

Obtención de aislados e hidrolizados proteicos de grillo (*Acheta domesticus*) y evaluación de su actividad antioxidante

M.L. Sosa-Flores¹, D.G. García-Hernández², C.A. Amaya-Guerra³, M. Bautista-Villarreal³ y A.R. González-Luna*¹

1 Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Botánica, Av. Pedro de Alba s/n, Ciudad Universitaria, C.P. 66455, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. **2** Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Química, Av. Pedro de Alba s/n, Ciudad Universitaria, C.P. 66455, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. **3** Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Alimentos, Av. Pedro de Alba s/n, Ciudad Universitaria, C.P. 66455, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. *agonzalezl@uanl.edu.mx

RESUMEN

La harina desengrasada de *A. domesticus* posee una concentración proteica del 61.3%. Se evaluó la concentración proteica de los aislados proteicos de *A. domesticus* utilizando el método de Kjeldahl, obteniendo como resultado un 71.7% de proteínas. Los hidrolizados proteicos de *A. domesticus* se obtuvieron utilizando la enzima Alcalasa a 0.22 UA/g obteniendo un contenido proteico de 57.97 mg/mL. Para evaluar la actividad antioxidante se realizó el ensayo que evalúa la capacidad para secuestrar el radical DPPH de acuerdo con la metodología descrita por Gómez *et al.*, (2013), por espectrofotometría a 517 nm, empleando un lector de microplacas de 96 pocillos; se evaluaron los hidrolizados proteicos en los tiempos 0, 15, 30, 45, y 60 minutos, utilizando distintas concentraciones proteicas (1, 2, 3, 4, y 5 mg/mL), así como una prueba para el control positivo con Trolox a distintas concentraciones (100, 200, 300, 400 y 500 µg/mL). La actividad antioxidante se observó levemente favorecida con un 31 al 52% de inhibición para el tiempo 0 (min) y 14 al 38% para el tiempo 15 (min), esto en comparación con el control positivo Trolox el cual tuvo un porcentaje de inhibición mayor al 80%.

Palabras clave: Aislado proteico, hidrolizado, solubilidad de proteínas, actividad antioxidante, grillo común.

ABSTRACT

The defatted flour of *A. domesticus* has a protein concentration of 61.3%. The protein concentration of protein isolates of *A. domesticus* was evaluated using the Kjeldahl method, obtaining as a result 71.7% protein. Protein hydrolysates from *A. domesticus* were obtained using the enzyme Alcalase at 0.22 AU/g, obtaining a protein content of 57.97 mg/mL. The antioxidant activity was evaluated through the assay that evaluates the capacity of scavenging the DPPH radical, this was carried out according to the methodology described by Gómez *et al.*, (2013), by spectrophotometry at 517 nm, using a 96-well microplate reader; evaluated protein hydrolysates at times 0, 15, 30, 45, and 60 minutes, using different protein concentrations (1, 2, 3, 4, and 5 mg/mL), as well as a positive control test with Trolox at different concentrations (100, 200, 300, 400 and 500 µg/mL). The antioxidant activity was slightly favored with a 31 to 52% inhibition for time 0 (min) and 14 to 38% for time 15 (min), this in comparison with the positive control Trolox which had a percentage of inhibition greater than 80%.

Kew words: Protein isolates, hydrolysate, protein solubility, antioxidant activity, house cricket.

INTRODUCCIÓN

Desde el año 1950 se han estado realizando investigaciones enfocadas en la búsqueda de nuevas alternativas agroalimentarias para el hombre. En el año 2013, la FAO informó que se reconoce el potencial alimenticio de los insectos como una opción viable de fuente proteica, sostenible y eco amigable que puede contribuir con la seguridad alimentaria, sin embargo, en dicho informe no se hizo referencia a ningún insecto en específico. El contenido energético de los insectos es comparable al de la carne (en peso fresco), excepto en el caso de la carne de cerdo, debido a su contenido de grasa especialmente elevado (Sirimungkarat *et al.*, 2010). Teniendo en cuenta que los insectos tienen una alta fecundidad, tienen una alta eficiencia de conversión alimenticia, poco espacio requerido y son omnívoros además de su valor nutritivo, los insectos comestibles pueden contribuir a la seguridad alimentaria mundial y representar un alimento como una interesante alternativa, especialmente a los productos cárnicos y a la harina de pescado (Rumpold & Shulter, 2013). Es por ello, que el objetivo de este estudio se basa en la necesidad de explorar una nueva alternativa alimentaria, realizando aislados proteicos del grillo común *Acheta domesticus* a partir de la obtención de harina, para posteriormente realizar hidrolizados proteicos que puedan contener actividades biológicas importantes que tengan beneficios para el ser humano, como lo puede ser la actividad antioxidante.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Por medio de un proveedor se obtuvieron 10 botes de aproximadamente 50-60 grillos vivos cada uno.

Procesamiento y desengrasado de *Acheta domesticus*

Se basa en lo descrito por Hall *et al.* (2017) con algunas modificaciones en cuanto a cantidades o tiempos. Primeramente, se colocaron 20 grillos adultos en un recipiente con tapa y se congelaron durante 30 minutos. Posteriormente, los 20 grillos congelados se colocaron en un mortero de cerámica llevándolo al horno a 60 °C por 2 horas, para posteriormente moler los grillos deshidratados hasta que quede una harina fina, la cual se desengrasará con hexano en un equipo Soxhlet entre 4 a 6 horas. Una vez evaporado el hexano, la harina desengrasada se almacena en recipientes herméticamente cerrados.

