



Trabajo Fin de Grado en

Ciencia y Tecnología de los alimentos

Inclusión de harina de insectos como fuente de proteína alternativa en dietas de gallinas camperas: efecto sobre los rendimientos productivos y la calidad del huevo.

Inclusion of insect meal as an alternative source of protein in free-range hens diets: effect on productive performance and egg quality.

Autor/es

Ana Rubio Ezpeleta

Director/es

Manuel Fondevila Camps

Facultad de Veterinaria

2021

ÍNDICE

1. Resumen.....	2
1.1 Abstract.....	2
2. Introducción.....	3
2.1 Sostenibilidad.....	3
2.2 Uso de insectos.....	4
2.3 Tenebrio molitor.....	5
2.4 Calidad del huevo.....	7
2.5 Legislación relacionada.....	9
3. Justificación y objetivo.....	10
4. Material y métodos.....	10
5. Resultados y discusión.....	14
6. Conclusiones.....	25
6.1 Conclusions.....	26
7. Valoración personal.....	27
8. Bibliografía.....	28

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1.....	22
Gráfica 2.....	23
Gráfica 3.....	24
Gráfica 4.....	25

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.....	12
Tabla 2.....	13
Tabla 3.....	16
Tabla 4.....	17
Tabla 5.....	19
Tabla 6.....	21

RESUMEN

El 75% de los campos agrícolas están destinados a la producción de piensos, es por eso que hoy en día se están buscando ingredientes alternativos, en especial fuentes de proteína distintas de la harina de habas de soja que actualmente son el ingrediente proteico más utilizado.

Algunos autores ya han demostrado que el uso de insectos puede ser una solución viable, sobre todo, en el caso de aves y en concreto, gallinas de puesta, ya que los insectos forman parte de su dieta habitual. El *Tenebrio molitor* es una de las especies potenciales para este fin, por su elevado contenido proteico y por tratarse de una especie ubicua de fácil adaptación al medio.

Por su parte, el huevo es uno de los alimentos de origen animal más consumidos y baratos de producir de ahí que se eligiera como elemento de estudio. En este trabajo se evaluó el efecto de la sustitución, en la composición del pienso, de un 8% de harina de soja por harina de *Tenebrio molitor*, como fuente de proteína, sobre la calidad del huevo de gallinas camperas de raza Lohmann Brown, durante 16 semanas.

Se establecieron dos grupos, uno de gallinas alimentadas enteramente con soja como fuente de proteína y otro de gallinas alimentadas con un 8% de harina de *Tenebrio molitor*. A partir de una muestra de los huevos puestos, una vez al mes, se analizaron diferentes parámetros de calidad con el objetivo de ver el impacto de la sustitución de ese 8% de harina de *Tenebrio molitor*.

Al final del ensayo se pudo ver que, los huevos procedentes de gallinas alimentadas con el pienso de *Tenebrio molitor* eran de menor tamaño, lo mismo ocurrió con la altura y la densidad del albumen y la altura y el peso de la yema. Tras analizar los resultados también se pudo observar que el factor edad de la gallina pudo influir en los resultados obtenidos.

1.1. ABSTRACT

Nearly 75% of agricultural lands are dedicated to animal feed production. That is why nowadays alternative ingredients are being sought, mainly protein sources different from soybean meal which is currently the main protein ingredient used.

Some authors have already demonstrated the viability of the use of insects for hens as these animals have always been part of their diets. *Tenebrio molitor* is one of the potential species for this aim because of their high protein content and an ubiquitous species with easy adaptability.

Egg is highly consumed and one of the cheapest animal food products, that is the reason why it was chosen as subject of study. For this project the substitution of an 8% of soybean meal with *Tenebrio molitor* meal as a source of protein was evaluated on free range chickens egg quality during 16 weeks long.

Two groups were established, one for those hens fed with soy as source of protein and another group for those hens fed with that 8% of *Tenebrio molitor* meal. A sample of the laid eggs was taken and different egg quality parameters were analysed in order to prove the impact of the substitution of that 8% of *Tenebrio molitor* meal.

This project showed that the eggs from those chickens fed with *Tenebrio molitor* feed were smaller, same that happened with the height and density of the egg white and the height and weight of the egg yolk. After analysing the results, it was concluded that the age of the chickens could have also affected the results.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 SOSTENIBILIDAD

Según la FAO, (2013a), para 2050, en el mundo habitarán 9 billones de personas. Para poder abastecer a la población, la producción actual de alimentos tendrá que duplicarse. Los recursos de la tierra son limitados y ampliar el área dedicada a la producción no es una opción ni viable ni sostenible. El cambio climático producido como consecuencia de la ganadería intensiva y la sobre pesca de los océanos, pueden tener importantes consecuencias para la producción de alimentos (van Huis et al., 2013). Actualmente, alcanzar la estabilidad en la producción de alimentos está considerado un auténtico desafío para el ser humano (Lawrence et al., 2011; Flachowsky y Meyer, 2015).

Se ha estimado que en treinta años la producción de carne habrá aumentado un 50%, y a su vez la demanda de pescado, leche y huevos lo hará un 75% (Bovera et al., 2018). Este incremento en la demanda de proteína de origen animal incrementará a su vez el uso de otros recursos, entre ellos, los ingredientes para la fabricación de los piensos (FAO, 2011).

La ganadería utiliza el 30% del terreno mundial (sin contar los polos) y el 75% de la superficie agrícola, está destinada a la producción de piensos (FAO, 2009). El aumento de la ganadería es una de las causas principales de la deforestación, sobre todo en Latino América, donde una buena parte del Amazonas se está utilizando como campos para pasto o cultivo de materia prima para piensos (FAO, 2006).

El sector ganadero es responsable de aproximadamente el 14,5% de las emisiones de gases de efecto invernadero (FAO, 2013b; Makkar et al., 2014). Además, los productos de origen animal tienen una huella hídrica mucho mayor que los productos de origen vegetal (Mekonnen y Hoekstra, 2012; Makkar et al., 2014). El principal impacto medioambiental de la ganadería es la contaminación de los ecosistemas con el nitrógeno y el fósforo provenientes del estiércol (FAO, 2006)

Actualmente, en lo que respecta a la nutrición animal, la harina de soja es la principal fuente de proteína utilizada en los piensos (De Marco et al., 2015). Sin embargo, su producción está ligada a importantes problemas ambientales (Flachowsky and Meyer, 2015; Bovera et al., 2018). Algunas condiciones climáticas desfavorables como las sequías, la escasez de terreno de cultivo y la sobreexplotación marina podrían tener graves consecuencias en la producción de ingredientes vegetales para piensos (Woyengo et al., 2014; Mwaniki, et al., 2020).

Todo esto conduce a no confiar siempre en el mismo abanico de ingredientes para formular los piensos y a promover la caracterización nutricional de otros ingredientes que podrían utilizarse, bien como alternativa, o bien como ingrediente complementario (Mwaniki et al., 2018).

Una buena formulación nutricional de los piensos es clave para la rentabilidad de las granjas avícolas intensivas, ya que el pienso supone el coste principal de las mismas (FAO, 2018), que supone aproximadamente un 65% sobre el precio del producto final (Kiarie et al., 2013; Mwaniki et al., 2020).

2.2 USO DE INSECTOS

Para alimentación animal, los insectos pueden comercializarse de dos formas, directamente como harina de insectos enteros o como proteína insoluble, una vez desgrasados (Fondevila y Latorre, 2017). Su uso en piensos para el ganado tendría un impacto positivo en el medio ambiente dado que su producción requiere de menos energía, menos terreno y supone una huella ecológica menor que la elaboración de pienso convencional (Pimentel et al., 1975; Makkar et al., 2014). Se ha demostrado que los insectos producen menor cantidad de gases de efecto invernadero que el ganado porcino o el vacuno (Rumpold y Schlueter, 2010; Oonincx et al., 2010).

Los insectos contienen altas cantidades de energía, aminoácidos, ácidos grasos y micronutrientes (Rumpold y Schulter, 2013; Makkar et al., 2014; Mwaniki et al., 2018). En general, los productos derivados de insectos tienen elevadas proporciones de proteína bruta. Aunque, por otra parte, su contenido en grasa es variable, entre 10 y 25%, y puede llegar a ser

muy elevado, llegando a un 43% en larvas de *Tenebrio molitor*, lo que recomendaría su tratamiento para desgrasarlas (Fondevila y Latorre, 2017).

Las especies de insectos con mayor potencial de producción a gran escala son la mosca soldado (*Hermetia illucens*), mosca común (*Musca domestica*) y el gusano de la harina (*Tenebrio molitor*) (Mwaniki et al., 2018). No obstante, la variabilidad potencial es mucho mayor: hasta 2000 especies de insectos son consumidas por diversas culturas humanas (van Huis, 2016; Fondevila y Latorre, 2017).

Concretamente, *Hermetia illucens* y *Tenebrio molitor* tienen el potencial de recuperar “nutrientes perdidos”, ya que son capaces de incorporar aminoácidos y ácidos grasos de subproductos y residuos vegetales y animales. Esto es un aspecto que les hace interesantes como ingrediente para piensos (Makkar et al., 2014; Henry et al., 2015). Por su parte, sus desechos pueden utilizarse como abono orgánico (Fondevila y Latorre, 2017). También han demostrado un rápido crecimiento a base de una amplia variedad de otros residuos orgánicos (Bava et al., 2019). Ramos-Elorduy et al. (2002) llevaron a cabo experimentos en los que criaron larvas de *Tenebrio molitor* en residuos poco nutritivos para posteriormente alimentar a pollos broiler. Se demostró que, a pesar de partir de un sustrato pobre en nutrientes, se podía obtener un producto rico en proteínas.

