

EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE DE LAS LARVAS DEL *Tenebrio molitor*

César Valdez Pantoja^a, Graciela Untiveros Bermúdez^{a*}

RESUMEN

Los aceites comestibles insaturados son muy apreciados por el público; en el presente estudio se extrajo el aceite de las larvas del coleóptero *Tenebrio molitor*. Se determinó un porcentaje de grasa de 38,44%. En el aceite se determinó los índices de saponificación (192 mg KOH/g de grasa), yodo (89,8 g I/100 g de grasa), acidez (1,65%) y peróxidos (2,4 meq O₂/kg de grasa). Los resultados de la cromatografía de gases del aceite mostraron que contenía 77,93% de ácidos grasos insaturados. La prueba de toxicidad oral aguda no presentó reacciones adversas en los animales utilizados.

Palabras clave: *Tenebrio molitor*, larvas, toxicidad oral aguda.

CHARACTERIZATION OF THE OIL EXTRACTED FROM THE LARVAE OF THE *Tenebrio molitor*

ABSTRACT

The unsaturated edible oils are very appreciated by the public, in the present study the oil from the larvae of the coleopteran *Tenebrio molitor* was extracted. The fat percentage determined was 38,44%. The indexes determined were saponification (192 mg KOH/g of fat), iodine (89,8 g I/100 g of fat), acidity (1,65%) and peroxide (2,4 meq O₂/kg of fat). The gas chromatography results of the oil showed that it contained 77,93% of unsaturated edible oils. The acute oral toxicity test did not show adverse reactions in the animals used.

Key words: *Tenebrio molitor*, larvae, acute oral toxicity.

INTRODUCCIÓN

Los insectos, por lo general, son estudiados a causa de los problemas que provocan en la sociedad. Pero rara vez se pone atención a los aspectos benéficos de los mismos. Existen comunidades que los emplean como alimento, tal es el caso de algunos pueblos mexicanos y africanos, que practican la entomofagia; desafortunadamente, el consumo de insectos se asocia a costumbres insanas; estos tabúes no toman en cuenta los atributos nutritivos que los insectos poseen, como su alto contenido de proteínas de alto valor biológico, de elevada digestibilidad y de grasas insaturadas^{1,2}.

Los escarabajos tienen un ciclo biológico de cuatro fases: huevo, larva, crisálida y adulto. En vida silvestre este ciclo varía de 6 a 12 meses, dependiendo de parámetros físicos ambientales³.

En la etapa larval se observa una cutícula algo endurecida que cambia a medida que la larva crece. El tamaño puede alcanzar los 3 cm de largo por 2 mm de grosor y tener unos 0,35 g de

^a Dpto. de Química, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Avenida Honorio Delgado 430. Lima 31, Perú.

* graciela.untiveros@upch.pe

peso antes de convertirse en crisálidas. Las larvas tienen que sufrir una metamorfosis, acumulando grasa para superar este proceso. Esta es la etapa más importante, ya que si no logra transformarse en crisálida, nunca se obtendrá el insecto maduro. Sólo el escarabajo es capaz de reproducirse; su tamaño adulto va desde los 1,5 cm hasta los 2,5 cm de largo; a los 7 días la hembra puede poner huevos. Los escarabajos y las larvas pueden comer hojas; también material descompuesto y granos almacenados; no necesitan de mucha agua; obtienen el agua necesaria del alimento³.

La mayor fuente de aceite comestible está constituida actualmente por las semillas de las plantas anuales, tales como el lino, soya, cacahuete, etc. Algunas de estas plantas, en especial el ricino y las variedades oleaginosas del lino, se cultivan solamente por su aceite; otras, por ejemplo la soya y el cacahuete, producen semillas que se usan ampliamente como alimento. En el caso de algunas otras plantas oleaginosas, tales como el algodón y maíz, el aceite es meramente un subproducto de una cosecha, que se obtiene con otra finalidad, como objetivo primordial.

El objetivo general de este trabajo consiste en extraer y determinar si el aceite de las larvas del *Tenebrio molitor*, en su etapa larval, es comestible de tal forma que permita compararlo con otros aceites comestibles existentes en el mercado.