Obtención de aislados proteicos de *Acheta domesticus*

La metodología utilizada para la obtención del aislado proteico se realizó con base en lo mencionado por Vioque *et al.*, 2001 con ligeras modificaciones, quien menciona que se realiza en una relación 1:10 p/v (dicho dato se modificó a 1:20 p/v debido a que en la homogenización de la muestra se notaba una alta viscosidad que impedía la realización óptima del aislado de la proteína). Es por ello que, a partir de la harina desengrasada de grillo, se extrajeron las proteínas en una relación 1:20 p/v con Na₂SO₃ 0.25% (p/v) en medio básico a pH 12.5 durante 60 minutos a temperatura ambiente. Esta mezcla se llevó a centrifugar a 8500 rpm durante 25 minutos a 4 °C y luego se recuperó el sobrenadante, mientras que el sólido se desechó. El sobrenadante se llevó al punto isoeléctrico calculado (pI 4.5) durante 1 hora para luego centrifugarse como se mencionó anteriormente. Producto de la segunda centrifugación se desecha esta vez el sobrenadante y se recupera el precipitado con ayuda de pequeños lavados con agua destilada al mismo pH con el que fue obtenido. Finalmente, las proteínas precipitadas fueron almacenadas en congelación en un bote hermético, para posteriormente liofilizar el aislado proteico de grillo y continuar con su procesamiento.

Hidrolisis de proteínas de *Acheta domesticus*

Se realizó con el aislado proteico obtenido, el cual tenía un pH inicial de 3.80. Debido a la cantidad tan pequeña obtenida de muestra se optó por realizar los experimentos a microescala. La muestra se mantuvo en agitación en un vaso de precipitado de 50mL manteniéndose en agitación magnética suave durante

todo el proceso hidrolítico. Se ajustaron las condiciones de ensayo a una concentración de sustrato al 5%, pH 8 (pH óptimo para la enzima Alcalasa, relación enzima sustrato 0.22 UA/g) a 50 °C. Los derivados obtenidos fueron inactivados a baño maría a 85 °C por 15 minutos y posteriormente centrifugados a 10,000 rpm por 10 minutos recuperando el sobrenadante. Alícuotas de la hidrólisis fueron tomadas cada 15 minutos iniciando desde el tiempo 0.

Determinación cuantitativa de proteínas en harinas y aislados proteicos de *Acheta domesticus* por método de Bradford

Se determinó la concentración proteica tomando 1g de cada muestra y diluyéndolo en 10 mL de agua destilada; enseguida se homogenizó por 5 minutos empleando vortex y posteriormente se centrifugó a 10,000 rpm. Se recuperó el sobrenadante, se depositó en tubos cónicos de 15 mL y llevo al congelador hasta su posterior uso. Se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a 595 nm interpolando los valores resultantes en una curva patrón estándar de BSA 2 mg/mL (0.10, 0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 1.25, 1.40, 1.50 y 1.75 mg/mL).

Curva de solubilidad y determinación del punto isoeléctrico

Se realizó un análisis en microplaca de 96 pocillos según el método realizado por Brogan (2018), el cual se realiza con reactivo de Bradford, solución estándar de BSA y harina desengrasada de grillo a distintos pH desde 1 hasta 14 en intervalos de 0.5.

Capacidad para secuestrar el radical DPPH

La evaluación de la actividad antioxidante se llevó a cabo según el método de Gómez *et al.*, (2013). Se realizó un ensayo en microplaca de 96 pocillos, 100 µL de muestra fueron añadidos a 100 µL de DPPH 0.1 mM en etanol 96%. Como referencia se utiliza un blanco con agua, como control negativo una solución compuesta por 100 µL de agua con 100 µL de DPPH 0.1 mM y como control positivo una solución de 100 µL de Trolox a 200 mg/mL con 100 µL de DPPH 0.1 mM. La microplaca se incubó en total oscuridad por 30 minutos y se mide la absorbancia a 517 nm en lector espectrofotométrico de microplaca. Los resultados se refirieron en % captación de DPPH ($[\text{Abs blanco} - \text{Abs muestra}] \times 100 / \text{Abs blanco}$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Harina de *Acheta domesticus*.

Se encontró que la harina de *Acheta domesticus* inicial posee un contenido proteico del 58.7%. Este resultado es similar a lo observado por Igual *et al.* (2020), quienes analizaron el contenido proteico de la harina de grillo y encontraron que el valor fue de 60%. En otros dos estudios realizados por Finke (2002) y Finke (2007), quien realizó en ambas ocasiones estudios comparativos de las propiedades funcionales al realizar harinas de distintos insectos comestibles, observó que el contenido de proteínas de *Acheta domesticus* es considerablemente alto con un valor de 64.38%.

Se realizó una curva de solubilidad de proteínas de harina de *Acheta domesticus* y se encontró que el pH de menor solubilidad de las proteínas fue a pH 4.5 con un valor de 18.56 mg/mL y el punto de mayor solubilidad fue a pH 12.0 con un valor de 105 mg/mL (Figura 1). Esto se compara con lo observado por Udomsil *et al.* (2019), quienes realizaron una curva de solubilidad de pH 5.0 al 12.0 a intervalos de 1.0, comparando también a tres distintas temperaturas (30°, 40° y 50 °C); tomando solamente los valores a temperatura de 30°C, los autores encontraron que a pH 5.0 (el valor más cercano a 4.5) la concentración proteica fue de 7 mg/100g y para el pH 12 se encontró que la concentración proteica fue de 23 mg/100g.

