma cantidad de proteína que otros animales de granja (Sánchez-Muros y col., 2020). Por lo tanto, su consumo puede tener un impacto positivo en el medio ambiente y en la seguridad alimentaria mundial.

En conclusión, la inclusión de insectos en la dieta y la utilización de hidrolizados de proteínas de estos, podrían ser beneficiosos para la salud humana debido a las propiedades biológicas que contienen, como la actividad antioxidante, antiinflamatoria y antimicrobiana. En vista de estos beneficios, se ha despertado un interés creciente en la investigación y el desarrollo de insectos comestibles y productos a base de ellos, lo que podría ayudar a diversificar la oferta de alimentos, mejorar la nutrición y la salud de la población.

Palabras clave

Insectos, proteínas, hidrolizados, actividad biológica, alimentos.

Bibliografía

1. Barragán-Fonseca, K. B., Rodríguez-García, R., Cervantes-Paz, B., & Reyes-Moreno, C. Bioactive peptides from edible insects: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 2021 ; 58(1) : 1-13.
2. Hall, F., Johnson, P. E., & Liceaga, A. Effect of enzymatic hydrolysis on bioactive properties and allergenicity of cricket (*Gryllobates sigillatus*) protein. *Food chemistry*, 2018 ; 262 : 39-47.
3. Sánchez-Muros, M. J., Barroso, F. G., Manzano-Agugliaro, F., & Martínez-Sánchez, A. (2020). Insect meal as renewable source of food for animal feeding : a review. *Journal of Cleaner Production*, 2020 ; 276 : 123255.

Constancia:

SIMPOSIO DE PERSPECTIVAS EN BIOTECNOLOGÍA 2023



Constancia de actividad de retribución social



El Posgrado en Biotecnología de la UAM agradece a los coautores:

Lizbeth Cervantes Torres, Yenizey Merit Álvarez-Cisneros

Quienes presentaron el video de divulgación:

LAS PROTEÍNAS DE INSECTOS Y SU EFECTO EN LA SALUD

Ciudad de México
19 de mayo de 2023




Dr. Octavio Loera Corral
Coordinador del Posgrado en Biotecnología




Dr. José Luis Gómez Olivares
Director
División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Expo UAM-I 2023

Constancia:



La Universidad Autónoma Metropolitana a
través de la Coordinación de Extensión
Universitaria, otorga la presente

Constancia

EXPO UAM-I 2023

a

Lizbeth Cervantes Torres

por su participación en las actividades de Expo UAMI, con la plática "Revelando proteínas de insecto a través de la electroforesis" el 27 de noviembre 2023, Ciudad de México.

Dr. Rodolfo Palma Rojo
Coordinador de Extensión Universitaria

Jóvenes hacia la Ciencia y la Ingeniería

Constancia:



Los Departamentos de Física, Matemáticas, Ingeniería Eléctrica, Ingeniería de Procesos e Hidráulica y Química de la División de Ciencias Básicas e Ingeniería

Otorgan la presente
CONSTANCIA
a

Lizbeth Cervantes Torres

Por su participación en las actividades del Instituto Carlos Graef,
Jóvenes hacia la Ciencia y la Ingeniería,
el 27 de abril del 2024, Ciudad de México.

Román Linares Romero

Dr. Román Linares Romero
Director de División CBI



Anexo F Congreso

Latin Food 2024

Resumen:



Latin Food 2024

11th Food Science, Biotechnology & Safety Congress
Asociación Mexicana de Ciencias de los Alimentos A.C.
MEXICAN ASSOCIATION OF FOOD SCIENCE



AMECA
ANIVERSARIO

Evaluation of Techno-functional and Antioxidant Properties of Enzymatic Hydrolysates of Cricket Proteins (*Acheta domestica*)

Cervantes-Torres, L.¹, Román-Guerrero, A.¹, Aguilar -Toalá, J.E.², Alvarez-Cisneros, Y.M.¹

¹Universidad Autónoma Metropolitana–Iztapalapa. Departamento de Biotecnología. Av. Ferrocarril de San Rafael Atlixco 186, Col. Leyes de Reforma, 1a. Sección, C.P. 09310, Ciudad de México, México. ² Universidad Autónoma Metropolitana-Lerma. Departamento de Ciencias de la Alimentación. Av. de las Garzas 10, Col. El panteón, C.P. 52005, Lerma de Villada, México.