En la actualidad estas especies ya se producen a escala industrial para producir piensos para mascotas y animales de zoo incluyendo aves, reptiles, mamíferos pequeños, anfibios y peces. A menudo se utilizan en vivo, pero también se venden en lata, secos o en polvo (Aguilar-Miranda et al., 2002; Hardouin y Mahoux, 2003; Veldkamp et al., 2012; Makkar et al., 2014).

En comparación con otras especies ganaderas, el índice de conversión es mayor en insectos que en animales superiores (Nakagaki y Defoliart, 1991; Rumpold y Schlüter, 2012). Para obtener 1kg de insectos, se emplea 1,7kg de pienso, mientras que por cada kg de pollo se precisan de 2,5kg llegando incluso a los 10kg en caso del vacuno. Otro punto a favor de los insectos, es que el 80% de sus cuerpos es consumible, a diferencia de otras especies de las que se consume el 55%, como en aves y porcino o incluso el 40%, como en ovino (van Huis, 2016).

2.3 TENEBCRIO MOLITOR

Tradicionalmente, el *Tenebrio molitor* se ha considerado una plaga en cereales, harinas y tiendas de alimentación, a menudo sin gran relevancia ya que aparecen en pequeñas cantidades (Ramos-Elorduy et al., 2002). Por el contrario, la incorporación de insectos en

piensos puede contribuir a la seguridad alimentaria (Schader et al., 2005; Mwaniki et al., 2018).

Para poder incluirlos como ingrediente en pienso, la dieta de los insectos debe ser equilibrada, conteniendo aproximadamente un 20% de proteína en materia seca (Ramos-Elorduy et al., 2002; Makkar et al., 2014). Las larvas de *Tenebrio molitor* son omnívoras y pueden alimentarse de todo tipo de productos de origen vegetal al igual que de productos de origen animal como carne o plumas (Ramos-Elorduy et al., 2002). Además, son fáciles de criar y, como ya se ha sugerido, crecen fácilmente en residuos de frutas, verduras y cereales en diferentes combinaciones, tanto deshidratados como cocinados (De Marco et al., 2015). Se les suele alimentar con salvado de cereales o harina (trigo, avena o maíz) complementado con otras fuentes de proteína como harina de haba de soja, leche desnatada en polvo o levadura. Para incorporar humedad se pueden utilizar frutas y verduras frescas como zanahoria, patata y lechuga, ya que estos insectos no son capaces de beber agua líquida (Aguilar-Miranda et al., 2002; Hardouin y Mahoux, 2003; Makkar et al., 2014).

Las larvas de *Tenebrio molitor* son una posible alternativa al uso de harinas de soja y pescado. A pesar de que el contenido en metionina sería un aspecto limitante para su uso en pollos, la calidad de la proteína es similar a la de la harina de soja (Ramos-Elorduy et al., 2002; Makkar et al., 2014). Lo que sí supone un problema importante es el bajo contenido en calcio y la relación Ca:P, aunque ambos podrían ser incrementados alimentando a las larvas con una dieta enriquecida en calcio durante 1-2 días, ya que la adición de un 8% de CaCO₃ demostró ajustarse a los requerimientos (Makkar et al., 2014). Se han hecho varios estudios sobre el tema: según Klasing et al. (2000) la suplementación de calcio mediante larvas de *Tenebrio molitor* enriquecidas a su vez en calcio, hace que esté disponible para la mineralización de los huesos en el crecimiento de los pollos, aunque no tanto como si se utilizaran conchas de ostras; por su parte, Anderson (2000) declaró que, a corto plazo, una alimentación enriquecida en calcio de las larvas durante 72h era suficiente para obtener unos niveles aceptables de calcio en las siguientes 24h.

La composición química del *Tenebrio molitor* resulta ser alta en proteína y grasa, de un 47-60% y un 31-43% respectivamente, en materia seca, además contienen un 60% de agua (Makkar et al., 2014). Este contenido en proteína permite sustituir la harina de pescado en las formulaciones para pienso en un 50% (FAO, 2013b). Su contenido en cenizas es relativamente bajo (<5% en materia seca) y al igual que otros insectos, tienen bajo contenido en calcio y una baja relación Ca:P (Makkar et al., 2014). Esto significa que si basamos una alimentación en

insectos se obtendrá como resultado una deficiencia de calcio y, por lo tanto, el riesgo de problemas óseos (Klasing et al., 2000; Makkar et al., 2014).

La carne de pollo y los huevos juegan un papel muy importante en la nutrición humana en todo el planeta. Estos productos son fuentes de proteína de calidad, vitaminas y minerales (FAO, 2013b). Por otro lado, la producción de pollo es de las más sencillas y baratas para poder suplir la demanda anticipada de proteína animal (FAO, 2011). Los huevos por su parte, son baratos y aportan proteína de calidad (Miranda et al., 2015), además de ser uno de los productos de origen animal más demandado a nivel mundial (Hernández, 2019)

Las larvas de *Tenebrio molitor* ya han demostrado ser una buena fuente de proteínas para pollos broiler (Ramos-Elorduy et al., 2002). Los insectos, en general, forman parte de la dieta natural de los pollos (Bovera et al., 2016), y además suponen una buena fuente de vitaminas y minerales para estos animales (FAO, 2013c). No obstante, es necesario optimizar las condiciones de producción para reducir costes y garantizar una disponibilidad constante a un precio accesible, ya que por el momento la producción de insectos se plantea a pequeña escala. En la actualidad, se observa un aumento de granjas de insectos, no sólo en países asiáticos y africanos, sino también en Europa (Fondevila y Latorre, 2017). Además, hay que tener en cuenta que las gallinas tienen diferentes requerimientos nutricionales dependiendo de la raza, edad y otros muchos factores (Leeson and Summers, 2005; Mwaniki, et al., 2020).

Algunos estudios ya han evaluado la viabilidad del uso de insectos como alternativa para alimentación de pollos, mientras que algunos no encontraron diferencias entre pollos alimentados con una dieta control y otra basada en insectos, otros reportaron que la inclusión de harina de insectos podría resultar beneficioso (Biasato et al., 2016). Estos autores llevaron a cabo un ensayo en el que estudiaron el impacto de la inclusión de harina de *Tenebrio molitor* en gallinas camperas. No afectó a la producción de huevos y se demostró que las larvas se podían utilizar de forma segura en dietas para estos animales.

El ensayo llevado a cabo por Wang et al. (1996) demostró que la inclusión de *Tenebrio molitor* en la dieta de gallinas ponedoras podría incrementar la ratio de puesta de huevos en un 2,4%. Posteriormente, otro ensayo llevado a cabo por Wang et al. (2015) demostró que la sustitución de un 4% de harina de soja por harina de *Tenebrio molitor* tuvo un impacto positivo en gallinas ponedoras.

Por su parte, De Marco et al. (2015) concluyó que las larvas de *Tenebrio molitor* son una buena fuente de proteína y grasa, demostrando que podrían utilizarse como una buena fuente de proteína y energética en piensos.

2.4 CALIDAD DEL HUEVO

Con respecto a los parámetros de calidad del huevo, lo que más valoran los consumidores es la calidad higiénica, el tamaño del huevo, el color de la yema, la calidad del albumen, el color y fortaleza de la cáscara, la ausencia de manchas de carne y sangre, y la forma de cría de las aves (García, 2010). La mayoría de estas características están influenciadas por diferentes factores, tanto biológicos (genética, edad, estado sanitario), como relacionados con la producción: nutrición, ambiente y sistema de cría entre otros (García, 2015).

La edad de las gallinas tiene claros efectos sobre muchas características de la calidad del huevo. A medida que aumenta, incrementa el peso del huevo y su proporción de yema, mientras que disminuye correlativamente la de albumen y baja ligeramente la de la cáscara (Cepero y Lafuente, 2000). En aves de mayor edad, el grosor de la cáscara disminuye debido al aumento del tamaño del huevo y al descenso de las reservas de calcio en el tejido óseo y de la absorción y deposición de calcio. El color de la cáscara morena también tiende a aclararse (García, 2010). La consistencia del albumen, medida en unidades Haugh, disminuye en 1,5-2,0 unidades al mes aproximadamente (Williams, 1992). La incidencia de manchas de carne o sangre, pero en particular las primeras, tiende a aumentar con la edad (Buxadé et al., 2000).

El nivel de calcio y el tamaño de partícula del carbonato cálcico en la dieta son fundamentales para la resistencia a la rotura de la cáscara, especialmente en gallinas viejas. La ingesta de calcio debe ser de 3,5-4,0 g/gallina y día según la fase de puesta, y se recomienda aportar el carbonato con un 70% de partículas gruesas. La vitamina D3 influye sobre la eficacia de absorción del calcio, y un nivel bajo empeora la calidad de la cáscara (Buxadé et al., 2000).

Los huevos de mayor tamaño se asocian erróneamente a una mejor calidad. Los huevos puestos al inicio del ciclo de puesta, de pequeño y mediano tamaño, tienen la cáscara más fuerte y el albumen más viscoso respecto a los procedentes de gallinas de mayor edad, que son huevos de mayor tamaño (González, 1989). El tamaño del huevo se ve afectado por los niveles dietéticos de energía, aminoácidos sulfurados y ácido linoleico. Las proporciones de yema y albumen, y su composición en sólidos y proteína, pueden modificarse con la adición de grasas en el pienso y con niveles mayores a los habituales de lisina y metionina (Cepero y Lafuente, 2000).