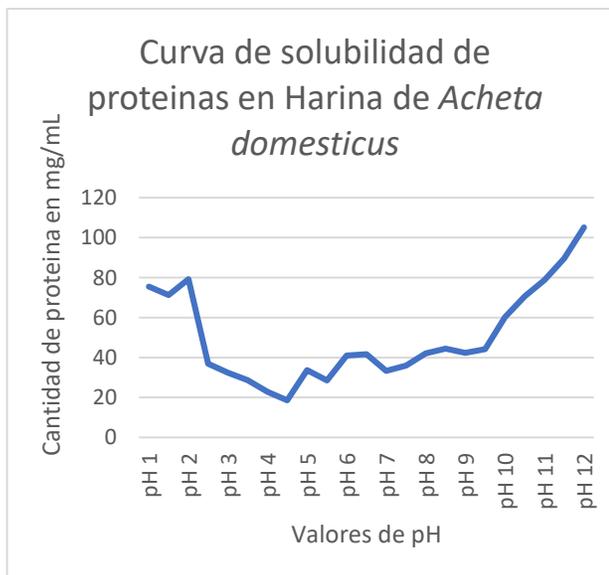


Figura 1. Curva de solubilidad proteica de harina de *Acheta domesticus*

Como se puede observar en la figura 1, se tiene una tendencia en la que los pH de los extremos tienen una mayor solubilidad de proteína, preferentemente por el pH alcalino. En un estudio realizado por Kim *et al.* (2017) la solubilidad proteica de la harina de *Acheta domesticus* se vio significativamente influenciada por el pH y la concentración de NaCl, dichos autores encontraron que la solubilidad proteica más baja de la harina de grillo doméstico se observó a pH ácido, particularmente a pH 4, lo que podría atribuirse a la proximidad al pH isoelectrico de las proteínas predominantes contenidas en la harina de grillo doméstico. Esto es consistente con observaciones de las proteínas obtenidas por otros autores Hall *et al.* (2017) y Adeyeye & Awokunmi (2010) quienes encontraron un pH isoelectrico a 3.0 para la proteína del grillo *Grylloides sigillatus* (Hall *et al.*, 2017), un pH a 3,5 (macho) y pH 4,4. (hembra) para la proteína del grillo africano gigante (*Brachytrypes membranaceus* L) (Adeyeye & Awokunmi, 2010) y un pH a 4.5 para *Acheta domesticus* (Gresiana *et al.*, 2015)

En las evaluaciones de la solubilidad de proteínas en los extremos de los valores de pH (Figura 2), se encontró que el punto de mayor concentración fue a pH 13.0 Sin embargo, se decidió utilizar el valor a pH 12.5 como punto de extracción alcalina para la realización del aislado proteico; esto es debido a que por encima de este valor se observó que la viscosidad se incrementó, lo cual impedía la manejabilidad de la muestra.

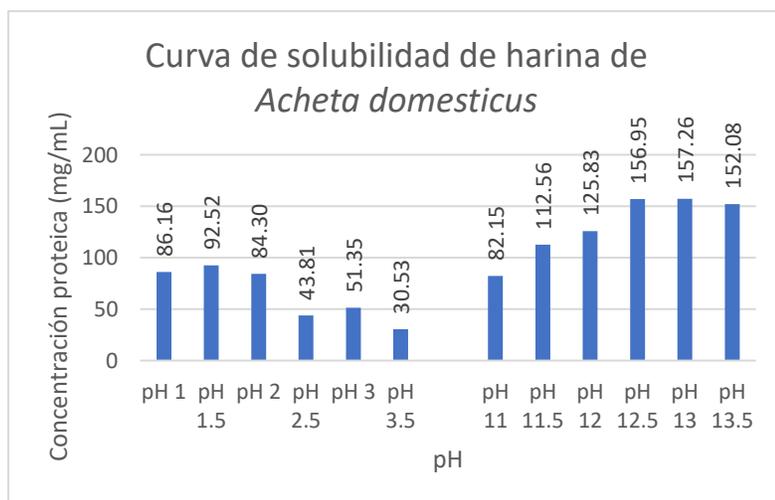


Figura 2. Curva de solubilidad proteica de harina de *Acheta domesticus*

Harina desengrasada de *Acheta domesticus*.

Posterior a la obtención de harina de grillo común, se procedió a desengrasarla con hexano. La extracción con hexano tiene como objetivo eliminar la grasa y, en consecuencia, que el contenido de proteína del concentrado pueda ser mayor. De acuerdo con Ndritu *et al.* (2017) otros solventes orgánicos utilizados para la eliminación de la grasa y, en consecuencia, la concentración de proteínas además del hexano, son el etanol y el metanol. El etanol ha demostrado una eficacia de desgrasado comparable a la del hexano, sin embargo, el metanol ha demostrado ser una mala opción (L'hocine *et al.*, 2006). La extracción con hexano demuestra ser un método más eficaz y se ha utilizado previamente en la extracción de dulces, proteína de altramuz y proteínas de soya (L'hocine *et al.*, 2006; Jayasena *et al.*, 2010).