Los objetivos específicos están en:

- Determinar el contenido de aceite de las larvas del *Tenebrio molitor* en base seca y su composición por cromatografía de gases.
- Realizar análisis fisicoquímicos del aceite para su caracterización.
- Comparar su composición y propiedades fisicoquímicas con los de otros aceites comestibles.
- Evaluar la toxicidad oral aguda del aceite de larvas de *Tenebrio molitor*.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales y métodos

Se trabajó con larvas del insecto *Tenebrio molitor L.*, obtenidas del Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales de la Dra. Magdalena Pavlich, de la Facultad de Ciencias de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Se colocaron en envases plásticos de dimensiones: largo 24 cm, ancho 16 cm y altura 10 cm, las larvas, crisálidas, huevos e insectos en diferentes envases.

Se colocó 30 larvitas en cada envase y se observó que el crecimiento era más rápido; en esta fase se consume mucho alimento por lo que se debe revisar periódicamente; de ser necesario se procedía a cambiar el alimento. También se debe revisar con atención, ya que se deben retirar las mudas.

El alimento fue molido pasando el mismo a través de una malla de 600 μ ; la composición fue: harina 25%, alimento para pollos 25%, salvado de trigo 25%, avena 25%.

Cuando las larvas ya tenían un tamaño adecuado fueron retiradas del recipiente y sometidas a un choque térmico con agua hervida; se pusieron en envases que se colocaron en el congelador; esto permitió conservar las larvas.

Para la determinación de grasa se pesaron 40 gramos de muestra seca, se realizó la extracción con hexano durante unas 5 a 6 horas en un equipo Soxhlet, se pesó el balón para determinar el porcentaje de grasa.

Se procedió a determinar las propiedades fisicoquímicas que caracterizan al aceite:

- Para determinar la gravedad específica se utilizó un picnómetro con una capacidad de 10 mL a 20°C; se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Gravedad específica} = \frac{(\text{Peso de picnómetro} + \text{muestra}) - (\text{Peso de picnómetro})}{(\text{Peso de picnómetro} + \text{agua}) - (\text{Peso de picnómetro})}$$

- Para determinar el **Índice de refracción** se colocó unas gotas del aceite con una pipeta en el prisma inferior del refractómetro Abbe a 20°C.
- Determinación del **Índice de saponificación**: se pesó 5 g de aceite en un matraz de 250 mL de capacidad. Se añadió 50 mL de la solución etanólica de KOH y se sometió a reflujo suavemente hasta que se completó la saponificación (unos 30 minutos). Se enfrió y se tituló el exceso de álcali con HCl 0,5N; se hizo una determinación en blanco.

$$\text{Índice de saponificación} = \frac{(\text{Título blanco} - \text{Título muestra}) \times 0,5 \text{ eq/L} \times 56,1 \text{ g/eq}}{\text{Peso muestra (g)}}$$

Determinación del **Índice de yodo** (Método de Wijs): se pesó 0,50g de aceite en un erlenmeyer de 250 mL con tapa y se agregaron 10 mL de tetracloruro de carbono, 25 mL de solución de Wijs, se agitó suavemente y se dejó reposar en lugar oscuro durante 30 minutos. Se agregaron 10 mL de KI al 15 %, luego se agregó 100 mL de agua destilada. Se tituló lentamente con solución valorada $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N hasta casi decoloración de la solución; se añadió unas gotas de almidón al 1 % y se continuó la titulación hasta la desaparición del color azul; se hizo una determinación en blanco.

$$\text{Índice de yodo} = \frac{(\text{Título del blanco} - \text{Título muestra}) \text{ mL} \frac{\text{eq}}{\text{L}} \frac{127 \text{ g}}{\text{eq}} \times \frac{\text{L}}{\text{eq}} \times 100}{\text{Peso de muestra (g)}}$$

- Determinación del **Índice de acidez**: se pesó 10 g de muestra y se disolvió en 50 mL de etanol neutro caliente. Se tituló la muestra con NaOH 0,1N usando fenolftaleína como indicador, hasta color débilmente rosa que debe persistir durante 30 segundos.

$$\text{Índice de acidez} = \frac{(\text{Volumen de NaOH}) \text{ mL} \times 0,1 \text{ eq/L} \times 1 \text{ L}/10^3 \text{ mL} \times 282 \text{ g/eq} \times 100}{\text{Peso de muestra (g)}}$$