Presenting and *corresponding authors: acym@xanum.uam.mx

Abstract

The consumption of insects is known as entomophagy, which is gaining positive attention due to its benefits [1]. Enzymatic modification of proteins is useful for improving techno-functionality and generating peptides with bioactive properties [2]. The study aimed to evaluate the techno-functional and antioxidant properties of enzymatically hydrolyzed cricket protein (*Acheta domestica*) using alcalase. Protein was extracted at pH 7.5 and 13 and then treated with alcalase at different intervals of time. The degree of hydrolysis (DH), techno-functional properties such as emulsion capacity, foaming capacity, and coagulation percentage were evaluated, as well as antioxidant activity (DPPH, FRAP, and ABTS). The hydrolyzed protein obtained a DH of 87% at pH 7.5 compared to the enzyme-free control (60%) and at pH 13 of 6% compared to the enzyme-free control (28%). The emulsion activity index was 0.2 m²/g, foaming capacity was 24%, and the coagulation percentage was 0.17%. Antioxidant activity is expressed in μmol Trolox equivalent/mg sample. The better values were obtained in the controls at pH 7.5 for DPPH and FRAP: 1237.3 and 627, respectively, while at pH 13, the values were 1242.3 and 317.8, respectively. On the other hand, ABTS showed a significant increase at pH 13 with enzyme, reaching 158.6, compared to the enzyme-free control 20.1. However, at pH 7.5, a higher value was recorded in the control, reaching 283.5. Enzymatic hydrolysis is unfavorable for techno-functional properties; however, hydrolysates exhibit antioxidant activities that may be of interest, however further trials are needed to explore the potential of these hydrolysates as functional ingredients, which could open new opportunities for innovation and development of high-quality food products.

Keywords: Cricket, Hydrolysates, Alcalase, *Acheta domestica*

[1] Elhassan *et al.*, Foods, 8(3), 95. [2] Hall *et al.*, 2016. Food chemistry, 224, 414-422.

CHIAPAS
MEXICO | 13-15 NOVEMBER 2024
ameca.presidencia@gmail.com/amecaregistro@gmail.com

Carta de aceptación:



Lizbeth Cervantes Torres <cervanjptor@gmail.com>

Latin Food 2024

1 mensaje

Organizing Committee <abstracts.latinfood@gmail.com>
Para: cervanjptor@gmail.com

24 de julio de 2024, 3:55 a.m.

Dear participant,

We are pleased to inform you that your abstract **PP IV 45: Evaluation of Techno-functional and Antioxidant Properties of Enzymatic Hydrolysates of Cricket Proteins (*Acheta domestica*)**, has been **accepted as Poster presentation** at the Latin Food 2024.

Each participant can present up to three abstracts.

Oral and poster presentations in the Congress and their inclusion in the book of abstracts is subject to the registration of the presenting author no later than **Septiembre 28** according to the corresponding quota described in the Fees Section.

Invitations for Special Issues (Food Research International, Revista Ciencia UAT and Tecnociencia-Chihuahua) will be sent after Septiembre 28.

More information:

<https://amecamex.mx/congresos/latin-food-2024/>

Best regards,



Organizing Committee
<https://amecamex.mx/>



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00311

Matricula: 2223802982

Caracterización bioactiva y tecnofuncional de hidrolizados de proteína soluble obtenidos a partir de *Acheria domesticus*.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 10:30 horas del día 4 del mes de noviembre del año 2024 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. GABRIELA MARIANA RODRIGUEZ SERRANO
DRA. ISADORA MARTINEZ ARELLANO
DR. JOSE ELEAZAR AGUILAR TOALA
DRA. ANGELICA ROMAN GUERRERO

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOTECNOLOGÍA

DE: LIZBETH CERVANTES TORRES

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



LIZBETH CERVANTES TORRES
ALUMNA

REVISÓ

MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBS

DR. JOSE LUIS GOMEZ OLIVARES

PRESIDENTA

DRA. GABRIELA MARIANA RODRIGUEZ
SERRANO

VOCAL

DRA. ISADORA MARTINEZ ARELLANO

VOCAL

DR. JOSE ELEAZAR AGUILAR TOALA

SECRETARIA

DRA. ANGELICA ROMAN GUERRERO