Se realizó una curva de solubilidad de la harina desengrasada de grillo (Figura 3) con la finalidad de analizar la cantidad de proteínas a diferentes pH's. El punto isoeléctrico (PI) de las proteínas de *Acheta domesticus* y el punto de extracción alcalina se determinan a partir de estos resultados, ya que implican que el punto más bajo de solubilidad de la proteína es muy cercano al punto isoeléctrico de precipitación, por lo tanto, es el valor de pH al que ocurrirá la precipitación de proteínas. En cuanto al punto de mayor solubilidad que se observa en la Figura 3, es el valor al cual existe una mayor solubilidad comparada con los pH's ácidos, dicho valor será el punto en el que las proteínas estén mas disponibles y por lo tanto al que se le realizará la extracción alcalina.

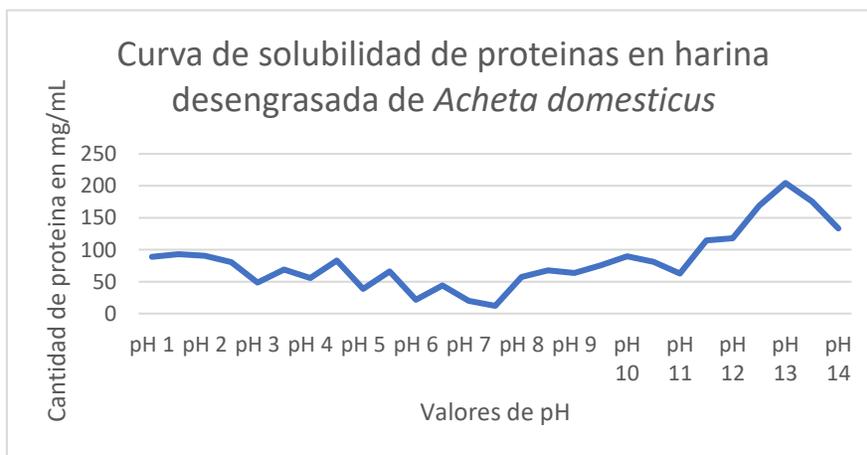


Figura 3. Curva de solubilidad proteica de la harina desengrasada de *Acheta domesticus*

Se encontró que la harina desengrasada de *Acheta domesticus* posee una concentración proteica del 61.3%. Este resultado es similar por lo descrito por Ribeiro *et al.* (2019), quienes encontraron que el porcentaje de contenido proteico en harina desengrasada de *A. domesticus* fue del 64.4% y un contenido de fibra del 6.9%. Gresiana *et al.* (2015) también realizaron un análisis del contenido proteico en harina desengrasada para el mismo género de grillos; ellos obtuvieron un contenido proteico de 64.94%, dichos autores también reportaron un contenido de 9% de carbohidratos, fibra y vitaminas. Estos resultados también son consistentes con lo reportado por Rumpold & Shulter (2013) quienes observaron una concentración proteica del 64.38% de *A. domesticus* en harina desengrasada, así como un 19.10% de fibra y un contenido de grasa del 22.80%.

Aislados proteicos de *Acheta domesticus*.

Al realizar la curva de solubilidad de proteínas en aislado proteico de *Acheta domesticus* se encontró que, en el punto de mayor solubilidad de las proteínas, pH 12.5, se obtuvo un valor proteico de 20.60 mg/mL (Figura 4). Estos resultados se comparan con lo obtenido por Ndiritu *et al.*, (2019), quienes realizaron un estudio de los efectos del NaCl y del pH en las propiedades funcionales de aislados proteicos de *Acheta domesticus*, y encontraron que el punto de mayor solubilidad de las proteínas fue de 19.46% a pH 12.0, el cual fue similar al valor del punto máximo de solubilidad proteica obtenido en el ensayo. Hall *et al.*, (2017), en su estudio sobre propiedades funcionales de los aislados proteicos del grillo *G. sigillatus*, mencionan que estos cambios en el pH también afectan la carga neta general de hidrolizados que influye en las fuerzas de atracción y repulsión a nivel de estructura química, y es debido a ello que la solubilidad se ve afectada. Estas observaciones en cuanto a la solubilidad son similares a las de otros hidrolizados de proteínas tratados con alcalasa; mostrando una solubilidad mejorada en relación con la proteína no hidrolizada, así como un porcentaje de solubilidad más alto con el aumento del pH (Chalamaiah *et al.*, 2010; Ghribi *et al.*, 2015).

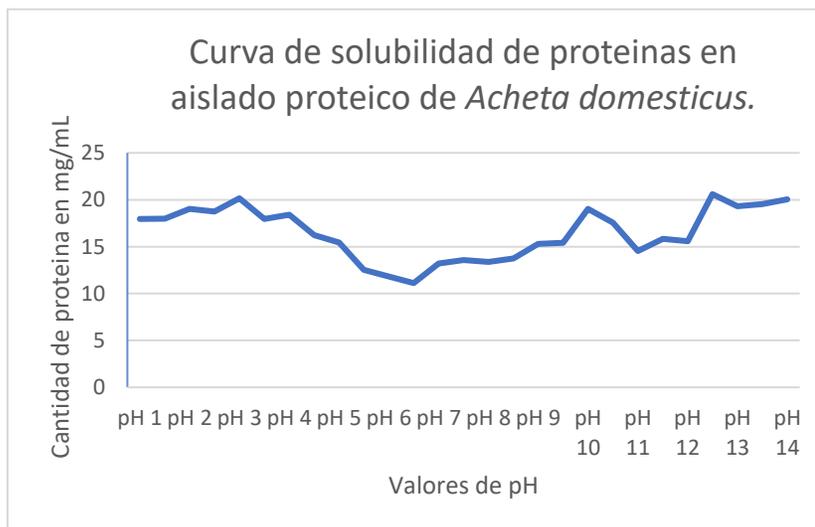


Figura 4. Curva de solubilidad de proteínas en aislado proteico de *Acheta domesticus*