-Determinación del **Índice de peróxidos**: se pesó 5 g de muestra en un erlenmeyer de 250 mL con tapa esmerilada. Se agregó 30 mL de cloroformo/ ácido acético (1:3), 0,5 mL de solución KI saturada, se agitó, se agregaron 30 mL de agua y se tituló el yodo liberado con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N hasta decoloración; se agregaron 0,5 mL de solución de almidón y se terminó la titulación cuando desapareció el color azul.

$$\text{Índice de peróxidos} = \frac{\text{Volumen } \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ (mL)} \times \text{N (meq)} / \text{mL}}{(\text{Peso de muestra}) \text{ g} \frac{1 \text{ kg}}{1000 \text{ g}}}$$

- **Cromatografía de gases.** Las condiciones fueron: la temperatura del detector (280°C). Temperatura del inyector (250°C). La temperatura del horno (140°C) por 5 minutos; se aumentó la temperatura a razón de 40°C por minuto hasta 280°C y se mantuvo por 2 minutos. El flujo de gas carrier fue: 50 cm/seg - hidrógeno. Split: 1:200
El volumen de inyección fue de 1 uL. El tiempo de corrida fue de 60 minutos.
La columna utilizada fue una Omegawax 100 de 15 m x 0,10 mm I.D., 0,10 um.
- **Toxicidad oral aguda.** El procedimiento se fundamenta en la norma OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development) Test 401: Acute oral toxicity. Se utilizaron 30 ratones machos de cepa Balb/c. El rango de pesos fue de 28,8g–30,8g. El control de los pesos se realizó por un periodo de 14 días.

Se dividieron en 6 grupos de 5 ratones cada uno. A 5 grupos se les inocularon 0,5 mL de aceite de larvas del *Tenebrio molitor* a diversas concentraciones (15,66g aceite /kg ratón, 14,93g aceite /kg ratón, 14,75g aceite /kg ratón, 14,7g aceite /kg ratón y 14,65 g aceite /kg ratón) y se tuvo un grupo control al cual se le administró aceite vegetal.

Las dosis ensayadas del aceite extraído de las larvas del *Tenebrio molitor*, se administraron mediante vía oral con una sonda nasogástrica. Los parámetros o signos clínicos evaluados fueron: piloerección, convulsiones, postración y alteración de la actividad motriz.

Al final de la prueba se procedió al sacrificio de los animales por dislocación cervical para realizar la disección y posterior comparación de los órganos (hígado y riñón) de los ratones de los grupos a las dosis ensayadas con los del control.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados del análisis organoléptico

Tabla 1. Análisis organoléptico del aceite de las larvas del *Tenebrio molitor*

Características	Aceite extraído de las larvas del <i>Tenebrio molitor</i>
Estado	Líquido
Consistencia	Oleoso
Olor	Ligeramente a maní. Exento de rastros del solvente empleado.
Color	2,5 color ASTM (norma utilizada ASTM D1500-98)
Sabor	Suave
Impurezas visibles	No lleva partículas extrañas en suspensión

Tabla 2. Índices obtenidos del aceite crudo de las larvas del *Tenebrio molitor*

Índice	Promedio	Límites para aceites comestibles refinados en gener:
Gravedad específica	0,9076	Norma técnica venezolana Límites: 0,914-0,920
Índice de refracción	1,4715	Norma técnica venezolana Límites: 1,465-1,467
Índice de saponificación	192,2	Norma técnica venezolana Límites: 182-193
Índice de acidez	1,64	Norma técnica peruana Límite: Menor a 0,2%
Índice de yodo	89,2	Norma técnica venezolana Límites: 110-126
Índice de peróxido	2,3	Norma técnica peruana Límite: No mayor a 5meq/k

Tabla 3. Comparación de índices de aceite de larvas de *Tenebrio molitor* con otras fuentes de aceites.