La alimentación es el factor más importante para el color de la yema. El color más o menos intenso de la yema se relaciona con su calidad, aunque en realidad no tiene nada que ver (González, 1989). El color de la yema, se debe al depósito de los pigmentos carotenoides que las aves ingieren con la dieta, siendo la luteína y la zeaxantina los más frecuentes. Además,

ciertos ingredientes del pienso pueden potenciar el color (grasas, antioxidantes), o inhibirlo (vitamina A y calcio en niveles superiores a los normales) y otros, en cambio pueden producir coloraciones o manchas indeseables como es el caso de la nicarbacina, gosipol o la sinapina (Buxadé et al., 2000).

Algunos ingredientes de uso potencial en las dietas de gallinas pueden influir positivamente en la calidad del albumen, como el grano de la especie leguminosa de las habas, mientras que las tortas de girasol y de colza la empeoran. Minerales como el cromo y el zinc, y la vitamina C también mejoran la calidad del albumen (Buxadé et al., 2000).

Si los niveles nutritivos son similares, y a igualdad de la base genética y edad de las gallinas, el sistema de producción afecta poco a la calidad del huevo (García, 2015).

No obstante, en comparación con los huevos de gallinas criadas en jaulas, en la mayoría de los estudios los huevos producidos por aves criadas en condiciones de semilibertad, en especial las gallinas camperas, presentan un menor peso medio, una calidad del albumen ligeramente inferior, una menor proporción de yema, un color más pálido de la cáscara, y una distinta pigmentación de la yema (García, 2015).

En las granjas de gallinas camperas, la recogida de los huevos es menos rápida y agresiva que en las grandes explotaciones con jaulas. Esto, ligado a su menor rotación comercial a causa de su aún limitada demanda, origina que con frecuencia en huevos camperos se observe una menor tasa de roturas y un albumen menos consistente (García, 2015).

2.5 LEGISLACIÓN RELACIONADA

De acuerdo con el Reglamento (CE) nº 589/2008 referente a las normas de comercialización del huevo, las características que debe cumplir un huevo de categoría A, destinado al consumo directo, en cuanto a calidad interna son las siguientes: La altura de la cámara de aire no debe superar los 6 mm; la yema debe observarse como una ligera sombra que se desplace ligeramente al mover el huevo y recupere la posición central; la clara debe ser transparente y translúcida; no debe presentar olor ni materiales extraños; el germen debe ser imperceptible.

Desde la entrada en vigor de la nueva normativa de bienestar animal (Directiva 1999/74/CE), el sector avícola de puesta ha evolucionado, los sistemas de cría alternativos (suelo, campero y ecológico) han aumentado, alcanzando un 23% del censo total de gallinas frente al 17% del año anterior (MAPA, 2020). Esta evolución es también el resultado de una mayor preocupación social por el bienestar animal y de la decisión de algunas cadenas de supermercados de eliminar la distribución de huevos procedentes de gallinas criadas en jaulas (Alimarket, 2019).

De nuevo, de acuerdo con lo establecido en el Reglamento (CE) nº 589/2008 sobre normas de comercialización de los huevos, los huevos de gallinas camperas deben cumplir las condiciones fijadas en la Directiva 1999/74/CE del Consejo:

- Las gallinas deben poder acceder de forma ininterrumpida y durante todo el día a un espacio al aire libre; no obstante, este requisito no impide a los productores restringir dicho acceso durante un período limitado por las mañanas, conforme a las buenas prácticas agrarias, y en especial a las buenas prácticas en materia de cría.
- En estos espacios, la densidad no deberá superar las 9 gallinas ponedoras por m^2 de superficie utilizable. El espacio mínimo en los parques exteriores no será inferior a $4m^2$ /gallina.
- Los espacios al aire libre accesibles para las gallinas no se utilizarán con otros fines, salvo como huertos frutales, terrenos forestales o pastos.

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO

El objetivo es evaluar el grado de aceptación de harina de larvas de *Tenebrio molitor* en el pienso de gallinas ponedoras camperas de raza Lohmann Brown, y su efecto como alternativa a la harina de soja sobre los rendimientos productivos y la calidad del huevo.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza durante los meses de febrero, marzo, abril y mayo. Durante este tiempo, se dispuso de 110 gallinas ponedoras de raza Lohmann Brown que iniciaron el ensayo con 17 semanas de vida y un peso aproximado de 1,5kg. Las gallinas fueron alimentadas, *ad libitum*, con dos piensos diferentes durante 16 semanas.

El día que se recibieron las gallinas, fueron pesadas individualmente, identificadas una a una con un crotal en la pata derecha y posteriormente clasificadas aleatoriamente en los distintos corrales. El pesaje individual de las gallinas se repitió una vez cada cuatro semanas (una vez al mes) para llevar un control de su crecimiento.

Las 110 gallinas se repartieron en 10 corrales, 5 corrales para cada tipo de pienso. En cada corral, las gallinas disponían de espacio interior conectado con una zona de patio exterior al cual tenían acceso ilimitado.

Las gallinas se distribuyeron en dos tipos de corrales, 8 corrales de 2,5 m² de superficie interior y 3 m² de patio exterior en los que había 10-11 gallinas, y por otro lado 2 corrales de 4 m² de superficie interior y 5,4 m² de patio exterior en los que había 16-17 gallinas.

Se controlaron las horas de luz, empezando con 12 h de luz al día y aumentando media hora cada semana hasta llegar a las 16 h de luz al día, en la semana 21 de vida. La periodicidad de la iluminación se controló mediante temporizadores programados específicamente.

Con respecto a los piensos, por un lado, se formuló un pienso convencional con harina de soja como fuente de proteína y por otro, un pienso con un 8% de harina de *Tenebrio molitor* (sustituyendo parcialmente la harina de soja). La oferta de alimento se controló garantizando que en todo momento las gallinas tuvieran a su disposición suficiente alimento en la tolva. En la tabla 1 se muestran los ingredientes de ambos piensos y la tabla 2 refleja la composición química de los mismos.

Tabla 1: Ingredientes utilizados para la fabricación de los piensos (expresado en tanto por cien)

MATERIA PRIMA	CONTROL (%)	TENEBRIOS (%)
MAÍZ	30,35	32,85
TRIGO	25	25
HARINA DE SOJA 47	20,45	12,45
HARINA DE TENEBRIOS	0	8
HARINA DE GIRASOL	8,45	8,45
CARBONATO DE SÉMOLA	6,4	6,4
CEBADA	3	3
ACEITE DE PALMA	2,1	0
ACEITE DE GIRASOL	0,4	0
CARBONATO FINO	2	2
FOSFATO BICÁLCICO	0,95	0,95
CORRECTOR	0,4	0,4
SAL	0,3	0,3
METIONINA	0,2	0,2

Tabla 2: Composición química de los piensos

COMPOSICIÓN	CONTROL (%)	TENEBRIOS (%)
ENERGIA METABOLIZABLE	2736	2737
VERDADERA (KCAL/KG)		
PROTEÍNA BRUTA	17,29	17,47
GRASA BRUTA	4,34	4,46
FIBRA BRUTA	4,30	4,43
CENIZAS	12,36	12,74
ALMIDON	37,32	38,64
LISINA	0,847	0,847
METIONINA	0,483	0,504
METIONINA+CISTÍNA %	0,793	0,79
TREONINA %	0,656	0,682
TRIPTÓFANO %	0,21	0,336
LISINA DIG.	0,744	0,744
METIONINA DIG.	0,46	0,481
METIONINA+CISTEÍNA DIG.	0,723	0,724
TREONINA DIG.	0,572	0,592
TRIPTÓFANO DIG.	0,184	0,143
LEUCINA DIG. %	0,139	0,396
VALINA DIG.VOLÁTIL	0,007	0,23
ISOLEUCINA.DIG.	0,102	0,276
AC. LINOLEICO(%MG)	1,311	1,517
OMEGA 3	0,048	0,07
OMEGA 6	1,095	1,283
CALCIO	3,833	4,004
FÓSFORO	0,515	1,03
SODIO	0,117	0,181
CLORO	0,256	0,298
XANTOFILAS	16,365	16,83
PIGM.AMARILLO PPM	11,967	12,396
PIGM.ROJO PPM	7,982	5,052

Cada día alrededor de las 8 de la mañana, se recogían los huevos de cada corral y se pesaban tanto individualmente, para clasificarlos por tamaño: S (<53g), M (53-63g), L (63-73g) y XL (>73g), como en conjunto, todos los huevos de cada corral. Este pesaje se realizó con una balanza de precisión Delta Range de la marca Mettler Toledo (PC 4400)

Se elaboraron unos estadillos en los que cada día se anotaba el peso total de los huevos de cada corral, así como el número de huevos puestos y su talla (para poder obtener el índice de puesta y la gráfica con el pico de puesta). De estos, se especificaba: cuántos en el suelo y cuántos en el nidal, si había alguno en el patio exterior, el número de huevos rotos y sucios, el pienso consumido y la temperatura de los corrales.

Cualquier anomalía, comportamiento extraño o incluso, ocasionalmente, muerte también se dejaban anotados de forma diaria en los estadillos.

Otros aspectos que se revisaban a diario era el estado de las instalaciones, sobre todo de los bebederos y del patio exterior incluyendo los espacios bajo la valla.

Cada cuatro semanas, las gallinas se pesaban de forma individual. También se pesaba el residuo semanal de pienso de las tolvas para poder llevar un registro periódico del pienso consumido. Por otro lado, el último día de cada período se recogieron 8 huevos de cada corral para realizar los análisis de calidad en el mismo día de recogida, garantizando así su frescura.

Buena parte de las mediciones se realizaron con un equipo: E.Q.M. (Egg Quality Meter, Technical Services & Supplies, Ltd, York, UK). De cada huevo, a temperatura ambiente, se midió el color y el peso. De la clara, se midió la altura y su densidad en unidades Haugh y se registró la presencia de manchas de carne. Y de la yema, se midió la altura, el diámetro, el color, el peso y la presencia de manchas de sangre.