Al utilizar medios alcalinos para la extracción proteica, se ha demostrado que se obtienen mayores rendimientos de extracción y solubilidad de proteínas a partir de varias especies de insectos (Foo *et al.*, 2006; Yi *et al.*, 2013; Bußler *et al.*, 2016). También así, los resultados de la precipitación alcalina se comparan con lo encontrado por Zhao *et al.*, 2016; Józeiak *et al.*, 2016; quienes mencionan que los insectos que son aptos para consumo usualmente tienen un pI entre pH 4,0 y 6,5. Esto concuerda con las observaciones en el que el pI se encontró en un pH de 4.5. Dichos autores mencionan que la optimización de los parámetros de extracción como el pH, la temperatura, el tiempo de ejecución y la proporción de agua a muestra son específicos de la especie y se requieren para maximizar el rendimiento de proteínas de insectos solubles.

Una vez estandarizados estos parámetros para la realización del aislado, se analizó el contenido de proteínas del aislado de grillo por medio de digestión de Kjeldahl obteniendo que el contenido proteico es de 82.6%. Estos resultados son similares a los obtenidos por Udomsil *et al.* (2019), quienes analizaron su aislado proteico de *A. domesticus* y de *G. bimaculatus* por método de Kjeldahl, obteniendo como resultados un aislado del 71.7% de proteínas para *A. domesticus*, valor que concuerda con los resultados obtenidos por Brogan (2018) quien realizó aislados de *A. domesticus* y obtuvo un 72% de proteína, por lo que se ha obtenido un incremento en el contenido proteico de los aislados de grillo que pudo haber sido dado a los parámetros de extracción que se mencionaron anteriormente por Zhao *et al.*, 2016, los cuales son pH, temperatura, tiempo de ejecución y proporción de agua.

Por otra parte, en un estudio realizado por Hall *et al.*, (2017) se encontró que empleando un pH de precipitación de 3.0 se obtuvo un contenido proteico de 77% en aislado proteico del género *Acheta*; este valor es menor pero similar a los obtenidos. Los autores también mencionan que no se recomienda usar

un pH superior a 5 para la precipitación isoelectrica debido a que, por encima de esta cifra, los grupos carboxilo tienden a desplazarse hacia formas desionizadas que reducen la afinidad del péptido por las moléculas de agua.

Hidrolizado proteico de *Acheta domesticus*

El hidrolizado proteico se obtuvo a partir del aislado proteico de *Acheta domesticus* utilizando la enzima Alcalasa a una concentración enzima/sustrato (E/S) de 5% y pH 8 a 50°C. La relación enzima-sustrato de la enzima Alcalasa fue de 0.22UA/g. Se realizaron varias extracciones a distintos tiempos (0, 15, 30, 45 y 60 minutos), se encontró que el grado de hidrólisis fue de 32.3%, 41%, 50.7%, 57.3% y 57.9% respectivamente. De acuerdo con Hall *et al.* (2017) quienes realizaron el hidrolizado de proteína de *Acheta domesticus* encontraron que al realizar la hidrólisis utilizando Alcalasa como enzima, se obtuvo un grado de hidrólisis mayor a medida que aumenta la concentración relativa de enzima; las pruebas que realizaron dichos autores fueron a una concentración de E/S del 0.5, 1.5% y 3%, con grados de hidrolisis del 36.3%, 43.2%, y 52.4% respectivamente a un tiempo de 60 minutos.

En los resultados obtenidos del contenido proteico de los hidrolizados de grillo se observó una meseta después del minuto 45 y 60 (Figura 5). Estos tiempos son comparables con los resultados encontrados en la hidrólisis proteica realizada por Hall *et al.* (2017), quienes en sus observaciones de los ensayos tratados con 1,5 y 3,0% de enzima, alcanzaron la hidrólisis máxima después de 30 y 60 min, respectivamente. Este

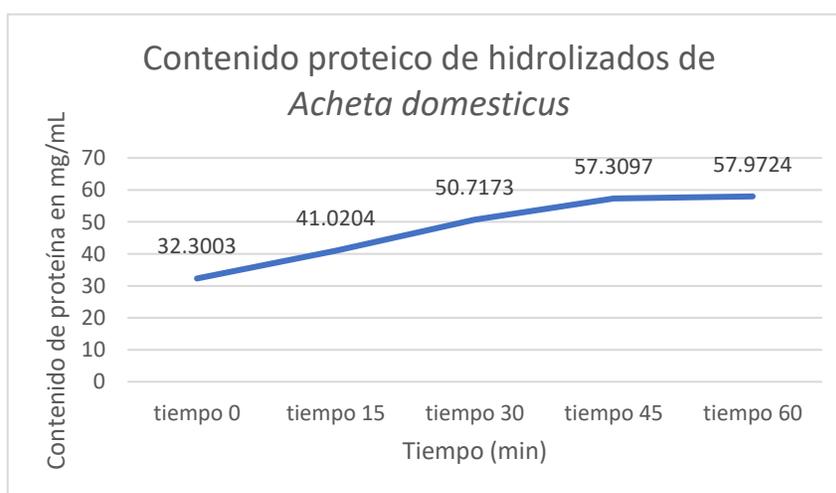


Figura 5. Contenido proteico de hidrolizados obtenidos a partir de aislados proteicos de *Acheta domesticus*.