Índices	Fuentes							
	Tenebrio molitor	Oliva	Soya	Suri	Palta	Tarhui	Aguaje	Ungurahui
Gravedad específica	0,9076	0,9148	0,922	0,9052	0,9202	0,8967	0,9126	0,9150
Índice de refracción	1,4715	1,469	1,476	1,4527	1,4657	1,4691	1,466	1,464
Índice de saponificación	192,2	192,4	195	192	192,8	178,4	194,82	192,21
Índice de acidez	1,64	1	1	4,780	0,5	1,64	5,22	2,07
Índice de yodo	89,2	75-94	118	43,2	109,8	94,80	66,6	77,27
Índice de peróxido	2,3	1,5 máx	1,5 máx	3,290	3,52	11,0	4,61	2,49

Tabla 4. Cromatografía gaseosa del aceite de las larvas de *Tenebrio molitor*

Código GC	Cali669	
Fecha	20.11.09	
Método	FAMES/Trans	
Muestra	Aceite procedencia animal	
Solic	127	
C n:m	%	
C8:0	0	
C10:0	0	
C12:0	0,26	Otros
C14:0	3,69	C14:1 0,28
C16:0	14,98	C15:0 0,25
C16:1	3,73	C15:1 0
Suma C16	18,71	
C 18:0	2,54	C17:0 0,35
C18:1	51,33	C17:1 0,12
C18:2	22,47	
C18:3	0	
Suma C18	76,34	
C20:0	0	
C20:1	0	
C22:0	0	
Suma C 20	0	
Saturados	22,07	
Monoinsaturados	55,46	
Poliinsaturados	22,47	

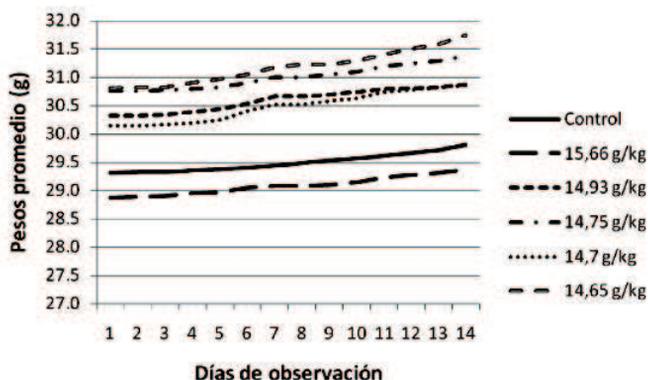


Figura 1. Pesos promedio de ratones durante el periodo de observación de 14 días

En la tabla 3 se puede comparar varios índices del aceite de las larvas del *Tenebrio molitor* con los de otros aceites. El índice de saponificación del aceite de las larvas del *Tenebrio molitor*, cuyo valor es de 192,2 mg KOH/g de grasa es muy similar al de aceite de oliva, cuyo valor es de 192,4 mg KOH/g de grasa. El índice de yodo del aceite extraído a partir de las larvas del *Tenebrio molitor* presenta un valor de 89,2 gI/100 g de grasa; el de oliva se encuentra en un rango comprendido entre 75 a 94 gI/g de grasa.

Al comparar el índice de acidez del aceite de las larvas del *Tenebrio molitor*, éste presenta un valor de 1,64%; este valor es mucho menor al de suri (4,780%), aguaje (5,22%), ungurahui (2,07%) y a los de oliva y soya, los cuales después de ser refinados, en teoría, deben estar en un valor menor al 1%.

El índice de peróxido del aceite de las larvas del *Tenebrio molitor* es de 2,3 meq O₂/kg de grasa, menor al aceite de ungurahui (2,49 meq O₂/kg de grasa), aguaje (4,61 meq O₂/kg de grasa), palta (3,52 meq O₂/kg de grasa), tarhui (11,0 meq O₂/kg de grasa); es mayor a los valores de los aceites de oliva y soya (en teoría deben ser 1,5 meq O₂/kg de grasa máximo al envasar); estos aceites han pasado por el proceso de hidrogenación, en el que el hidrógeno se adiciona directamente a los puntos de insaturación por lo que se aumenta la estabilidad del aceite a la oxidación.

Podemos apreciar en la tabla 4 que el aceite obtenido a partir de las larvas de *Tenebrio molitor* presenta lo que se busca en un aceite y que lo hace atractivo para consumir: presenta ácidos grasos insaturados (monoinsaturados y poliinsaturados) en un porcentaje que alcanza un total de 77,93%, lo cual ayuda a conservar un buen estado de salud, descendiendo los niveles del llamado “colesterol malo”.