Las cáscaras se metieron en una estufa a 70°C durante 24 h para secar los restos de albumen, de forma que al día siguiente se medía el grosor, el peso y la densidad de la cáscara una vez seca. El peso del albumen se obtuvo por diferencia entre el peso del huevo entero y los pesos de yema y cáscara.

El equipo E.Q.M cuenta con un software que calcula automáticamente, en cada huevo, las unidades Haugh, que relacionan la altura del albumen denso (H) con el peso del huevo (P) mediante la fórmula:

$$U.H = 100 \log (H - 1,7 P^{0,37} + 7,6)$$

El mismo equipo, también estimó automáticamente la densidad de la cáscara dividiendo su peso en seco por su área. Para estimar el área el equipo utilizó la siguiente fórmula donde P representa el peso del huevo entero:

$$\text{Área} = 4,67 \times (P)^{2/3}$$

Para el peso del huevo y de la yema se usó una balanza con una precisión mínima de $\pm 0,1$ g. El espesor de la cáscara se midió con un micrómetro digital con contactos cónicos (Mitutoyo Europe GmbH, Neuss, Alemania) con una precisión de $\pm 0,01$ mm, tomando tres medidas de diferentes zonas de la cáscara y registrando el valor promedio. El color de la cáscara (% de luz reflejada) se midió en el polo grueso (el opuesto a la cámara de aire) con el refractómetro del equipo E.Q.M (EQReflectometer). La altura del albumen se midió utilizando un micrómetro, TESS OCH, con una precisión de $\pm 0,1$ mm (Aviservice, Bilbao, España). La medida del color de la yema se realizó mediante comparación visual con la escala del abanico de Roche (ahora conocida como escala DSM) sobre fondo negro. El diámetro de la yema se midió con un calibre, mientras que para la altura se utilizó un micrómetro analógico. Para llevar a cabo las mediciones de la yema se retiraba previamente la clara con el fin de evitar el falseamiento de los datos.

De los parámetros de calidad anteriormente citados, se analizó su evolución global en función del pienso utilizado, su evolución en el tiempo independientemente del pienso (mes a mes durante los cuatro meses que duró el ensayo) y la evolución del efecto del pienso durante el mismo periodo de tiempo. Con el objetivo de observar el posible efecto de la inclusión de harina de *Tenebrio molitor* sobre estos aspectos de calidad del huevo.

Los resultados se analizaron estadísticamente con un análisis de varianza mediante ANOVA de una vía, empleando el programa STATISTIX. Se consideró el tipo de pienso como factor y el corral como unidad experimental. Para establecer las diferencias según la edad de las gallinas, se ha realizado un test de Tukey entre categorías.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al final del ensayo se observó que la sustitución de un 8% de harina de soja por harina de *Tenebrio molitor* en el pienso para gallinas camperas sí que tuvo un efecto sobre ciertos aspectos de la calidad del huevo. No obstante, este efecto no fue visible para un mismo parámetro en todos los meses del pienso experimental, ni ocurrió para todos los parámetros analizados.

Tabla 3: Influencia de la sustitución de un 8% de harina de soja con harina de *Tenebrio molitor* en pienso para gallinas Lohmann Brown sobre aspectos del huevo entero. Tanto de forma global como mes a mes.

Huevo entero										
Pienso		Tratamiento		Mes						
		e.s.m	P	1	2	3	4	e.s.m	P	
Peso huevo (g)	TM	53,51 ^b		53,24 ^b	55,74 ^b	53,76 ^b	51,26 ^b			
	HS	62,80 ^a	0,889 0,000	56,86 ^b	63,97 ^a	64,53 ^a	65,86 ^a	1,148	0,001	
Huevos sucios (%)	TM	12,70		24,24	6,31	7,96	12,29			
	HS	16,11	1,343 0,11	24,55	6,98	16,92	16,00	2,981	0,46	
Huevos rotos (%)	TM	0,34 ^b		0,74	0,31	0,15	0,14			
	HS	1,02 ^a	0,132 0,006	2,33	0,56	0,63	0,57	0,303	0,14	

Tal y como se muestra en la tabla 3, el pienso tuvo un efecto sobre el peso del huevo ($P<0,05$). Así, el peso de los huevos de gallinas alimentadas con pienso de *Tenebrio molitor* fue menor que el peso de los huevos de aquellas gallinas alimentadas con harina de soja como principal fuente proteica. No obstante, las diferencias fueron significativas a partir del segundo mes. El peso del huevo está influenciado por la edad del animal, por lo que al inicio de la puesta (en el primer mes) las diferencias entre tratamientos podrían no ser significativas por estar las gallinas adaptándose a su nuevo entorno (González, 1989). El menor peso de los huevos de las gallinas alimentadas con pienso de *Tenebrio molitor* podría deberse a alguna deficiencia en el pienso en cuanto a minerales o a la composición aminoacídica de su proteína. Por su parte, Mwaniki, et al. (2020) sugieren que un menor peso de los huevos podría deberse a una deficiencia de metionina+cisteína y lisina en el pienso a base de insectos en comparación con la harina de soja. Sin embargo, esto puede descartarse ya que los piensos fueron formulados para un mismo contenido en aminoácidos esenciales. Leeson y Summers (2005) por su parte, sugirieron que la composición en aminoácidos de los dos tipos de proteína (harina de soja y *Tenebrio molitor*) podría ser limitante.

Con respecto a los huevos sucios, no hubo diferencias significativas entre piensos en cuanto a este parámetro ($P>0,05$). El hecho de que los huevos estén sucios externamente puede estar

asociado al comportamiento individual de la gallina o incluso al clima. Puesto que se trata de gallinas camperas, con acceso al exterior, en caso de lluvia, es probable que los huevos puedan mancharse de barro. Aunque la limpieza de las cáscaras también depende en gran medida de la consistencia de las heces de las gallinas (Rodríguez, 2016).

En cuanto al porcentaje de huevos rotos, la proporción fue mayor ($P<0,05$) en aquellos procedentes de gallinas alimentadas exclusivamente con harina de soja que en aquellos procedentes de gallinas alimentadas con harina de *Tenebrio molitor*. Sin embargo, la interacción entre factores indica que, con excepción del primer mes, cuando se observó una diferencia de 1,59%, en los meses posteriores, la diferencia no llegó en ningún caso al 0,50% ($P>0,05$). Aunque la fragilidad del huevo podría deberse a una menor proporción de calcio en el pienso o a una menor absorción del mismo a causa de un mayor contenido en fósforo (Hernández, 2019). No sería aplicable a este caso puesto que la evolución es descendente para ambos piensos y las diferencias no son significativas durante la mayor parte del ensayo. En cambio, podría estar relacionado con el manejo.

Tabla 4: Influencia de la sustitución de un 8% de harina de soja con harina de *Tenebrio molitor* en pienso para gallinas Lohmann Brown sobre aspectos de la cáscara.

Cáscara											
		Pienso Tratamiento		Mes							
		e.s.m	P	1	2	3	4	e.s.m	P		
Color cáscara (%reflectancia)	TM	26,17 ^a		25,80 ^{abc}	24,48 ^{bcd}	27,13 ^a	27,28 ^a			0,412	0,041
	HS	24,16 ^b	0,235 0,000	23,75 ^{cd}	22,98 ^d	23,68 ^d	26,23 ^{ab}				
Espesor cáscara (μm)	TM	409,85 ^b		428 ^a	411 ^{ab}	429 ^a	370 ^b			9,202	0,010
	HS	434,57 ^a	3,797 0,002	426 ^a	445 ^a	435 ^a	430 ^a				
Peso cáscara (g)	TM	5,53		6,87	5,90	4,30	5,05			0,568	0,14
	HS	6,24	0,266 0,1	5,92	6,83	5,51	6,70				
Densidad cáscara (mg/cm ²)	TM	70,61 ^b		75,28	79,85	58,53	68,77			3,312	0,44
	HS	78,30 ^a	1,298 0,003	78,42	85,20	67,22	82,36				

La tabla 4 recoge los parámetros de calidad de cáscara. En cuanto al color de la cáscara se observaron diferencias significativas ($P<0,05$). Los huevos de gallinas alimentadas con un 8% de harina de *Tenebrio molitor* tenían una reflectancia menor que los huevos de gallinas alimentadas con soja como única fuente de proteína, por lo tanto, huevos más claros. No obstante, dada la interacción entre los factores, ($P=0,041$) se puede decir que esta diferencia solamente se observó en el tercer mes. El color de la cáscara viene dado fundamentalmente por factores genéticos (Castelló, 2010). Aunque en el oviducto, durante la formación del huevo, la presencia de pigmentos como la protoporfirina y la biliverdina tanto en la cáscara como en la cutícula puede cambiar la tonalidad. Aunque la edad de la gallina también afecta al color de la cáscara, de forma que el color disminuye conforme aumenta la edad del animal (Rodríguez, 2016).

El pienso tuvo un efecto significativo sobre el espesor de la cáscara ($P<0,05$) en los meses 2 y 4, aunque fue en el cuarto mes en el que se vio una mayor influencia. La cáscara de los huevos procedentes de gallinas alimentadas con harina de *Tenebrio molitor* fueron más finas que las de aquellas procedentes de gallinas alimentadas con harina de soja como fuente de proteína. Como ya se ha justificado anteriormente en relación a la fragilidad del huevo, esto podría deberse a un mayor contenido en fósforo o a un bajo contenido en calcio en el pienso de *Tenebrio molitor* puesto que este compuesto impide la absorción de calcio y, por lo tanto, la formación de la cáscara del huevo (Hernández, 2019). También podría estar relacionado con una deficiencia en vitamina D₃ puesto que es una vitamina que favorece la absorción de calcio (Rodríguez, 2016).