comportamiento es consistente con los principios básicos de la cinética enzimática, donde después de aumentar constantemente la fase de hidrólisis, la velocidad de reacción tiende a disminuir, entrando en un estado de meseta (Mackie *et al.*, 1985). Esta reacción de estancada podría indicar la saturación enzimática de los sitios activos del sustrato evitando cualquier hidrólisis adicional.

Capacidad para secuestrar el radical DPPH

Para analizar la actividad antioxidante se evaluó la capacidad para secuestrar el radical 2,2-difenil-1-picrilhidracil (DPPH) según el método de Gómez *et al.*, (2013) por espectrofotometría a 517 nm. Se evaluaron los hidrolizados proteicos en los tiempos 0, 15, 30, 45, y 60 minutos. En la Figura 6 se puede observar que se encontró, al evaluar todas las muestras de tiempo a distintas concentraciones, que los mejores resultados de porcentaje de inhibición del DPPH se obtuvieron en el tiempo 0 min a una concentración de proteína de 5 mg/mL fue del 57.32%, y al tiempo 15 min a una concentración de 5 mg/mL fue de 46.04%, esto en comparación con el control positivo con el antioxidante Trolox el cual tuvo una inhibición del DPPH del 84.28% a una concentración de 200 µg/mL.

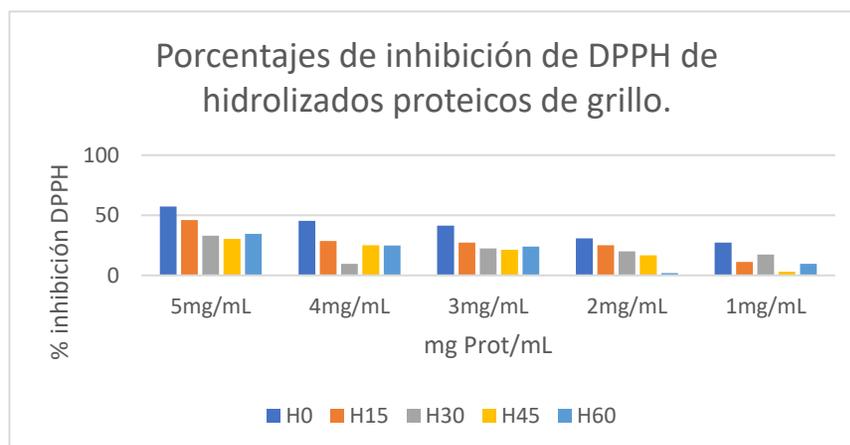


Figura 6: Porcentajes de inhibición de DPPH de hidrolizados proteicos de grillo.

Con base a estos resultados, se volvió a realizar una segunda prueba de actividad antioxidante con DPPH por triplicado para el tiempo 0 y 15 (Figura 7) utilizando distintas concentraciones proteicas (1, 2, 3, 4, y 5 mg/mL), así como una prueba también para el control positivo con Trolox a distintas concentraciones (100, 200, 300, 400 y 500 µg/mL).

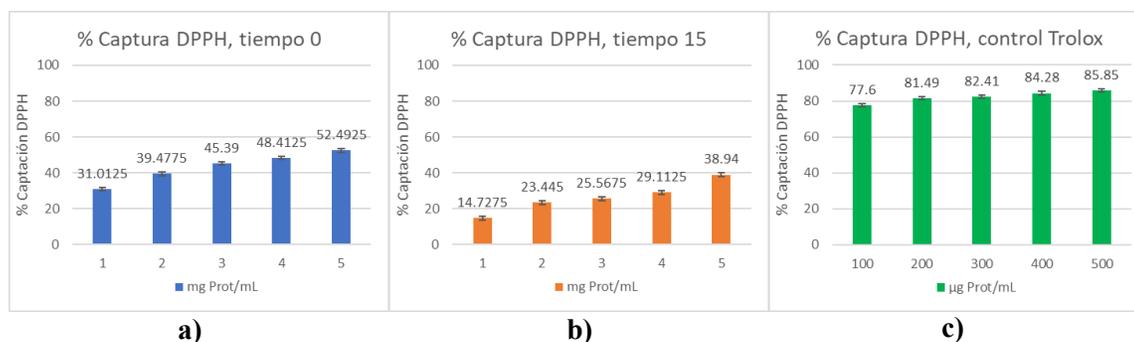


Figura 7. Porcentaje de captura de DPPH, a) hidrolizado tiempo 0, b) hidrolizado tiempo 15, c) control Trolox

Como se puede observar en los resultados en la Figura 7, se muestra una mayor actividad antioxidante de acuerdo con el grado de concentración de la proteína, conforme esta es mayor, mayor su porcentaje de inhibición de DPPH. Para el tiempo 0 (min) se encontraron valores de porcentaje de inhibición de DPPH que van desde el 31% al 52%. Para el tiempo 15 (min) se encontraron valores de porcentaje de inhibición de DPPH que van desde el 14% al 38%. El control positivo de Trolox arrojó resultados mayores a 80% de inhibición del DPPH en todas sus concentraciones excepto en la menor, de 100 µg/mL.