Si apreciamos los valores como resultado de la cromatografía del aceite proveniente del *Tenebrio molitor* con el de oliva se observa lo siguiente:

Ácido graso	<i>Tenebrio molitor</i>	Oliva
18: 1 Ácido oleico	51,33%	49,5%
18: 2 Ácido linoleico	22,47%	22,9%

Lo expuesto líneas arriba confirma la similitud de la composición del aceite obtenido a partir del *Tenebrio molitor* con el de oliva.

Además, si observamos lo que corresponde a la cromatografía realizada al aceite extraído a partir de las larvas del *Tenebrio molitor*, no se observa la presencia del ácido erúxico (22:1). Este es nocivo para la salud ya que afecta el crecimiento de las personas que lo consumen, razón por la cual el aceite de colza, que lo presenta en su composición, fue retirado del mercado en Chile.

El ensayo de toxicidad oral aguda demostró que no ocasionó efectos adversos en los ratones de estudio. Se determinó que la dosis letal media era $DL_{50} \gg 15,6$ g de aceite de larvas de *Tenebrio molitor*/kg de ratón.

También se puede observar, en la figura 1, que los ratones experimentaron un aumento de peso al ser inoculados con el aceite de larvas de *Tenebrio molitor* con respecto al control. El aceite de larvas de *Tenebrio molitor*, de dosis 14,65 g aceite/kg ratón, mostró un incremento de peso de 3,05 %, el cual es muy superior al del control que fue de 1,67%. Se puede apreciar, en la figura 1, que se muestra una tendencia ascendente de los pesos en función del tiempo.

CONCLUSIONES

- El porcentaje de grasa obtenido en base seca de las larvas del *Tenebrio molitor* es de 38,44%.
- El aceite extraído a partir de las larvas del *Tenebrio molitor* presenta 51,33% de ácido oleico y 22,47% de ácido linoleico lo cual lo hace una alternativa interesante para consumo.
- El aceite extraído a partir de las larvas del *Tenebrio molitor* presenta ciertos valores similares con los del aceite de oliva, en lo referente a sus índices y cromatografía.
- El aceite extraído a partir de las larvas del *Tenebrio molitor* no presenta el ácido erúxico, el cual es dañino para los consumidores.
- El valor de dosis letal media de la prueba de toxicidad oral aguda del aceite de las larvas de *Tenebrio molitor* es: $DL_{50} \gg 15,6$ g de aceite de larvas de *Tenebrio molitor*/kg ratón.

AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Química de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia por su apoyo en el desarrollo del proyecto, al facilitarnos los ambiente de laboratorios. En especial, a los alumnos que participaron activamente durante la ejecución del proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aullah, M. "Recopilación de noticias sobre insectos comestibles con comentarios personales y recetas culinarias". Editorial Graellsia, México, 1993, 226-237.
2. Sánchez, P.; Jaffe, K.; Hevia, P. "Consumo de Insectos" . *Boletín Entomología, Venezuela*, 1997, 12(1), 125-127.
3. Damborsky, M.; Sandrigo, T.; Oscherov, E. "Ciclo de vida del *Tenebrio molitor* (Coleóptera: Tenebrionidae) en Condiciones Experimentales". Editorial Mc Graw Hill Interamamericana, México, 1998, 46-67.
4. Balcázar, C. ; Barboa, J. "Caracterización Química y Nutricional del insecto *Tenebrio molitor* L. en estado larval". Editorial Universidad de Sonora, México, 2003, 65-86.
6. Ramos, J.; Avila, E.; Rocha, A. "The use of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) to recycle organic wastes and their use as freed for Broiler Chickens". *Journal of Entomology*, 2002, 95 (1), 214-220.
7. Hinton, H.; Corbet, A. "Insectos Comunes de Productos Alimenticios Almacenados". Editorial Alambra, México, 2001, 47-52.
8. Matissek, R.; Schnepel, F.; Steiner, G. Análisis de los Alimentos. España. Editorial Acribia S.A. ; 2006, 416 p.
9. Badui, S. "Química de los alimentos". 3ª edición. Editorial Wesley Longman, México, 1999, 624-636
10. Lawson, H. Aceites y Grasas Alimentarios. España. Editorial Acribia S.A.; 2004, 333 p.
11. Skoog, D.; Holler, J.; Nieman, T. Principios de Análisis Instrumental. 5ª Edición. España. Mc Graw Hill.; 2001, 1028 p.