El peso de la cáscara no se vio afectado por los factores a estudio, y en ningún caso se observaron diferencias significativas ($P>0,05$). Cabe destacar que la gallina es capaz de absorber y movilizar una cantidad determinada de calcio de forma que, si los huevos son de mayor tamaño, las cáscaras serán más finas (Rodríguez, 2016).

La cáscara de los huevos procedentes de gallinas alimentadas con harina de soja como fuente de proteína fue más gruesa que la de los huevos procedentes de gallinas alimentadas con un 8% de harina de *Tenebrio molitor* ($P<0,05$). Sin embargo, no ocurrió todos los meses. Mientras que en el primer mes las densidades fueron similares, en los meses, dos, tres y cuatro, hubo más diferencias, aunque éstas no fueron significativas ($P>0,05$).

Tabla 5: Influencia de la sustitución de un 8% de harina de soja con harina de *Tenebrio molitor* en pienso para gallinas Lohmann Brown sobre aspectos del albumen.

Albumen										
Pienso		Tratamiento		Mes						
		e.s.m	P	1	2	3	4	e.s.m	P	
Altura albumen (mm)	TM	9,74 ^b		10,15	10,26	9,75	8,81	0,268	0,20	
	HS	10,75 ^a	0,097 0,000	10,43	11,45	11,01	10,12			
Unidades Haugh	TM	98,91 ^b		101	101	98,98	95,09	1,443	0,50	
	HS	102 ^a	0,518 0,002	102	104	102	101			
Manchas de carne (%)	TM	25,00 ^b		20,00	30,00	25,00	25,00	7,435	0,97	
	HS	47,48 ^a	4,493 0,008	45,00	55,00	45,00	44,94			
Peso albumen (g)	TM	36,00 ^b		35,43 ^c	37,57 ^{bc}	37,70 ^{abc}	32,98 ^c	1,087	0,012	
	HS	42,48 ^a	0,860 0,001	38,94 ^b	42,97 ^{ab}	43,80 ^{ab}	44,22 ^a			

Tal y como se muestra en la tabla 5, la altura del albumen fue más elevada en aquellos huevos procedentes de gallinas alimentadas con harina de soja como fuente de proteína que el albumen de los huevos procedentes de gallinas alimentadas con un 8% de harina de *Tenebrio molitor* ($P<0,05$). No obstante, la respuesta resultó significativa sólo en los dos últimos meses ($P>0,05$). La altura del albumen está relacionada con su consistencia, afectada a su vez por el contenido en aminoácidos de la proteína de la dieta (Rodríguez, 2016) por lo que el resultado podría estar relacionado con una composición diferente en aminoácidos de la proteína de las larvas de *Tenebrio molitor*.

Las diferencias entre piensos en las Unidades Haugh como indicadores de la densidad del albumen fueron más elevadas en el albumen de los huevos de gallinas alimentadas con harina de soja como fuente de proteína que en las que habían sido alimentadas con harina de *Tenebrio molitor* ($P<0,05$), aunque en este caso, la diferencia no fue significativa hasta el último mes ($P=0,50$). Mwaniki et al. (2018) llevaron a cabo un estudio similar en el que

utilizaron harina de *Hermetia illucens* en este caso la diferencia entre piensos no fue significativa hasta la mitad y las últimas semanas del ensayo. No obstante Rodríguez (2016) defiende que el principal factor que afecta a la calidad del albumen es la edad de la gallina y la del huevo. Esta última en este caso no aplica puesto que los huevos fueron puestos y recogidos la misma mañana que se hicieron los análisis.

En los huevos procedentes de gallinas alimentadas con harina de soja como fuente de proteína apareció un mayor número de huevos con manchas de carne en el albumen que en los aquellos procedentes de gallinas alimentadas con harina de *Tenebrio molitor* ($P<0,05$). Estas diferencias se manifestaron de forma significativa en los dos primeros meses, pero en el tercer y cuarto mes aumentó el porcentaje de huevos con manchas de carne en los huevos de *Tenebrio molitor* mientras que disminuyeron en los de harina de soja. Las manchas de carne aparecen por ruptura de vasos sanguíneos del conducto reproductor de a gallina, de forma que su presencia en mayor o medida puede estar asociada a factores distintos de la alimentación.

El peso del albumen fue otro parámetro sobre el que el pienso tuvo un efecto significativo ($P<0,05$), siendo mayor en aquellos huevos procedentes de gallinas alimentadas con harina de soja como fuente de proteína mientras que los huevos de gallinas alimentadas con harina de *Tenebrio molitor* tenían un menor peso en albumen. En este parámetro las diferencias fueron significativas en el primer y cuarto mes ($P=0,012$). Esta respuesta coincide con las diferencias observadas anteriormente en el peso del huevo, aunque la causa podría no ser la misma ya que habitualmente la yema va aumentando su tamaño a medida que las gallinas envejecen (Whitehead et al., 1991).

Tabla 6: Influencia de la sustitución de un 8% de harina de soja con harina de *Tenebrio molitor* en pienso para gallinas Lohmann Brown sobre aspectos de la yema.

		Yema				Mes					
		Pienso	Tratamiento	e.s.m	P	1	2	3	4	e.s.m	P
Manchas de sangre (%)	TM	37,47				52,32	32,50	37,50	27,50		
	HS	43,75		3,944	0,29	42,50	47,50	40,00	45,00	7,106	0,22
Altura yema (cm)	TM	1,61 ^b				1,63	1,66	1,60	1,56		
	HS	1,70 ^a		0,008	0,000	1,68	1,71	1,74	1,67	0,023	0,18
Diámetro yema (cm)	TM	3,33				3,21	3,29	3,45	3,36		
	HS	3,40		0,035	0,16	3,31	3,33	3,51	3,46	0,069	0,95
Color yema	TM	5,83				6,28	6,16	5,88	5,00		
	HS	5,88		0,110	0,73	6,24	6,02	5,98	5,30	0,217	0,76
Peso yema (g)	TM	12,06 ^b				10,94	12,30	11,78	13,23		
	HS	14,10 ^a		0,120	0	11,99	14,78	15,23	14,96	0,499	0,13

Como se puede ver en la tabla 6, en cuanto a las manchas de sangre en la yema, no hubo una diferencia significativa entre piensos ($P>0,05$). Con excepción del primer mes en el que hubo un mayor porcentaje de huevos con manchas de sangre en aquellos procedentes de gallinas alimentadas con un 8% de harina de *Tenebrio molitor*, en el resto de meses hubo un mayor porcentaje de huevos de gallinas alimentadas con harina de soja con presencia de manchas de sangre. La presencia de manchas de sangre está asociado a otros factores diferentes del pienso ya que al igual que las manchas de carne, se debe a la ruptura de algún vaso sanguíneo en el conducto reproductivo de la gallina.

La altura de la yema resultó mayor en los huevos procedentes de gallinas alimentadas con harina de soja como fuente de proteína ($P<0,05$). No obstante, las diferencias solo fueron significativas en los dos últimos meses ($P=0,18$). El diámetro de la yema no se vio afectado por

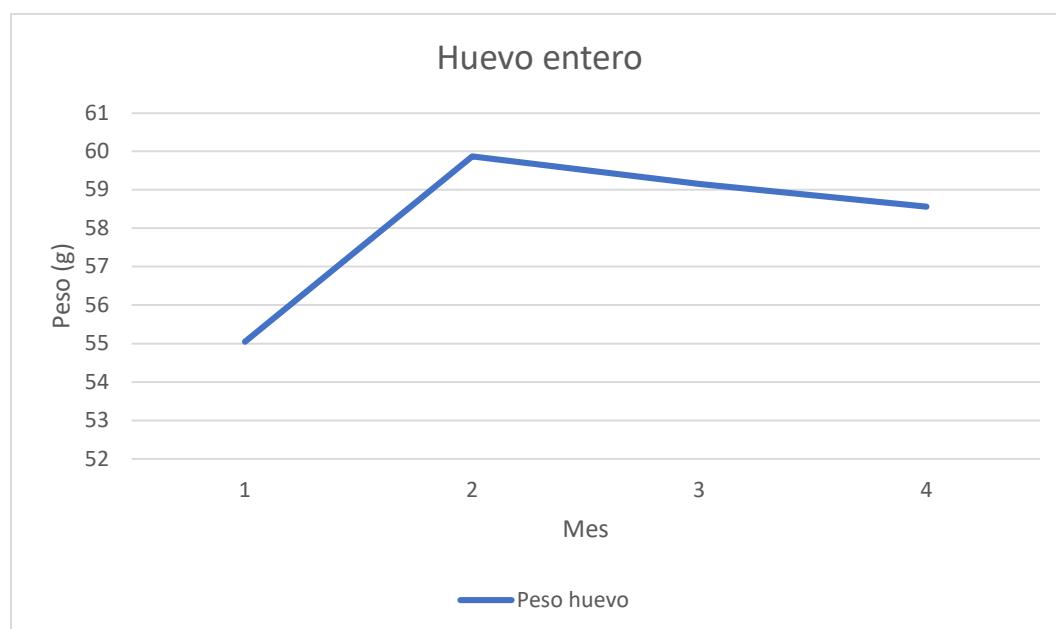
el pienso ($P<0,05$) aunque las yemas de los huevos de gallinas alimentadas con un 8% de harina de *Tenebrio molitor* tenían un diámetro mayor.