De acuerdo con de Castro *et al.*, (2018) quienes realizaron un análisis de las propiedades biológicas y funcionales de insectos comestibles, afirmaron obtener hidrolizados de proteínas con la mayor actividad

de captación de radicales con un 14% de actividad antioxidante medida por FRAP y 24% de captación de DPPH, que se consideraron bajas en comparación con sus antioxidantes estándar BHT y vitamina C. Lee *et al.*, (2021) en su estudio de la actividad antioxidante para diversos insectos comestibles, reportaron que no se reveló ningún cambio significativo en la actividad de eliminación de radicales DPPH de los hidrolizados de *A. domesticus*.

Una de las razones por lo que esto puede suceder puede ser debido a que el proceso del hidrolizado remueve algunas de los péptidos antioxidantes en su proceso, esto fue comprobado por Hall *et al.*, (2018), quienes analizaron el efecto de la hidrólisis enzimática sobre las propiedades bioactivas de la proteína de grillo (*G. sigillatus*), y encontraron que los hidrolizados utilizando alcalasa mostraron valores de captación de ABTS y DPPH más bajos (entre el 15 y el 40%) en comparación con la proteína de grillo no hidrolizada (entre el 50 y el 85%).

Como se ha observado en los resultados obtenidos el grado de hidrólisis puede afectar los resultados de la actividad antioxidante, de acuerdo con Messina *et al.*, (2019) la actividad antioxidante de los hidrolizados se puede ver influida por el nivel de hidrólisis que estos tienen, esto puede darse debido a la presencia de una gran cantidad de péptidos activos de bajo peso molecular (Picot *et al.*, 2010; Raghavan & Kristinsson, 2008; Thiansilakul *et al.*, 2007). Ahn *et al.*, (2014) afirmaron que el peso molecular de los péptidos estaba relacionado con sus propiedades funcionales, con mayor eficacia en los péptidos bioactivos con un peso molecular de aproximadamente 1,0–3,0 kDa. Taheri *et al.*, (2014) demostraron que las fracciones de hidrolizado de proteína entre 1,0 y 10 kDa tenían un mayor poder antioxidante que las fracciones de mayor peso molecular.

CONCLUSIÓN

El hidrolizado proteico obtenido del aislado de grillo de *A. domesticus* resulta no tener una actividad antioxidante significativa. La enzima Alcalasa, la cual es una endoproteasa, no genera péptidos del adecuado peso molecular en el que la actividad antioxidante pueda ser demostrada. Se necesita de una enzima que genere péptidos de menor peso molecular con el fin de que pueda explorarse si dicha actividad antioxidante pudiera estar presente.

BIBLIOGRAFÍA

- Adeyeye, E., & Awokunmi, E. (2010). Chemical composition of female and male giant African crickets, *Brachytrypes membranaceus* L.. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(4), 125–136.
- Ahn C, Kim J, Je J, Yin J., (2014), Purification and antioxidant properties of octapeptide from salmon byproduct protein hydrolysate by gastrointestinal digestion. *Food Chem.*, 147, 78–83
- Brogan, E. N. (2018). *Protein and Lipid Characterization of Acheta domesticus, Bombyx Protein and Lipid Characterization of Acheta domesticus, Bombyx mori, and Locusta migratoria Dry Flours mori, and Locusta migratoria Dry Flours*. 57. <https://researchrepository.wvu.edu/etd/7498>
- Bußler, S., Rumpold, B. A., Jander, E., Rawel, H. M., and Schlüter, O. K. (2016). Recovery and techno-functionality of flours and proteins from two edible insect species: Meal worm (*Tenebrio molitor*) and black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. *Heliyon*, 2, e00218
- Castro R, Ohara A, Aguilar J, dos S & Domingues M, (2018). Nutritional, functional and biological properties of insect proteins: Processes for obtaining, consumption and future challenges. *Trends in Food Science and Technology*, 76(March), 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.04.006>
- Chalamaiah M, Rao G, Rao D, Jyothirmayi T, (2010). Protein hydrolysates from meriga (*Cirrhinus mrigala*) egg and evaluation of their functional properties. *Food Chemistry*, 120(3), 652–657.