Con respecto al color de la yema, a pesar de ser un parámetro bastante influenciado por la alimentación, no se puede decir que hubiera una diferencia significativa entre los piensos ($P>0,05$). En ambos casos, el color se mantuvo en el número 6 de la escala Roche hasta el último mes, que bajó al número 5. Pudo deberse a que el contenido en xantofilas de ambos piensos era similar (Mwaniki et al., 2018). Las escasas diferencias podrían venir dadas por un diferente contenido en carotenoides en la dieta o la capacidad de fijación de los mismos (Rodríguez, 2016).

Para el peso yema, hubo una diferencia significativa entre los dos piensos ($P>0,05$), las yemas eran más pesadas en los huevos de las gallinas que habían sido alimentadas con harina de soja como fuente de proteína, mientras que eran más ligeras en los huevos de las gallinas alimentadas con un 8% de harina de *Tenebrio molitor*. En el primer mes las diferencias no fueron significativas, pero aumentaron en los tres últimos meses, resultando significativas. Su evolución coincidió con la del peso del huevo, ya que un aumento del peso de la yema podría ser la causa del aumento del peso del huevo (Whitehead et al., 1991).

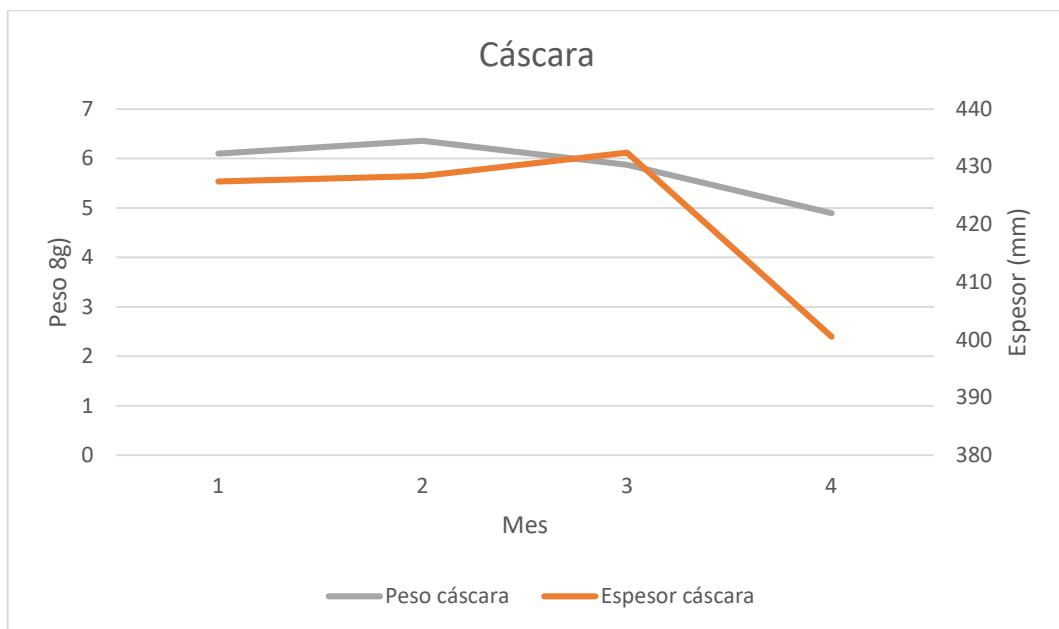
A continuación, se presentan unas gráficas en las que se muestra la evolución en el tiempo de distintos parámetros de calidad del huevo:

Gráfica 1: Evolución del peso de huevo durante los cuatro meses que duró el ensayo e independientemente del tipo de pienso alimentado a los animales.



En la gráfica 1, se puede ver la evolución del peso del huevo mes a mes, independiente del pienso. Se ve cómo del primer al segundo mes hubo un importante incremento hasta alcanzar el pico de puesta durante este primer mes. A partir de este punto, el peso del huevo tuvo una tendencia descendente. Esta evolución pudo deberse al envejecimiento de los animales (Whitehead et al., 1991). Puesto que, aunque el tamaño del huevo, la cáscara, el albumen y la yema no evolucionan de la misma manera.

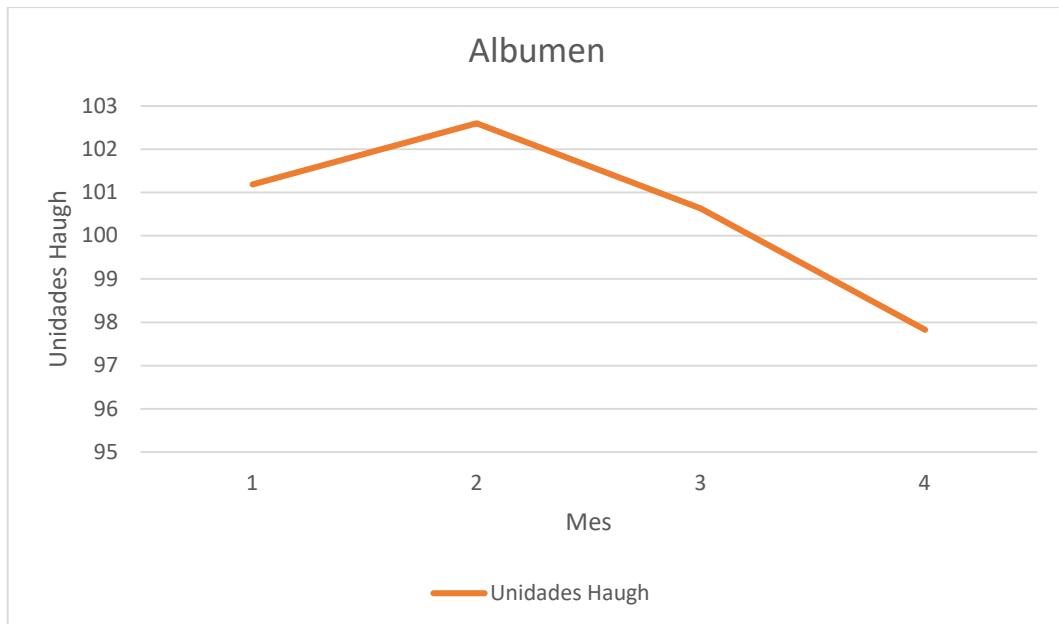
Gráfica 2: Evolución del peso y espesor de la cáscara de huevo durante los cuatro meses que duró el ensayo e independientemente del tipo de pienso alimentado a los animales.



En la gráfica 2, se muestra la evolución del peso y el espesor de la cáscara durante los cuatro meses que duró el ensayo, independientemente del pienso. El peso de la cáscara tiene una evolución similar a la del peso del huevo, aumenta del primer al segundo mes y desciende a partir de este punto. Sin embargo, en este caso el aumento de peso del primer mes es más somero que el descenso del segundo al cuarto mes.

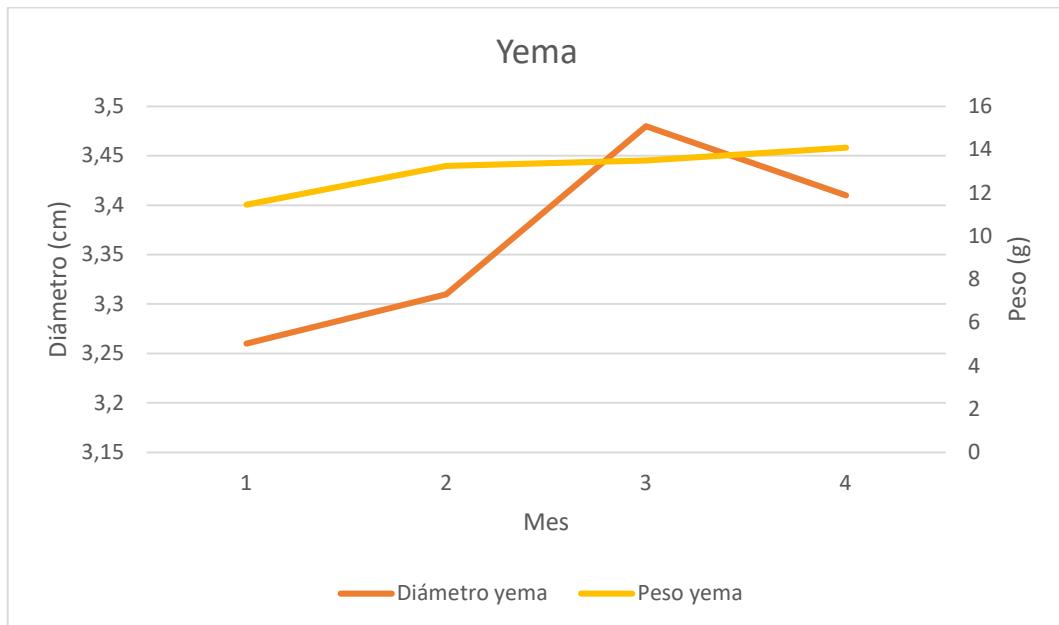
Con respecto al espesor de la cáscara sí que hay más variación, produciéndose un ligero aumento que se dispara del segundo al tercer mes y a partir del mismo se produce un descenso importante. En un estudio llevado a cabo por Rodríguez (2016) concluyó que la calidad de la cáscara está más relacionada con el tipo de alojamiento y la edad que con la dieta. Por lo tanto, tiene sentido que tanto el peso como el espesor de la cáscara fueran disminuyendo conforme pasaba el tiempo.

Gráfica 3: Evolución de las Unidades Haugh del albumen de huevo durante los cuatro meses que duró el ensayo e independientemente del tipo de pienso alimentado a los animales.



En la gráfica 3, se muestra la evolución de las unidades Haugh durante el ensayo independientemente del pienso. Al igual que el peso del huevo, aumentaron durante el primer mes del ensayo y a partir de este punto, fue disminuyendo. Esto está relacionado con la edad de las gallinas puesto que la calidad del albumen disminuye con la edad de los animales (Rodríguez, 2016).