- Finke M, (2007) Estimate of chitin in raw whole insects. *Zoo Biol.* 26, 93–104. <https://doi.org/10.1002/zoo>
- Finke M, (2002), Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biol.* 21, 269–285. <https://doi.org/10.1002/zoo.10031>
- Foo, C., Bini, E., Hensman, J., Knight, D., Lewis, R., and Kaplan, D. (2006). Role of pH and charge on silk protein assembly in insects and spiders. *Appl. Phys. A.*, 82, 223–233
- Ghribi A, Gafsi, I, Sila A, Blecker C, Danthine S, Attia H, Besbes, S. (2015). Effects of enzymatic hydrolysis on conformational and functional properties of chickpea protein isolate. *Food Chemistry*, 187, 322–330.
- Gómez, Leidy J, Figueroa, Omar A, & Zapata, José E. (2013). Actividad Antioxidante de Hidrolizados Enzimáticos de Plasma Bovino Obtenidos por Efecto de Alcalasa® 2.4 L. *Información tecnológica*, 24(1), 33-42. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642013000100005>
- Gresiana, F., Muzi Marpaung, A., & Sutanto, H. (2015). Protein isolation from cricket (*Gryllusmitratus*). *Proceedings of the International Conference on Innovation, Entrepreneurship and Technology, November 2015*, 214–221.
- Hall F, Jones O, O’Haire M, & Liceaga A. (2017). Functional properties of tropical banded cricket (*Gryllobes sigillatus*) protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 224, 414–422.
- Jayasena V, Chih H, Nasar-Abbas S., (2010) Functional properties of sweet lupin protein isolated and tested at various pH levels *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 6, 130–137
- Kim H, Setyabrata D, Lee Y, Jones O, Kim Y, (2017) Effect of house cricket (*Acheta domesticus*) flour addition on physicochemical and textural properties of meat emulsion under various formulations. *Journal of Food Science* 82: 2787-2793
- Lee J, Koo N, Min DB, (2021) Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals, *Compilation Food Science Saf*; 3:21-33
- L’hocine, L., Boye, J. I., & Arcand, Y. (2006). Food Chemistry and Toxicology Composition and Functional Properties of Soy Protein Isolates Prepared Using Alternative Defatting and Extraction Procedures. *Food Chemistry and Toxicology*, 71(3), C137–C145.
- Mackie K., Brownell H., West K., & Saddler J., (1985) Effect of Sulphur Dioxide and Sulphuric Acid on Steam Explosion of Aspenwood, *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 5:3, 405-425, DOI: 10.1080/02773818508085202
- Messina CM, Gaglio R, Morghese M, Tolone M, Arena R, Moschetti G, Santulli A, Francesca N, Settanni L. (2019) Microbiological profile and bioactive properties of insect powders used in food and feed formulations. *Foods* 8: 400
- Ndiritu A, Kinyuru J, Gichuhi N & Kenji G, (2019). Effects of NaCl and pH on the functional properties of edible crickets (*Acheta domesticus*) protein concentrate. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(3), 1788–1796. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00097-5>
- Picot, L.; Ravallec, R.; Fouchereau-Péron, M.; Vandanjon, L.; Jaouen, P.; Chaplain-Derouiniot, M.; Guérard, F.; Chabeaud, A.; LeGal, Y.; Alvarez, O.M.; 2010, Impact of ultrafiltration and nanofiltration of an industrial fish protein hydrolysate on its bioactive properties. *J. Sci. Food Agric.* 90, 1819–1826
- Ribeiro, J. C., Lima, R. C., Maia, M. R. G., Almeida, A. A., Fonseca, A. J. M., Cabrita, A. R. J., & Cunha, L. M. (2019). Impact of defatting freeze-dried edible crickets (*Acheta domesticus* and *Gryllobes sigillatus*) on the nutritive value, overall liking and sensory profile of cereal bars. *Lwt*, 113(May), 10833530(8), 1003–1023.
- Raghavan, S.; Kristinsson, H.G. 2008 Antioxidative Efficacy of Alkali-Treated Tilapia Protein Hydrolysates: A Comparative Study of Five Enzymes. *J. Agric. Food Chem.* 56, 1434–1441. [CrossRef]
- Rumpold B, & Schlüter O. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular nutrition & food research*, 57(5), 802–823
- Sirimungkarat S, Saksirirat W, Nopparat T, Natongkham A, Durst P, Johnson D, Leslie R, Shono K, (2010) Forest Insects as Food: Humans Bite Back, *FAO, Bangkok, Thailand*, pp 189-200

- Taheri, A.; Sabeena Farvin, K.H.; Jacobsen, C.; Baron, C.P., 2014, Antioxidant activities and functional properties of protein and peptide fractions isolated from salted herring brine. *Food Chem.* 142, 318–326.
- Thiansilakul, Y.; Benjakul, S.; Shahidi, F. 2007, Compositions, functional properties and antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from round scad (*Decapterus maruadsi*). *Food Chem.*, 103, 1385–1394
- Udomsil, N., Imsoonthornruksa, S., Gosalawit, C., & Ketudat-Cairns, M. (2019). Nutritional Values and Functional Properties of House Cricket (*Acheta domesticus*) and Field Cricket (*Gryllus bimaculatus*). *Food Science and Technology Research*, 25(4), 597–605. <https://doi.org/10.3136/fstr.25.597>
- Vioque J, Sánchez-Vioque R, Pedroche J, Del Mar M, Millán F, (2001), Obtención y aplicaciones de concentrados y aislados proteicos, *Instituto de la Grasa, Grasas y Aceites Vol. 52*, 127-131
- Yi, L., Lakemond, C., Sagis, L., Eisner-Schadler, V., van Huis, A., and van Boekel, M. (2013). Extraction and characterisation of protein fractions from five insect species. *Food Chem.*, 141, 3341–3348.
- Zhao, X., Vázquez-Gutiérrez, J. L., Johansson, D. P., Landberg, R., and Langton, M. (2016). Yellow Mealworm Protein for Food Purposes - Extraction and Functional Properties. *PLOS ONE*, 11, e0147791