Gráfica 4: Evolución de la altura, el diámetro y el peso de la yema de huevo durante los cuatro meses que duró el ensayo e independientemente del tipo de pienso alimentado a los animales.



En la gráfica 4, se puede ver la evolución del diámetro y el peso de la yema durante los cuatro meses del ensayo e independientemente del pienso utilizado. Empezando por el diámetro, éste aumenta hasta el tercer mes del ensayo mientras que, a partir del tercer mes, disminuye. Rodríguez (2016) defiende que las causas principales son la frescura y la edad de las gallinas. Dado que, como ya se ha explicado anteriormente, la frescura no es un factor determinante en este ensayo, la evolución podría deberse a la edad de los animales.

Por su parte, el peso de la yema tiene una tendencia ascendente durante todo el ensayo. En el ensayo descrito por Whitehead et al. (1991) concluyeron que el aumento de peso del huevo estaría relacionado por un aumento del peso de la yema. En este caso, en el primer mes el peso de la yema aumentó en 1,77g mientras que del segundo mes hasta el final del ensayo lo hizo en 0,86g. Esto justificaría el rápido aumento de peso del huevo y su posterior descenso, la yema no aumentó lo suficiente como para suponer un cambio significativo en el peso del huevo entero.

6. CONCLUSIONES

La sustitución de un 8% de harina de soja por harina de *Tenebrio molitor* en el pienso para gallinas camperas tuvo un efecto significativo sobre el peso del huevo a partir del segundo mes

de puesta, obteniendo huevos de menor tamaño. De forma similar, la altura y la densidad del albumen y la altura y peso de la yema también resultaron menores en los huevos de las gallinas alimentadas con *Tenebrio molitor* en sustitución de un 8% de harina de soja. Por su parte, sólo se observaron diferencias en el espesor de la cáscara en el cuarto mes de puesta.

Estos efectos podrían estar relacionados con alguna deficiencia nutricional, a nivel de deficiencias en aminoácidos esenciales en el pienso a base de *Tenebrio molitor* respecto a la harina de soja. No obstante, estas justificaciones son difíciles de mantener, considerando que los piensos se formularon para un mismo contenido en nutrientes.

En cuanto a la evolución de la calidad del huevo a lo largo del periodo de puesta independientemente del pienso:

- Tanto el peso como el espesor de la cáscara disminuyeron con el tiempo, es algo que puede tener que ver con la edad de la gallina o con una deficiencia o mala absorción de calcio.
- Las unidades Haugh, disminuyen a lo largo del tiempo, al igual que el peso del huevo y la altura del albumen.
- La edad de las gallinas afecta al peso del huevo, que aumenta hasta llegar al segundo mes, disminuyendo posteriormente. Igualmente, el diámetro y peso de la yema aumentan con la edad de la gallina.

6.1 CONCLUSIONS

The substitution of an 8% of soybean meal with *Tenebrio molitor* meal in feed for free range chickens had a significant impact on the egg weight from the second laying month on, bigger eggs were obtained. In a similar way, the height and density of the egg white. The height and weight of the egg yolk also resulted to be smaller in those eggs from chickens fed with *Tenebrio molitor* meal as replacement for soybean meal. On the other hand, differences in shell thickness were only seen in the fourth month.

These effects could be related to a nutritional deficiency as for a lack of essential amino acids in the *Tenebrio molitor* compared to the soybean meal feed. Nevertheless, this is questionable considering that both feeds were designed in equal nutrient content.

As for the evolution of egg quality during the laying time, without taking into account the kind of feed:

- Both shell weight and thickness diminished with time, this could be due to the age of the hen itself or with a deficiency or deficient calcium absorption.
- Haugh units diminished with time and so did the egg weight and egg white height.
- The age of the hen affects the weight of the egg, in this case it increased until the second month, diminishing afterwards. The diameter and weight of the egg yolk also increase with the age of the hen.

7. VALORACIÓN PERSONAL

Este trabajo me ha dado la oportunidad de adentrarme en el mundo del sector avícola y descubrir de primera mano los análisis de calidad de huevo que se realizan rutinariamente en una empresa de gallinas ponedoras. También he podido aprender sobre el mundo de los insectos y las ventajas que su uso en piensos podría tener sobre el medio ambiente.

Además, me ha enseñado a realizar una buena revisión bibliográfica y a gestionar una gran cantidad de datos de los que finalmente sacar mis propias conclusiones.

Agradecer a mi tutor esta oportunidad y orientarme en todo momento que he necesitado. También agradecer a mis compañeras de laboratorio el haberme acompañado y prestado el material. Sin olvidarme de todo el personal de las granjas que nos ayudaron en el mantenimiento de las gallinas. Este trabajo de fin de grado ha resultado ser toda una experiencia que ha conllevado un gratificante esfuerzo personal.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilar-Miranda, E.D., López, M.G., Escamilla-Santana, C., Barba de la Rosa, A.P. (2002). "Characteristics of maize flour tortilla supplemented with ground *Tenebrio molitor* larvae". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, pp. 192-195. [Consultado 10/05/2021]
2. Alimarket. (2019). Informe: Huevos: el bienestar compromete al mercado, pp. 98-121 [Consultado 13/08/2021]
3. Anderson, S.J. (2000). "Increasing calcium levels in cultured insects". *Zoo Biology*, 19, pp. 1-9. [Consultado 10/05/2021]
4. Bava, L., Jucker, C., Gilson, G., Lupi, D., Savoldelli, S., Zucali, M., Colombini, S. (2019). "Rearing of *Hermetia illucens* on different organic by-products: influence on growth, waste reduction and environmental impact". *Animals*, 9(6), pp. 289. DOI: 10.3390/ani9060289 [Consultado 27/05/2021]
5. Biasato, I., De Marco, M., Rotolo, L., Renna, M., Lussiana, C., Dabbou, S., Capucchio, M. T., Biasibetti, E., Costa, P., Gai, F., Pozzo, L., Dezzutto, D., Bergagna, S., Martínez, S., Tarantola, M., Gasco, L., Schianove, A. (2016). "Effects on dietary *Tenebrio molitor* meal inclusion in free-range chickens". *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 100, pp. 1104-1112. DOI: 10.1111/jpn.12487 [Consultado: 22/03/2021]
6. Bovera, F., Loponte, R., Marono, S., Piccolo, G., Parisi, G., Iaconisi, V., Gasco, L., Nizza, A. (2016). "Use of larvae meal as protein source in broiler diet: effect on growth performance, nutrient digestibility, and carcass and meat trait". *Journal of Animal Science*, 94, pp. 639-647 [Consultado 27/05/2021]
7. Bovera, F., Loponte, R., Pero, M., Cutrignelli, M., Calabrò, S., Musco, N., Vassalotti, G., Panettieri, V., Lombardi, P., Piccolo, G., Di Meo, C., Siddi, G., Fliegerova, K., Moniello, G. (2018). "Laying performance, blood profiles, nutrient digestibility and inner organs traits of hens fed an insect meal from *Hermetia illucens* larvae". *Research in Veterinary Science*, 120, pp. 86-93. DOI: 10.1016/j.rvsc.2018.09.006. [Consultado 05/05/2021]
8. Buxadé, C., Torres, M.E., y Sanchez de Miguel, J.L. (2000). "El huevo comercial de gallina: estructura, composición, calidad y manejo". *La gallina ponedora: sistemas de explotación y técnicas de producción*. Madrid: Ed Mundi Prensa, pp. 417-450. [Consultado 29/07/2021]
9. Castelló, J.A., Barragán, J.I., Barroeta, A.C., Calvet, S. (2010). *Producción de huevos*. Barcelona: Real Escuela de Avicultura. [Consultado 08/09/2021]

10. Cepero, R. y Lafuente, R. (2000). "Ovoproductos: Su necesidad y su producción (III)". *Selecciones Avícolas*. 42(3), pp. 139-152. [Consultado 29/07/2021]
11. De Marco, M., Martínez, S., Hernandez, F., Madrid, J., Gai, F., Rotolo, L., Belforti, M., Bergero, D., Katz, H., Dabbou, S., Kovitvadhi, A., Zoccarato, I., Gasco, L., Schiavone, A. (2015). "Nutritional value of two insect larval meals (Tenebrio molitor and Hermetia illucens) for broiler chickens: Apparent nutrient digestibility, apparent ileal amino acid digestibility and apparent metabolizable energy". *Animal Feed Science and Technology*, 209, pp. 211-218. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2015.08.006 [Consultado 30/05/2021]
12. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2003). "Food security: concepts and measurement". *Trade reforms and food security*. Rome: FAO. Disponible en: <http://www.fao.org/3/y4671e/y4671e06.htm> [Consultado 08/08/2021]
13. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2006). *Livestock's long shadow: Environmental issues and options*. Rome: FAO. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a0701e/a0701e00.htm> [Consultado 08/08/2021]
14. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2009). "Livestock in the Balance. Food and Agriculture Organization of the United Nations". *The State of Food and Agriculture*. Rome: FAO. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i0680e.pdf> [Consultado 02/06/2021]
15. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2011). "World livestock 2011-Livestock in food security". Rome: FAO. Disponible en: <http://www.fao.org/3/i2373e/i2373e.pdf> [Consultado 16/05/2021]
16. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2013a). "Edible insects: future prospects for food and feed security". *FAO forestry paper*, 171. Rome: FAO. Disponible en: <http://www.fao.org/3/i3253e/i3253e.pdf> [Consultado 20/05/2021]
17. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2013b). "Tackling Climate Change Through Livestock – A GlobalAssessment of Emissions and Mitigation Opportunities". Rome: FAO. Disponible en: <http://www.fao.org/3/i3437e/i3437e.pdf> [Consultado 23/05/2021]
18. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2013c). Poultry Development Review. Rome: FAO. Disponible en: <http://www.fao.org/3/i3531e/i3531e00.htm> [Consultado 08/08/2021]
19. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2018). "Meat market review". *Gateway to poultry production and products*, 6 pp. 149-161 [Consultado 07/08/2021]

20. Flacowsky, G., Meyer, U. (2015). "Sustainable production of protein of animal origin the state of knowledge. Part 1. Resources and emissions as factors affecting sustainability". *Journal of Animal and Feed Sciences*, 24, pp. 273-282. [Consultado 20/01/2021]
21. Fondevila, M., Latorre, M.A. (2017). "Insectos como materia prima alternativa en la alimentación de ganado porcino". *3tres3*. Disponible en: https://www.3tres3.com/articulos/insectos-como-materia-prima-alternativa-en-la-alimentacion-de-porcino_38324/ [Consultado 30/05/2021]
22. García, J. (2010). "La calidad del huevo". *Producción de huevos*, 16. pp. 381-403. [Consultado 27/05/2021]
23. García, G. (2015). *Calidad del huevo en la raza Serrana de Teruel*. Trabajo fin de grado. Universidad de Zaragoza. [Consultado 28/05/2021]
24. González, G. (1989). *Nutrición y alimentación de gallinas ponedoras*. Madrid: Mundiprensa- Aedos. [Consultado 23/05/2021]
25. Hardouin, J., Mahoux, G. (2003). *Zootechnie d'insectes – Elevage et utilisation au bénéfice de l'homme et de certains animaux*. Bruselas: Bureau pour l'Echange et la Distribution de l'Information sur le Mini-élevage (BEDIM). [Consultado 05/05/2021]
26. 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, pp. 1-22 [Consultado 30/05/2021]
27. Hernández, P. (2019). *Effects of the source and level of digestible phosphorus in the diet on performance and egg quality of brown laying hens from 64 to 76 weeks of age*. Trabajo fin de máster. Universidad de Zaragoza. [Consultado 07/08/2021]
28. Kiarie, E. G., Romero, L. F., Nyachoti, C. M. (2013). "The role of added feed enzymes in promoting gut health in swine and poultry". *Nutrition Research Reviews*, 26, pp. 71-88 [Consultado 12/05/2021]
29. Klasing, K.C., Thacker, P., Lopez, M.A., Calvert, C.C. (2000). "Increasing the calcium content of mealworms (*Tenebrio molitor*) to improve their nutritional value for bone mineralization of growing chicks". *Journal of Zoo Wildlife and Medicine*, 31, pp. 512–517. [Consultado 12/05/2021]
30. Lawrence, D., Beddington, J., Godfray, C., Crute, I., Haddad, L., Muir, J., Pretty, J., Robinson, S., Toulmin, C. (2011). "The challenge of global food sustainability". *Food Policy*, 36, Suppl. 1, S1-S2. [Consultado 20/01/2021]
31. Leeson, S., Summers, J. D. (2005). *Commercial Poultry Nutrition*. (5^a ed). Nottingam: Nottingam University Press [Consultado 02/07/2021]

32. Makkar, H.P.S., Tran, G., Henze, V., Ankers, P. (2014). "State of the art on use of insects as animal feed". *Animal Feed Science Technology*, 197, pp. 1-33 [Consultado 24/05/2021]
33. MAPA (2020). El sector de la avicultura de puesta en cifras. Principales indicadores económicos Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/dashboardhuevosjulio2021_tcm30-381336.pdf [Consultado: 16/08/2021]
34. Mekonnen, M.M., Hoekstra, A.Y. (2012). "A global assessment of the water footprint of farm animal products". *Ecosystems*, 15, pp. 401–415. [Consultado 12/05/2021]
35. Miranda, J. M., Anton, X., Redondo-Valbuena, C., Roca-Saavedra, P., Rodriguez, J. A., Lamas, A., Franco, C. M., Cepeda, A. (2015). "Egg and egg-derived foods: effects on human health and use as functional foods". *Nutrients*, 7, pp. 706-729. DOI: 10.3390/nu7010706 [Consultado 27/05/2021]
36. Mwaniki, Z., Neijat, M., Kiarie, E. (2018). "Egg production and quality responses of adding up to 7,5% defatted black soldier fly larvae mal in a corn-soybean meal diet fed to Shaver White Leghorns from week 19 to 27 of age". *Poultry Science Association*, 97, pp. 2829-2835. DOI: 10.3382/ps/pey118. [Consultado 16/05/2021]
37. Mwaniki, Z., Shoveller, A. K., Huber, L. A., Kiarie, E. G. (2020). "Complete replacement of soybean meal with defatted black soldier fly larvae meal in Shaver White hens feeding program (28-43 wks of age): impact on egg production, egg quality, organ weight, and apparent retention components". *Poultry Science*, 99, pp. 959-965. DOI: 10.1016/j.psj.2019.10.032 [Consultado 27/05/2021]
38. Nakagaki, B. J., & Defoliart, G. R. (1991). "Comparison of diets for mass-rearing *Acheta domesticus* (Orthoptera, Gryllidae) as a novelty food, and comparison of food conversion efficiency with values reported for livestock". *Journal of Economic Entomology*, 84, pp. 891–896. [Consultado 14/06/2021]
39. Oonincx, D. G. A. B., van Itterbeeck, J., Heetkamp, M. J. W., van den Brand, H., van Loon, J. J. A., & van Huis, A. (2010). "An exploration on greenhouse gas and ammonia production by insect species suitable for animal or human consumption". *PloS One*, 5 [Consultado 14/06/2021]
40. Pimentel, D., Dritschilo, W., Krummel, J., Kutzman, J. (1975). "Energy and land constraints in food protein production". *Science*, 190, pp. 754-761. [Consultado 30/05/2021]
41. Ramos-Elorduy, J., González, E. A., Hernández, A. R., Pino, J. M. (2002). "Use of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) to recycle organic wastes and as feed for

- broiler chickens". *Journal of Economic Entomology*, 95, pp. 214-220. [Consultado 30/05/2021]
42. Reglamento (CE) nº 589/2008 de la Comisión, de 23 de junio de 2008, por el que se establecen las disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) nº 1234/2007 del Consejo en lo que atañe a las normas de comercialización de los huevos. *Diario Oficial de la Unión Europea*. L 163, de 24 de junio de 2008 [Consultado 13/08/2021]
43. Rodríguez, A. (2016). *Tipificación de la calidad de huevo de gallina ecológico y convencional*. Tesis doctoral. Universidad politécnica de Valencia. [Consultado 01/08/2021]
44. Rumpold, B. A., Schluter, O. K. (2012). "Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production". *Innovative Food Science and Technologies*, 17, pp. 1-11 [Consultado 14/06/2021]
45. Rumpold, B. A., Schluter, O. K. (2013). "Nutritional composition and safety aspects of edible insects". *Molecular Nutrition & Food Research*, 57, pp. 802-823 [Consultado 24/05/2021]
46. Schader, C., Muller, A., Scialabba, H.-Nel., Hecht, J., Isenee, A., Erb, K. H., Smith, P., Makkar, H. P., Klocke, P., Leiber, F., Schwegler, P., Stolze, M., Niggli, U. (2015). "Impact of feeding less food-competing feedstuffs to livestock on global food system sustainability". *Journal of the Royal Society Interface*, 12. DOI: 10.1098/rsif.2015.0891. [Consultado 16/05/2021]
47. van Huis, A. (2016). "Are edible insects the future?". *Proceedings of the Nutrition Society*, 75, pp. 294-305, DOI: 10.1017/S0029665116000069 [Consultado 30/05/2021]
48. van Huis, A., Van Itterbeeck, J., Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G., Vantomme, P. (2013). "Edible insects: future prospects for food and feed security". *FAO Forestry paper*, 171. Disponible en: <http://www.fao.org/3/i3253e/i3253e00.pdf> [Consultado 20/01/2021]
49. Veldkamp, T., van Duinkerken, G., van Huis, A., Lakemond, C.M.M., Ottevanger, E., Bosch, G., van Boekel, M.A.J.S. (2012). "Insects as a sustainable feedingredient in pig and poultry diets – a feasibility study". *Wageningen Livestock Research*, 368 [Consultado 06/06/2021]
50. Wang, Y., Chen, Y., Li, X., Xia, R., Du, J., Sheng, Q. (1996). "Study on rearing the larvae of *Tenebrio molito* Linne and the effects of its processing and utilization". *Acta Agricultural University Henanensis*, 30, pp. 288-292 [Consultado: 30/08/2021]

51. Wang, X., Zhang, H., Wu, S., Yue, H., Li, J., Qi, G. (2015). "Effect of dietary protein sources on egg performance and egg quality of Jinghong laying hens at peak production". *Scientia Agricultura Sinica*, 48, pp. 2049-2057 [Consultado: 01/09/2021]
52. Whitehead, C., Bowman, A. S., Griffin, H.D., (1991). "The effects of dietary fat and bird age on the weights of egg and egg components in the laying hen". *British Poultry Science*, 32, pp. 565-574. [Consultado 30/08/2021]
53. Williams, K.C. (1992). "Factores que afectan a la calidad del huevo". *Selecciones Avícolas*, 34(9), pp. 587-596. [Consultado 29/07/2021]
54. Woyengo, T. A., Beltranema, E., Zijlstra, R. T. (2014). "Nonruminant Nutrition Symposium: Controlling feed cost by including alternative ingredients into pig diets: a review". *Journal of Animal Science*, 92, pp. 1293-1305 [Consultado 27/05/2021]